



Universidad de Valladolid



**PROGRAMA DE DOCTORADO EN ENOLOGÍA,
VITICULTURA Y SOSTENIBILIDAD**

TESIS DOCTORAL:

**La crianza de vinos tintos en barricas
con aporte de oxígeno controlado**

Presentada por Samanta Prat García
para optar al grado de
Doctora por la Universidad de Valladolid

Dirigida por:
María del Álamo Sanza e Ignacio Nevares Domínguez

DECLARACIÓN PERSONAL DE NO PLAGIO

Dña. Samanta Prat García con DNI 48001563-B, estudiante del Programa de doctorado en Enología Viticultura y Sostenibilidad de la Universidad de Valladolid, como autora de este documento académico, titulado:

Seguimiento de la crianza de vinos tintos en barricas de aporte de oxígeno controlado

Presentado para la obtención del título de Doctor/a, DECLARO que el contenido de este trabajo es personal, y por ello no hay copia ni de ideas, formulaciones, citas integrales, imágenes o figuras, sacadas de cualquier artículo, memoria, trabajo o web, sin mencionar el origen tanto en el cuerpo del texto como en la bibliografía.

En Palencia, a 6 de septiembre de 2021

Firmado: Samanta Prat García

Esta Tesis Doctoral se ha desarrollado en el Grupo UVaMOX de la Universidad de Valladolid, Campus la Yutera en Palencia, en colaboración con el Grupo de investigación de Polifenoles de la Universidad de Salamanca, y con el grupo de investigación REQUIMTE-LAQV Research Centre de la Universidade do Porto donde se realizaron estancias pre-doctorales. Esta tesis ha sido dirigida por los profesores María del Álamo Sanza e Ignacio Nevares Domínguez.

Este trabajo ha sido financiado por la Junta de Castilla y León (VA028U16, VA315P18), MINECO (AGL2014-54902P, AGL2017-87373-C3-2-R), el contrato predoctoral ha sido financiado por FEDER, Interreg España-Portugal Programme (Iberophenol). Para la construcción de las barricas se contó con la colaboración de la Tonelería Intona SA (Navarra) y el vino de esta investigación fue cedido por la bodega Vega Silicia de la D.O. Ribera del Duero (España).

AGRADECIMIENTOS

Primeramente, quiero agradecer a María del Álamo Sanza e Ignacio Nevares por darme la oportunidad de realizar este doctorado, con ello también al proyecto IBERPHENOL por la financiación y por mi contrato.

Pero me gustaría dedicar esta tesis a toda aquella persona que se ha preocupado por mí en esta etapa, que me ha apoyado y animado a acabarla. Me rodeo de personas maravillosas que siempre me dedican un tiempo de su vida.

A mis abuelos, a mí tía, a mí hermano y a la más pequeña de la familia, sin su ayuda ciertamente no hubiera conseguido nada de todo lo que tengo ahora, no existe palabra que describa tanto agradecimiento.

La lista de amigos que tengo no se queda para nada corta y creo que he de agradecer demasiado, primero de todo a aquellos que me han quedado lejos durante dos años y en este último año han estado muy cerca y ellos son Ana, Ingrid, Mariana, Ángel y el que me ha acompañado a la biblioteca día tras día para que acabe Sr. Ligerero, gracias por tanto. Estas cinco personas, son la familia que he tenido la suerte de encontrar.

Los inicios en un sitio nuevo en el que no conoces a nadie no son fáciles y Palencia no fue diferente. Pero he tenido la suerte de conocer a personas maravillosas que espero estén siempre de una manera u otra en mi vida. Cristina, Lorena, Noemí, Adri, Vero, Virgi, Hugo, Iván, Leo, Mayara, Estefanía, Vir. Pero de entre todos hay dos personas que dejaron huella para siempre y son, Dago, tal vez el que más ha intentado que deje de quejarme transformando todo en bailes infinitos, dulces y risas, y Mario, tu fuiste el abrazo cuando lo necesitaba.

Por supuesto jamás me olvidaría de mis compañeros, Meri, Silvia, Ro, Michel, Adrián, Ainara, Jairo, de verdad no sé si esta maravillosa compañía puede ser mejorable. Dentro de todos los miembros de UVaMOX, quiero destacar la ayuda, y sobretodo el aporte de conocimiento musical de Víctor, creo que la gente genial ha de ser eterna. Y a mi compañera, amiga y cómplice MiniMaría.

Y para terminar, me gustaría describiros como Gustav Mahler a un vaso de vino;

«Un vaso de vino en el momento oportuno vale más que todas las riquezas de la tierra.»

ÍNDICE

| | |
|--|----|
| INTRODUCCIÓN | 1 |
| 1.1. El oxígeno y su importancia en la enología | 2 |
| 1.2. Sistemas de medida del oxígeno | 4 |
| 1.2.1 Medida OTR | 8 |
| 1.3. La madera de roble | 10 |
| 1.3.1. Estructura de la madera | 12 |
| 1.3.2. Propiedades físicas | 14 |
| 1.3.3. Composición química | 15 |
| 1.4. Construcción de barricas | 21 |
| 1.4.1. Selección y corte de la madera | 22 |
| 1.4.2. Secado de la madera | 23 |
| 1.4.3. Curvado, tostado y construcción barrica | 24 |
| 1.5. La barrica como recipiente | 26 |
| 1.6. Envejecimiento de vinos tintos en barrica | 29 |
| 1.6.1. Compuestos fenólicos: flavonoides | 30 |
| 1.6.2. Compuestos fenólicos: no flavonoides | 34 |
| 1.6.3. Evolución de los compuestos presentes en el vino | 35 |
| 1.6.3.1. Modificaciones del color | 36 |
| 1.6.3.2. Modificaciones aromáticas | 39 |
| 1.6.3.3. Modificaciones gustativas | 41 |
| HIPÓTESIS Y OBJETIVOS | 46 |
| RESULTADOS | 51 |
| CAPÍTULO I: Imagen de la dinámica del oxígeno liberado por la madera de roble sumergida en vino modelo con nano-sensores | 53 |
| CAPÍTULO II: Barricas de oxigenación personalizadas como nueva estrategia de crianza controlada del vino | 59 |
| CAPÍTULO III: Caracterización de antocianinas y derivados en vino tinto envejecido en barricas con tasa de transferencia de oxígeno personalizada | 65 |

| | |
|---|------------|
| CAPÍTULO IV: Caracterización de los elagitaninos presentes en vino y madera de barricas con transferencia de oxígeno conocida..... | 70 |
| <i>DISCUSIÓN GENERAL</i> | 103 |
| <i>CONCLUSIONES GENERALES</i> | 121 |
| BIBLIOGRAFÍA..... | 127 |

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN GENERAL

La crianza o envejecimiento del vino en barricas es una práctica tradicional a la par que compleja. Durante este proceso se deben tener en cuenta diversos factores que influirán directamente en la calidad del vino final. Como son el origen botánico y geográfico, el género, la edad, el tostado, el grano, la cantidad de tilosas, la composición química de la madera que se escoge para realizar el envejecimiento son un factor clave ¹. La madera cede al vino compuestos como son los taninos hidrolizables y los compuestos volátiles. Otro factor también importante es la temperatura y la humedad de la sala de envejecimiento, siendo óptimo una temperatura baja (17°C) y una humedad relativa entorno al 70% ².

Durante el proceso de envejecimiento, siempre se ha creído que el oxígeno penetraba al interior de las barricas por diferentes vías, el espacio inter duela (63%), el tapón (21%) y a través de la duela de madera (16%), modificando de manera natural la composición química del vino ³, otra vía de entrada de oxígeno atmosférico es por la manipulación tanto en el llenado de barricas, si se realizan bazuqueos, etc.⁴. El oxígeno presente en el aire atmosférico en una concentración del 21%, interactúa con los compuestos presentes en el vino y con los cedidos por parte de la madera. Este directa o indirectamente está implicado en los cambios del vino: la polimerización de los taninos y antocianos, la oxidación del etanol a acetaldehído, el consumo de SO₂, donde estas reacciones dan lugar a un cambio organoléptico. No obstante, la cantidad de oxígeno que penetra al interior es importante, ya que un aporte excesivo puede provocar oxidaciones irreversibles. Sin embargo, numerosos estudios con diferentes enfoques y resultados contradictorios se encuentran en la literatura sobre las vías de entrada del oxígeno, son ejemplos J. Ribereau-Gayon, 1933, el cual describe que las cantidades de oxígeno atmosférico que llega al vino son mínimas y además este es consumido rápidamente por sustancias presentes en solución⁶. Otros, que la mayor entrada de oxígeno se produce durante el llenado ^{4,7}. También se ha de tener en cuenta el efecto de la humectación de la madera el cual afecta al paso del oxígeno ⁸.

Estudios más recientes del grupo UVaMOX, evalúan la tasa de transferencia de oxígeno (OTR), para comprender y controlar el oxígeno durante el envejecimiento. La caracterización del porcentaje de oxígeno que pasa por las diferentes vías como son el espacio inter-duela, el del tapón y la madera o la distribución del oxígeno en los diferentes puntos del interior de la barrica⁹, las diferencias entre el envejecimiento en diferentes robles en el paso del oxígeno¹⁰, entre otros trabajos de los cuales se hablará a lo largo de esta Tesis Doctoral.

En este trabajo se detalla la importancia del oxígeno en el envejecimiento del vino en barrica de roble, los diferentes sistemas de medida descritos hasta el momento, la importancia de la madera de roble y por qué esta madera es ideal como recipiente y por último las propiedades y composición del vino durante la crianza.

1.1. El oxígeno y su importancia en la enología

El oxígeno (O₂) es elemento químico gaseoso, incoloro, insípido e inodoro. Forma parte de la atmosfera, se encuentra en una proporción de concentración del 20.95% en el aire atmosférico. El O₂ atmosférico es primordial en la vida de la Tierra. Además, este gas se disuelve en agua, siendo un parámetro clave para las aguas naturales y para evaluar el estado global del medio ambiente.

Puesta en contexto la importancia del oxígeno en la vida, este elemento también tiene una gran importancia en la elaboración del vino. Durante la vinificación el oxígeno puede tener efectos positivos y/o negativos. Dado que el oxígeno se encuentra a nuestro alrededor, el enólogo ha de ser consciente de su papel y de sus posibles efectos. Una buena exposición al oxígeno permite beneficios sensoriales, tales como la estabilización del color y la reducción de la astringencia y el amargor de los vinos tintos^{11,12}. Por el contrario, una sobreexposición puede generar cambios que perjudiquen la calidad del producto final, ya que los compuestos del vino, presentes tanto en vino blanco como en tinto, reaccionan con el oxígeno, oxidándose más fácilmente, provocando deterioros sensoriales y de color¹³. Las levaduras son una fuente de consumo de oxígeno durante la fermentación alcohólica del vino con la finalidad de adecuar su tolerancia al etanol¹⁴. Si durante la segunda fermentación, llamada maloláctica, se expone el vino a un mayor contacto con el aire, puede llevar a una multiplicación de las bacterias acéticas así como al deterioro del vino¹⁵. Durante el envejecimiento y el embotellado de los vinos, muchas prácticas y factores pueden contribuir a la entrada de oxígeno al vino.

Durante el envejecimiento del vino en barrica es también importante el control del oxígeno, en esta etapa entra en juego la velocidad de transmisión del oxígeno, cuyas siglas en inglés son OTR y se utilizarán a lo largo de este trabajo.

Este parámetro (OTR), regula los cambios en el vino durante el envejecimiento, ya que, algunas barricas pueden experimentar una mayor aportación de oxígeno. El OTR no es un factor que se tenga en cuenta en la actualidad en la industria del vino, pero se encuentran diferentes estudios en los que se realiza que es un factor a tener en cuenta durante el envejecimiento. Hay estudios en los que se mide el oxígeno disuelto (OD) durante este proceso, Singleton, 1987, determinó que la concentración máxima de oxígeno era de 8.6 mg/L en condiciones de presión atmosférica y 20 grados de temperatura¹². En la bibliografía también se destacan estudios sobre la dinámica del oxígeno durante el envejecimiento en barrica de roble, en los cuales determinan que durante un año, la tasa de transferencia de oxígeno anual presente en el vino se encuentra entre valores de 10 a 45 mg/L*año¹⁶⁻¹⁸.

Diferentes factores influyen en la cantidad de oxígeno disuelto en el vino como son la temperatura, a una mayor temperatura la solubilidad del oxígeno aumenta y disminuye a bajas temperaturas. También es importante conocer la concentración de etanol que tiene el vino, disminuye la solubilidad del oxígeno cuando el alcohol es alto.

Se encuentran alternativas para la adición de oxígeno, como la micro-oxigenación, técnica que se usa en envejecimiento en depósitos de vino, en el que se dosifican pequeñas dosis de oxígeno y la adición de derivados de madera de roble al vino. No obstante, es necesario un control sobre las concentraciones de oxígeno suministrado para garantizar una buena asimilación¹⁹.

El oxígeno es necesario en diferentes procesos de la vinificación, remarcando que se ha de tener un control del contacto, por las consecuencias que puede tener. Teniendo esto en cuenta, el vino se ve implicado en muchas reacciones durante los diferentes procesos y se pueden diferenciar en dos tipos, oxidaciones enzimáticas y las no enzimáticas.

- Oxidaciones enzimáticas

Este tipo de reacciones son rápidas, se dan en la fase pre-fermentativa en presencia de oxígeno, o en vinos poco protegidos. Este tipo de reacciones están catalizadas por polifenoloxidasas sobre los compuestos fenólicos, donde el o-difenol pasa a quinina y agua, esto da lugar a una pérdida del color. Hay compuestos que pueden reducir esta oxidación mediante la adición de SO_2 , glutatión y gases inertes, además de un control de las temperaturas ²⁰.

- Oxidaciones no enzimáticas

Al contrario que las enzimáticas estas reacciones son más lentas y suelen producirse en vinos más elaborados, también se conocen como oxidaciones químicas, por lo que es importante tanto el oxígeno como la composición química del vino. Durante la crianza de los vinos estas modificaciones pueden considerarse beneficiosas, ya que algunos cambios pueden mejorar las características organolépticas. Compuestos como etanol, SO_2 , ácido ascórbico y metales que se encuentran en solución pueden reaccionar con el oxígeno. Una vez activado el oxígeno molecular al radical hidroperoxilo, por acción de los metales presentes en solución, oxidará algunos compuestos fenólicos a quinonas y peróxido de hidrogeno, y este último a la vez en presencia de hierro podría oxidar entrando en un ciclo oxidativo ²⁰.

A continuación, se describen las metodologías de medida utilizadas tanto en el sector del vino como en otros para la determinación del oxígeno y destaca la importancia de los sensores ya que es una metodología puntera en el mundo de la investigación y de gran utilidad.

1.2. Sistemas de medida del oxígeno

Igual que en todos los ámbitos que nos rodean, también en la Química Analítica surge la necesidad de una información rápida, continua, robusta, con una metodología simple y de bajo coste. Por todo ello, surge la necesidad de utilizar sensores, dispositivos analíticos son capaces de detectar determinadas especies químicas de

manera continua y reversible, que transforman la información química en una señal analítica útil sobre la muestra, proceso o sistema de análisis.

Un tipo de sensor es el óptico, se basan en la detección de un haz de luz u otras ondas electromagnéticas durante la interacción con la especie química que se desea determinar²¹. En lo que respecta a la medida del oxígeno, diversos estudios se basan en la medida del oxígeno disuelto, no obstante, el oxígeno, no puede existir como líquido a temperatura ambiente, este se encuentra en equilibrio con los fluidos cumpliendo así la ley de Henry, la cual se refiere al efecto de la presión de un gas en su grado de solubilidad en un líquido. Por lo que, en condiciones de temperatura constante, la concentración de un gas es directamente proporcional a su presión (Ecuación 1).

$$H_e = p_{O_2} / c \quad \text{Ecuación 1}$$

Dónde: H_e = constante de Henry (mol/(L*atm)), p_{O_2} = presión parcial del gas (O_2) sobre el líquido (atm) y c = concentración de oxígeno disuelto (mol/L). De acuerdo con esta ley, y dada la necesidad del estudio del oxígeno disuelto en el vino, en esta Tesis Doctoral mediante el uso de unos sensores sensibles al oxígeno, que permiten, por tanto, conocer la presión parcial del oxígeno en el tiempo y traducirlo en % de oxígeno (**Capítulo I**).

Se han utilizado diferentes sistemas de medida, hasta el momento los descritos son: la gravimetría, esta fue la primera metodología descrita en la bibliografía, 100 años después se describe una metodología química en el Test de Winkler. La manometría, se basa en el principio de extracción de gases del líquido y la medida de la presión del gas liberado. En 1951 se desarrolla la metodología de resonancia electrónica paramagnética. También se puso en marcha la cromatografía de gases sobre estas fechas, analizando las muestras gaseosas. No obstante, estas metodologías no son viables para la medida del oxígeno disuelto en bodega a tiempo real. En 1953 se describe la primera medida por reacciones electroquímicas, basadas en la diferencia

de potencial (electrodo de Clark) y en 1968 se usan los sensores luminiscentes basados en la capacidad de algunos materiales para emitir luz a diferentes longitudes de onda de la que reciben siempre que se encuentren en presencia de moléculas libres, es este caso de oxígeno, fenómeno llamado *amortiguación dinámica de la fluorescencia*. Estas dos últimas metodologías precisan de un calibrado, pero sus diseños se adaptan y actualmente se usan para la medida del oxígeno disuelto ²².

Un sensor luminiscente u óptico de oxígeno, detecta de manera rápida la cantidad de O₂ presente en el medio de medida. Es una metodología no destructiva, ya que no consume el oxígeno, no precisa de electrolitos, es decir, no se polariza, y no requiere de químicos, por lo que es ecológico. Este sensor se basa en un diodo emisor de luz (LED), y un fotodiodo más un filtro para cuantificar la luz emitida, esto está protegido por un material inerte que no interfiere con la muestra y sujeta la capa sensible de luz donde se encuentra la matriz polimérica y protegido por una capa de aislamiento óptico. Si no hay O₂ presente en la muestra no absorbe luz de excitación emitida por el LED, se transfiere a un nivel de energía más alto y emite luz nuevamente. Por consiguiente, si hay presencia de O₂, el polímero absorbe la luz de excitación, pero en su estado excitado de la molécula de oxígeno. La luz emitida es menor cuanto más oxígeno excitado. La luz de emisión se retrasa con respecto a la luz de excitación, el cambio de tiempo entre la excitación y la emisión de luz es independiente de la intensidad, por lo que es proporcional a la presión parcial de O₂ y actúa como una medida de la concentración de O₂. Por tanto, hay una relación no lineal entre la luz emitida/recibida y la concentración del analito. La amortiguación de fluorescencia se manifiesta en una reducción o quenching de la intensidad de fluorescencia, I, o en un cambio en los tiempos de vida que también se pueden medir, τ. Siguen una relación descrita por Stern-Volmer:

$$\frac{I_0}{I} = \frac{\tau_0}{\tau} = 1 + K_{SV} * [O_2] \quad \text{Ecuación 2}$$

Dónde: I: es la intensidad de luminiscencia en presencia de oxígeno $I = f([O_2])$; I₀, es la intensidad de luminiscencia en ausencia de oxígeno; K_{SV}, es la constante de Stern-

Volmer (cuantifica la frecuencia de excitación, es decir, la sensibilidad del sensor); τ es el tiempo de decaimiento de la luminiscencia en presencia de oxígeno; τ_0 el tiempo de decaimiento de la luminiscencia en ausencia de oxígeno y $[O_2]$, es la concentración de oxígeno. Por lo que se pueden decir que la señal es mayor a menor DO.

Este tipo de sensores ha sido ampliamente utilizado en muchos campos de análisis, ya que no altera la muestra y ofrecen una mayor señal, además destacar la progresiva miniaturización de los sensores. A diferencia de los electrodos electroquímicos, los sensores luminiscentes no necesitan consumir oxígeno para dar la señal eléctrica proporcional a la presión parcial de oxígeno en solución, por lo que no se altera la muestra. Además no precisan medir el fluido en movimiento, por lo que no necesitan que fluya el fluido, que podía suponer una fuente de contaminación. También resaltar que las celdas de Clark precisan de un tiempo para que se polarice la membrana, y de un equilibrio para medir de forma estable el oxígeno disuelto, además estas membranas han de sustituirse periódicamente, cosa que no es necesaria con los sistemas luminiscentes, que además permiten medir en diferentes puntos del proceso. Destacar que estos sensores se pueden encontrar de diferentes formas como spots, laminas, etc., lo cual facilita mucho la medida, estos sensores pueden ser portátiles y pueden recopilar datos, es una medida muy estable y permite una baja variabilidad, siempre y cuando se determinen parámetros externos como la luz ambiental ²³. En el campo de la enología también se han utilizado y adaptado las nuevas tecnologías en la medida del oxígeno disuelto.

En esta Tesis Doctoral se han utilizado dos tipos de sensores luminiscentes para la medida de oxígeno. El de tipo spot que se pega sobre una superficie transparente en contacto directo con el fluido a medir, permite así, la medida instantánea del oxígeno disuelto en ese punto, esto nos permitía validar la medida de los nanosensores disueltos en solución de vino modelo en el estudio de la dinámica de desgasificación de la madera y consumo de oxígeno por parte de los compuestos liberados, esto nos aportara una medida más amplia del sistema de estudio (**Capítulo I y II**).

Como segundo tipo se han utilizado nano-sensores sensibles al oxígeno que se disuelven en un fluido, son los sistemas luminiscentes más recientes y hasta el

momento se han aplicado en muchos campos de investigación, ya que son no invasivos y se pueden monitorizar con el mínimo contacto²⁴. Se encuentran diversos estudios en sistemas biológicos, en sistemas intracelulares²⁵⁻²⁷. En el campo de la enología ya se han utilizado nano sensores, más concretamente nano-biosensores para la detección de *Brettanomyces*²⁸. Con esta tecnología se han utilizado metodologías de obtención de imágenes ratiométricas de longitud de onda de un bajo coste²⁹. Se ha estudiado la dinámica de los corales³⁰. Los niveles de presión parcial de oxígeno a nivel celular^{26,27,31,32}. Flitsch, Ladner, Lukacs, & Büchs, 2016, demostraron que el uso de nano-partículas era mejor que el uso de spots, ya que los spots tienen la desventaja de medir únicamente en un punto fijo³³. En el **Capítulo I** se combina la utilización de nano-sensores sensibles al oxígeno y nano-sensores de referencia con una cámara RGB, para determinar la dinámica de oxígeno en la desgasificación de la madera y consumo de oxígeno por parte de los compuestos liberados por ella, como en los anteriores estudios los nanosensores permiten visualizar sistemas muy pequeños.

1.2.1 Medida OTR

El oxígeno juega un papel muy importante durante la crianza del vino en barricas de roble, regulando los procesos físico-químicos que se producen en este período. El conocimiento y control de este proceso exige la evaluación de los mecanismos de entrada de oxígeno y de los factores que definen la tasa de transferencia de oxígeno desde el exterior al interior de la barrica.

En la bibliografía se encuentran diversos trabajos centrados en la determinación del OTR, algunos ejemplos son la medida del OD, durante el envejecimiento en barricas de roble francés, americano y español, donde se destacan diferencias significativas donde las concentraciones de oxígeno eran superiores en el francés seguido por el americano y por último el español, no obstante con el paso del tiempo las concentraciones son similares en los tres tipos de barrica³⁴. El Grupo UVaMOX tiene un amplio conocimiento en estudios de seguimiento del OD. Nevaes y del Alamo, 2003, resaltan la importancia de la medición, sobre todo en los primeros días del proceso de envejecimiento, ya destacaban que la medición por luminiscencia era óptima para la implantación en el sector, en este trabajo obtuvieron que a mayor superficie de

contacto madera-vino mayor es el consumo de O_2 ³⁵. También han utilizado sensores electroquímicos, para el análisis de vinos envejecidos con micro-oxigenación en tanques con diferentes alternativas de madera, los cuales determinan la cantidad de oxígeno necesario para la obtención de un vino correcto³⁶.

Además, este grupo, mediante el uso de una cámara RGB y un sensor plano (2D) sensible al oxígeno, mediante una calibración radiométrica, basada en la descomposición de la imagen, para obtener una imagen de concentración de oxígeno⁸, la Figura 1, muestra el esquema utilizado en el ensayo, donde se obtienen resultados del efecto de la humectación en la disminución del paso del oxígeno³⁷, el coste de este experimento no es muy elevado por lo que es fácilmente reproducible.

Otros ejemplos de determinación de consumo con sensores son los utilizados en botella, donde se determina el consumo por parte de diferentes chips de origen y géneros de madera distintos³⁸, incluso se ha podido determinar la velocidad de consumo³⁹.

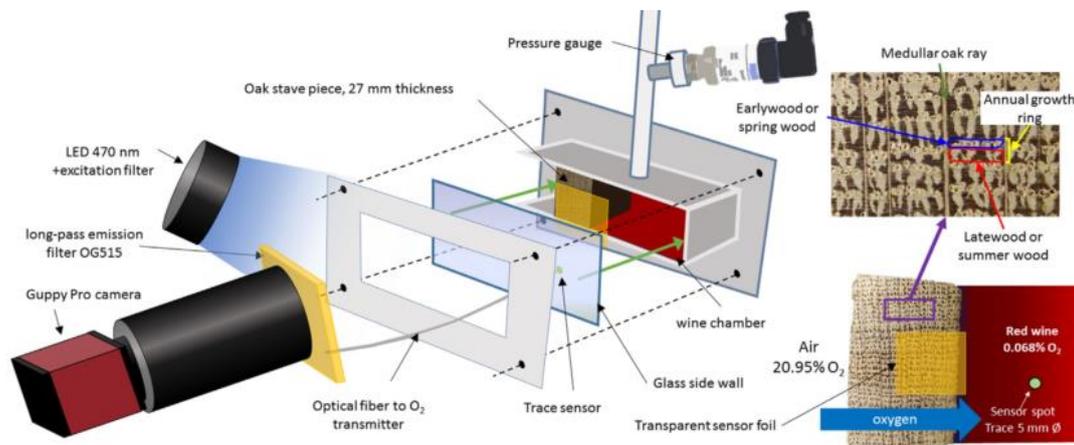


Figura 1. Sistema de simulación de barrica con el sensor plano³⁷

Los estudios citados hasta ahora resaltan la importancia de la medida del oxígeno, uno de los puntos clave de esta medida es durante el envejecimiento, ya que es un periodo de tiempo largo en el que se pueden dar modificaciones no deseadas. La madera es un material heterogéneo, como se describirá en los siguientes puntos, es de naturaleza muy distinta tanto física como química. Teniendo en cuenta esto, la anatomía de esta

también debe influir en el paso del oxígeno, es un material poroso y depende de muchos factores durante el crecimiento del árbol.

Es importante resaltar la estructura anatómica de la madera para un seguimiento del oxígeno más preciso. Por ello, el Grupo de investigación UVaMOX recientemente ha diseñado una metodología de clasificación de la madera no destructiva por análisis de imágenes para el reconocimiento de sus propiedades anatómicas que permite una oxigenación personalizada ^{40,41}.

En el **Capítulo II** de esta tesis doctoral, se presenta la construcción de barricas de alta y baja tasa de transferencia de oxígeno siguiendo la metodología mencionada ⁴¹. Por consiguiente, se clasificaron una cantidad de duelas representativa para la fabricación de barricas con tasa de transferencia de oxígeno personalizada y se analizaron las diferencias entre los lotes clasificados como alta tasa de transferencia de oxígeno y bajo OTR, monitorizando las diferentes barricas de análisis con sensores luminiscentes.

1.3. La madera de roble

Según la Real Academia de la lengua española se define el roble como: “árbol de la familia de las fagáceas, que tiene por lo común de 15 a 20 m de altura y llega a veces hasta 40, con tronco grueso y grandes ramas tortuosas, hojas perennes, casi sentadas, trasovadas, lampiñas y de margen lobulado, flores de color verde amarillento en amentos axilares, y por fruto bellotas pedunculadas, amargas. Su madera es dura, compacta, de color pardo amarillento y muy apreciada para construcciones”.

Dentro de la familia de las fagáceas, el roble pertenece al género *Quercus*, de entre los cuales, se distinguen 250 especies. Las características del roble van a depender de la especie y el tipo de clima de donde se encuentre ⁴². Las características físico-químicas y anatómicas de la madera de roble han permitido su utilización en diferentes sectores, como son el naval, la arquitectura civil y en el arte ⁴³.

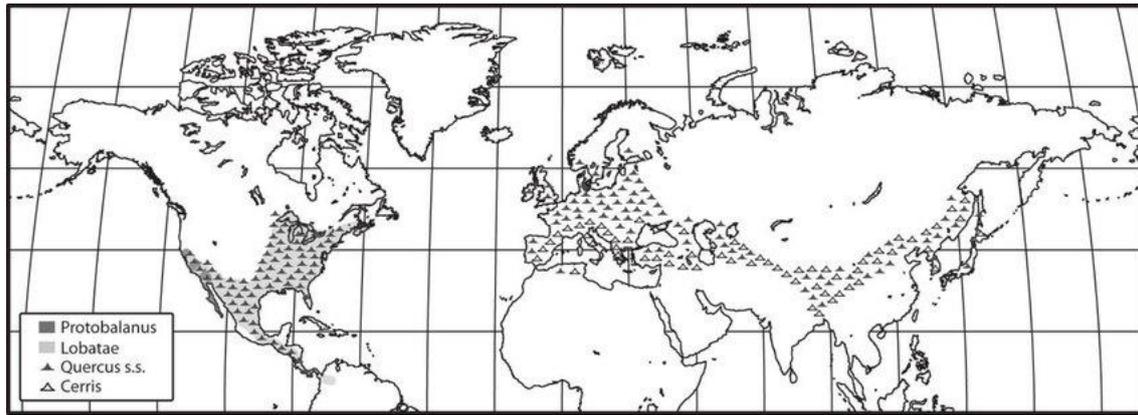


Figura 2. Distribución geográficas del género *Quercus* ⁴⁴

Los factores que pueden influir en la estructura y la composición química del roble son el origen botánico y geográfico. Las diferentes especies de roble se encuentran en la mayoría de las regiones templadas, tropicales y subtropicales del hemisferio norte (Figura 2). En Europa se encuentran 29 especies, siendo Francia el principal país productor, dentro de estas especies *Q. petraea* y *Q. robur* son las más utilizadas por las tonelerías ⁴⁵. España, también dispone de especies de roble en su territorio, *Quercus robur* en el noroeste y *Quercus petraea* en la zona noreste ⁴⁶. No obstante, existe la especie *Q. pyrenaica Willd.*, autóctona de la Península, esta madera aporta unos vinos de calidad entre la madera francesa y la americana ⁴⁷.

La industria tonelera, se centra en su mayoría a *Q. robur* y *Q. petraea* pertenecientes a bosques Europeos y *Q. alba* de los EEUU, debido a sus características físico-químicas, son las maderas escogidas por excelencia.

Existe una alta variabilidad entre las diferentes especies de roble en cuanto a sus características físico-químicas, incluso entre árboles que se encuentren en las mismas condiciones de origen y crecimiento ⁴⁸. Se han realizado diferentes estudios que comparan envejecimiento de vino en maderas de diferentes procedencias, roble español ((*Quercus robur*, *Quercus petraea*, *Quercus pyrenaica*, and *Quercus faginea*)), francés (*Q. robur* (Limousin, Francia) y *Q. petraea* (Allier, Francia)) y americano (*Quercus alba* (Missouri)), de los que destacan resultados favorables para la madera de roble española como *Q. pyrenaica* ^{47,49} y *Q. petraea* ⁵⁰.

Por otra parte, pese a que estas especies son las más utilizadas en los últimos años también se utilizan robles del este de Europa, (Rumania, Hungría, Rusia,...), esto se debe a que en Francia la relación madera disponible y fabricación de barricas está en desequilibrio. Esta madera tiene un coste menor, pese a pertenecer a la misma especie que el francés. Los estudios publicados, destacan diferencias con la madera del roble francés durante el envejecimiento del vino, como en la pérdida de antocianinas ⁵¹, otros destacan que el tostado es más importante que el origen ⁵², o estudios del aporte aromático que afirman que su contenido aporta aromas positivos al vino ⁵³. Por el contrario pese a que el roble recoge las condiciones óptimas para el envejecimiento de un vino de calidad se han desarrollado numerosos estudios con otros tipos de madera para el envejecimiento del vino, tales como el castaño, acacia y cerezo, en los cuales obtienen resultados bastante interesantes ⁵⁴⁻⁵⁹.

1.3.1. Estructura de la madera

La estructura de la madera del roble se puede visualizar en la Figura 3, se trata de la sección transversal de un tronco, donde se pueden diferenciar perfectamente las diferentes estructuras.

En el centro del tronco, la médula, está formada de tejido blando, donde a su alrededor se produce el primer crecimiento del tallo recién formado. De color más oscuro, el duramen, en este se encuentran las células muertas encargadas del soporte mecánico. En la zona exterior de la madera se encuentra la albura de menor espesor que el duramen, contiene las células encargadas almacenar y conducir la savia.

El Cambium o también conocido como anillos del crecimiento, es visible a simple vista, por ejemplo, en las zonas templadas en primavera y verano, se pueden diferenciar, ya que el crecimiento en verano es más denso, fibrosa, contiene vasos pequeños. En cambio, el crecimiento en primavera se diferencia por el color, este color se ve más claro debido a que contiene un número de vaso mayor y de mayor tamaño (Figura 3). La velocidad de crecimiento depende de la especie botánica, la zona geográfica y los tratamientos silvoculturales ⁶⁰.

La parte exterior se diferencia en la corteza interior, está conduce la savia elaborada desde las hojas hacia el resto del árbol y la corteza exterior, que protege al árbol de las adversidades climáticas ^{46,61,62}.

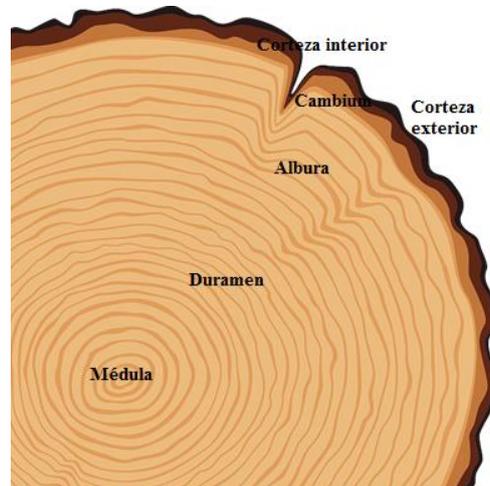


Figura 3. Esquema del corte transversal de un tronco de roble

En la Figura 3, como se ha comentado se pueden observar los anillos de crecimiento, o también conocido como grano ⁶¹. El grano se puede definir como fino, se da cuando el crecimiento es lento, la anchura es pequeña y predomina la madera de primavera por lo que hay una mayor porosidad. La proporción de anillos de verano y primavera influye en las características físico-químicas de la madera para la tonelería ⁶³.

La madera muestra una estructura tubular en dos sentidos, una formada por los vasos, parénquimas, traqueidas y fibras libriformes que se dispone en el eje del árbol, y otra secundaria, en sentido radial y perpendicular a las anteriores, se conocen por el nombre de radios leñosos. La composición química de los vasos está compuesta por lignina, y reforzada por celulosa y hemicelulosa. Esto da unas propiedades mecánicas ya que son estructuras resistentes a la tracción, por lo que se ven altamente relacionadas tanto en las propiedades mecánicas como físicas. Permiten una permeabilidad tanto al oxígeno como a la humedad (Figura 4) ⁸.

Otras estructuras pueden presentarse en la madera, como los nudos. El nudo es básicamente la parte del tronco donde nace la base de una rama. Éstos son un

problema a la hora de trabajar la duela para fabricar la barrica, pero se seleccionan las duelas para evitarlos, ya que afectan a las propiedades mecánicas, además estas estructuras tienen estructura anatómica similar a la del tronco, pero en sentido contrario, por lo tanto, constituida la duela, podrían darse fugas en la barrica.

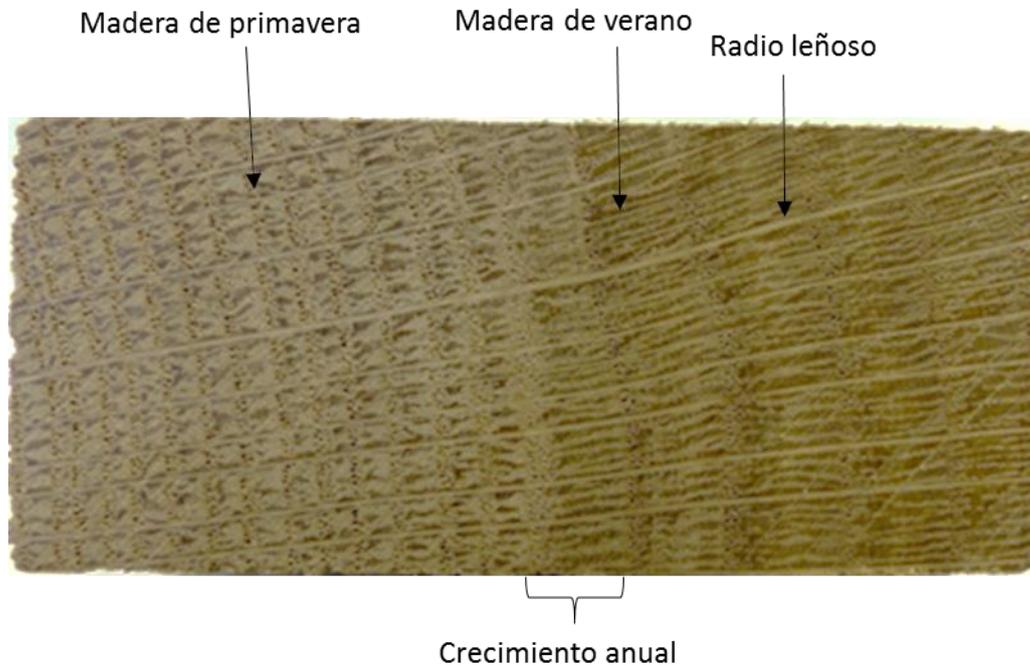


Figura 4. Corte transversal de madera de roble (*Q. petraea*), anillos de crecimiento (fotografía propia)

Las areoladas, simples y semiareoladas son las tres estructuras situadas en los vasos, también conocidas como punteaduras de paso, su misión es comunicar los vasos entre sí. En sentido longitudinal, los vasos se encargan de formar el tejido conductor del árbol, pudiendo estar parcialmente obstruidos en la duraminización por los tilos, siendo en esta especie, el roble, muy anchos y visibles en la madera de primavera^{46,62,64,65}.

1.3.2. Propiedades físicas

Hidalgo, 2003, en su libro Tratado de enología, describe que el roble por sus siguientes propiedades presenta la mejor combinación para el envejecimiento del vino en barrica de roble⁴⁶.

Los aspectos como el color de la madera son debidos a las sustancias que impregnan, estas varían según la especie, la edad y las condiciones en las que se encuentra en cuanto a clima y a la cantidad de nutrientes del suelo, este además puede variar con el tiempo. La anatomía de la madera se describe según la estructura, textura y grano, estas también vendrán acorde a las condiciones en las que se encuentre. La madera también se puede clasificar por su densidad, esta es acorde a la masa contenida en un determinado volumen, la madera de roble oscila entre 0,7-1,07 kg/L secada al aire.

La madera de roble además es porosa, esto permite que la madera sea permeable a líquidos y gases. Es importante la posición de la madera en cuanto a este parámetro, ya que la permeabilidad longitudinal es superior a la transversal. Por ello cuando se hiende la madera de roble francés para la construcción de barricas el corte es radial, porque la permeabilidad que interesa es la transversal. En cambio, la madera de roble americano se obtiene por aserrado ya que es mucho más densa y no tiene en cuenta la posición de los radios medulares.

Otra propiedad de la madera de roble debida a su porosidad es su baja conductividad térmica, no obstante, tiene una alta resistencia mecánica y es flexible, lo que permite la opción de curvarse sin que aparezcan roturas durante el montaje de las barricas.

1.3.3. Composición química

La composición química de la madera de roble también es diferente según la especie, el origen y los tratamientos y técnicas de la tonelería ⁶⁶. Así como las propiedades físicas de la madera de roble, la dotan de unas propiedades óptimas para la construcción de las barricas, la composición química del roble es el factor que condiciona la calidad enológica del vino. Durante el envejecimiento en barrica, el vino experimenta una serie de modificaciones que dan lugar a un cambio de las propiedades organolépticas, es decir, modifican el aroma y el gusto, al igual que la estabilidad del color. La madera permite el paso del oxígeno de una manera lenta y continua, a través de la madera y las uniones de las duelas de la barrica ³⁴, permitiendo

además de la cesión de compuestos , las reacciones entre los diversos compuestos durante este periodo de tiempo ⁶⁷.

En la composición química de la madera de roble previa al secado y tostado, se encuentran las macromoléculas, que representarían el 90% de la masa seca. También se encuentran los polisacáridos (celulosa y la hemicelulosa) y la lignina⁶⁸.

- La celulosa, es una macromolécula compuesta por unas 500 a 5.000 unidades monoméricas de D-glucosa unidas entre sí por enlaces β -1,4-glicosídicos. Las diferentes cadenas se unen mediante enlaces de hidrogeno, lo que da lugar a un material de gran rigidez, siendo así el soporte de las células vegetales. Las proporciones de este compuesto rondan el 41% ⁶⁸
- La hemicelulosa, representa aproximadamente un 20-25%, es un polímero más corto que la celulosa formada a partir de pentosas o hexosas distintas a la glucosa y que pueden ramificarse, dependiendo de la cantidad y proporción la madera será más dura o más blanda ⁶⁸
- La lignina, es un polímero polifenólico, que resulta de la unión de varios ácidos y alcoholes fenilpropílicos, amorfo y tridimensional, de estructura compleja que junto a las dos anteriores conforma la pared celular. Este compuesto permite el curvado de la madera. Además, la lignina, se ve implicada en la formación de compuestos como la vainillina y el aldehído síringico, que son compuestos destacables organolépticamente en vinos envejecidos en madera. Aproximadamente un 25.7% de la composición macromolecular está representada por la lignina ⁶⁸

El 10% restante lo representa los compuestos solubles extraíbles, la proporción de estos compuestos es muy variable, se encuentran mezclados con los anteriores, sin embargo, no tienen función estructural. Alrededor del 75% de estos compuestos son cedidos al vino durante el primer año del envejecimiento en barrica de roble, esto se subdivide en compuestos tánicos y no tánicos. La proporción que se extraiga tendrá un gran efecto en la percepción organoléptica.

- Compuestos tánicos

Los taninos se pueden clasificar en condensados e hidrolizables. Los taninos condensados o taninos proantocianidínicos, son polímeros oligómeros y polímeros de flavonoles, estos son poco frecuentes en las especies de roble, sin embargo, si en la semillas y piel de las uvas ⁶⁹. Los taninos hidrolizables se clasifican en galotaninos y elagitaninos, el término hidrolizable se refiere a la capacidad de hidrolizarse y liberar ácido gálico y ácido elágico, respectivamente ⁷⁰.

Los elagitaninos son los compuestos mayoritarios en los extractos de madera de roble ⁷¹. Su contenido también varía según la especie, la edad y los tratamientos. Se han identificado hasta ocho estructuras diferentes: vescalagina, castalagina, grandina, roburina A, B, C, D y E. Cuantitativamente la vescalagina y la castalagina son los mayoritarios seguidos por la grandinina y la roburina E ⁷²⁻⁷⁴.

De las diferentes partes descritas anteriormente, la madera de verano es la más rica en elagitaninos, y el contenido en robles americanos es inferior a los europeos ^{18,74,75}. Dentro de las especies europeas también se encuentran diferencias, por ejemplo, de las dos especies más utilizadas para la construcción de barricas, observaron que la concentración *Q. petraea* era inferior que la de *Q. robur* ⁷⁶. Jordao, Manuel, & Laureano, 2007, en sus estudios confirman que el tostado influye en la concentración de los elagitaninos, causando su descomposición.

Los elagitaninos (Figura 5), son solubles en soluciones hidroalcohólicas, es por ello que pueden ser extraídos progresivamente por el vino durante el envejecimiento en barrica. Estos compuestos contribuyen a propiedades de la madera como son el color, sabor y de resistencia a la descomposición ^{18,78,79}.

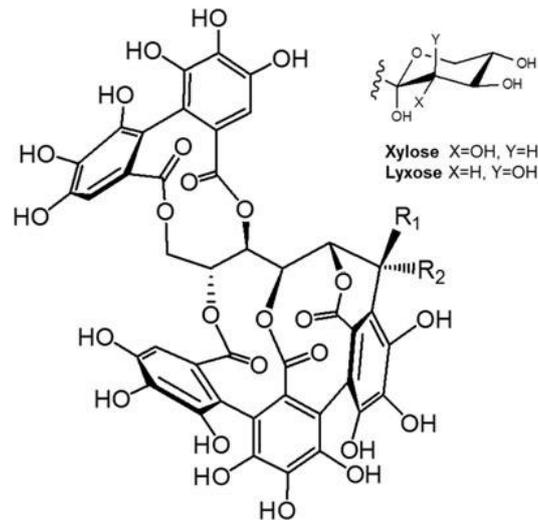


Figura 5. Estructura de los principales elagitaninos del roble: castalagina ($R_1=H$, $R_2=OH$), vescalagina ($R_1=OH$, $R_2=H$), grandinina ($R_1=lyxose$, $R_2=H$) y roburin E ($R_1=xylose$, $R_2=H$)⁷⁴

- Compuestos no tánicos

- Ácidos fenólicos

Se encuentran los ácidos benzoicos y los cinámicos, participan en la formación de ligninas, taninos y cumarinas. Los principales son el ácido gálico y el elágico, ambos tienen contribución organoléptica. Los ácidos fenólicos tienen efectos positivos para la salud, son antioxidantes, es por ello que se considera que el vino tiene beneficios para la salud⁸⁰.



| | Radical 1 | Radical 2 | Radical 3 | Radical 4 | |
|-------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|
| p-hidroxibenzoico | H | H | OH | H | p-cumárico |
| Protocateico | H | OH | OH | H | Cafeico |
| Vainillínico | H | OCH3 | OH | H | Ferúlico |
| Gálico | H | OH | OH | OH | |
| Siringico | H | OCH3 | OH | OCH3 | Sináptico |
| Salicílico | OH | H | H | H | |
| Gentísico | OH | H | H | OH | |

Figura 6. Estructura química de los ácidos fenoles

- Aldehídos fenólicos y fenil cetonas

En esta familia se pueden clasificar dos compuestos basados en estructuras hidroxibenzoicas, es decir, la vainillina y el siringaldehído, y dos compuestos hidroxicinámicos, el coniferaldehído y el sinapaldehído. Proceden de la lignina de la madera y presentan una estructura química compleja ⁸¹. Estos compuestos se encuentran en un promedio de 10 µg/g de madera seca según la especie ⁸². Los aldehídos fenólicos como los ácidos fenólicos aumentan su concentración con los tratamientos de la madera para la construcción de barricas ⁷⁵. Tienen un gran impacto a nivel de aroma, por lo que son útiles para la evaluación de las bebidas envejecidas.

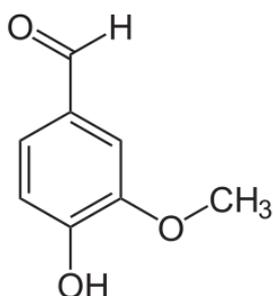


Figura 7. Estructura química vainillina

- Cumarinas

Son derivados de los ácidos hidroxicinámicos (Figura 6), permiten la defensa de la planta de los ataques externos. La concentración en vino depende de la especie y del tipo de tratamiento de la madera, puede llegar a 100 µg/L. En el vino estos compuestos contribuyen al amargor⁸³.

- Derivados furánicos

Estos compuestos proceden de los polisacáridos de la madera. Durante el tostado de la madera de roble, se produce la reacción de Maillard, se descomponen los carbohidratos bajo las altas temperaturas y la deshidratación, obteniéndose los furanos y otros heterociclos volátiles (furfural, 5-metilfurfural y 5-hidroximetilfurfural). Estos compuestos no son los más aromáticos, pero realzan el aroma de otros, como el de la lactona⁸⁴.

- Ácido acético

Este compuesto también tiene origen en la hemicelulosa, ya que esta presenta grupos acetilo en su estructura y durante el tostado, se hidrolizan dando lugar al ácido acético libre, esto aumenta la acidez volátil en los vinos envejecidos en madera.

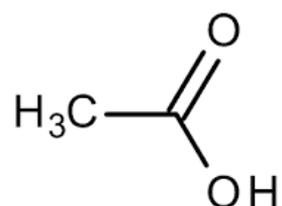


Figura 8. Estructura química ácido acético

- Fenoles volátiles

Proceden de la termodegradación de la lignina, durante el tostado de la madera, son compuestos altamente aromáticos, también pueden proceder de la descarboxilación enzimática o térmica del ácido cinámico. Algunos de estos compuestos son guayacol, 4-metilguayacol, isoeugenol, eugenol, 4-vinilguayacol, siringol, etc. La concentración de estos compuestos presente en el vino durante el envejecimiento depende del tiempo de contacto vino-madera y del origen y tratamiento de la misma⁸⁴.

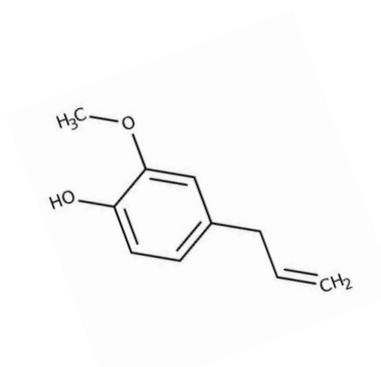


Figura 9. Estructura química eugenol

- β -metil- γ -octolactonas

Estos proceden de la degradación térmica de los lípidos. La concentración como en los casos anteriores dependerá del grado de tostado que se le dé a la madera. Aportan aromas a coco a los vinos envejecidos, donde la forma cis es mucho más aromática que la trans⁸⁵. La concentración de este compuesto varía según la especie y se encuentra entre los valores de 0.5 y 77.9 $\mu\text{g/g}$ de madera seca⁸⁶.

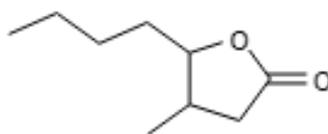


Figura 10. Estructura química β -metil- γ -octolactona

- Fracción mineral

Se pueden identificar diferentes elementos en la madera como son el calcio, potasio, manganeso, sílice, hierro, etc.⁸⁷, éstos pueden ser cedidos al vino y catalizar las diferentes reacciones de oxidación que se dan en el vino.

1.4. Construcción de barricas

Antes del uso de barricas, el vino viajaba en ánforas de barro, posteriormente, los fenicios transformaron los recipientes hacia volúmenes más pequeños, manejables por

una o dos personas, y contruidos con materiales más resistentes. Finalmente se substituyó el barro por toneles de madera.

Los celtas, fueron los primeros en perfeccionar el trabajo de la madera para la construcción de recipientes óptimos para transporte y conservación, ahuecando trozos de tronco y poniéndoles una tapa. Posteriormente, consiguieron la perfecta estanquidad formando las ahora conocidas duelas y uniéndolos con aros de mimbre o de madera. En resumidas cuentas, la fabricación de barricas es un arte que se ha forjado a lo largo de los siglos gracias al trabajo de los toneleros. La mecanización en la fabricación de barricas ha ido poco a poco relegando a la barrica artesanal.

La fabricación de barricas es un proceso importante que influirá en gran parte en la elaboración de un vino de calidad. Las propiedades físico-químicas de la madera condicionan la evolución de los vinos.

Uno de los principales retos de las tonelerías y las bodegas es la búsqueda de elementos diferenciadores, para poder obtener un producto de mayor calidad y con un impacto en el mercado. Es por ello que se implementan nuevas técnicas continuamente en las tonelerías con el fin de desmarcarse de sus competidores, como es un ejemplo la Tonelería Radoux, la cual lleva numerosos planes de investigación para mejorar técnicas durante la producción de barricas y así ajustarse a las necesidades de sus clientes. El proceso para la fabricación de barricas es el siguiente.

1.4.1. Selección y corte de la madera

Para la construcción de las barricas hay que tener diversos factores, el primero es la selección de la madera, centrándonos en el roble. De hecho, la madera que se destina a la tonelería para la construcción de barricas debe cumplir unos criterios, tales como: plasticidad al aplicar fuego/calor, permeable a los gases pero no a los líquidos, cesión de moléculas aromáticas, que aportan aromas como la vainilla, el coco, el ahumado o el tostado y de sabor aportando astringencia y poca amargura, protección térmica y buenas propiedades mecánicas. Por ello una de las mejores maderas es la del género *Quercus*, pese a que también se utilizan otras maderas como por ejemplo de castaño.

La selección inicial del árbol se hace únicamente por su apariencia exterior. Una vez seleccionada la madera/árbol, de acuerdo con las características fisicoquímicas que se deseen. Una vez talado se reservan las partes del árbol sin nudos para evitar pérdidas de líquido y oxidación a través de ellos. Se utiliza la parte baja del tronco, es decir, la parte libre de ramas, y se cortan secciones entre 35-50cm. El tipo de corte que se aplica es una de las primeras diferencias entre las distintas especies de roble destinados a la construcción de barricas. En la madera de *Quercus alba* se aplica el aserrado, es un tipo de corte realizado con sierra mecánica donde se obtienen tablones con los radios medulares oblicuos a la superficie de contacto. Se logra un mayor rendimiento que el hendido, además permitir que el vino entre ampliamente en la madera siendo fuerte la impregnación y cesión de taninos. En lo que respecta al roble europeo, el tronco se le aplica el hendido, es decir el corte coincide con el radio medular.

1.4.2. Secado de la madera

Formadas las duelas en bruto, permanecen apiladas a la intemperie entre dos y tres años (*Figura 11*). A esto se le denomina secado natural, la madera reduce su humedad de un 35-60% a un 12-18%. Durante el tiempo de secado la madera experimenta procesos de deshidratación, rehidratación y humedad constante, que aseguran así una firmeza de la madera. Este secado disminuye el amargor y la astringencia que le aporta la madera a los vinos envejecidos, hay una disminución de los elagitaninos de la madera y aumento de las propiedades aromáticas ^{88,89}. El secado natural es el más utilizado y consiste en apilar las duelas a la intemperie durante un periodo de entre dieciocho y treinta y seis meses. Las duelas están expuestas a las lluvias, los riesgos abundantes, la variación de las temperaturas y las radiaciones UV favorecen este proceso, ya que se dan reacciones bioquímicas, se desarrolla una actividad fúngica en la superficie de las duelas que produce la degradación enzimática de muchos compuestos y la formación de otros.

El secado natural supone un coste elevado, ya que se necesita un gran espacio para tenerlas a la intemperie e inmobilizadas durante largos periodos de tiempo. Por ello existen otros tipos de secado, el mixto, tiene una etapa de secado natural y una fase

final de secado al horno a la temperatura y humedad adecuadas para la madera. Y por otro lado el secado artificial de la madera que se realiza en el horno en condiciones adecuadas para la madera en un tiempo reducido. Con estos dos últimos métodos se evita que la madera esté inmovilizada, pero no se obtienen las mismas modificaciones sensoriales que aporta el secado natural⁸⁹.



Figura 11. Proceso de secado de la madera de roble, apiladas a la intemperie

1.4.3. Curvado, tostado y construcción barrica

Para obtener las duelas en forma de huso y curvadas y se realiza el bojado de la duela bruta. El espesor de la duela ronda entre los 22 y 30 mm y de la misma longitud (960 mm). Para fabricar una barrica se necesitan entre 29-36 duelas. Seguidamente se colocan en forma de campana sujeta en la parte superior por un aro metálico, denominado molde.

A continuación, se procede al domado, donde se da la forma definitiva a la barrica, se aplica calor, mediante llama de un brasero, donde permanecen calentándose y humedeciéndose, las condiciones de calor y humedad han de ser óptimas para evitar que la madera, ya que se puede correr el riesgo de que las duelas se partan. Esto

permite que los compuestos como lignina, celulosa y hemicelulosa aporten flexibilidad a la madera, ya que son compuestos termoplásticos.

Una vez dada la forma se colocan otros dos aros para conservar la forma y se aplica un segundo calentamiento, este punto es crítico ya que determina el tostado de la duela, el cual aporta diferentes matices durante el envejecimiento del vino. En este punto aumentan la formación de sustancias aromáticas, y las cualidades dependerán de la intensidad de tostado, el tiempo mínimo de tostado es aproximadamente de 20 min según la tonelería. Se diferencian entre tostado ligero, medio o alto, diferente para cada tonelería⁹⁰. Las reacciones que se dan en este proceso son: termodegradación de los polisacáridos; la termodegradación de la lignina; degradación de los lípidos y la degradación de los elagitaninos.

Una vez tostado, se procede al reajuste de los aros para que tome la forma definitiva y se ponen los fondos. Los fondos de la barrica se hacen con duelas más cortas y rectas, se clavan con clavos de acero inoxidable de doble punta o con la propia madera a la barrica y entre ellos, según la tonelería. Se hace una incisión en el interior de las duelas que conforman la panza de la barrica, se quitan los aros de moldeo y se ponen las tapas o se aprietan. El siguiente paso en la construcción, sería hacer el agujero o esquite en una duela ancha que forma la panza y se limpia la barrica.

Por último, se ha de verificar la estanqueidad de la barrica, para ello a través del esquite se llena con un poco de agua caliente y se llena con aire a sobrepresión y se cierra con el tapón. Así se comprueban las posibles fisuras.

En 1995, Vivas⁶¹, describe que existe una relación entre el grano y la composición química. Giordanengo, 2009⁹¹, propuso un procedimiento de medida no destructivo (OAKSCAN®) para la clasificación de la duela de madera según su contenido polifenólico, con la ayuda de la tecnología NIRS (espectroscopia de infrarrojo cercano). No obstante, trabajos posteriores que avalan esta última clasificación, trabajan con dos tipos de géneros de madera, *Quercus robur* y *Quercus petraea*, ambos tienen composiciones químicas y anatómicas diferentes, por lo que es normal la obtención de barricas con diferente porcentaje de extraíbles de la madera al vino⁸⁵. Por demás,

consideran una relación directa entre tamaño del grano con la cantidad de extracción de elagitaninos al vino ⁹². Estos autores describen que el efecto del oxígeno decrece a los 8 días de contacto del vino con la madera, concluyendo con que a mayor concentración de elagitaninos mayor es el consumo de oxígeno ⁷⁹.

Uno de los factores en los que se centra esta tesis es la permeabilidad a los gases, y que anteriormente se ha citado su importancia durante el envejecimiento. La tasa de transmisión de oxígeno (OTR), es una de las características importantes de la madera, pero no se tiene en cuenta durante el proceso de construcción de las barricas. Un trabajo previo del grupo UVaMOX ⁴¹, describe una metodología de clasificación de las duelas de madera de una manera no destructiva según las características anatómicas de la madera, para obtener duelas con alta o baja tasa de transferencia de oxígeno. En este trabajo se utiliza esta metodología para la construcción de dieciséis barricas, ocho de alto OTR, ocho de bajo OTR y cuatro barricas control, construidas por el procedimiento habitual. Esta clasificación nos permite una trazabilidad sobre las duelas de las barricas clasificadas, y además permite la comparación con barricas construidas de manera tradicional. Además, la procedencia, origen, género y lote de madera es la misma.

1.5. La barrica como recipiente

El tonel y la barrica de madera han sido desde hace siglos el recipiente empleado para la vinificación y crianza, dadas sus múltiples cualidades para la conservación de los vinos e incluso el transporte de vino. Estas se utilizaron para sustituir el uso de los recipientes de barro, ya que eran frágiles, pesados y difíciles de transportar ⁶², mientras que la madera es un material resistente, duradero y flexible.

Se conocen diferentes tipos de crianza para los vinos y varían según el envase en el que se realice. Se pueden diferenciar tres tipos de crianza. La crianza oxidativa, se realiza en barricas de madera, durante largos tiempos en condiciones de oxidación, es típica de los vinos de Jerez o los de Oporto. La reductora, el vino se encuentra en depósitos herméticos y en botellas, en ausencia de aire, se encuentran muchos vinos

de variedades blancas. Por último, la crianza mixta, en esta se combina un envejecimiento oxidativo en barricas, seguido por un periodo de crianza reductora en botella, se encuentran vinos de diferentes Denominación de Origen. No obstante también se encuentran envejecimientos mixtos con nuevos tanques como los de polietileno, donde se obtienen unos resultados de OTR similares a los de una barrica nueva⁹³.

En esta Tesis Doctoral, se le ha dado especial importancia al envejecimiento en barrica de roble, por lo que es importante describir las diferentes modificaciones que se dan durante este periodo de tiempo. La crianza en barrica se podría definir como la etapa para armonizar el vino.

El tiempo de crianza de vinos puede variar. El enólogo decide para qué lo quiere destinar, existe una legislación que lo regula, siempre puede variar según la Denominación de Origen. Pero por lo general un vino Crianza suele permanecer 24 meses en bodega de los cuales 6 meses son en barrica. El vino Reserva pasa 36 meses en bodega de los cuales 12 son en barrica. Por último, el Gran Reserva, queda los 36 meses en bodega, 24 son en barrica. Estos tiempos producen unas transformaciones físicas, químicas y biológicas, que mejoran la estabilidad de los vinos.

La madera permite una cesión lenta del oxígeno en el vino y una pérdida de vino a través de esta debido a que es un material poroso que permite el intercambio gaseoso entre el vino y el oxígeno presente en la atmósfera y además se humedece al contacto con el vino. El oxígeno favorece procesos de oxidación, en los que se verán implicados compuestos fenólicos que resultan en unas modificaciones organolépticas.

La cesión de compuestos por parte de la madera al vino, por una parte, aporta taninos que como se ha mencionado en el apartado sobre la composición química, aumentando el cuerpo del vino y le dan carácter (amargor y astringencia), y la cesión de compuestos aromáticos y volátiles que dan la complejidad. Por último, en la barrica durante el envejecimiento también se producen precipitaciones, ya sea de material colorante, tartratos, levaduras, bacterias, taninos y proteínas.

Las reacciones y modificaciones que se producen en el vino durante el proceso de envejecimiento pueden afectar tanto al color, al sabor y al olor, uno de los principales protagonistas en estos cambios es el oxígeno. Anteriormente se ha mencionado que una sobreexposición del vino al O₂ puede acarrear consecuencias negativas. Se han de tener en cuenta factores como el tipo de uva utilizada, los trabajos en bodega tales como por ejemplo el trasiego, el bazuqueo, también las condiciones de humedad y temperatura y el tipo de bodega que se utiliza, si es nueva o tiene varios usos.

Es conocido que el oxígeno atmosférico alcanza al vino de una bodega por la propia madera espacio y por las uniones entre las diferentes piezas de madera, con unos OTRs de 8-12 mg/L*año³, además se encuentra en equilibrio con el vino en el espacio de cabeza ya que como se ha mencionado, parte del vino se evapora. Además, es catalizador en reacciones de polimerización de taninos y antocianos, lo que lleva a una estabilización del color, precipitaciones y una disminución de la astringencia, aunque es importante conocer la cantidad de oxígeno para regular al máximo todos estos fenómenos, se encuentran estudios en la bibliografía.

El aporte de oxígeno es pequeño aunque es importante para conseguir un equilibrio entre el oxígeno que entra y el que se consume⁸. Es importante el control de diferentes parámetros que pueden afectar a la disolución del oxígeno en el vino. La adición de SO₂ (anhídrido sulfuroso), influye en el consumo de oxígeno. En mostos el consumo de oxígeno desciende al añadirlo, pues este no tiene efecto anti-oxidante, ya que antes inhibe la oxidación enzimática. También se dan oxidaciones químicas, la forma de sulfito del SO₂, puede reaccionar con el O₂, disminuyendo así el SO₂ libre, pero en condiciones de temperatura y humedad óptimas el descenso es moderado⁹⁴.

La temperatura también es un parámetro a tener en cuenta, ya que influye en la disolución del oxígeno y en la velocidad de las reacciones, con una mayor disolución de oxígeno a una menor temperatura⁹⁵. La temperatura óptima para un adecuado equilibrio con el oxígeno esta alrededor de los 16°C. Los tanques y bodegas han de estar llenos hasta arriba ya que el espacio de cabeza puede conducir a una

acumulación de oxígeno incluso a un crecimiento de bacterias acéticas ⁹⁴. A temperaturas entre 5-35°C la cantidad de oxígeno necesaria para saturar el vino, utilizando micro-oxigenación, cae de 1,5 mg/L a 5,6 mg/L ⁹⁶.

Conocer la anatomía de la madera es importante pese que a ser un material poco reproducible puede establecerse una metodología para minimizar los riesgos de una sobreexposición o si más no poder establecer más rigurosamente la cantidad de oxígeno deseada. Giordanengo, 2009 ⁹¹, establece una metodología (Oakscan®) de clasificación de la madera según su índice de polifenoles. Estudios más recientes, establecen que utilizando esta metodología es posible relacionar el oxígeno con la cantidad de elagitaninos ⁷⁹, no obstante, utilizan dos especies de roble, *Quercus robur* y *petraea*, es difícil relacionar ya que la estructura anatómica y la composición es muy distinta. Más recientemente, el grupo UVaMOX, establece una metodología donde sólo se tiene en cuenta la estructura anatómica de la madera, por lo que el enólogo podría decidir que OTR por año desea y construir barricas personalizadas⁴¹.

1.6. Envejecimiento de vinos tintos en barrica

Durante el envejecimiento del vino en barrica se producen transformaciones físicas, químicas y biológicas, que mejoran la estabilidad de los vinos, todo esto va a depender de la interacción aire-madera-vino, las características del vino y las propiedades de la madera, además de las condiciones ambientales durante la crianza ^{45,46}.

El vino es una solución alcohólica compleja, compuesta por diferentes compuestos, y en el caso de los vinos tintos, se encuentran los compuestos fenólicos, que son responsables de muchas de las propiedades sensoriales del vino. Además tienen propiedades beneficiosas para la salud ya que tienen efectos bactericidas y antioxidantes ^{97,98}.

Los compuestos fenólicos se caracterizan por presentar un anillo bencénico en su estructura química con uno o varios grupos hidroxilo. La composición fenólica depende de la uva y de los procesos de vinificación que determinan la extracción al mosto y las

reacciones que se generen. Se pueden clasificar de diferentes maneras, suelen dividirse en flavonoides y no flavonoides ⁶².

1.6.1. Compuestos fenólicos: flavonoides

La estructura química de estos compuestos es C₆-C₃-C₆ ⁹⁹. Se encuentran en hollejo, semillas y raspón de las uvas. En este grupo se encuentran:

- Flavonoles, flavonoles y flavonas

Son los responsables del color amarillo de la piel de las uvas, es decir se encuentran en el hollejo. Los principales flavonoles son kaemferol, quercitina, miricetina y la isoramnetina. Estos compuestos pueden encontrarse en forma de aglicona o de heterósido ⁶².

Los flavanoles y flavonas presentan una estructura similar pero no poseen el doble enlace en el heterociclo. Se encuentran la astilbina y la engelatina.

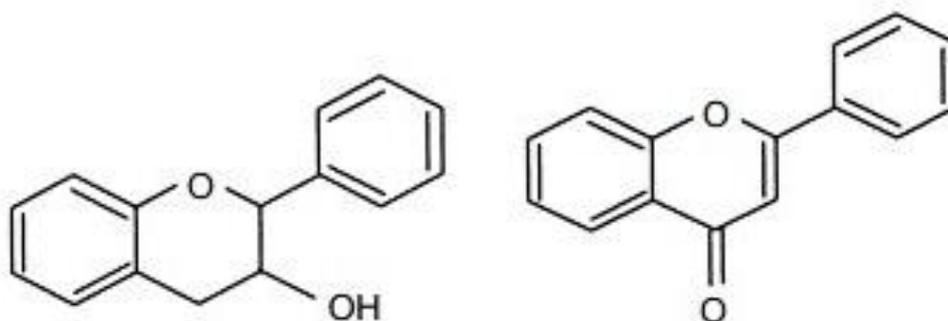


Figura 12. Estructura química flavanol (izquierda) y estructura química flavona (derecha)

- Flavonoles

Se encuentran en semillas, aunque se han detectado trazas en la pulpa, se encuentran en forma de monómeros y poco polimerizados, la familia está formada por formas isoméricas de la catequina. Se pueden dividir en catequinas ((+)-catequina, (-)-

epicatequina, la galocatequina y la epilgacatequina), estos tienen alta reactividad de polimerización, especialmente formando complejos en la copigmentación con antocianos. Y por otro lado, los taninos condensados o procianidinas, estos son polímeros de flavanoles (C_4-C_8 o C_4-C_6), y son los responsables del sabor amargo y la astringencia y aportan color y cuerpo al vino¹⁰⁰.

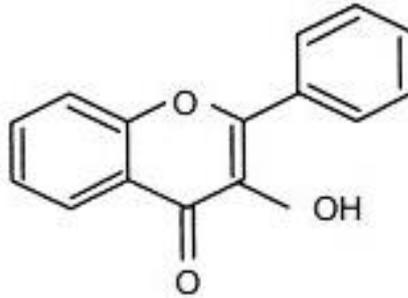


Figura 13. Estructura química flavanol

- Antocianos

Son los pigmentos naturales de la uva tinta, éstos son un compuesto fenólico, solubles contenidos en los hollejos de la uva, dentro de las vacuolas, y en variedades tintoreras también se pueden encontrar en la pulpa. La mayor parte de estos compuestos pasa al mosto y al vino durante la maceración, siendo los principales responsables del color del vino.

La concentración de estos compuestos varía entre 500 y 3000 mg/kg según la especie de uva ¹⁰¹. *Vitis vinífera*, es la principal vid en la elaboración de vino se distinguen cinco antocianos, cianidina, peonidina, delphinidina, petunidina y malvidina, esta última es la mayoritaria (Figura 15). Estas moléculas están asociadas a una molécula de glucosa, en vino se pueden hidrolizar a sus correspondientes formas agliconas, éstas son fácilmente degradables.

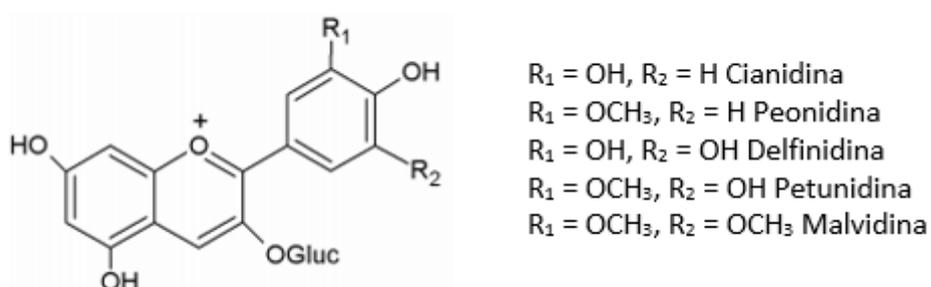


Figura 15. Estructura antocianos monoméricos

El color de los antocianos depende del pH de la solución (Figura 16), entre otros parámetros. Se pueden encontrar a los antocianos en forma de catión flavilio (aumenta en pH ácidos), ésta es de color rojo, la base quinoidal, de color azul-violáceo, la pseudo-base carbinol, ésta es incolora y la base calcona que es de color amarillo ¹⁰². Estas formas coexisten en el vino que tiene un pH entre 3.2 y 4.5 ¹⁰³.

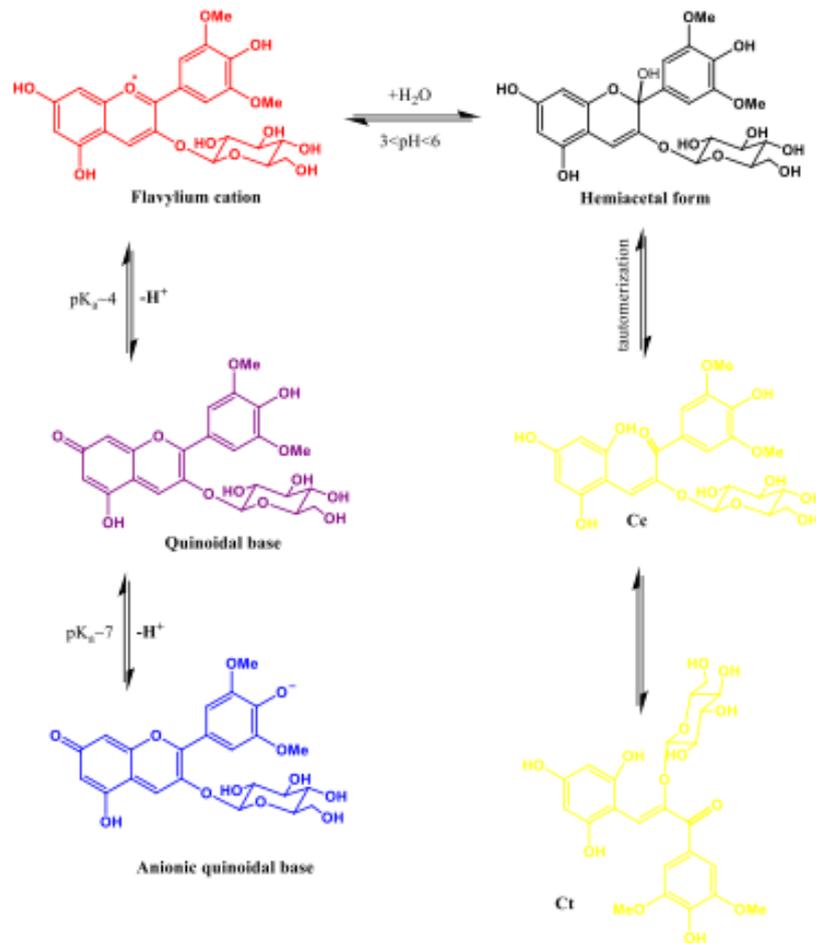


Figura 16. Reacciones de equilibrio de los antocianos en solución acuosa a diferentes pH¹⁰²

1.6.2. Compuestos fenólicos: no flavonoides

Dentro de esta familia de compuestos se encuentran los ácidos fenólicos y los estilbenos. Conocidos como compuestos de bajo peso molecular ya que su estructura se basa en un anillo bencénico, que puede estar sustituido con una cadena alifática de hasta tres átomos de carbón, y está a la vez puede estar sustituida por otro anillo bencénico en el carbono termina.

- Dentro de los ácidos fenólicos se encuentran los ácidos benzoicos, que se encuentran en hollejo y pepitas de la uva, son ejemplos el ácido gálico, el protocatéquico, el siríngico, gentísico y vainillínico. Y los ácidos cinámicos que se encuentran en las vacuolas de las células del hollejo y de la pulpa, se encuentran el ácido caféico, p-cumárico, sinápico y ferúlico.

- Los estilbenos, estos compuestos se encuentran en las uvas tintas con unas concentraciones de hasta 10 mg/L. Tienen dos bencenos en su estructura química unidos generalmente por una cadena de etanol o etileno ⁷⁰. Dentro de los estilbenos el más importante es el resveratrol por sus beneficios para la salud humana.

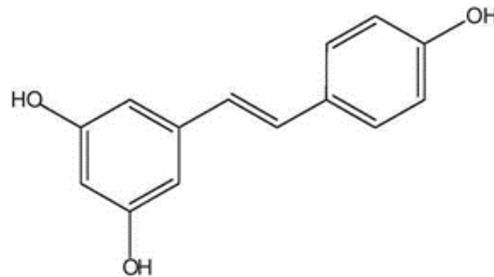


Figura 17. Estructura química resveratrol

Diferentes fenómenos se dan en el vino durante el envejecimiento del vino que como se ha mencionado modifican las propiedades del vino. El vino ya antes de entrar en barrica es una solución compleja con una serie de compuestos.

1.6.3. Evolución de los compuestos presentes en el vino

Durante la vinificación del vino diferentes procesos pueden determinar la extracción de los compuestos fenólicos. La madurez de la uva una vez cosechada es uno de los factores principales, también hay que tener en cuenta las técnicas enológicas empleadas para favorecer su extracción, dentro de estos tratamientos destacan; el remontado (bombeo del mosto/vino desde el fondo para mojar el sombrero), el bazuqueo (hundir el sombrero de forma manual o mecánica), la inundación (dejar caer el sombrero de golpe), el *délestage* (vaciar el líquido del depósito y tras dos horas, dejarlo caer sobre el sombrero) y por último el sombrero sumergido mediante el uso de una malla dentro del depósito.

La temperatura también es un factor importante, contribuye a la degradación de los tejidos del hollejo y las semillas, favorece las reacciones químicas que incrementan el color y la estabilidad. Otro factor determinante es el tiempo, el tiempo de maceración del vino será el determinante de la extracción de los compuestos fenólicos.

Durante la crianza de los vinos tintos se producen también una serie de modificaciones que van a depender de cada vino y de las condiciones de conservación a continuación se describen las modificaciones de color, aromáticas y gustativas.

1.6.3.1. Modificaciones del color

El color de los vinos tintos es uno de los primeros parámetros percibidos por el consumidor. Durante el envejecimiento, el color de los vinos pasa de un color rojo-violeta a rojo-anaranjado debido a diversas reacciones. Como se ha destacado anteriormente los antocianos son los compuestos responsables del color del vino tinto, su cantidad va a depender de la variedad de uva, tipo de elaboración del vino, y las condiciones de conservación. Estos compuestos pueden degradarse y esta pérdida puede deberse a:

- Degradación térmica de los antocianos:

Las altas temperaturas pueden transformar las calconas de color rojo en amarillas y posteriormente en ácidos fenólicos incoloros. Este es un proceso irreversible lo cual produce una pérdida de color de los vinos tintos.

- Degradación oxidativa de los antocianos

En presencia de etanol y con catalizadores como la luz o el oxígeno se puede presenciar una pérdida de antocianos. Un incremento de la oxidación del vino durante el envejecimiento puede provocar cambios en la calidad y la estabilidad del color del vino. No obstante, la presencia del oxígeno o de agentes oxidantes es necesaria para la recuperación del color ¹¹. El oxígeno está involucrado en la formación de pigmentos poliméricos de los antocianos. Además el tipo de bodega o depósito escogido para la conservación del vino puede influir en el color de los vinos ¹⁰⁴.

La entrada del oxígeno durante la crianza del vino tinto permite que compuestos como el ácido gálico, ferúlico, vainillílico, siríngico y elálgico, y los taninos se cedan al vino. Esto aumenta los aromas de madera del vino y además se dan una serie de reacciones con

los compuestos fenólicos del vino como los elagitaninos con los antocianos, modificando los compuestos presentes en el vino ¹⁰⁵. La penetración del oxígeno, como se ha mencionado varía según la especie de roble usada, esto influye en la concentración de antocianos siendo mayor la pérdida de antocianos del vino en envejecimiento en madera de robles húngaro es mayor que la pérdida en madera de robles americano o francés ¹⁰⁶. Con alternativos de madera la pérdida de antocianos monoméricos es más rápida, y se observa una mayor polimerización frente al envejecimiento en barricas, esto puede desencadenar en una pérdida de color más rápida ⁵¹.

- La copigmentación

La copigmentación es un fenómeno que no solo incrementa el color del vino, sino que también puede modificar la tonalidad debido a desplazamientos hipsocrómicos y batocrómicos, es decir, desplazamiento de la longitud de onda hacia valores más bajos (amarillos) y hacia valores más altos (azules) respectivamente ¹⁰⁷. Consiste en diferentes mecanismos físico-químicos, que resultan en la formación de complejos moleculares no covalentes, que modifican las propiedades ópticas. Generalmente consiste en fuerzas de Van der Waals (π - π stacking) entre dos núcleos planos polarizables de dos antocianos o de un antociano y un copigmento (incolore) ¹⁰². Se encuentran tres tipos de copigmentos, la copigmentación inter-molecular se da con moléculas de naturaleza distinta al antociano. La intra-molecular el copigmento es una porción del propio antociano y por último la auto-asociación, donde el copigmento es otro antociano.

Los factores que influyen en la copigmentación son la concentración de antocianos y copigmentos presentes en solución, el pH, la temperatura, y los solventes del medio. Es uno de los principales mecanismos de estabilización del color en los vinos jóvenes, ya que protege a los antocianos de la decoloración provocada por cambios de pH o la adición de bisulfito ¹⁰¹.

- Pigmentos poliméricos

Los pigmentos poliméricos se forman durante el envejecimiento. Permiten una evolución y estabilización del color, ya que son más resistentes a la degradación por la adición de sulfitos y cambios de pH. Durante la crianza hay una pérdida de tono hacia colores más anaranjados estos cambios son debidos a la formación de pigmentos entre antocianos y proantocianidinas ¹⁰¹.

- Piranoantocianos

La reacción directa entre los antocianos monoméricos y el acetaldehído, el ácido pirúvico y vinilfenoles puede dar lugar a la formación de otro grupo de antocianos que estabilizan el color las piranoantocianinas, muchos de estos pueden generarse durante la fermentación y durante el envejecimiento del vino ^{108,109}.

Ejemplos de piranoantocianos son la Vitisina A, formada durante la fermentación alcohólica, a partir de piruvato ¹⁰⁹, la Vitisina B, en cambio, se produce por la ciclo adición del etanal que se origina durante la fermentación y/o el envejecimiento del vino ¹¹⁰.

- Otras degradaciones antocianos

Las proantocianidinas pueden reaccionar con otras antocianos formando pigmentos poliméricos, o entre si dando lugar a proantocianinas poliméricas. Si alcanzan un grado de polimerización alto pueden precipitar, esto suele darse durante la crianza ¹¹¹.

Si en el medio hay oxígeno, en el mecanismo de formación de las proantocianidinas polimerizadas participa el etanal. Por tanto, el centro nucleofílico del flavanol ataca al carbono carbonílico del etanal, dando lugar a un carbocatión que va a reaccionar con otro flavanol, formando un polímero unido por puentes de etilo. Otro mecanismo en el

que participa el oxígeno sería a través de las semiquinonas, estas reacciones necesitan la presencia de hierro.

Los ácidos hidroxicinámicos y los vinilfenoles pueden también reaccionar con los antocianos libres en este caso se forman hidroxifenil-piranoantocianinas, estos compuestos según el autor puede llamarse de una manera como pinotinas ¹⁰⁸¹⁰⁵.

1.6.3.2. Modificaciones aromáticas

La madera de roble aporta una serie de compuestos aromáticos anteriormente citados que aportan riqueza y complejidad al vino envejecido. Los aromas afrutados de los vinos, incluyendo los vegetales y los producidos durante la fermentación, disminuyen en el envejecimiento en barrica ¹¹². La madera aporta aromas terciarios, muchos de los cuales se forman durante el tostado de las duelas.

Compuestos como la β -metil- γ -octolactona, vainillina y eugenol, cuyos descriptores son la nuez de coco, vainilla y la especie clavo. Estos y otros son aportados por la madera y también varían los umbrales de percepción ¹¹³. No obstante, un excesivo aporte como por ejemplo de wiskylactona puede ser negativo, puede ser demasiado aroma a madera ¹¹⁴. En la siguiente tabla se muestran algunos descriptores sensoriales y su umbral de percepción (Tabla 1).

Una mala práctica durante la crianza del vino puede dar lugar a alteraciones irreversibles. El aumento de la acidez volátil es debido al desarrollo de bacterias acéticas, que pueden acelerar la formación de acetato de etilo, el cual tiene un aroma desagradable. Para evitarlo es importante rellenar cuidadosamente las barricas y un mantenimiento de la temperatura y además que la concentración de sulfitos sea adecuada.

Otra alteración aromática podría ser el desarrollo de levaduras, como el *Brettanomyces*, causan el aroma conocido como "brett", los cuales tienen como descriptor el sudor de caballo y los compuestos fenólicos serían el 4-etilguaiacol, 4-

etilfenol. Este proceso se ve favorecido por la presencia de azúcares residuales, el uso de barricas usadas mal mantenidas, aporte excesivo de oxígeno, temperaturas altas durante la crianza y bajos niveles de sulfuroso libre.

*Tabla 1. Compuestos aromáticos aportados al vino por la madera de roble, descriptor aromático y umbral de percepción en vino tinto*¹¹⁵

| Compuesto | Descriptor aromático | Umbral de percepción |
|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| <i>Furfural</i> | Almendra | 20 mg/L |
| <i>5-metilfurfural</i> | Almendra tostada | 45 mg/L |
| <i>5-hidroximetilfurfural</i> | Almendra tostada | 45 mg/L |
| <i>Alcohol furfurílico</i> | Heno | 45 mg/L |
| <i>Vainillina</i> | Vainilla | 320 µg/L |
| <i>Siringaldehído</i> | Sin incidencia aromática | |
| <i>β-metil-γ-octolactona</i> | Nuez de coco, resina | 74 µg/L |
| <i>Guayacol</i> | Tostado, humo | 320 µg/L |
| <i>4-metilguayacol</i> | Madera quemada | 75 µg/L |
| <i>4-etilguayacol</i> | Tostado, humo | 65 µg/L |
| <i>Eugenol</i> | Clavo especie | 150 µg/L |
| <i>4-vinilguayacol</i> | Clavel | 500 µg/L |
| <i>4-vinilfenol</i> | Farmacia | 380 µg/L |
| <i>4-etilfenol</i> | Cuero, farmacia animal | 1.5 mg/L |
| <i>Fenol</i> | Tinta | 605 µg/L |
| <i>Siringol</i> | Humo | 25 µg/L |
| <i>Ácido acético</i> | Vinagre | 200 µg/L |

Por último una crianza en bodegas con exceso de humedad también puede ser contraproducente, ya que puede dar lugar a la formación de mohos en la parte exterior de la barrica con fugas de vino, pudiendo contaminar aromáticamente el vino. Es importante mantener las condiciones adecuadas durante la crianza de los vinos.

1.6.3.3. Modificaciones gustativas

En cuanto a las modificaciones gustativas los taninos toman gran protagonismo, estos compuestos tienen dos descriptores el amargor y la astringencia.

- Amargor

El sabor amargo es una percepción gustativa básica, detectada mediante las papilas gustativas, situadas en la parte superior de la lengua cerca de la garganta. Los receptores gustativos o quimiorreceptores, responden a sustancias químicas disueltas en las bebidas y alimentos. En el vino, algunos estudios apuntan que el sabor amargo viene dado por compuestos fenólicos como los flavanoles y sus polímeros, pese a destacar que el amargor es superior en formas monoméricas¹¹⁶. Además¹¹⁶, describe que cuando el tamaño molecular aumenta, el amargor disminuye y aumenta la astringencia. El amargor disminuye en los vinos envejecidos, se incrementa con el grado alcohólico¹¹⁷ y si aumenta la viscosidad puede retrasar la percepción del amargor¹¹⁷.

- Astringencia

Un vino es astringente si al realizar la cata deja una sensación táctil de sequedad, ciertos toques de rugosidad y aspereza en los tejidos de la boca. Los taninos son los grandes protagonistas en esta cualidad organoléptica, de los vinos tintos en especial. Los taninos interactúan con las proteínas de la boca y hacen que pierdan la propiedad lubricar de la saliva, suele darse en las encías y la lengua.

La astringencia del vino afecta a la calidad y al equilibrio. Factores como la madurez de la uva, a mayor madurez menos astringencia, la concentración y la estructura de las proantocianidinas, el contenido de taninos de la piel es superior al de las semillas¹¹⁸.

La astringencia aumenta con el grado de polimerización y galoilación^{99,116}. Una pérdida de astringencia durante el envejecimiento es debida a las reacciones de incorporación de antocianos a las pequeñas estructuras de los taninos⁹⁹. La astringencia disminuye con un aumento del pH, los ácidos orgánicos, el grado alcohólico, y la viscosidad¹¹⁷.

Durante la crianza del vino pueden darse reacciones de polimerización de los taninos en presencia y en ausencia de oxígeno. En condiciones de presencia de oxígeno y temperaturas reducidas, el etanol se oxida a etanal, y este compuesto mediante puentes de etilo une moléculas de procianidinas, formando polímeros de alto peso molecular. Siendo compuestos de tonalidades amarillas y menos astringentes. En ausencia de oxígeno y con temperaturas más altas se produce una polimerización lineal de los taninos, es decir hidrólisis de procianidinas para formar un carbocatión el cual reacciona con otra procianidina. Esto resulta de polímeros amarillos pero donde la astringencia aumenta con grado de polimerización.

También se encuentran las reacciones de condensación, con los antocianos, éstas aportan una estabilización de color anteriormente citado. También se pueden unirse a proteínas y polisacáridos, formando compuestos muy estables, incluso podrían precipitar. Pueden unirse a las proteínas como la saliva y participar en el fenómeno de la astringencia o formando complejos estables con los polisacáridos, en este caso los taninos condensados pueden polimerizar con los polisacáridos de las paredes celulares de los tejidos de la uva, en este caso se aumenta la sensación de volumen en boca.

Esta propiedad se puede evaluar mediante el análisis sensorial, pruebas triangulares o dúo-trío. La sensación de astringencia depende del catador ya que es una de las últimas sensaciones en percibirse, requiere unos segundos para darse y además depende de la composición y flujo de la saliva de cada catador. En enología uno de los métodos analíticos más usados es el índice de gelatina, que nos da un porcentaje de proantocianidinas capaces de reaccionar con las proteínas del vino, no obstante no se tienen en cuenta los taninos hidrolizables¹⁰³. Otras metodologías utilizan patrones proteicos como agentes de precipitación, para determinar la astringencia¹¹⁹. Trabajos más recientes reproducen la interacción proteína-polifenol por medio de resonancia

de plasmón superficial, donde se inmovilizan las proteínas en una superficie de oro y se mide la capacidad de interactuar ¹²⁰

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

El objetivo principal que se pretende en esta Tesis Doctoral es evaluar la evolución del vino envejecido en barricas construidas con distinta tasa de oxigenación. Para conseguir este objetivo se emplean diferentes sistemas para estudiar la dinámica del oxígeno, realizando una caracterización a partir de sensores ópticos y describiendo los mecanismos de desgasificación de la madera y consumo de este por los compuestos liberados por la madera y los propios del vino. Por esta razón se planteo la siguiente hipótesis:

“La estructura anatómica de la madera está directamente relacionada con la cantidad de oxígeno que puede permear al vino (OTR), a su vez determina la calidad de la composición química y la calidad organoléptica del vino envejecido en barrica”

Los objetivos específicos planteados son:

- Determinación de la dinámica de desgasificación de la madera y el consumo de oxígeno de los compuestos liberados por las diferentes estructuras anatómicas de la madera
- Validación de la clasificación de la madera de roble para la construcción de barricas con distinta tasa de transferencia de oxígeno empleando un método desarrollado por el grupo UVaMOX.
- Estudio de la evolución en el tiempo de las antocianinas de un mismo vino envejecido en barricas fabricadas con diferente OTR.
- Caracterización química de los elagitaninos de la madera de roble clasificada por su OTR, usada en la construcción de cada barrica de alta y baja oxigenación.
- Análisis de la composición tánica y su evolución de un mismo vino tinto envejecido en barricas de alta y baja oxigenación clasificadas según su OTR.

RESULTADOS

CAPÍTULO I: Imagen de la dinámica del oxígeno liberado por la madera de roble sumergida en vino modelo con nano-sensores

El análisis experimental fue realizado en la sala de barricas del grupo de investigación UVaMOX, de la Universidad de Valladolid. El grupo de investigación de T. Mayr del Institute of Analytical Chemistry and Food Chemistry, Graz University of Technology, Graz, Austria, cedieron los nano-sensores para completar el estudio.

Los resultados de este estudio fueron publicados en la revista **Sensors and Actuator B: Chemicals**:

Prat-García, S., Martinez-Martínez, V., del Alamo-Sanza, M., Müller, B. J., Mayr, T., & Nevares, I. (2019). Image of O₂ dynamics released by oak Wood submerged in model wine tith nanoparticle sensors. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 284, 337-345. <http://doi.org/10.1016/j.snb.2018.12.131>

Este trabajo corresponde al primer objetivo de la Tesis doctoral en el que se ha planteado la viabilidad de unos nanosensores experimentales para conocer el papel de los elagitaninos como barrera activa al paso del oxígeno en el envejecimiento del vino en bodega de roble y visualizar y cuantificar el proceso de desgasificación de la madera de roble. Con este trabajo se pretende estudiar el consumo de oxígeno dentro de la madera de roble por parte de los compuestos hidrosolubles. Para el desarrollo, se ha necesitado de las nano-esferas o nanosensores experimentales, proporcionadas amablemente por la Universidad de Graz. Se dispone de nanosensores de referencia y otros nanosensores sensibles al oxígeno. También se ha precisado madera de roble, una cámara RGB, una iluminación LED azul de 405nm y un mezclador de gases.

Primeramente, se determinaron las condiciones del experimento, y se construyó un sistema de medida, basado en una celda de metacrilato diseñada para la calibración de los nano-sensores diluidos en solución hidroalcohólica. Para ello se utilizó un generador de gases patrón y se equilibró la solución con patrones con diferente contenido de oxígeno, desde 0% hasta 100% de aire saturado. Una vez obtenidas las imágenes RGB de la calibración, se descompusieron y procesaron para obtener imágenes ratiométricas que permitió determinar la concentración de oxígeno por pixel. A partir de aquí se obtuvo la curva de calibrado siguiendo el modelo de Stern-Volmer.

Una vez calibrados los nanosensores, se establecieron las condiciones de análisis, donde se analizó la desgasificación de la madera de roble en sus diferentes estructuras y el consumo de oxígeno por parte de los compuestos liberados por la madera. Se utilizó el mismo sistema de metacrilato que en la calibración, pero a diferencia de la celda de calibración se inmovilizó con silicona acida transparente un trozo de madera, que permitió observar todas las estructuras anatómicas de la madera. Este dispositivo se llenó con la solución sensora (con los nanosensores disueltos) al 0% de concentración de aire saturado. La señal obtenida depende de la concentración de nanosensores que hay en cada punto de la solución es por ello que se seleccionan más

de una imagen tomadas cada 5 ms y diferentes regiones de análisis, para obtener una distribución homogénea del oxígeno.

La visualización de la desgasificación de la madera se analizó a los 0, 10, 30 y 60 min y se pudo visualizar la generación de burbujas de aire atrapado en la porosidad de la madera. Mediante al análisis del canal verde se pudo ver el crecimiento de estas burbujas ya que estos sensores disueltos rodean a la burbuja de aire. Las imágenes ratiométricas de oxígeno muestran la evolución en el tiempo, y pasado el tiempo de análisis las concentraciones de oxígeno fueron del 0% aire saturado, es decir igual que las iniciales, esto es debido al consumo de oxígeno de los compuestos liberados por la madera.

En las diferentes estructuras de la madera, se pudo ver que la dinámica de desgasificación de la madera fue menor que el consumo de oxígeno por los compuestos liberados, es decir la avidéz por el oxígeno de estos compuestos era elevada. También se determinó que la cesión de oxígeno por la madera de verano fue mayor que por la madera de primavera durante las primeras 24h, pese a ser esta última más porosa. Esto pudo ser debido a la presencia de tilosas en la madera de primavera que puedan retrasar el desplazamiento del aire contenido, no obstante, finalizado el experimento (80h) la madera de primavera liberó una mayor cantidad de oxígeno, por lo que es posible que en la madera de verano se concentre una mayor cantidad de elagitaninos.

En cuanto a la distribución del oxígeno en la solución, se estudiaron las regiones próximas a las diferentes estructuras de la madera, para analizar la difusión del oxígeno. Inicialmente la cesión de oxígeno fue superior al consumo, sobre todo en la madera de primavera, no obstante, disminuyó rápidamente con el paso del tiempo. El oxígeno que llegó a la solución cedido por la madera de verano fue inferior y disminuyó en el tiempo debido a la mayor avidéz por el oxígeno de los compuestos cedidos por la madera de verano. No obstante, tras aproximadamente 10h se produjo una cesión de oxígeno que podría deberse a la completa inundación de la madera y a la salida abrupta del aire atrapado en la porosidad.

Esta metodología utilizada permitió visualizar la dinámica del oxígeno a partir del análisis de imágenes RGB de una solución sensora sensible al oxígeno, con una gran señal y con poco error, de alta resolución que permitió diferenciar entre áreas muy pequeñas. Es una metodología simple y económica, por lo que puede ser utilizada en muchos más campos de la ciencia.

CAPÍTULO II: Barricas de oxigenación personalizadas como nueva estrategia de crianza controlada del vino

El análisis experimental fue realizado en la sala de barricas y la bodega del grupo de investigación UVaMOX, de la Universidad de Valladolid.

Los resultados de este estudio fueron publicados en la revista **Food Research International**:

Prat-García, S., Nevares, I., Martínez-Martínez, V., & del Alamo-Sanza, M. (2020). Customized oxygenation barrels as a new strategy for controlled wine aging. *Food Research International*, 131 (May), 108982.

<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.108982>

Como se ha visto en el **Capítulo I**, uno de los factores importantes es la anatomía de la madera ya que la desgasificación es distinta según la porosidad y la disposición de los elementos de la estructura. La tasa de entrada de oxígeno por la madera de las duelas de las barricas es un aspecto esencial, ya que define la capacidad de micro-oxigenación de la barrica, y por tanto el proceso de envejecimiento y las características finales del vino tras su envejecimiento en barricas. Habitualmente en tonelería se clasifica la madera de roble por su grano, es decir por la anchura de los anillos de crecimiento, lo que refleja la proporción de madera de primavera y de madera de verano que está relacionada con las características aromáticas y tánicas que potencialmente transmitirá esa madera al vino que envejezca, siendo lo habitual un grano de 2 a 3 mm. Se ha de tener en cuenta la heterogeneidad de la madera, debido a que es un producto natural que hace difícil establecer una homogeneidad en la construcción de barricas. En anteriores estudios se propone clasificar la madera por grano o por composición tánica, no obstante, los resultados no son comparables a este trabajo ya que se trabaja con una única procedencia de la madera. Para este trabajo, se utiliza un método no destructivo de clasificación de la madera según su estructura anatómica previamente descrito por el grupo UVaMOX con el propósito de reducir la variabilidad entre barricas y predecir su tasa de transferencia de oxígeno. Este método se basa en el reconocimiento de las estructuras anatómicas a partir de la imagen y por tanto permite una homogeneidad para la construcción de barricas. Por último, se evalúa la posibilidad de la construcción de barricas según su tasa de transferencia de oxígeno.

Para este estudio se clasificaron 3.063 duelas sin tratar de *Q. petraea*, que se dividen en 1839 de 96 cm para el cuerpo de la barrica y 1228 que varía su longitud entre 42 y 73cm para las cabezas de las barricas. De cada duela se calcula la densidad (peso/volumen) mediante el uso de una cámara volumétrica de imagen y se evalúan nueve estructuras anatómicas a partir de la imagen de las cabezas de la duela, estos son; el ángulo de rotación de la duela, el número de anillos, la proporción de madera de verano y madera de primavera y la inclinación y número de radios medulares. Se obtiene una clasificación de potencial de OTR alto, medio y bajo.

Se estimó el % y el área de madera perteneciente al cuerpo de una barrica de 225L y el de las cabezas. Considerando únicamente el oxígeno que penetra por la madera es del

75% para las barricas de roble francés, se predice el OTR, donde se tendrá en cuenta el ancho y la longitud de cada madera que componga la barrica, para optimizar la máxima similitud para la selección de la madera se utilizó el método computacional Monte Carlo. Se seleccionaron y empaquetaron las duelas según su OTR que conformarían cada barrica y se devolvieron a la Tonelería Intona para la fabricación de 16 barricas de 225l de tostado medio, donde 8 eran de baja tasa de transferencia de oxígeno (LWOTR), 8 de alta tasa (HWOTR) y se fabricaron 4 más llamadas control, las cuales tienen el mismo tipo de producción, pero sin trazabilidad sobre las duelas.

De las 20 barricas construidas 10 se destinaron para la valoración del método de clasificación de la madera. Para el análisis de estas se utilizó un tapón expandible modificado que permitió determinar la presión en el interior de la barrica y dejaba pasar dos fibras ópticas, con un sensor luminiscente en la punta, situados a una distancia del tapón de 21 y 42 cm que permitieron la medida y control del oxígeno en la solución.

Previamente al llenado las barricas se pre-condicionaron con CO₂ a un caudal muy bajo para desplazar el aire del interior de las barricas sin afectar en gran medida la madera, esta desgasificación se controló con los sensores de medida mencionados. Una vez las condiciones de O₂ fueron óptimas, las barricas se llenaron con una solución de vino modelo al 12,4% en volumen de etanol desgasificada previamente, esta solución desplazó lentamente el CO₂ y minimizando el contacto con el O₂. Una vez llenas se cerraron y se midió el vacío generado y las concentraciones de oxígeno cada 10 min durante 9 días.

Los primeros resultados mostraron la desgasificación de la madera, que las 4 barricas LWOTR mostraron ligeras diferencias los cuatro primeros días, pero pasado el tiempo total de análisis se llegaron a unas tasas de entrada del oxígeno similares $2,56 \pm 0,36$ hPa/barrica*día. Las pequeñas diferencias entre ellas pudieron ser debidas a las diferencias de presión entre ellas. En cuanto a las 4 barricas HWOTR, se obtuvieron unos resultados muy homogéneos, 2,91 hPa/barrica*día. En este ensayo tres de las 4 barricas mostraron un comportamiento similar en cuanto los valores de presión excepto una, con una menor desgasificación en comparación al resto. La diferencia de desgasificación por tanto fue un 14% superior para las barricas HWOTR respecto las barricas LWOTR. Se pudo comprobar que la clara diferencia morfológica de la madera

de las barricas LWOTR (más porosa), estaba correlacionada con el OTR. También se encontraron diferencias en las mermas, las cuales fueron mayores en las barricas HWOTR, mientras que las barricas comerciales y las de LWOTR tuvieron un comportamiento similar. Se pudo explicar por un mayor desplazamiento del oxígeno en la desgasificación de la madera en las barricas debido a esta mayor humectación de la madera y por tanto un desplazamiento del oxígeno en el interior de las diferentes estructuras de la madera.

En la segunda fase del análisis, se midieron las velocidades de entrada de oxígeno en las barricas, se asumió que tras los primeros días se humectó la madera y se llegó a una fase cuasi estacionaria. La evolución del oxígeno disuelto y de la presión en este ensayo fue muy uniforme para las barricas LWOTR variando entre valores de 0,52 a 0,83 hPa/barrica .día, además se observó una evolución del vacío más progresiva respecto al anterior análisis. En cuanto a las mermas, en este caso fueron la mitad que el ensayo anterior, y la mayor humedad de la madera redujo la velocidad de entrada del oxígeno. Las barricas HWOTR actuaron de manera similar, el oxígeno entró de una manera muy lineal y uniforme. Las tasas de entrada de oxígeno (OTR) en este ensayo mostraron diferencias significativas siendo para las barricas HWOTR de $1,29 \pm 0,06$ hPa/barrica*día y de $0,68 \pm 0,13$ hPa/barrica*día y en el caso de las barricas control presentaron un perfil similar a las barricas LWOTR pero con valores situados entre ambos tipos de barrica ($0,82 \pm 0,11$ hPa/barrica*día).

Este trabajo demostró que se puede clasificar la madera según su estructura anatómica para la construcción de barricas homogéneas con tasa de transferencia de oxígeno personalizada, viendo que el aporte de oxígeno en las barricas de alta tasa de transferencia es 2.3 veces superior que en las de baja.

CAPÍTULO III: Caracterización de antocianinas y derivados en vino tinto envejecido en barricas con tasa de transferencia de oxígeno personalizada

El vino utilizado en este análisis envejeció durante un año en la sala de barricas del Grupo UVaMOX. Los análisis se realizaron en el laboratorio de la Universidad de Valladolid, Palencia y en el Grupo de polifenoles de la Universidade do Porto se realizaron los análisis de antocianos HPLC-DAD y MS.

Los resultados de este estudio fueron publicados en la revista **Molecules**:

Prat-García, S., Oliveira, J., Alamo-Sanza, M., Freitas, V. De, Nevares, I., & Mateus, N. (2021). Characterization of Anthocyanins and Anthocyanin-Derivatives in Red Wines during Ageing in Custom Oxygenation Oak Wood Barrels. *Molecules*, 26(64).
<https://doi.org/10.3390/molecules26010064>

Para este trabajo, la mitad de las barricas construidas para el ensayo del **Capítulo II** con tasa de transferencia de oxígeno personalizada se destinaron al envejecimiento de un vino Ribera del Duero durante un año. Durante este tiempo se analizó cada tres meses el vino envejecido para el estudio de la evolución de las antocianinas y los parámetros básicos del vino.

Las antocianinas son pigmentos responsables de propiedades sensoriales, como el color y con poder antioxidante. Su proporción disminuye con el tiempo, ya que son compuestos que reaccionan con otros compuestos presentes en el vino. El oxígeno también juega un papel importante, ya que está implicado en la formación de nuevos pigmentos y su estabilidad. Una vez obtenidos los resultados del **Capítulo II** donde se destacan diferencias significativas en el OTR de las barricas, el objetivo de este capítulo es evaluar las antocianinas y sus derivados y la estabilidad del color.

Se analizaron los parámetros enológicos a los 6 y 12 meses de envejecimiento, de los que se observaron diferencias significativas y un bajo coeficiente de variación, por lo que se verificó la alta homogeneidad entre lotes ya destacada en el trabajo anterior. En cuanto a los parámetros de color, la intensidad de color reflejó la alta estabilización del color en la formación de derivados antocianidicos, la copigmentación, en los que destacó el aumento del componente azul (absorbancia a 620nm), este proceso se produjo tanto en los vinos envejecidos en barricas de alto como de bajo OTR, no obstante, los vinos envejecidos con baja transferencia de oxígeno presentaron una mayor intensidad colorante.

Los parámetros de color se correlacionaron con los obtenidos por HPLC, y destacaron diferencias significativas en los compuestos analizados a los 12 meses de envejecimiento del vino, que supuso una mayor pérdida de compuestos manoméricos en los vinos envejecidos en las barricas de bajo OTR.

También se realizó el análisis por HPLC/DAD-MS donde destacaron diferentes derivados antocianidicos detectados en el tiempo y en los lotes en los que se encontraron. Se detectaron 51 compuestos clasificados en familias, cuya identificación se realizó por masa iónica y sus respectivos patrones de fragmentación. Y por primera vez según los autores de este trabajo se detectaron flavanol-metilpiranoantocianinas y metil- y etil—flavanol-metilpiranoantocianina.

Por tanto, la clasificación de la madera según la tasa de transferencia de oxígeno al vino permite la obtención de vinos con diferente concentración antocianídica y características de color.

CAPÍTULO IV: Caracterización de los elagitaninos presentes en vino y madera de barricas con transferencia de oxígeno conocida

El vino tinto empleado para este experimento fue cedido por la bodega Vega Sicilia y fue envejecido en las barricas construidas y caracterizadas anteriormente. El proceso de envejecimiento se realizó en la sala de barricas de la ETS Ingenierías Agrarias de Palencia. Los análisis se realizaron en los laboratorios del Grupo UVaMOX de la Universidad de Valladolid, Palencia, del grupo de investigación REQUIMTE-LAQV Research Centre de la Universidade do Porto y del Grupo de polifenoles de la Universidad de Salamanca.

Los elagitaninos son taninos hidrolizables presentes en la madera de roble. Están implicados en reacciones con otros compuestos del vino, afectando a las características organolépticas. Los niveles de estos compuestos en la madera de roble rondan el 10% del peso seco y varían dependiendo de la especie, origen, tratamiento, etc. El oxígeno también es un factor importante en el envejecimiento del vino en barrica y es importante conocer la tasa de transferencia de oxígeno (OTR), que aporta cada barrica. Los elagitaninos se ceden de la madera y además reaccionan con el oxígeno ya que tienen protegen frente a la oxidación. El objetivo de este trabajo es caracterizar desde el punto de vista de los taninos hidrolizables vino envejecido en barricas de diferente OTR y la madera que las conforman.

Para la clasificación se analizaron 3000 duelas y 1000 tapas de madera de roble de manera no invasiva donde se tienen en cuenta su estructura anatómica y su densidad para una posterior construcción por la tonelería Intona SA (Navarra, Spain), según su tasa de transferencia de oxígeno es alta o baja. Se construyeron 8 barricas de alta y 8 de baja y 4 barricas de control. La mitad de todas ellas se destinaron al envejecimiento de vino DO Ribera.

Se analizó la concentración de 4 taninos, castalagina, vescalagina, grandinina y Rubirina E tanto en la madera de roble donde se preparó una mezcla con todos los sobrantes de cada una de las 20 barrica estableciendo una relación de porcentaje de cada duela en la barrica y se trituro a un tamaño inferior a 0.6mm para el análisis. Los compuestos en esta muestra se extrajeron con etanol al 15% (v/v). Por otro lado, se envejeció vino y se muestreo a los 6 y 12 meses, de estas muestras se analizaron los elagitaninos mediante extracción por hidrolisis acida. Tanto las muestras de madera como las de vino se analizaron con el mismo método por HPLC-DAD-MS utilizando galocatequina como patrón interno.

Los resultados muestran que no existe una relación directa entre la concentración de elagitaninos en la madera y el OTR, no obstante, hay una tendencia de una mayor concentración en las barricas clasificadas con baja tasa de transferencia de oxígeno. En cuanto a los resultados al vino envejecido, siguen mostrando una gran homogeneidad entre muestras. La evolución de los elagitaninos a los 6 y 12 meses de envejecimiento, destaca diferencias significativas a los 6 y a los 12 meses de envejecimiento en los

diferentes lotes analizados, siendo los vinos envejecidos en las barricas de bajo OTR, más ricos en composición tánica. Los resultados se avalan con una evaluación sensorial, donde el panel consigue diferenciar en el análisis de una cata triangular.

Estos resultados avalan el método de clasificación de la madera según su estructura anatómica propuesta por el grupo UVaMOX, ya que, se obtienen vinos sensorialmente diferentes según el aporte de oxígeno que entra durante el envejecimiento.

Caracterización de elagitaninos en vino y en barricas de roble con tasa de transferencia de oxígeno personalizada

1. Introducción

El período de envejecimiento del vino tinto en barricas de roble es uno de los puntos clave en la elaboración de un vino envejecido. Las especies de roble *Quercus alba*, *Q. robur* y *Q. petrae*, son las más utilizadas para el envejecimiento por el alto contenido fenólico ¹. La selección y el tratamiento de la madera previo a la construcción de la barrica es muy importante, ya que tiene un efecto en las características sensoriales finales del vino ². Durante el envejecimiento, la madera aporta diferentes compuestos, tales como ácidos fenólicos y furánicos, elagitaninos y aldehídos fenólicos y su concentración es distinta según el origen, especie de la madera y tratamiento en tonelería ^{3,4}, por lo que para la industria del vino conocer la cantidad de compuestos que potencialmente cederá la madera es de gran interés.

De entre los compuestos cedidos por la madera al vino, los elagitaninos toman gran protagonismo. Los elagitaninos, son taninos hidrolizables de estructura compleja, se basan en una molécula de glucosa en su forma lineal con grupos –OH esterificados con ácido elálgico. Estos representan un 10% en la composición de la madera seca. Dentro de los elagitaninos se diferencian hasta ocho cedidos por la madera durante el envejecimiento: Castalagina, Vescalagina, Grandinina, Roburina A, Roburina B, Roburina C, Roburina D, Roburina E ⁵. Dentro de estos ocho elagitaninos, la Castalagina, Vescalagina, Grandinina y Roburina E los mayoritarios, representando más del 80% del total ⁶.

Durante la crianza del vino en la barrica se produce un constante paso de oxígeno a través de la madera y los elagitaninos presentes en la madera se disuelven gradualmente en el vino, esto genera un efecto amortiguador contra su oxidación. En consecuencia los elagitaninos estabilizan el color del vino, además disminuyen la

astringencia y los precipitados de color ⁷. La disminución de la concentración de elagitaninos aumenta en presencia de oxígeno ⁸, debido a su degradación, no obstante, no es necesaria la presencia de oxígeno para que disminuyan su concentración ⁹.

Los elagitaninos además de estar implicados en reacciones de oxidación tienen implicación sensorial, modificando la astringencia y el amargor del vino ¹⁰, también reaccionan con otros compuestos como las antocianinas estabilizando el color del vino ¹². El impacto de la concentración de elagitaninos es importante, así algunos trabajos ¹³ analizan un vino de la variedad Merlot envejecido durante un año en barricas clasificadas según el índice de fenoles, construidas con dos especies de roble (*Q. robur* y *Q. petraea*), encuentran diferencias significativas a los 6 y 12 meses entre los vinos tinto envejecido en maderas IP 41 y IP 16, contienen una diferencia de concentración de elagitaninos del 50% y del 28% respectivamente, por tanto, una concentración mayor a mayor IP. Además, estudian la diferencia de extracción de elagitaninos según el tipo de grano, y para barricas con el mismo IP en las que se diferencian por el grano obtienen una diferencia del 12%. Llegando a la conclusión que un mayor tamaño del grano aumenta la concentración de elagitaninos y a su vez disminuyen su concentración más rápido en el tiempo. En cuanto al oxígeno, analizan su evolución en el vino de barricas de diferentes IP (18, 41 y 61) con grano fino, encontrando que el cuanto mayor es el aporte de elagitaninos por parte de la madera mayor es el consumo de oxígeno, así cuando el IP de las maderas aumenta un 127% el consumo aumenta un 2% ¹⁴. No obstante, los fenoles de la uva también tienen un efecto en el consumo de oxígeno disuelto en el vino ¹⁵.

La estructura anatómica de la madera juega un papel importante en la tasa de transferencia de oxígeno (OTR). Recientemente se ha desarrollado de una metodología de clasificación de la madera, de manera no destructiva para la construcción de barricas según su tasa de transferencia de oxígeno ¹⁶. Empleando esta metodología se construyeron 16 barricas de roble francés de distinta OTR, 8 de alta tasa de transferencia de oxígeno (HW-OTR), y 8 de baja OTR (LW-OTR) y además, del mismo lote de madera se construyeron cuatro barricas control, es decir sin clasificación de las

duelas de roble por su OTR. La mitad de cada lote se utilizó para la validación de la metodología de clasificación, para ello se rellenaron las barricas con solución de vino modelo y mediante la medida de oxígeno disuelto con sensores luminiscentes de oxígeno, se obtuvieron unos resultados que mostraban que las barricas HW-OTR oxigenaban a los vinos 2.3 veces más que las LW-OTR¹⁷. El objetivo de este trabajo es la caracterización en la composición de taninos hidrolizables en madera de barricas de OTR personalizado y, además, evaluar y caracterizar la composición en taninos hidrolizables de un mismo vino tinto envejecido durante un año en dichas barricas.

2. Materiales y métodos

2.1. Muestras de madera, clasificación y construcción de barricas

Se construyeron un total de 20 barricas por la Tonelería Intona S.l. (Navarra). Previamente todas las duelas de madera de roble francés, de la especie *Q. petraea*, se clasificaron siguiendo la metodología de Martínez-Martínez y compañeros¹⁶. La metodología se basa en el uso de las Redes Neuronales (Artificial Neural Network) para predecir el OTR, se emplea la densidad y las diferentes estructuras anatómicas de la madera de una manera no invasiva obtenidas del análisis de la imagen de las cabezas de la duela. La clasificación de las duelas en dos grupos, madera con alta tasa de transferencia de oxígeno (HW-OTR) y madera de bajo OTR (LW-OTR), se realizó para la construcción de barricas, n=8 barricas de HW-OTR, n=8 barricas de LW-OTR, y además, de madera no clasificada se construyeron 4 barricas consideradas control, y construidas sin trazabilidad sobre las duelas. Todas las barricas de 225 L fueron sometidas a un tostado medio utilizando el método tradicional de tostado de la tonelería.

Durante el proceso de construcción de las barricas se recogieron una parte proporcional de los sobrantes de las duelas de madera, de cada una de las barricas, para analizar la composición de elagitaninos.

Adicionalmente, la mitad de las barricas construidas (n=4 de HW-OTR, n=4 de LW-OTR y n=2 control) se destinaron al envejecimiento de un mismo vino tinto durante un año.

2.2. Vino tinto y muestreo

El vino tinto empleado en este estudio fue elaborado en 2017 por la bodega Vega Sicilia (Ribera del Duero). Los parámetros enológicos convencionales del vino son: contenido de etanol v/v 15 %; pH 3,89; acidez total 5,1 g/l de ácido tartárico; y SO₂ 29 y 74 mg/l libre y total respectivamente; ácido acético 0,54 g/L. Las 10 barricas (4 con HW-OTR, 4 con LW-OTR y 2 controles) se llenaron con el vino en marzo de 2018 y se mantuvieron en condiciones de la sala de barricas de la ETS Ingenierías Agrarias de Palencia (Universidad de Valladolid) a 17 °C y 70% de humedad relativa. Las muestras de vino se tomaron de cada barrica a los 6 y 12 meses de envejecimiento.

Se analizaron los parámetros enológicos convencionales a los 6 y a los 12 meses de envejecimiento del vino. Se analizaron los parámetros de color en el UV/Vis Spectrometer Lambda 25 (Perkin Elmer, Singapur). Estas medidas se realizaron por duplicado siguiendo la metodología de Glories¹⁸.

2.3. Análisis de elagitaninos de las muestras de madera

Las muestras de madera de las duelas de madera roble recogidas de cada una de las diferentes barricas fue preparada para analizar el contenido de elagitaninos. Cada muestra se mezcló y trituró hasta un tamaño <1 mm. Se tomaron 250 mg de muestra de barrica triturado y se realizaron cinco extracciones con sonicación de 15 min con una solución de 15% en v/v de etanol en agua ultrapura burbujeada con nitrógeno para evitar oxidaciones. La solución fue centrifugada y el sobrenadante se concentró en rotavapor hasta 25 mL. La composición de elagitaninos fue determinada por HPLC-MSn-MRM con la metodología previamente desarrollada y validada¹⁹. Se realizaron los análisis en un Hewlett-Packard 1200 serie LC (Agilent Technologies, Waldbronn, Alemania) usando un termostato de fase invertida AQUA C-18, 5 µm, y columna de 150mm 4.6mm (Phenomenex, Torrance, CA, EE.UU.) a 35 °C. Una solución acuosa (2,5%) de ácido acético (AnalaR, Normapur, VWR International, Fontenay-sous-Bois, Francia), y 100% de isopropanol y metanol de grado HPLC (HiPerSolv® Chromanorm,

VWR International, Fontenay-sous-Bois, Francia) se utilizaron como eluyentes siguiendo las condiciones de cromatografía previamente citadas²⁰. El espectrómetro de masas se conectó al sistema HPLC a través de la salida de células DAD para la cuantificación de elagitaninos mediante el uso de (-)-galocatequina como estándar interno (15 mg L⁻¹). La detección de MS se realizó en modo negativo con un API 3200 Qtrap equipado con una fuente ESI y un analizador de masas de trampa de iones lineal de triple cuádrupolo controlado por el software Analyst 5.1 (Applied Biosystems, Darmstadt, Alemania). Siguiendo la metodología previamente desarrollada¹⁹, para la cuantificación se utilizó la señal de las siguientes transiciones detectadas en los análisis MRM: 933/631 para la castalagina, 933/301 para vescalagina, 1065/249 para Grandinina y Roburina E y 305/125 para el estándar interno (305/125). Estos análisis se realizaron en el laboratorio del Grupo de polifenoles de la Universidad de Salamanca, durante la estancia predoctoral realizada.

Con la misma cantidad de sobrante de madera y el mismo tratamiento de muestra se analizó el Índice Total de Polifenoles (IPT)²¹, la muestra se diluyó 1:10 con agua ultra pura y se midió a 280nm en el espectrómetro UV/Vis Lambda 25 (Perkin Elmer, Singapur).

2.4. Análisis de elagitaninos de las muestras de vino

El análisis de los elagitaninos presentes en el vino se determinó mediante la fracción de riqueza de elagitaninos presentes en las muestras tomadas a los 6 y 12 meses del vino envejecido, según la metodología de dos pasos SPE publicada²⁰. Tres mililitros de muestra de vino se desalcoholizan y se aplica en el cartucho Water C-18 Sep-pak® (500 mg, Millipore Corp., Milford, MA, USA) previamente acondicionado. Los elagitaninos son disueltos con 5 mL de ácido acético 2.5% v/v y esta fracción es evaporada a presión reducida y re-disuelto en 2.5% de ácido acético hasta un volumen de 2 mL. La solución resultante se fracciona en una mini columna Sephadex LH-20 (10mm×30mm) para fraccionar se utilizan: 2 mL de agua ultrapura utilizada para eliminar los compuestos no tánicos, 2 mL de etanol absoluto (96% v/v) para eliminar el ácido gálico, 1 mL de metanol para eliminar los restos de etanol del cartucho y esta última fracción se disuelve en 10 mL de metanol donde se encontrarán los elagitaninos. La

última fracción se evapora a presión reducida y se re-disuelve en 2 mL de ácido acético al 2.5% v/v. La fracción rica en elagitaninos se analiza según el método descrito anteriormente para la madera¹⁹.

Para el análisis del índice de fenoles totales (IPT)²¹, las muestras de vino se diluyeron en 1:50 de agua ultra pura y medidas a 280 nm en el espectrómetro UV/Vis Spectrometer Lambda 25 (Perkin Elmer, Singapur). Estos análisis se realizaron en el laboratorio del Grupo de polifenoles de la Universidad de Salamanca, durante la estancia predoctoral realizada.

2.5. Ensayo del poder antioxidante reductor férrico (FRAP) a partir de muestras de vino

El ensayo se realiza siguiendo la metodología descrita por Benzie y Strain in 1996²², con algunas modificaciones. El reactivo FRAP se genera mezclando 10 mL de un buffer de acetato de sodio 300 mM (pH=3.6), 1 mL de solución de tri-piridiltriazina (TPTZ) 10 mM y 1 mL de solución FeCl₃·6H₂O 20.0 mM, la mezcla se incuba 10 min a 37 °C, pasado este tiempo se diluye en relación 1/3 con la solución buffer. La reacción de 30 µL de muestra y 270 µL de reactivo FRAP realizada en el lector de micro-placas por triplicado de cada muestra y paralelamente se analizó un blanco con vino sintético, (Biotek Powerwave XS con software KC4). La temperatura del ensayo fue de 37 C, y la absorbancia se midió a 593 nm en tiempo t= 0 y t= 4 min. Se utilizó solución acuosa de concentración conocida de Trolox para la curva de calibración y los resultados se expresaron en equivalentes de Trolox µM. Estos análisis se realizaron en el laboratorio del Grupo de polifenoles de la Universidad de Salamanca, durante la estancia predoctoral realizada.

2.6. Análisis de radicales libres (DPPH) de las muestras de vino

Para este análisis se sigue la metodología de Bondet 1997, con algunas modificaciones²³. La medida se basa en el decrecimiento de la absorbancia a 515 nm de la reacción del DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) como radical libre (Sigma® (Alemania). La reacción se realizó en un lector de microplacas, por triplicado de cada muestra de vino

y el vino sintético se utilizó como blanco, (Biotek Powerwave XS con el software KC4). La temperatura de análisis se realiza a 25 °C, la medida realizada a tiempo $t= 0$ y $t= 20$ min. Los resultados se expresaron en equivalentes de Trolox μM y se calcularon con regresión lineal con soluciones conocidas de Trolox con diferente concentración. Estos análisis se realizaron en el laboratorio del grupo de investigación REQUIMTE-LAQV Research Centre de la Universidade do Porto, durante la estancia predoctoral realizada.

2.7. Determination of Total Phenolic content from wine samples

La determinación del contenido fenólico total (TPC) se determinó según el método del índice Folin Ciocalteu ²⁴, el reactivo Fenol de Folin & Ciocalteu de Sigma-Aldrich (Suiza) adaptado a nuestro método de medición en un lector de microplacas (Biotek Powerwave XS con software KC4). La medida tiene un máximo de absorción a 750 nm, siendo la intensidad de absorción proporcional a la concentración de compuestos fenólicos en el vino. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado, y los resultados se expresan en mg de equivalente de ácido gálico. Estos análisis se realizaron en el laboratorio del grupo de investigación REQUIMTE-LAQV Research Centre de la Universidade do Porto, durante la estancia predoctoral realizada

2.8. Análisis sensorial

Después de un año, el vino envejecido en las barricas fue embotellado, y almacenado 2 meses a 17°C antes del análisis. Se realizó una prueba triangular para detectar si había diferencias significativas entre las muestras envejecidas en diferentes barriles según la perspectiva del consumidor. El análisis fue realizado por un comité de 60 estudiantes del Grado en Enología de la Universidad de Valladolid, Palencia. El análisis se realizó a temperatura ambiente en una sala de análisis sensorial con cabinas individuales para cada catador según las normas de estandarización (ISO 4120: 2008, UNE 87-006-92) en la sala de catas de la ETS Ingenierías Agrarias de Palencia (Universidad de Valladolid). Para realizar este análisis, se presentaron simultáneamente a los jueces tres muestras codificadas, dos de las cuales eran la misma, para que el juez pudiera identificar cuál

era la muestra diferente. La importancia de estos análisis se calculó con la respuesta correcta, descartando las preferencias de las pruebas incorrectas ²⁵.

2.9. Análisis estadístico

Todos los datos se expresan como media \pm desviación estándar. Los ensayos de elagitaninos, DPPH, FRAP, color y TPC se realizaron por triplicado. Se realizó un análisis estadístico y un estudio de correlación utilizando el software Statgraphics 18-x64. Análisis de varianza (ANOVA) y análisis de componentes principales (PCA) a un nivel de significación del 5%. El coeficiente de correlación 'r' se utilizó para evaluar si se asocian dos variables diferentes, se eligió un intervalo de confianza del 90% para el coeficiente de correlación. Las correlaciones se realizaron con los elagitaninos, parámetros enológicos, color y actividad antioxidante (DPPH y FRAP).

3. Resultados

3.1. Elagitaninos presentes en las duelas de madera

La concentración de elagitaninos en las diferentes especies de roble está influenciada por diferentes factores, como son el clima, el suelo, la edad del árbol y el tratamiento de la madera, esto puede facilitar una clasificación por el tipo de grano tal como ya describía ²⁶. Los trabajos de clasificación de la madera por la tecnología Oakscan^{®27}, no se puede comparar directamente con este trabajo, ya que no se aporta la proporción de duelas de cada especie ²⁸, ellos trabajan con mezcla, y la especie *Q. robur* es más rica en elagitaninos que *Q. petraea* ²⁹ (48.4 mg/g vs. 34.4 mg/g de madera). Para la construcción de las barricas de este estudio se utilizó una metodología teniendo en cuenta las características anatómicas globales de la madera de roble, en este caso *Q. petraea* ¹⁶.

En la Tabla 1, se muestran las medidas de las concentraciones presentes en las muestras de las duelas de maderas de roble de las barricas control (n=4), barricas de baja tasa de transferencia de oxígeno LW-OTR (n=8) y alta tasa HW-OTR (n=8) para los

cuatro elagitaninos monoméricos estudiados (Castalagina, Vescalagina, Grandinina y Roburina E) expresados en mg/g de madera seca. En esta Tabla 1, muestra los coeficientes de variación (% C.V.) de los compuestos analizados en los diferentes lotes de barricas, se ha de tener en cuenta que, la madera es un material natural, por lo que la estructura y composición depende de muchos factores. Se puede observar que, la variabilidad entre las concentraciones de los diferentes elagitaninos analizados, no supera el 29% dentro de un mismo lote, la cual se considera que es una variación aceptable. Por otro lado, el lote control que correspondería a una construcción de barricas tradicional sin clasificación de las duelas de madera, y por tanto sin trazabilidad sobre las duelas que componen las barricas, el coeficiente de variación se encuentra entre el 34-43%, por encima del valor más alto de los compuestos de los lotes analizados.

Tabla 1. Concentración promedio en mg/g de elagitaninos en las muestras de madera de las barricas con distintos OTR

| (mg/g) | Control | | | LW-OTR | | | HW-OTR | | | p-valor |
|--------------------|--------------------|------|----|--------------------|------|---|--------------------|------|---|---------|
| | Media $\pm \sigma$ | C.V. | | Media $\pm \sigma$ | C.V. | | Media $\pm \sigma$ | C.V. | | |
| Castalagina | 5.86 \pm 2.54 | 43% | a | 6.65 \pm 1.55 | 23% | a | 5.34 \pm 1.27 | 24% | a | 0.31 |
| Vescalagina | 12.24 \pm 4.19 | 34% | ab | 13.49 \pm 1.29 | 10% | a | 11.08 \pm 1.04 | 9% | b | 0.09 |
| Grandinina | 4.59 \pm 1.61 | 35% | a | 5.39 \pm 0.78 | 14% | a | 5.29 \pm 0.58 | 11% | a | 0.36 |
| Roburina E | 1.69 \pm 0.57 | 34% | a | 1.96 \pm 0.40 | 20% | a | 1.89 \pm 0.56 | 29% | a | 0.68 |

No se encuentran diferencias estadísticamente significativas entre los lotes de barricas analizados, sin embargo, se pueden identificar un patrón en los lotes de LW-OTR, donde la concentración es más alta en los cuatro elagitaninos de estudio respecto a HW-OTR. La diferencia en cuanto a concentración entre los lotes de LW-OTR respecto a los lotes de HW-OTR es, para la castalagina de un 24.5%, de un 21.8% en el caso de la vescalagina. Los elagitaninos representan un 10% de la composición en madera seca, y estos dos elagitaninos, de acuerdo al método de extracción y su estructura química, son los que más se ceden a la solución³⁰. En cuanto el porcentaje de diferencia entre los elagitaninos con menor concentración serían; para la grandinina 1.9% y para la Roburina E 3.7% de LW-OTR respecto a HW-OTR.

La Vescalagina es el elagitanino más abundante, debido a la posición de sus grupos OH, que permiten una mayor cesión de la madera a la solución hidroalcohólica. La prueba ANOVA, muestra diferencias significativas entre los lotes HW-OTR y LW-OTR, y ambos lotes guardan relación con la madera de los lotes control ($p = 0.09$). Según algunos trabajos un único elagitanino no representa todo el conjunto, por lo que estos resultados nos indican, que no hay una relación directa entre la concentración de elagitaninos de la madera de roble francés y su la tasa de transferencia de oxígeno. Estos resultados coinciden con los resultados de otros autores en madera de roble *Q. petraea*,³¹ donde la castalagina y la vescalagina son los compuestos mayoritarios con unas concentraciones en mg/g de 9.06 ± 4.96 y 8.01 ± 6.39 respectivamente y les sigue la Grandinina y la Roburina E $5,47 \pm 4.66$ y 4.44 ± 1.92 respectivamente. En otro trabajo se describieron resultados semejantes²⁹, donde se analizaron un gran número de *Q. petraea* mostrando valores de elagitaninos (promedio de concentración y entre paréntesis el mínimo y el máximo) de: castalagina 11.82 mg/g (3.75-30.26 mg/g), vescalagina 6.41 mg/g (1.27-15.88 mg/g), grandinina 2.74 mg/g (0.31-9.55 mg/g) y roburina E 3.00 mg/g (0.46-9.34 mg/g).

Con estos resultados, se pueden decir que hay una ligera tendencia a una mayor concentración de elagitaninos en las maderas de LW respecto a las de HW. Y por otro lado hay que indicar que no hay una relación clara entre la tasa de transferencia de oxígeno de la madera de roble francés y su concentración de elagitaninos.

3.2. Evolución de los parámetros enológicos del vino

Los principales parámetros enológicos de los vinos envejecidos en barricas de control ($n=2$), LW-OTR ($n=4$) y HW-OTR ($n=4$) después de 6 y 12 meses presentan los valores habituales en el vino tinto Ribera del Duero (Figura 1). Algunos de estos parámetros enológicos se han presentado en el artículo del **Capítulo III** de esta Tesis Doctoral³², sin embargo se considera que son parámetros importantes y que pueden presentar relación con los compuestos estudiados en este trabajo. Se observaron diferencias estadísticamente significativas en algunos de los parámetros enológicos analizados

para el mismo vino envejecido en barricas con diferente tasa de transferencia de oxígeno. Los resultados obtenidos muestran un bajo coeficiente de variación para todos los parámetros analizados, lo que muestra la homogeneidad en las barricas del mismo lote.

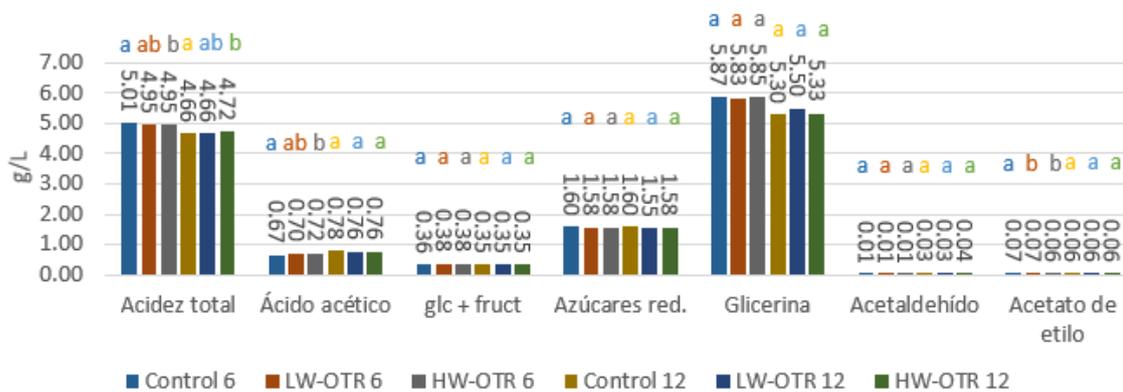


Figura 1. Parámetros enológicos del vino envejecido en las barricas con tasa de transferencia de oxígeno personalizada, resultado medio y análisis ANOVA

El grado alcohólico del mismo vino envejecido en las distintas barricas de análisis no muestra diferencias estadísticas, el vino inicial tenía un grado alcohólico 15% (v/v), los valores a los 6 meses se encuentran 15.08-15.11% (v/v) y a los 12 meses 15.25-15.31% (v/v). En cuanto a los valores de pH, el vino inicial tiene un valor de 3.89, a los 6 meses, el vino en las barricas control 3.86 ± 0.01 , el vino de las barricas LW-OTR 3.85 ± 0.01 y en HW-OTR 3.85 ± 0.00 , a los 12 meses de envejecimiento los vinos se encuentran 3.84 ± 0.01 , 3.84 ± 0.00 y 3.85 ± 0.00 , en este último tiempo si se encuentran diferencias significativas entre los lotes de vino de las barricas de alta y baja oxigenación. Estos parámetros, podrían describir una ligera diferencia según el tipo de barrica en la que ha envejecido el vino.

De los parámetros presentados en la Figura 1, se destacan diferencias a los 6 meses respecto al control (acidez total, ácido acético y acetato de etilo), no obstante, no entre los vinos de las barricas clasificadas. A los 12 meses de envejecimiento se repite este patrón para el parámetro acidez total, pero no se destacan diferencias entre los vinos en cuanto a los otros parámetros analizados.

En cuanto a parámetros como la glicerina, presenta una bajada de concentración de los 6 a los 12 meses de un 10.75% para los vinos de las barricas control, 6% para los vinos de las barricas LW-OTR y 9.75% para los vinos de las barricas HW-OTR, sin embargo, no presenta diferencias significativas en el tiempo.

3.3. Evolución del color del vino

El color es el primer parámetro que percibe el consumidor por ello se analiza la evolución del vino durante la crianza en barrica mediante el análisis de las absorbancias 420 nm, 520 nm, 620 nm, y el análisis de los parámetros CIELab.

Tabla 2. Parámetros de color, coeficiente de variación entre barricas del mismo lote y p-valor del ANOVA

| | <i>Barricas control</i> | | <i>Barricas LW-OTR</i> | | <i>Barricas HW-OTR</i> | | <i>p valor</i> | |
|--------|-------------------------|--------|------------------------|--------|------------------------|-------|----------------|---------------|
| | media \pm σ | C.V. | media \pm σ | C.V. | media \pm σ | C.V. | p^1 | p^2 |
| hue | 0.77 \pm 0.00 | 0.56% | 0.76 \pm 0.00 | 0.34% | 0.77 \pm 0.00 | 0.24% | 0.0003 | 0.000 |
| L* | 1.51 \pm 0.42 | 28.04% | 1.97 \pm 0.54 | 27.23% | 2.18 \pm 0.08 | 3.89% | 0.039 | 0.2991 |
| a* | 28.62 \pm 0.70 | 2.46% | 29.37 \pm 0.83 | 2.83% | 29.67 \pm 0.13 | 0.44% | 0.039 | 0.3266 |
| b* | 2.60 \pm 0.74 | 28.39% | 3.40 \pm 0.92 | 27.08% | 3.76 \pm 0.14 | 3.85% | 0.0385 | 0.2985 |
| 420 nm | 6.89 \pm 0.03 | 0.43% | 6.77 \pm 0.15 | 2.21% | 6.71 \pm 0.04 | 0.59% | 0.1951 | 0.4546 |
| 520 nm | 8.99 \pm 0.01 | 0.11% | 8.90 \pm 0.19 | 2.13% | 8.75 \pm 0.05 | 0.57% | 0.1437 | 0.1846 |
| 620 nm | 2.55 \pm 0.02 | 0.78% | 2.53 \pm 0.08 | 3.16% | 2.47 \pm 0.02 | 0.81% | 0.2857 | 0.2971 |
| hue | 0.82 \pm 0.01 | 0.62% | 0.81 \pm 0.01 | 1.24% | 0.82 \pm 0.00 | 0.26% | 0.088 | 0.1359 |
| L* | 3.49 \pm 0.35 | 9.89% | 3.29 \pm 0.55 | 16.62% | 3.71 \pm 0.35 | 9.42% | 0.1981 | 0.091 |
| a* | 31.57 \pm 0.50 | 1.58% | 31.31 \pm 0.79 | 2.54% | 31.92 \pm 0.53 | 1.66% | 0.1992 | 0.0929 |
| b* | 6.02 \pm 0.60 | 9.92% | 5.67 \pm 0.94 | 16.58% | 6.39 \pm 0.60 | 9.41% | 0.1956 | 0.0896 |
| 420 nm | 6.46 \pm 0.12 | 1.85% | 6.50 \pm 0.16 | 2.46% | 6.36 \pm 0.09 | 1.52% | 0.374 | 0.1911 |
| 520 nm | 7.89 \pm 0.21 | 2.66% | 8.03 \pm 0.31 | 3.86% | 7.81 \pm 0.12 | 1.54% | 0.4289 | 0.2242 |
| 620 nm | 2.25 \pm 0.07 | 3.11% | 2.30 \pm 0.10 | 4.34% | 2.34 \pm 0.05 | 2.14% | 0.5122 | 0.2928 |

¹ Comparación de los vinos de 3 tipos de barricas, ² comparaciones del mismo vino de las barricas HW-OTR y LW-OTR

La Tabla 2 muestra las medias y la desviación estándar de los diferentes parámetros CIELab, como puede observarse el tono (H*), muestra diferencias significativas a los seis meses entre los vinos control y los vinos envejecidos en barricas clasificadas, y

además muestra diferencias entre los lotes de vino de alta y baja oxigenación ($p < 0.05$). Se observan que el H^* aumenta en el tiempo, un 6.49% para los vinos control 6.58% para los vinos LW-OTR y 6.49% para los vinos HW-OTR. La claridad (L^*), es superior en los dos tiempos de análisis en los vinos envejecidos en HW-OTR, esto puede deberse a una mayor precipitación de la materia colorante. A los 6 meses los vinos de las barricas clasificadas presentan valores superiores a los del control, y pese a no mostrar diferencias significativas el valor a los 6 meses de L^* en los vinos de las barricas HW-OTR es superior. Los valores de L^* aumentan con el tiempo siendo de 57% para los vinos de las barricas control, del 40% para los vinos de las barricas LW-OTR y de 41% para los vinos de las barricas HW-OTR, el aumento es mayor para los vinos de baja oxigenación, sin embargo, los valores son inferiores, la disminución está relacionada con la pérdida de colorante y el proceso de clarificación con la precipitación de compuestos fenólicos, que se refleja en la luminosidad significativamente más alta ($p=0.091$). A los 12 meses la diferencia significativa se muestra entre los vinos de los lotes clasificados destacando una alta claridad los vinos de las barricas HW-OTR. El valor a^* , que representa los tonos del verde al rojo, siendo los valores positivos los representantes del rojo, en este caso a los 6 meses se encuentran diferencias de los vinos clasificados respecto al control, siendo los valores de los primeros superiores, a los 12 meses se encuentran diferencias entre los vinos envejecidos en barricas clasificadas, siendo superior en tonalidad roja los vinos de las barricas HW-OTR, esto puede deberse a que los vinos envejecidos tal y como muestra los resultados del **Capítulo III**, tienen un mayor valor de antocianinas monoméricos. Los aumentos de la tonalidad roja (a^*), son de 9.35 para los vinos de las barricas control, de 6.2% para los vinos de las barricas LW-OTR y de 7.1% para los vinos de las barricas HW-OTR. El último parámetro b^* , representa los tonos de azul al amarillo. Siguiendo el patrón anterior a los 6 meses los vinos de las barricas clasificadas tienen se diferencias significativamente respecto al control con valores superiores, a los 12 meses en cambio se diferencia significativamente los vinos de las barricas LW-OTR respecto HW-OTR ($p = 0.0896$). Un aumento 132% para los vinos de las barricas control, 66.85% para los vinos de las barricas LW-OTR y 70% para los vinos de las barricas HW-OTR.

Las absorbancias no presentan diferencias significativas entre los diferentes lotes ni a los diferentes tiempos de análisis, no obstante teniendo presentes los compuestos antocianidicos formados en el trabajo de PORTO, se pueden decir que la formación de nuevos compuestos aportan una mayor intensidad de color rojo, absorbancia 520 nm, a los vinos envejecidos en barricas LW-OTR, con valores de 8.9 ± 0.19 respecto a los 8.75 ± 0.05 de los vinos de las barricas HW-OTR, esto se repite a los 12 meses 8.03 ± 0.31 y los 7.81 ± 0.12 respectivamente. En cuanto el color amarillo representado por la absorbancia 420 nm, que nos diría que vino está ligeramente más oxidado, no se muestran diferencias significativas, y los valores son muy similares, por lo que los autores creen que la formación de algunos compuestos dé más estabilidad de color, pese a que hay una mayor cantidad de antocianos manoméricos en los vinos de las barricas de HW-OTR. En cuanto a la absorbancia 620 nm, que corresponde a los azules según los datos aportados por el anterior trabajo la formación de derivados antocianidicos es superior en los vinos de las barricas LW-OTR por lo que tienen una mayor estabilidad de color, no obstante, únicamente con los valores de la absorbancia no se puede apreciar esta diferencia, la cual si era destacable con los parámetros CIELab.

3.4. Evolución de los elagitaninos del vino envejecido

La Figura 2 muestra los resultados de la concentración de los 4 elagitaninos en el vino, tras 6 y 12 meses de envejecimiento en barricas control (n=2), y clasificadas según su OTR LW-OTR (n=4) y HW-OTR (n=4). El vino utilizado para rellenar las barricas no tiene elagitaninos, ya que no ha estado en contacto con madera. Se pueden observar que existen diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes lotes de vinos envejecidos ($p < 0.05$). El análisis del vino a los 6 meses nos presenta unos coeficientes de variación, que en el caso del elagitanino más abundante, la vescalagina, es del 23% en el caso de los vinos de las barricas control, frente a unos C.V. más bajos para los lotes clasificados 15% para LW-OTR y 8% en el caso de los vinos HW-OTR. La castalagina presenta unos C.V. un poco más altos, sin embargo, los valores de los vinos envejecidos en HW-OTR son los que presentan unos valores más bajos. En el caso de la

grandinina y la Roburina E, presentan los valores de variación más altos en los vinos LW-OTR siendo 37 y 41% respectivamente.

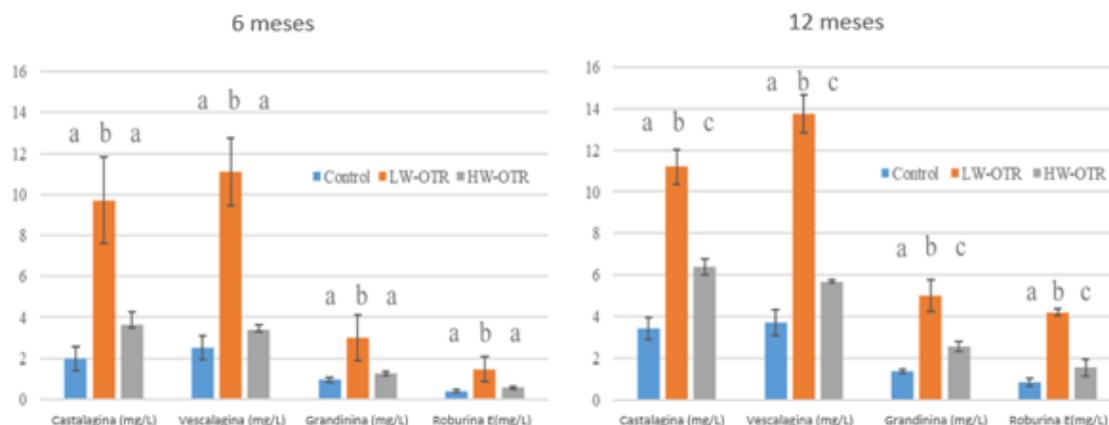


Figure 2. Concentración de elagitaninos presentes en el vino envejecido en las barricas con OTR personalizado y control a los 6 meses (izquierda) y a los 12 meses, y análisis ANOVA

A los 12 meses de envejecimiento los valores de C.V. son mucho más bajos. En el caso de la vescalagina los lotes de vino envejecido en barricas clasificadas presentan unos valores de 1% y 7% en HW-OTR y LW-OTR, respectivamente. Le sigue la castalagina con 6% para vinos HW-OTR y 8 para LW-OTR. En el caso de la grandinina los valores son de 10 y 15% y para la roburina E del 25 y 4% para los vinos HW-OTR y LW-OTR respectivamente. Los valores de los vinos envejecidos en las barricas control exceptuando el caso de la roburina E y la grandinina mencionados a los 6 meses, presentan valores de C.V. más altos, tal y como sucedía en el análisis de elagitaninos en la madera, por tanto, se puede decir que las barricas clasificadas presentan en cuanto a la concentración presente en el vino una mayor homogeneidad.

La vescalagina y la castalagina son los taninos hidrolizables de mayor concentración. A los 6 meses de envejecimiento del vino la concentración de la castalagina en los vinos de las barricas HW-OTR es un 62% inferior respecto a los vinos LW-OTR. Este hecho también se da para la vescalagina donde la concentración en HW-OTR es un 69% inferior. Los elagitaninos minoritarios, también se encuentran en mayor cantidad en los lotes de vino de baja oxigenación siendo la grandinina 58% y la Roburina E un 61%.

En cuanto a las barricas control la concentración de todos los elagitaninos es inferior a ambos lotes de vino envejecido en barricas clasificadas.

En el caso de los 12 meses de envejecimiento, esta diferencia estadística se mantiene, sin embargo, varían un poco los porcentajes de diferencia, en el caso de la castalagina es del 43%, para la vascalagina la diferencia entre los vinos de los lotes con diferente oxigenación es del 59%. Para la grandinina es del 49% y por último para la roburina E es del 63%, estos dos últimos compuestos, tienen una mayor relevancia en las reacciones independientes y dependientes al oxígeno, siendo su disminución de concentración más alta a una mayor disponibilidad de oxígeno³³. Es decir, en los dos tiempos de análisis la concentración es significativamente superior para los vinos de baja oxigenación.

El efecto del tipo de grano de la madera es un factor importante, algunos trabajos³⁴, diferencian aspectos sensoriales en el envejecimiento del vino en madera clasificada como grano ancho, cede mucho más elagitanino y el vino envejecido en madera clasificada como grano fino por el contrario, es más rica en compuestos aromáticos de la madera. En este estudio la madera LW-OTR tiene una proporción de madera de primavera superior, por lo que se justifica que la cesión de compuesto tánico durante el tiempo sea superior.

Por otro lado, en un mismo lote también se puede ver un aumento en la concentración con el paso del tiempo. Para los vinos envejecidos en LW-OTR, de los 6 a los 12 meses de envejecimiento la castalagina aumenta un 13%, la vascalagina un 19%, la grandinina un 40% y un 65% para la roburina E que es el compuesto con un mayor aumento de concentración. En el caso de los vinos de las barricas HW-OTR, los aumentos de concentración de los 6 a los 12 meses son superiores siendo del 43% para la castalagina, de un 40% para la vascalagina, de un 51% para la grandinina y de un 62% para la Roburina E. Los aumentos en los vinos envejecidos en HW-OTR, son superiores sobre todo en los elagitaninos más hidrolizables, posiblemente guarda relación con el porcentaje de humectación (MC) de la madera, si se extrapolan los valores de trabajos anteriores con barricas clasificadas por el OTR, que la humedad de la madera durante la desgasificación es de 3.52 ± 0.75 para las barricas HW-OTR y de 2.34 ± 0.37 para las

LW-OTR, y para los tiempos de medida del OTR llegan a valores más próximos 1.48 ± 0.25 y 1.38 ± 0.4 , respectivamente¹⁷. Por tanto, la liberación de los elagitaninos puede acelerarse con el paso del oxígeno y extraer una mayor cantidad de compuesto en las barricas HW-OTR que a la vez son barricas menos pesadas, por tanto, más porosas.

Este aumento de la concentración de elagitaninos corrobora lo descrito por otros autores³⁵, donde en un vino tinto de características similares envejecido en bodega nueva de *Q. petraea* de un tostado medio, obtiene unos valores de concentración a los 6 meses de 3.03 ± 0.39 mg/L y de 6.2 ± 0.7 mg/L para los 12 meses, de taninos totales, estos valores son similares a la suma de los elagitaninos obtenidos en las barricas control de este trabajo. Sin embargo, no coincide con otros trabajos³⁶, que analizan un vino envejecido durante un año en bodega de roble francés obteniendo que la concentración de elagitaninos crece hasta el 3-4 mes, respecto al total de elagitaninos (8 en este estudio) la castalagina aumenta un 30-35%, la vescalagina 16-25%, grandinina 5-7% y las roburina A-E 5-9%, pero que decae en los meses siguientes hay un decrecimiento lento de la concentración.

La disponibilidad de O₂ disuelto en la solución tiene gran influencia en la concentración de elagitaninos, en solución de vino modelo sin oxígeno se pueden observar la desoxigenación de la madera y el consumo por parte de los compuestos cedidos por la madera, observando una disminución del contenido de oxígeno disponible³⁷. Estudios de vino modelo con diferente concentración de OD indican que la concentración total de elagitaninos en un sistema 0 mg/l de OD es máxima a los 8 días y es de 627.6mg/L, en cambio para un sistema OD 1.9 mg/L la concentración máxima es de 495.7 al 5 día, un 21% inferior, y de 393.4 mg/L en un sistema saturado de oxígeno³³.

Se ha encontrado que el contenido de elagitaninos en la madera no presenta diferencias significativas entre los lotes HW-OTR y LW-OTR, sin embargo, sí se observan diferencias en la concentración de elagitaninos presente en el vino a los 6 y 12 meses de crianza. La estructura anatómica de la madera junto con un mayor paso del oxígeno puede ayudar a la extracción inicial de estos compuestos y seguidamente la diferencia de concentraciones con el paso del tiempo se debe a la disponibilidad de

oxígeno disuelto¹⁷. En este caso el aporte de oxígeno al vino envejecido en las barricas de alta oxigenación es 2.3 veces superior al vino de las barricas LW-OTR. Algunos trabajos ya ponían de manifiesto la importancia de la anatomía de la madera, así al analizar la influencia entre nivel de tostado y grano en madera de *Q. petraea*, encontraron, en el caso de madera de grano medio, valores de concentración de elagitaninos superiores a las maderas de grano fino, sin embargo, no describen una relación significativa tipo de grano y composición tánica³⁸.

El análisis de componentes principales (PCA) (Figura 3), presenta la relación entre los vinos envejecidos en las barricas de los lotes clasificados por el OTR, durante los diferentes tiempos de contacto vino-barrica, en cuanto a los valores de concentración de los cuatro elagitaninos de estudio y la capacidad antioxidante (DPPH y FRAP) e IPT. Este PCA se utiliza para evaluar la contribución de los elagitaninos en cada tipo de vino envejecido en barrica clasificada por su OTR. Como se puede observar en la Figura 4, el primer componente principal (PC1), que representa el 64.14% de la varianza total, y el PC2 explica 24.11%.

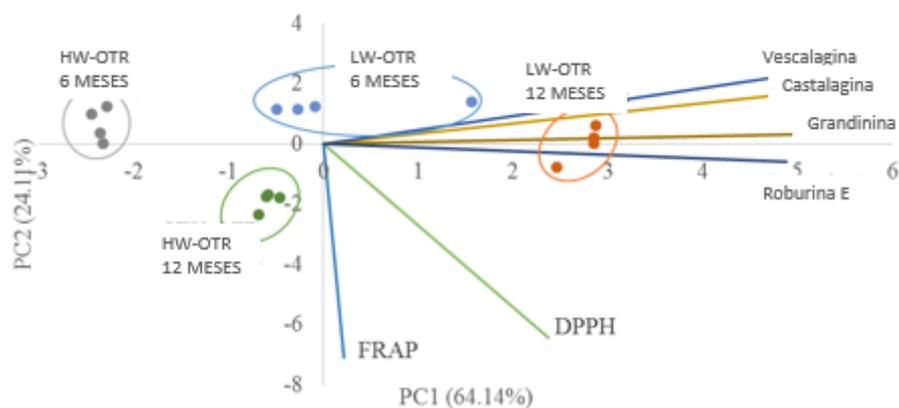


Figura 3. Análisis de componentes principales elagitaninos y capacidad antioxidante

En el eje positivo de PC1, se encuentran las variables de estudio, es decir, se correlacionan positivamente. Se pueden diferenciar los lotes de vino envejecido en barricas LW-OTR de las HW-OTR, tanto por grupos como por el tiempo de envejecimiento. Siendo los lotes de vino HW-OTR claramente más pobres en taninos hidrolizables respecto a los vinos envejecidos en LW-OTR.

En el artículo presentado en el **Capítulo III**, se estudia la composición de antocianinas y sus derivados en estos mismos vinos envejecidos en barricas con OTR personalizado. Este estudio confirmó que la diferencia de oxigenación de las barricas permitía obtener vinos con diferente composición de antocianos y por lo tanto de color. Se obtuvieron resultados de una menor concentración de antocianinas manoméricas, en los vinos envejecidos en LW-OTR, por lo que uno de los compuestos que puede reaccionar con este tipo de compuestos son los elagitaninos y podrían establecer una relación concentración elagitaninos y la concentración de antocianos. Si se observan los aumentos de la concentración de elagitaninos son menores para los vinos envejecidos en HW-OTR, esto podría relacionarse con la mayor cantidad de derivados de antocianina presente en el vino LW-OTR, que además se refleja en una mayor estabilidad del color.

En este apartado se pueden decir que presentan más elagitaninos los vinos envejecidos en barricas con una menor tasa de transferencia de oxígeno que los envejecidos en barricas con alta tasa de transferencia de oxígeno.

3.5. Relación de elagitaninos y otros compuestos en el vino

Teniendo en cuenta que el vino es una matriz compleja, se estudiaron las relaciones entre TPC, parámetros enológicos, actividad antioxidante (métodos DPPH y FRAP), color y la composición tánica presente en el vino (Tabla 3). En esta tabla se muestran las correlaciones de Pearson superiores o iguales al 95%.

En el caso de los vinos envejecidos en las barricas de alta oxigenación (HW-OTR), se ha encontrado que el contenido en 4 elagitaninos está muy relacionado con la capacidad antioxidante, y con mayor significación en el caso de las medidas DPPH. Los resultados indican que cuanto mayor contenido en elagitaninos, mayor capacidad antioxidante, siendo la vescalagina la de mayor correlación y la Roburina E la de menor. En el caso de los elagitaninos de los vinos envejecidos en barricas de los lotes LW-OTR, el contenido en elagitaninos se encuentra correlacionado únicamente con la capacidad antioxidante de los vinos medida con el método DPPH y únicamente de forma estadísticamente significativa con vescalagina, grandinina y de forma más significativa con roburina E.

Estos resultados ponen de manifiesto que la capacidad antioxidante de los vinos envejecidos en barricas de baja oxigenación no se debe a los elagitaninos analizados, si no posiblemente a los nuevos compuestos formados durante el envejecimiento. Estos resultados concuerdan con lo obtenido en otras trabajos^{39,40}

El análisis de IPT, presenta una correlación significativa con una contribución negativa para los 4 elagitaninos en los vinos envejecidos en HW-OTR, en el caso de los vinos envejecidos en las barricas LW-OTR, únicamente es significativo para la vescalagina. Otros parámetros como la acidez total, la glicerina, acetato de etilo, y las absorbancias 420 nm, 520 nm y 620 nm, presentan correlaciones significativas, con contribuciones negativas ($p < 0.05$). Para los vinos envejecidos en HW-OTR, los 4 elagitaninos presentan correlaciones negativas, manteniendo en todos los casos una correlación más alta con la vescalagina. Por otra parte, los vinos envejecidos en LW-OTR, presentan correlaciones negativas no obstante no es significativo para la castalagina, y la Roburin E presenta una correlación es más alta. En el caso de la glicerina únicamente se encuentran correlación significativa en Roburina E, y para el acetato de etilo solo contribuye significativamente la grandinina y más significativa en la Roburina E, en cuanto a las absorbancias, la grandinina tiene correlación con las tres estudiadas, en cambio la Roburina E no guarda una correlación significativa con la absorbancia a 420 nm, no es significativa para los dos elagitaninos con mayor concentración.

Los vinos envejecidos en HW-OTR presentan correlaciones significativas con contribución positiva para los 4 elagitaninos, para el ácido acético, acetaldehído, SO_2 libre y total y para los parámetros CIELab, en todos estos parámetros la correlación tiene valores más altos para la vescalagina. Por otra parte, los vinos envejecidos en las barricas LW-OTR, no presentan correlacion significativa para la castalagina, la vescalagina tiene contribución en el ácido acético y los parámetros CIELab. No obstante, si contribuyen positivamente en todos los parámetros significativamente la Grandinina y la Roburina E, siendo los valores de este último superiores.

3.6. Análisis sensorial

De los resultados obtenidos en el análisis sensorial se pueden observar que es posible diferenciar entre vinos con un panel de cata, de los 60 catadores 31 respuestas en la cata triangular fueron correctas. Esto conlleva que el resultado de la evaluación estadística, donde la significación del nivel de riesgo es de $\alpha=0.01$ (probabilidad de concluir que existen diferencias perceptibles), un valor de percepción aceptable $p_d = 50\%$ (proporción de jueces que perciban la diferencia aceptable para el análisis) y una $\beta = 0.001$ (sería la probabilidad de concluir que no existen diferencias perceptibles cuando si existen).

Table 3. Correlaciones (*r* values) entre castalagina, vescalagina, grandinina, roburina E y la actividad antioxidante (DPPH and FRAP), Folin, Algunos parámetros enológicos y parámetros de color. Valores estadísticamente significativos $p < 0.05$ resaltados en negra.

| | Vino barricas HW-OTR | | | | Vino barricas LW-OTR | | | |
|-----------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|
| | Castalagina (mg/L) | Vescalagina (mg/L) | Grandinina (mg/L) | Roburina E (mg/L) | Castalagina (mg/L) | Vescalagina (mg/L) | Grandinina (mg/L) | Roburina E (mg/L) |
| DPPH | 0,9121 | 0,9666 | 0,9532 | 0,8912 | 0,4741 | 0,7441 | 0,7563 | 0,9473 |
| FRAP | 0,7947 | 0,9398 | 0,8535 | 0,7804 | 0,0581 | 0,3264 | -0,0349 | 0,2192 |
| Folin | -0,7942 | -0,8761 | -0,8796 | -0,7107 | -0,5808 | -0,6999 | -0,6325 | -0,8242 |
| Acidez total | -0,9082 | -0,9776 | -0,9113 | -0,8892 | -0,46 | -0,7605 | -0,7421 | -0,9628 |
| Ácido acético | 0,9214 | 0,8125 | 0,823 | 0,8307 | 0,4615 | 0,7072 | 0,8106 | 0,8663 |
| Glicerina | -0,9427 | -0,9483 | -0,9628 | -0,922 | -0,2391 | -0,5409 | -0,4357 | -0,7626 |
| Acetaldehído | 0,8057 | 0,8984 | 0,791 | 0,8807 | 0,391 | 0,6653 | 0,7594 | 0,8921 |
| Acetato de etilo | -0,7257 | -0,8143 | -0,8406 | -0,5055 | -0,5 | -0,6862 | -0,8963 | -0,9191 |
| SO ₂ libre | 0,9425 | 0,9885 | 0,9533 | 0,8908 | 0,3673 | 0,6429 | 0,796 | 0,9002 |
| SO ₂ total | 0,951 | 0,9899 | 0,9665 | 0,8903 | 0,4003 | 0,6583 | 0,8223 | 0,9181 |
| 420 nm | -0,8709 | -0,9227 | -0,852 | -0,8214 | -0,5449 | -0,6408 | -0,7508 | -0,6925 |
| 520 nm | -0,9308 | -0,9695 | -0,925 | -0,8731 | -0,4982 | -0,698 | -0,8293 | -0,8594 |
| 620 nm | -0,9092 | -0,9563 | -0,897 | -0,8605 | -0,5235 | -0,682 | -0,7948 | -0,7895 |
| H* | 0,9579 | 0,979 | 0,9631 | 0,885 | 0,3763 | 0,6368 | 0,8183 | 0,9013 |
| L* | 0,8769 | 0,9487 | 0,8849 | 0,8189 | 0,5572 | 0,7153 | 0,7664 | 0,778 |
| a* | 0,8737 | 0,9474 | 0,8839 | 0,8126 | 0,5682 | 0,7243 | 0,7618 | 0,7763 |
| b* | 0,8778 | 0,9494 | 0,8855 | 0,8199 | 0,5558 | 0,716 | 0,7671 | 0,7798 |

Los jueces destacan diferencias en el color donde los vinos envejecidos en LW-OTR, presentan notas violáceas con la copa inclinada a 45°, en cambio destacan una mayor evolución para los vinos HW-OTR. En nariz no se destacan diferencias relevantes y repetidas entre los catadores. La percepción sensorial describe los elagitaninos como un impacto en la astringencia y el amargor ¹⁰. En cuanto a la percepción en boca, la mayoría de los catadores que han acertado destacan que los vinos envejecidos en LW-OTR lo encuentran más equilibrado y en general hay cierta tendencia a que el vino que más gusta es el envejecido en barricas con baja oxigenación.

Agradecimientos

Esta investigación fue financiada por la Junta de Castilla y León VA315P18), MINECO AGL2014-54602-P and AGL2017-87373-C3-2-R y FEDER, Interreg España-Portugal Programme (Iberphenol). Prat-García, S. agradece a IBERPHENOL por su contrato predoctoral.

Bibliografía

1. Chatonnet, P. & Dubourdieu, D. Comparative study of the characteristics of American white oak (*Quercus alba*) and European oak (*Quercus petraea* and *Q. robur*) for production of barrels used in barrel aging of wines. *Am. J. Enol. Vitic.* **49**, 79–85 (1998).
2. del Alamo-Sanza, M. & Nevares, I. Oak wine barrel as an active vessel: A critical review of past and current knowledge. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **58**, 2711–2726 (2017).
3. Basalekou, M., Kallithraka, S., Tarantilis, P. A., Kotseridis, Y. & Pappas, C. Ellagitannins in wines: Future prospects in methods of analysis using FT-IR spectroscopy. *Lwt* **101**, 48–53 (2019).
4. Cadahía, E., Varea, S., Muñoz, L., Fernández de Simón, B. & García-Vallejo, M. C. Evolution of Ellagitannins in Spanish, French, and American Oak Woods during Natural Seasoning and Toasting. *J. Agric. Food Chem.* **49**, 3677–3684 (2001).
5. Saucier, C., Jourdes, M., Glories, Y. & Quideau, S. Extraction, detection, and

- quantification of flavano-ellagitannins and ethylvescalagin in a Bordeaux red wine aged in oak barrels. *J. Agric. Food Chem.* **54**, 7349–7354 (2006).
6. Fernández de Simón, B., Cadahía, E., Conde, E. & García-Vallejo, M. C. Ellagitannins in woods of Spanish, French and American Oaks. *Holzforschung* **53**, 147–150 (1999).
 7. Vivas, N. & Glories, Y. Role of Oak Wood Ellagitannins in the Oxidation Process of Red Wines During Aging. *Am. J. Enol. Vitic.* **47**, 103–107 (1996).
 8. García-Estévez, I. *et al.* An Approach to the Study of the Interactions between Ellagitannins and Oxygen during Oak Wood Aging. *J. Agric. Food Chem.* **65**, 6369–6378 (2017).
 9. García-Estévez, I., Escribano-Bailón, M. T. & Alcalde-Eon, C. Effect of the presence of different oak ellagitannins in their own disappearance under oxidative or inert atmosphere. *Food Chem.* **286**, 43–50 (2019).
 10. Glabasnia, A. & Hofmann, T. 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. *J. Agric. Food Chem.* **54**, 3380–3390 (2006).
 11. García-Estévez, I. *et al.* Hemisynthesis and structural and chromatic characterization of delphinidin 3- O -glucoside-vescalagin hybrid pigments. *J. Agric. Food Chem.* **61**, 11560–11568 (2013).
 12. Chassaing, S. *et al.* Physicochemical studies of new anthocyano-ellagitannin hybrid pigments: About the origin of the influence of oak C-glycosidic ellagitannins on wine color. *European J. Org. Chem.* 55–63 (2010).
doi:10.1002/ejoc.200901133
 13. Michel, J. *et al.* Impact of concentration of ellagitannins in oak wood on their levels and organoleptic influence in red wine. *J. Agric. Food Chem.* **59**, 5677–5683 (2011).
 14. Michel, J. *et al.* Variations in oxygen and ellagitannins, and organoleptic properties of red wine aged in French oak barrels classified by a near infrared system. *Food Chem.* **204**, 381–390 (2016).
 15. Oliveira, C. M., Ferreira, A. C. S., De Freitas, V. & Silva, A. M. S. Oxidation

- mechanisms occurring in wines. *Food Res. Int.* **44**, 1115–1126 (2011).
16. Martínez-Martínez, V., del Alamo-Sanza, M. & Nevares, I. Application of image analysis and artificial neural networks to the prediction in-line of OTR in oak wood planks for cooperage. *Mater. Des.* **181**, 107979 (2019).
 17. Prat-García, S., Nevares, I., Martínez-Martínez, V. & del Alamo-Sanza, M. Customized oxygenation barrels as a new strategy for controlled wine aging. *Food Res. Int.* **131**, 108982 (2020).
 18. Glories, Y. La couleur des vins rouges 2. Mesure, origine et interprétation. *OENO One* **18**, 253–271 (1984).
 19. García-Estévez, I., Escribano-Bailón, M. T., Rivas-Gonzalo, J. C. & Alcalde-Eon, C. Validation of a mass spectrometry method to quantify oak ellagitannins in wine samples. *J. Agric. Food Chem.* **60**, 1373–1379 (2012).
 20. García-Estévez, I., Escribano-Bailón, M. T., Rivas-Gonzalo, J. C. & Alcalde-Eon, C. Development of a fractionation method for the detection and identification of oak ellagitannins in red wines. *Anal. Chim. Acta* **660**, 171–176 (2010).
 21. Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A. & Dubourdieu, D. *Handbook of Enology The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments.* (2006).
 22. Benzie, I. & Strain, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of 'Antioxidant power': the FRAP assay analytical biochemistry. *Anal. Biochem.* **239**, 70–76 (1996).
 23. Bondet, V., Brand-Williams, W. & Berset, C. Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity using the DPPH• Free Radical Method. *LWT - Food Sci. Technol.* **30**, 609–615 (1997).
 24. Singleton, V. L. & Rossi, J. A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* **16**, 144–158 (1965).
 25. AENOR, Sensory analysis. Methodology. Triangle test (ISO 4120:2004). *Asociación Española de Normalización y Certificación* (2008).
 26. Vivas, N. The notion of grain in cooperage. *J. des Sci. Tech. la Tonnellerie* **1**, 17–32 (1995).
 27. Giordanengo, T. *et al.* Oakscan : Procède de mesure rapide et non destructif des

- polyphenols du bois de chene de tonnellerie. *Rev. Fr. des Oenologues* **234**, (2009).
28. Michel, J. *et al.* Influence of wood barrels classified by NIRS on the ellagitannin content/composition and on the organoleptic properties of wine. *J. Agric. Food Chem.* **61**, 11109–11118 (2013).
 29. Andrei, Pe. of species and ecological conditions on ellagitannin content in oak wood from an even-aged and mixed stand of *Q. robur* L. . and *Q. petraea* L. ., Jean-claude, B., Alexis, D., Gérard, N. & Jean-louis, P. 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 . **63**, 415–424 (2006).
 30. García-Estévez, I., Alcalde-Eon, C., Le Grottaglie, L., Rivas-Gonzalo, J. C. & Escribano-Bailón, M. T. Understanding the ellagitannin extraction process from oak wood. *Tetrahedron* **71**, 3089–3094 (2015).
 31. Fernández de Simón, B., Cadahía, E., Conde, E. & García-Vallejo, M. C. Ellagitannins in woods of Spanish oaks. *J. des Sci. Tech. la Tonnellerie* **4**, 91–97 (1998).
 32. Prat-García, S. *et al.* Characterization of Anthocyanins and Anthocyanin-Derivatives in Red Wines during Ageing in Custom Oxygenation Oak Wood Barrels. *Molecules* **26**, (2021).
 33. García-Estévez, I., Escribano-Bailón, M. T., Rivas-Gonzalo, J. C. & Alcalde-Eon, C. Effect of the type of oak barrels employed during ageing on the ellagitannin profile of wines. *Aust. J. Grape Wine Res.* **23**, 334–341 (2017).
 34. Guillaume de Pracomtal, M. M., Teissier du Cros, R. & Monteau, A.-C. Types of oak grain, wine élevage in barrel. *Pract. Winer. Vineyard* 64–69 (2014).
 35. Navarro, M. *et al.* Influence of the botanical origin and toasting level on the ellagitannin content of wines aged in new and used oak barrels. *Food Res. Int.* **87**, 197–203 (2016).
 36. Jourdes, M., Michel, J., Saucier, C., Quideau, S. & Teissedre, P. L. Identification, amounts, and kinetics of extraction of C-glucosidic ellagitannins during wine aging in oak barrels or in stainless steel tanks with oak chips. *Anal. Bioanal.*

- Chem.* **401**, 1535–1543 (2011).
37. Prat-García, S. *et al.* Image of O₂ dynamics released by oak wood submerged in model wine with nanoparticle sensors. *Sensors Actuators, B Chem.* **284**, 337–345 (2019).
 38. Jordão, A. M., Ricardo-Da-Silva, J. M. & Laureano, O. Ellagitannins from Portuguese oak wood (*Quercus pyrenaica* Willd.) used in cooperage: Influence of geographical origin, coarseness of the grain and toasting level. *Holzforschung* **61**, 155–160 (2007).
 39. Cocero, M. J., Duarte, C. M. M., Matias, A. A. & Bronze, M. R. Phenolic characterization of aging wine lees: correlation with antioxidant activities. *Food Chem.* (2018). doi:10.1016/j.foodchem.2018.03.119
 40. Alañón, M. E. *et al.* Antioxidant capacity and phenolic composition of different woods used in cooperage. *Food Chem.* **129**, 1584–1590 (2011).

DISCUSIÓN GENERAL

Diferentes estudios han precedido a este y gracias a ellos se ha visto la necesidad de la realización de este trabajo. En el grupo de investigación UVaMOX de la Universidad de Valladolid, en el que se ha desarrollado esta Tesis Doctoral, llevan años investigando sobre los efectos del oxígeno durante el envejecimiento e innovando en nuevas estrategias de medida y estudio de la dinámica del oxígeno y los efectos que este provoca en el producto final, con tal de generar mejoras en el sector enológico.

La oxidación del vino en contacto con la madera de roble es un proceso importante en la crianza del vino. Al igual, la madera de roble es importante como se ha mencionado a lo largo de este trabajo por las características sensoriales que aporta a los vinos. Por ello y conociendo que la propia madera de roble es un material natural, se planteo la idea de analizar la dinámica del oxígeno en las diferentes estructuras anatómicas de la madera de roble. En el **Capítulo I** de esta Tesis Doctoral, se presenta el estudio de cómo pueden influir las diferentes estructuras de la madera en la dinámica del oxígeno, tanto en la desgasificación propia de la madera, como en el consumo de oxígeno por los compuestos presentes en la madera y cedidos al vino, como son los taninos enológicos. Este ensayo evalúa la posibilidad de obtener un mapa de la distribución de oxígeno en una imagen 2D en diferentes tiempos para observar la evolución del oxígeno disuelto. En el laboratorio se preparó una solución sensora, basada en una solución de vino modelo, preparada con agua ultra-purificada y etanol al 13% en volumen en la cual se disolvieron los sensores ópticos y de referencia en la relación óptima para obtener una imagen ratiométrica.

Para el diseño del experimento, se escogió una madera de roble con proporciones diferenciadas de madera de primavera y de verano y se cortó un pedazo para pegarlo con una lámina muy fina de silicona ácida, a una lámina de metraquilato transparente y esta a su vez en una cámara de metacrilato, diseñada para el experimento, que permitía ver tanto las distintas estructuras de la madera como la solución sensora. La proporción de madera en contacto con la solución sensora es 80 veces mayor a la relación que hay en la barrica durante la crianza del vino. La entrada y salida de la

cámara de metacrilato permiten la estanqueidad al aire del exterior, además contiene un spot para tener un control del oxígeno en disolución.

Este sistema, se llena con la solución sensora, donde se realizaron dos ensayos. Previamente, el sistema sin presencia de madera, para ello se construyó la misma cámara de metacrilato, se llenó de solución vino modelo con la mezcla de nanosensora, y se acopla a un mezclador de gases para calibrar la solución desde 0% de aire a 100% en saltos de 10%. La solución se excita mediante la luz UV LED, que emite a 405 nm, y la imagen se captura con una cámara RGB, frente a la cámara se pone un filtro de emisión de paso largo. El LED se enciende 5 segundos antes de tomar la imagen para mantener una intensidad de luz y garantizar la excitación de toda la solución, las capturas se realizan cada 5 minutos, y la medida del oxígeno en solución mediante el spot, se sincroniza para que no genere interferencias. Obtenidas todas las imágenes de color, se procesan con la ayuda del software LabVIEW 2015, donde se procesan las imágenes del calibrado. De las imágenes RGB obtenidas, se procesan para obtener una imagen ratiométrica, los nanosensores sensibles al oxígeno Pt-TFPP dan señal en el canal rojo y los sensores de referencia se detectan en el canal verde. La calibración consiste en ajustar la curva de calibración de Stern-Volmer a partir de las concentraciones de oxígeno conocidas, en diferentes puntos de la imagen, debido a que la concentración de sensores está distribuida en diferentes proporciones en cada punto de las diferentes imágenes. Para resolverlo, se capturan imágenes de las partículas sensoras a diferentes tiempos de exposición y se obtiene una imagen de distribución de oxígeno válida y mediante las ecuaciones explicadas en el **Capítulo I**, se pueden asignar a cada pixel una concentración de oxígeno. De la media de los pixeles de cada área seleccionada de la imagen se obtiene un valor ratiométrico asociado a cada imagen (Figure 3, **Capítulo I**).

Una vez obtenida la curva de calibración se sigue el mismo procedimiento con un sistema con madera y la solución sensora al 0% en aire saturado y se capturan imágenes durante el tiempo para calcular la concentración de oxígeno tanto en la desgasificación del aire contenido en la madera como el consumo de oxígeno o parte de los compuestos liberados.

Una vez establecido el procesado de la obtención de las imágenes de oxígeno, se interpretan las modificaciones en la solución al 0% en concentración de oxígeno. En este caso, se pretende visualizar la desgasificación de la madera en diferentes estructuras de la madera. Por ello, se selecciona una sección de madera de verano y otra de primavera, estas se diferencian por el tamaño del poro, siendo más grande en la madera de primavera. La solución de vino modelo con los sensores permite ver el contenido de oxígeno. Las imágenes seleccionadas son a diferentes tiempos, 0, 10, 30 y 60 minutos, en estos se pueden observar el burbujeo generado por la liberación de aire atrapado en los poros de la madera de roble. Se pueden ver el aumento de la concentración de oxígeno en la solución, la cuantificación del oxígeno disuelto, se obtienen con los datos adquiridos por el sensor de tipo spot.

La pequeña separación entre la lámina de metacrilato y la madera permite ver las burbujas completas de desplazamiento del aire contenido en el interior de la madera, los nanosensores no se encuentran en el interior de las burbujas, estas se visualizan en el canal verde y por tanto en las imágenes de oxígeno finales. La dinámica del oxígeno liberado por el aire atrapado en los poros es menor que la dinámica de consumo, ya que, tras 6,5 horas desde el inicio del experimento, se tiene señal tanto en el líquido como en la madera y pasadas 9 horas el oxígeno disuelto en la madera de verano disminuye. La madera de verano además presenta una mayor liberación de oxígeno durante las primeras 24h de estudio, este hecho puede deberse a la estructura de la madera, mucho más densa, puede frenar la humectación de la madera evitando el desplazamiento del aire contenido. Por otro lado, la madera de primavera, presenta un contenido superior de oxígeno hasta el final del experimento (80h), esto puede deberse a la presencia de tilosas en los vasos que posiblemente retrasen la entrada de líquido y por tanto la liberación del aire en el interior es más lenta, además la diferencia con la madera de verano en cuanto a concentración de oxígeno es alta, esto puede deberse a que la madera de verano es más rica en elagitaninos, los cuales tienen alta avidéz por el oxígeno.

Se puede observar que, en la madera de primavera, se liberan unos máximos de entre el 25-27% aire saturado durante las primeras tres horas y media y decrece la

concentración a medida que avanza el tiempo hasta llegar a mantenerse a niveles próximos a 10,6% aire saturado. En las áreas de madera de verano en cambio, tarda más en desgasificarse, entre 4 y 6 horas, y después se observa un descenso del contenido de oxígeno disuelto, debido al consumo por las sustancias cedidas.

De este ensayo se puede determinar la clara influencia de la anatomía de la madera y también la importancia de los compuestos cedidos por la madera al vino como son los elagitaninos. Por ello, con el siguiente ensayo basado en la metodología diseñada previamente por el grupo UVaMOX ⁴¹.

El trabajo consistió en construir barricas con tasa de transferencia de oxígeno conocida, mediante una metodología no destructiva basada en el reconocimiento de las estructuras anatómicas y en las propiedades físicas de las duelas. Posteriormente se validó si esta metodología era óptima para la crianza de vinos con un OTR personalizado. Para conseguirlo se dividió el trabajo en cuatro partes (**Capítulo II**).

Primero se clasificaron 3.064 duelas de roble *Q. petraea*, las cuales se separaron por tamaños para cuerpo y tapas de la barrica. El procedimiento seguido para la estimación del OTR de las duelas, es económico y simple. Martínez-Martínez et. Al. 2019 emplea en su metodología redes neuronales (Artificial Neural Network), para predecir el potencial OTR. Los parámetros utilizados para ello fueron la densidad y siete características anatómicas la obtención de estos se produce por un sistema no invasivo a partir de una imagen⁴¹. La densidad se calculó dividiendo el peso y el volumen de cada duela de madera. Se diseñó un sistema para fotografiar las cabezas de las duelas, mediante el uso de una cámara mono-crómica, se iluminó con una luz LED para garantizar una intensidad lumínica lo más uniforme posible. De estas fotografías se procesan 7 elementos estructurales de la madera (el ángulo de rotación de la muestra de madera, número de anillos, proporción de madera de primavera y de verano, y la inclinación y número de radios medulares). Las duelas presentaban altas diferencias entre sí, lo que permitió separar en alta, medio y bajo OTR. Sin embargo, solo se fabricaron barricas de alta y de bajo OTR. Siendo el OTR de las duelas destinadas a cada grupo de 0,554 hPa/día para las barricas LWOTR, y 1,017 hPa/día

para las de alto OTR, y para las tapas 0,383 hPa/día para las barricas de bajo OTR y 0,944 hPa/día para las de alto OTR.

Seguidamente, se seleccionaron las duelas óptimas para la fabricación de las barricas de 225 L, cada barrica consta de unas 30 duelas para el cuerpo, y unas 10 para las tapas. Conocido el OTR de cada madera seleccionada para las barricas de alto OTR o bajo, se estimó el OTR total de la barrica. Una vez seleccionadas las duelas que conforman cada barrica se enviaron a la Tonelería INTONA donde se encargaron de la fabricación de las barricas, emplearon un tostado medio. Se obtuvieron 8 barricas de alta y 8 barricas de bajo OTR con trazabilidad sobre todas las duelas. Además, se fabricaron 4 barricas control de las que se desconoce el OTR.

Los análisis del coeficiente de variación entre el OTR de las barricas muestran que para el cuerpo de las barricas de alta tasa de transferencia de oxígeno (HWOTR) tiene un valor 1,2%, y 1,9% para las de bajo OTR (LWOTR). Para las cabezas de la barrica este coeficiente es algo superior 4,4% y 3,7% para HWOTR y LWOTR respectivamente. Esto es debido a que las duelas no se enviaron a la tonelería pre-seleccionadas siguiendo el método Monte Carlo. Por lo que esta baja desviación estándar determina que el método de estimación del OTR es óptimo para la fabricación de barricas personalizadas. Donde el OTR en hPa/barrica por día varía para las barricas LWOTR entre 0,37-0,39 hPa/barrica por día y para HWOTR 1,23-1,28 hPa/barrica por día (Figura 18 del **Capítulo II**).

Por último, las barricas volvieron al Grupo UVaMOX para ser analizadas. Para la comprobación del OTR se utilizaron la mitad de cada lote, es decir, 4 barricas de alto OTR, 4 barricas de bajo OTR, y 2 barricas control. Las condiciones en las que se realizó el estudio son las condiciones de bodega. El resto de las barricas se destinó para el envejecimiento de vino durante un año el cual se analizó en los siguientes trabajos.



Figura 18. Proceso de clasificación de la madera para la construcción de barricas con tasa de transferencia de oxígeno personalizado

Las barricas destinadas a la validación del método de clasificación de la madera para la fabricación de barricas con diferente tasa de transferencia de oxígeno se complementaron con un tapón expandible de silicona para minimizar el paso de oxígeno a en el cierre de la barrica. Además, este tapón se modificó para medir el OD, se utilizaron dos fibras ópticas con un sensor luminiscente en la vertical a una distancia del tapón de 21 y 42 cm, y también un transmisor de presión. Este estudio se realizó en tres fases, primero se analizaron las dos barricas control, seguidas de las 4 de LWOTR y por ultimo las 4 de HWOTR. Se preparan 1500 L de solución de vino modelo al 12,4% en volumen de etanol y pH = 3,5. Esta solución se desgasificó (Figura 19) con un sistema de membranas, baja presión y nitrógeno, para verificar la desgasificación de la solución se implementó en el sistema un sensor de medida de oxígeno disuelto mediante fibra óptica con sensor luminiscente. Previamente al llenado con la solución desgasificada, se pre-acondicionaron las barricas con CO₂, para minimizar el contacto con el oxígeno, donde las concentraciones no superaron los 3,8 hPa, y se procede a un llenado de la barrica, el cual desplazaba el CO₂ al exterior. Una vez llena se cerraba con el tapón de silicona modificado con los sensores y el sensor de presión hasta conseguir generar vacío. Tras esto se monitoriza la presión y OD durante 9 días en intervalos de 10 min.



Figura 19. Sistema de degasificación de la solución de vino modelo

En estos 9 primeros días de medida se estudia la degasificación de la madera que está en contacto con el vino, por ello la necesidad de que la solución de vino modelo este degasificada y la preparación previa de la barrica para minimizar el contacto con el oxígeno. Se ha de tener en cuenta que la construcción de las barricas sigue el mismo procedimiento por lo que se podría asumir que el oxígeno que penetra por el espacio inter-duela es el mismo en ambos lotes. Una vez llenas se observan que se genera un vacío en el interior, diferente para algunas barricas que no alcanzan los mismos valores, pero que mantienen la dinámica en la disminución del volumen causado por la infiltración de solución de vino modelo en la madera. La dinámica del oxígeno disuelto en los lotes LWOTR es similar en las cuatro barricas de ensayo. Se pueden comparar los lotes de barricas alto y bajo OTR, las barricas HWOTR tienen una velocidad de degasificación 14% mayor a las de LWOTR.

La cantidad de merma generada tras la medida de la degasificación de la madera es más elevada en las barricas HWOTR, un 62% más que en las LWOTR y como consecuencia el desplazamiento de aire contenido es superior, por lo que el contenido de oxígeno es mayor en el vino modelo. También se compararon los pesos de las

barricas antes de iniciar el ensayo y una vez vacías de solución de vino modelo, las barricas, donde LWOTR es mucho más densa, y por tanto con un menor contenido de aire en el interior.

Pasado este periodo de tiempo el cual se considera tiempo de desgasificación de la madera, se vuelve a desgasificar la solución con nitrógeno con la ayuda de un micro difusor, una vez llegada a la concentración de OD deseado se cierra la barrica y se mide tanto la presión como el OD. Se observan que en el caso de las barricas LWOTR, la penetración del oxígeno es lineal (0,52 a 0,83 hPa/barrica por día), y en este caso se generó un vacío en las cuatro barricas. También como en la primera parte de este ensayo se evaluó la pérdida de vino, en este caso son aproximadamente la mitad que en el ensayo anterior, no obstante, ambas aumentan la humedad de la madera y como consecuencia ralentizan el paso del oxígeno a la solución de vino modelo.

En el caso del lote de barricas HWOTR, presentan una entrada lineal durante los dos primeros días y acto seguido aumenta la velocidad de entrada de una manera uniforme, también se mantiene estable en cuanto al vacío generado, en valores inferiores a los generados por las barricas LWOTR. La entrada de oxígeno en las barricas de alta era más uniforme que el generado por las barricas de bajo OTR, destacando una gran diferencia entre ambos lotes, siendo la media de 13,7 mg de oxígeno en la solución de vino modelo de las barricas HWOTR mientras que, en las barricas LWOTR 6,1 mg, las barricas control por otra parte aportarían en este caso 8,1 mg.

En conjunto, se puede considerar que este ensayo es representativo, ya que la cantidad de duelas utilizadas para la construcción de barricas clasificadas por su OTR, los resultados muestran que se puede clasificar la madera según su estructura anatómica, y que la diferencia es significativa teniendo en cuenta que estudios describen que el 75% del oxígeno que penetra al vino es el que permea a través de la madera de roble³⁴.

El tercer ensayo de esta Tesis doctoral fue el análisis de vino Ribera del Duero envejecido durante un año en barricas de roble clasificadas por OTR (**Capítulo III**). Se analizaron los parámetros básicos del vino inicial y los antocianos. A los 6 y a los 12

meses de envejecimiento se volvieron a analizar los parámetros básicos y de color y también se realizó el análisis de los antocianos, se cuantifico por HPLC/DAD y se realizó además un análisis cualitativo de los antocianos derivados por HPLC/DAD-MS.



Figura 20. Lote de barricas con OTR personalizado destinadas al envejecimiento de vino tinto durante 1 año (fotografía propia)

Se encuentran diferencias en los parámetros enológicos entre los vinos envejecidos en las barricas HWOTR y LWOTR a los 6 y 12 meses estos son en la concentración de acetato de etilo, el resto de los parámetros presentan valores similares.

En cuanto a los parámetros de color, la formación de nuevos pigmentos estabiliza el color, lo que se refleja en el aumento de la intensidad de color en los primeros 6 meses incluso el incremento de la componente azul, el oxígeno, como se ha mencionado en la introducción de este trabajo reacciona con muchos compuestos y entre ellos están los antocianos, a los 6 meses ya se pueden observar cambios en el color. De los 6 a los 12 meses se observa un descenso ligero de la intensidad, siendo levemente superior en los vinos de las barricas HWOTR. Los vinos envejecidos en las barricas HWOTR, tienen una mayor luminosidad y tienen una mayor absorbancia a 420 nm, ambos parámetros nos indican una mayor presencia de oxígeno ya que corresponde a las tonalidades amarillas/verdes y por tanto una mayor oxidación de los compuestos, por lo que se encuentran diferencias significativas entre los vinos envejecidos en barricas de baja y alta tasa de transferencia de oxígeno. Por lo general, los parámetros de color se

correlacionan con los datos obtenidos con el análisis por HPLC/DAD, donde el decrecimiento de CI se relaciona con la de los antocianos.

El contenido de antocianos se expresa en equivalentes del monómero principal, la malvidina. La homogeneidad entre el mismo lote se considera que es alta ya que no supera el 20% de diferencias en los análisis realizados a los 6 y a los 12 meses.

La concentración de los antocianos monoglucósidos decrece con el tiempo, siendo la delfinidina el monoglucósido en este caso con mayor pérdida, y los derivados como los cumarilados aumentan su concentración ya que son compuestos más estables. Diferentes reacciones dan lugar durante el envejecimiento para favorecer la disminución de concentración, las reacciones de condensación tanino-antociano, tienen influencia en el efecto batocrómico, es decir la evolución del rojo a tonos más azules, esto describiría una diferencia tónica entre los vinos envejecidos que se relaciona con las diferencias de CI mencionadas.

Las diferencias a los 6 meses no son estadísticamente significativas, pero si se destaca una tendencia de una mayor concentración en los vinos de las barricas HWOTR. Al año se pueden destacar la formación de nuevos compuestos, derivados del ácido pirúvico, este compuesto suele formarse durante la fermentación alcohólica y no se encuentra bibliografía que remarque la importancia del oxígeno para su formación, pese a que el oxígeno es un gran estabilizador del color, no se puede confirmar que el oxígeno actúe de catalizador, no se encuentran diferencias significativas entre los lotes clasificados pero se destaca una mayor concentración de este compuesto en las barricas control respecto a los lotes clasificados.

El análisis por LC-MS nos permite la identificación de un gran número de pigmentos derivados a diferentes tiempos. Se ha encontrado los 6 meses, los derivados acilados y cumarilados de los antocianos monoglucósidos, el derivado lactato de la malvidina, además algún diglucósido, todos estos compuestos se pudieron identificar siguiendo su patrón de fragmentación.

También se identifican a los 12 meses de envejecimiento, oligómeros que se encuentran en la uva, vino y subproductos. Al año, la forma hidratada del dímero de la malvidina de puente de etilo. Otros compuestos se encuentran a los 6 y a los 12 meses

como son los puentes antocinina-flavanol (catequina y galocatequina). Las formas aciladas únicamente se detectan a los 12 meses.

También se detectan diferentes familias de piranoantocianos, estos compuestos incrementan la estabilidad de color. No se encuentran diferencias significativas en la identificación en los vinos de los diferentes lotes, respecto a las Vitisinas, no obstante estudios demuestran que un incremento de la concentración de oxígeno incrementa la formación de Vitisina A. Otras familias de derivados de los piranoantocianos, como las piranoantocianinas-flavanol, algunas únicamente se detectan a los 12 meses, y tanto estos compuestos como las piranoantocianinas-fenol o vinilfenol son compuestos que absorben aproximadamente a 500 nm, es decir, contribuyen al color rojo-anaranjado.

Gracias a los patrones de fraccionamiento, se describen dos familias, que hasta donde conocen los autores de este trabajo es la primera vez que se describen, estas son metil-flavanol-metilpiranoantocianina y etil-flavanol-metilpiranoantocianina. Este patrón correspondía a un fragmento final de m/z 531, que verificaría que son antocianos siendo el primer residuo un azúcar. No obstante, el patrón de fraccionamiento no era el mismo para todos los iones, algunos perdían una masa de 126 a.m.u. lo que corresponde a una reacción retro diels alder, que corresponde a un flavanol unido a un metilpiranoantociano. Otros presentaron un residuo de 154 a.m.u. que sería la suma de la retro diels alder 126 a.m.u. más un grupo etilo 28 a.m.u. Por último, el residuo 140 a.m.u. estaría unido a un grupo metilo. La propuesta de la posible estructura de estos compuestos se considera que es un avance en el conocimiento de los antocianos presentes en un vino envejecido.

El último estudio presentado (**Capítulo IV**), se basa en el análisis del mismo vino estudiado en el **Capítulo III**, pero en este caso el estudio se centro en los elagitaninos presentes en la madera que conforman las barricas y los elagitaninos cedidos por la madera al vino.

La clasificación previa de la madera y la trazabilidad de las duelas que componen la barrica, permitió que el análisis de los elagitaninos de la madera fuera muy representativo. Los resultados obtenidos para la madera de *Q. petraea* utilizada,

muestran una alta homogeneidad entre los lotes analizados, pese a no presentar diferencias significativas si se observa una tendencia de concentración más alta en las barricas de baja transferencia de oxígeno. No obstante, no hay una relación entre el OTR y la concentración de elagitaninos.

En cuanto al análisis del mismo vino envejecido, se sigue manteniendo la alta homogeneidad entre las barricas del mismo lote. Se encuentran diferencias significativas en cuanto los parámetros enológicos, no obstante, los parámetros CIELab, se encuentran diferencias significativas en algunos de los parámetros. Pasado el año de envejecimiento los vinos envejecidos en HW-OTR, muestran una alta claridad (L^*), también muestran una mayor tonalidad roja, lo cual corresponde con los resultados de antocianinas monoméricas.

En cuanto a la evolución de los elagitaninos presentes en el vino, se observan diferencias estadísticamente significativas entre los lotes de barricas con OTR personalizado, siendo los vinos envejecidos en las barricas HW-OTR a los 6 meses similares a las barricas control, en los cuatro elagitaninos analizados. A los 12 meses de envejecimiento, se muestran diferencias estadísticamente significativas entre los vinos de las barricas control, los de alto OTR y los de bajo OTR. Pero cabe resaltar que los lotes siguen presentando una alta homogeneidad en cuanto a la concentración de elagitaninos. Los resultados obtenidos en este trabajo permiten diferenciar significativamente entre el envejecimiento de un mismo vino en barricas clasificadas según su tasa de transferencia de oxígeno. Por lo que se pueden controlar aspectos sensoriales importantes en la industria del vino como son la astringencia y el amargor, tal y como se ha demostrado en el análisis sensorial. Además, se puede decir que no hay relación entre la tasa de transferencia de oxígeno y la cantidad de tanino hidrolizable presente en la madera, sino que es la estructura anatómica de la madera la principal involucrada.

Por último, se puede destacar el análisis sensorial de los vinos envejecidos en barricas con tasa de transferencia de oxígeno personalizada. En este estudio se realizó un test triangular, los resultados indican que de un panel de 60 catadores consumidores, 31 acertaron el vino diferente. Estos resultados, como se ha descrito en el análisis estadístico, demuestran que hay una probabilidad perceptible del 50%, para concluir

que se puede diferenciar entre los vinos envejecidos en los diferentes lotes. Por lo que se considera que los resultados de este trabajo se pueden trasladar a la industria vitivinícola ya que es posible obtener vinos distintos en base a las diferencias aportadas por el envejecimiento en barricas con alta y baja transferencia de oxígeno. Además, se preguntó a los participantes por las características del vino diferente e indicaron que había diferencias a nivel de color, destacando notas violáceas para los vinos envejecidos en barricas de bajo OTR. A priori, no destacaron diferencias a nivel olfativo, mientras que a nivel gustativo, los catadores mostraron una clara preferencia por los vinos envejecidos en las barricas de bajo OTR, describiéndolos como más equilibrados. Relacionando estos resultados sensoriales con los obtenidos a lo largo de este trabajo, se puede destacar que se notan ligeras diferencias a nivel de color, tal y como muestran los resultados del Capítulo III, donde se resalta que los vinos madurados en barricas de bajo OTR tienen un mayor número de compuestos azulados. Este análisis sensorial se prevé repetir en un futuro próximo, para evaluar si se mantienen estas diferencias en el tiempo durante la permanencia del vino en botella.

CONCLUSIONES GENERALES

Diferentes ensayos se han realizado durante el transcurso de esta tesis doctoral para conocer el efecto del envejecimiento del mismo vino en barricas fabricadas con duelas de roble francés clasificado por su permeación al oxígeno. Las conclusiones más importantes alcanzadas en este trabajo son:

- El empleo de nanosensores sensibles al oxígeno ha permitido, mediante el análisis ratiométrico de la imagen, monitorizar la cesión, la distribución y el consumo del oxígeno disuelto de la madera de roble en el vino. Además, también se ha evaluado la interacción de las diferentes estructuras de la madera (radio medular, madera de primavera y madera de verano) en estos procesos.

La alta resolución de las imágenes obtenidas permitió visualizar la liberación de oxígeno, siendo muy distinta en las diferentes estructuras de la madera, por lo que este sistema de medida permite visualizar o medir áreas muy pequeñas.

- Se ha validado una nueva metodología de clasificación de la madera para la obtención de barricas con una tasa de transferencia de oxígeno (OTR) personalizada. Esta metodología es viable, fácil de incorporar en tonelería a la vez de económica, consiguiendo así construir barricas homogéneas y con OTR conocido para la crianza de vinos. En concreto, se han estudiado barricas de alta oxigenación que dosifican 2,3 veces más oxígeno que las de baja tasa de transferencia de oxígeno.
- Se ha confirmado que la clasificación de la madera de roble francés por su OTR permite construir barricas que envejecen el mismo vino de forma muy diferente. Se ha comprobado la importancia de la cantidad de oxígeno que recibe el vino en el contenido en antocianos y su repercusión en las diferentes características de color.
- Se ha realizado la identificación de diferentes derivados de antocianina en los vinos envejecidos en barricas con distinta tasa de oxigenación,

compuestos descritos previamente por diferentes autores. Además, por primera vez se ha realizado la identificación, mediante los patrones de fragmentación, de las familias de antocianos flavanol-metilpiranoantocianina, metil- y etil-flavanol-metilpiranoantocianina.

- Se ha puesto de manifiesto que la composición fenólica (antocianos y elagitaninos), el color y el perfil sensorial de los vinos envejecidos en barricas con distinta tasa de oxigenación es significativamente diferente, todo ello confirma la importancia del conocimiento de la tasa de oxigenación de las barricas como herramienta esencial para gestionar el envejecimiento del vino.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Chatonnet, P.; Dubourdieu, D. Comparative Study of the Characteristics of American White Oak (*Quercus Alba*) and European Oak (*Quercus Petraea* and *Q. Robur*) for Production of Barrels Used in Barrel Aging of Wines. *Am. J. Enol. Vitic.* **1998**, *49* (1), 79–85.
- (2) Montaner, O. S. *La Cultura Del Vino*, Editorial.; 2012.
- (3) Vivas, N.; Glories, Y. 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 Agric. Vitic.* **1997**, *114* (13–14), 315–316.
- (4) Peterson, R. G. Formation of Reduced Pressure in Barrels During Wine Aging. *Am. J. Enol. Vitic.* **1976**, *27* (2), 80–81.
- (5) Ribereau-Gayon, J. Contribution À L'étude Des Oxydations et Réductions Dans Les Vins, Université de Bordeaux: Bordeaux, 1933.
- (6) Ribereau-Gayón, P.; Glories, Y.; Maujean, A.; Dobourdieu, D. *Tratado de Enología 2. Química Del Vino. Estabilización Y Tratamientos.*, Ediciones.; Madrid, España, 2003.
- (7) Vivas, N.; Debeda, H.; Vivas de Gaulejac, N.; Nonier, M.-F. Mise En Évidence Du Passage de L'oxygène Au Travers Des Douelles Constituant Les Barriques Par L'utilisation D'un Dispositif Original de Mesure de La Porosité Du Bois. Premiers Résultats. *Sci. Aliments* **2003**, *23* (5–6), 655–678.
- (8) Nevares, I.; Crespo, R.; González, C.; del Alamo-Sanza, M. Imaging of Oxygen Permeation in the Oak Wood of Wine Barrels Using Optical Sensors and a Colour Camera. *Aust. J. Grape Wine Res.* **2014**, *20* (3), 353–360.
- (9) del Alamo-Sanza, M.; Nevares, I. Recent Advances in the Evaluation of the Oxygen Transfer Rate in Oak Barrels. *J. Agric. Food Chem.* **2014**, *62* (35), 8892–8899.
- (10) del Alamo-Sanza, M.; Cárcel, L. M.; Nevares, I. Characterization of the Oxygen Transmission Rate of Oak Wood Species Used in Cooperage. *J. Agric. Food Chem.* **2017**, *65* (3), 648–655.

- (11) Atanasova, V.; Fulcrand, H.; Cheynier, V.; Moutounet, M. Effect of Oxygenation on Polyphenol Changes Occurring in the Course of Wine-Making. *Anal. Chim. Acta* **2002**, *458* (1), 15–27.
- (12) Singleton, V. L. Oxygen with Phenols and Related Reactions in Musts, Wines, and Model Systems: Observations and Practical Implications. *Am. J. Enol. Vitic.* **1987**, *38* (1), 69–77.
- (13) Oliveira, C. M.; Ferreira, A. C. S.; De Freitas, V.; Silva, A. M. S. Oxidation Mechanisms Occurring in Wines. *Food Res. Int.* **2011**, *44* (5), 1115–1126.
- (14) Vázquez, J.; Grillitsch, K.; Daum, G.; Mas, A.; Beltran, G.; Torija, M. J. The Role of the Membrane Lipid Composition in the Oxidative Stress Tolerance of Different Wine Yeasts. *Food Microbiol.* **2019**, *78* (1), 143–154.
- (15) Comuzzo, P.; Zironi, R. Biotechnological Strategies for Controlling Wine Oxidation. *Food Eng. Rev.* **2013**, *5* (4), 217–229.
- (16) del Alamo-Sanza, M.; Nevares, I. Recent Advances in the Evaluation of the Oxygen Transfer Rate in Oak Barrels. *J. Agric. Food Chem.* **2014**, *62* (35), 8892–8899.
- (17) del Álamo, M.; Nevares, I. Oxígeno Y Barrica. Estado Actual Del Conocimiento. *ACENOLOGÍA. Ciencia y Tecnología*. 2012.
- (18) Vivas, N.; Glories, Y. Role of Oak Wood Ellagitannins in the Oxidation Process of Red Wines During Aging. *Am. J. Enol. Vitic.* **1996**, *47* (1), 103–107.
- (19) Gómez-Plaza, E.; Bautista-Ortín, A. B. Chapter 10 - Emerging Technologies for Aging Wines: Use of Chips and Micro-Oxygenation. In *Red Wine Technology*; Academic Press, 2019; pp 149–162.
- (20) Oliveira, C. M.; Silva Ferreira, A. C.; de Freitas, V.; Silva, A. M. S. Oxidation Mechanisms Occurring in Wines. *Food Res. Int.* **2011**, *44* (5), 1115–1126.
- (21) Yappert, M. A Tutorial on Fiber-Optic Chemical Sensors. *Chem. Educ.* **1996**, *1*, 1–10.
- (22) Pénicaud, C.; Peyron, S.; Gontard, N.; Guillard, V. Oxygen Quantification Methods and Application to the Determination of Oxygen Diffusion and Solubility Coefficients in Food. *Food Rev. Int.* **2012**, *28* (2), 113–145.
- (23) Borisov, S. M.; Klimant, I. Optical Nanosensors—smart Tools in Bioanalytics. *Analyst* **2008**, *133* (10), 1302.

- (24) Wang, X.; Wolfbeis, O. S. Optical Methods for Sensing and Imaging Oxygen: Materials, Spectroscopies and Applications. *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43* (10), 3666–3761.
- (25) Fercher, A.; Borisov, S. M.; Zhdanov, A. V.; Klimant, I.; Papkovsky, D. B. Intracellular O₂ Sensing Probe Based on Cell-Penetrating Phosphorescent Nanoparticles. *ACS Nano* **2011**, *5* (7), 5499–5508.
- (26) Kondrashina, A. V.; Dmitriev, R. I.; Borisov, S. M.; Klimant, I.; O'Brien, I.; Nolan, Y. M.; Zhdanov, A. V.; Papkovsky, D. B. A Phosphorescent Nanoparticle-Based Probe for Sensing and Imaging of (Intra)Cellular Oxygen in Multiple Detection Modalities. *Adv. Funct. Mater.* **2012**, *22* (23), 4931–4939.
- (27) Wang, X.; Stolwijk, J. A.; Lang, T.; Sperber, M.; Meier, R. J.; Wegener, J.; Wolfbeis, O. S. Ultra-Small, Highly Stable, and Sensitive Dual Nanosensors for Imaging Intracellular Oxygen and pH in Cytosol. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134* (41), 17011–17014.
- (28) Marisa Manzano, Priya Vizzini, Kun Jia, Pierre-Michel Adam, R. E. I. Development of Localized Surface Plasmon Resonance Biosensors for the Detection of *Brettanomyces Bruxellensis* in Wine. *Sensors Actuators B Chem.* **2016**, *223*, 295–300.
- (29) Wang, X.; Gorris, H. H.; Stolwijk, J. A.; Meier, R. J.; Groegel, D. B. M.; Wegener, J.; Wolfbeis, O. S. Self-Referenced RGB Colour Imaging of Intracellular Oxygen. *Chem. Sci.* **2011**, *2* (5), 901.
- (30) Koren, K.; Jakobsen, S. L.; Kühl, M. In-Vivo Imaging of O₂ Dynamics on Coral Surfaces Spray-Painted with Sensor Nanoparticles. *Sensors Actuators B Chem.* **2016**, *237*, 1095–1101.
- (31) Ehgartner, J.; Wiltsche, H.; Borisov, S. M.; Mayr, T. Low Cost Referenced Luminescent Imaging of Oxygen and pH with a 2-CCD Colour near Infrared Camera. *Analyst* **2014**, *139* (19), 4924–4933.
- (32) Ungerböck, B.; Mistlberger, G.; Charwat, V.; Ertl, P.; Mayr, T. Oxygen Imaging in Microfluidic Devices with Optical Sensors Applying Color Cameras. *Procedia Eng.* **2010**, *5* (0), 456–459.
- (33) Flitsch, D.; Ladner, T.; Lukacs, M.; Büchs, J. Easy to Use and Reliable Technique for Online Dissolved Oxygen Tension Measurement in Shake Flasks Using

- Infrared Fluorescent Oxygen-Sensitive Nanoparticles. *Microb. Cell Fact.* **2016**, *15* (1), 45.
- (34) del Alamo-Sanza, M.; Nevares, I. Wine Maturation: A Dynamic Evaluation of the Oxygen Transfer Rate in Oak Barrels. *Wine Vitic. J.* **2015**, *30* (4), 26.
- (35) Nevares, I.; del Álamo, M. Measurement of Dissolved Oxygen during Red Wines Tank Aging with Chips and Micro-Oxygenation. *Anal. Chim. Acta* **2008**, *621* (1), 68–78.
- (36) del Alamo, M.; Nevares, I.; Gallego, L.; Fernández de Simón, B.; Cadahía, E. Micro-Oxygenation Strategy Depends on Origin and Size of Oak Chips or Staves during Accelerated Red Wine Aging. *Anal. Chim. Acta* **2010**, *660* (1–2), 92–101.
- (37) del Alamo-Sanza, M.; Nevares, I.; Mayr, T.; Baro, J. A.; Martínez-Martínez, V.; Ehgartner, J. Analysis of the Role of Wood Anatomy on Oxygen Diffusivity in Barrel Staves Using Luminescent Imaging. *Sensors Actuators B Chem.* **2016**, *237*, 1035–1043.
- (38) Navarro, M.; Kontoudakis, N.; Giordanengo, T.; Gómez-Alonso, S.; García-Romero, E.; Fort, F.; Canals, J. M.; Hermosín-Gutiérrez, I.; Zamora, F. Oxygen Consumption by Oak Chips in a Model Wine Solution; Influence of the Botanical Origin, Toast Level and Ellagitannin Content. *Food Chem.* **2016**, *199*, 822–827.
- (39) Pascual, O.; Vignault, A.; Gombau, J.; Navarro, M.; Gómez-Alonso, S.; García-Romero, E.; Canals, J. M.; Hermosín-Gutiérrez, I.; Teissedre, P. L.; Zamora, F. Oxygen Consumption Rates by Different Oenological Tannins in a Model Wine Solution. *Food Chem.* **2017**, *234*, 26–32.
- (40) Nevares, I.; del Alamo-Sanza, M.; Martínez-Martínez, V.; Menéndez-Miguélez, M.; Van den Bulcke, J.; Van Acker, J. Influence of *Quercus Petraea* Liebl. Wood Structure on the Permeation of Oxygen through Wine Barrel Staves. *Wood Res. Technol. Holzforsch.* **2019**, *73* (9), 859–870.
- (41) Martínez-Martínez, V.; del Alamo-Sanza, M.; Nevares, I. Application of Image Analysis and Artificial Neural Networks to the Prediction in-Line of OTR in Oak Wood Planks for Cooperage. *Mater. Des.* **2019**, *181*, 107979.
- (42) Keller, R. Différentes Variétés de Chênes et Leur Répartition Dans Le Monde. *Connaiss. Vigne Vin* **1987**, *21* (3), 191–229.
- (43) Vivas, N. *Manual De Tonelería: Destinado A Usuarios De Toneles*, Mundi, Pre.;

- Madrid, España, 2005.
- (44) García-Oliva, F. Consecuencias Funcionales de La Diferenciación Taxonómica Entre Secciones Del Género Quercus : El Caso de La Reabsorción de Nutrientes Taxonomic Sections of Quercus Genus Affect Functional Characteristics : Reabsorption of Nutrients. **2015**, No. March.
- (45) Cadahía, E., Fernández de Simón, B., Poveda, P., Sanz, M. *Utilización de Quercus Pyrenaica Willd. de Castilla Y León En El Envejecimiento de Vinos. Comparación Con Roble Francés Y Americano*; Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria Ministerio de Educación y Ciencia: Madrid,: Madrid, España, 2008.
- (46) Hidalgo, J. *Tratado de Enología*, Mundi-Pens.; Madrid, España, 2003.
- (47) Fernández de Simón, B.; Cadaña, E. *Utilización Del Roble Español En El Envejecimiento de Vinos: Comparación Con Roble Francés Y Americano*; Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria Ministerio de Educación y Ciencia: Madrid, 2004.
- (48) Sauvageot, F.; Feuillat, F. 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. *Am. J. Enol. Vitic.* **1999**, 50 (4), 447–455.
- (49) Fernández De Simón, B.; Cadahía, E.; Jalocha, J. Volatile Compounds in a Spanish Red Wine Aged in Barrels Made of Spanish, French, and American Oak Wood. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, 51 (26), 7671–7678.
- (50) Cadahía, E.; De Simón, B. F.; Vallejo, R.; Sanz, M.; Broto, M. Volatile Compound Evolution in Spanish Oak Wood (Quercus Petraea and Quercus Pyrenaica) during Natural Seasoning. *Am. J. Enol. Vitic.* **2007**, 58 (2), 163–172.
- (51) Del Alamo Sanza, M.; Nevares Domínguez, I. Wine Aging in Bottle from Artificial Systems (Staves and Chips) and Oak Woods: Anthocyanin Composition. *Anal. Chim. Acta* **2006**, 563 (1–2 SPEC. ISS.), 255–263.
- (52) Guchu, E.; Díaz-Maroto, M. C.; Pérez-Coello, M. S.; González-Viñas, M. A.; Cabezudo Ibáñez, M. D. Volatile Composition and Sensory Characteristics of Chardonnay Wines Treated with American and Hungarian Oak Chips. *Food Chem.* **2006**, 99 (2), 350–359.
- (53) Díaz-Maroto, M. C.; Guchu, E.; Castro-Vázquez, L.; de Torres, C.; Pérez-Coello, M.

- S. Aroma-Active Compounds of American, French, Hungarian and Russian Oak Woods, Studied by GC–MS and GC–O. *Flavour Fragr. J.* **2008**, *23* (2), 93–98.
- (54) Sanz, M.; Cadahía, E.; Esteruelas, E.; Muñoz, Á. M.; Fernández De Simón, B.; Hernández, T.; Estrella, I. Phenolic Compounds in Cherry (*Prunus Avium*) Heartwood with a View to Their Use in Cooperage. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58* (8), 4907–4914.
- (55) Sanz, M.; Fernández de Simón, B.; Esteruelas, E.; Muñoz, Á. M.; Cadahía, E.; Teresa Hernández, M.; Estrella, I.; Martínez, J. Polyphenols in Red Wine Aged in Acacia (*Robinia Pseudoacacia*) and Oak (*Quercus Petraea*) Wood Barrels. *Anal. Chim. Acta* **2012**, *732*, 83–90.
- (56) Sanz, M.; Fernández De Simón, B.; Cadahía, E.; Esteruelas, E.; Muñoz, A. M.; Hernández, T.; Estrella, I.; Pinto, E. LC-DAD/ESI-MS/MS Study of Phenolic Compounds in Ash (*Fraxinus Excelsior* L. and *F. Americana* L.) Heartwood. Effect of Toasting Intensity at Cooperage. *J. Mass Spectrom.* **2012**, *47* (7), 905–918.
- (57) Fernández de Simón, B.; Martínez, J.; Sanz, M.; Cadahía, E.; Esteruelas, E.; Muñoz, A. M. M. Volatile Compounds and Sensorial Characterisation of Red Wine Aged in Cherry, Chestnut, False Acacia, Ash and Oak Wood Barrels. *Food Chem.* **2014**, *147*, 346–356.
- (58) De Rosso M, Panighel A, Dalla Vedova A, Stella L, F. R. Changes in Chemical Composition of a Red Wine Aged in Acacia, Cherry, Chestnut, Mulberry, and Oak Wood Barrels. *J. Agric. Food Chem.* **2009**, *11* (57 (5)), 1915–1920.
- (59) Maria Carpena, Antia G. Pereira, M. A. P.; Simal-Gandara, J. Wine Aging Technology: Fundamental Role of Wood Barrels. *Foods* **2020**, *9*, 1160.
- (60) Bulletin, I.; Science, W.; Polskiego, W. Radial Variation and Growth Rate in the Length of the Axial Elements of. **1991**, *12* (3), 257–262.
- (61) Vivas, N. The Notion of Grain in Cooperage. *J. des Sci. Tech. la Tonnellerie* **1995**, *1*, 17–32.
- (62) Zamora Marín, F. *El Tanino Enológico En La Vinificación En Tinto.*; 2003.
- (63) Fernández de Simón, B.; Sanz, M.; Cadahía, E.; Poveda, P.; Broto, M. Chemical Characterization of Oak Heartwood from Spanish Forests of *Quercus Pyrenaica* (Wild.). Ellagitannins, Low Molecular Weight Phenolic, and Volatile Compounds. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54* (21), 8314–8321.

- (64) Feuillat, F.; Huber, F.; Keller, R. Relation between the Porosity of Oak-Wood, *Quercus Robur* L. and *Quercus Petraea* L. lebl., and Variability of Several Physical and Anatomical Characteristics, with Regard to Cooperage. *Rev. française d'oenologie* **1993**, *33* (142), 5–19.
- (65) Keller, R. Différentes Variétés de Chênes et Leur Répartition Dans Le Monde. *Connaiss. Vig* **1987**, *21*, 191–229.
- (66) Martínez-Gil, A. M.; del Alamo-Sanza, M.; Sánchez-Gómez, R.; Nevares, I. Different Woods in Cooperage for Oenology: A Review. *Beverages* **2018**, *4* (4), 94.
- (67) del Alamo-Sanza, M.; Nevares, I. Oak Wine Barrel as an Active Vessel: A Critical Review of Past and Current Knowledge. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2017**, *58* (16), 2711–2726.
- (68) Le Floch, A.; Jourdes, M.; Teissedre, P. Polysaccharides and Lignin from Oak Wood Used in Cooperage : Composition , Interest , Assays : A Review. *Carbohydr. Res.* **2015**, *417*, 94–102.
- (69) Haslam, E. In *Vino Veritas: Oligomeric Procyanidins Ageing of Red Wines*. **1980**, *19*, 2577–2582.
- (70) Ribéreau-Gayon, P.; Glories, Y.; Maujean, A.; Dubourdieu, D. *Handbook of Enology The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments*, 2nd ed.; Wiley, Ed.; Chichester, U.K, 2006.
- (71) Scalbert, A.; Monties, B.; Favre, J. Polyphenols of *Quercus Robur*: Adult Tree and in Vitro Grown Calli and Shoots. *Phytochemistry* **1988**, *27* (11), 3483–3488.
- (72) Cadahía, E.; Muñoz, L.; De Simón, B. F.; García-Vallejo, M. C. Changes in Low Molecular Weight Phenolic Compounds in Spanish, French, and American Oak Woods during Natural Seasoning and Toasting. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49* (4), 1790–1798.
- (73) Cadahía, E.; Varea, S.; Muñoz, L.; Fernández de Simón, B.; García-Vallejo, M. C. Evolution of Ellagitannins in Spanish, French, and American Oak Woods during Natural Seasoning and Toasting. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49* (8), 3677–3684.
- (74) García-Estévez, I.; Escribano-Bailón, M. T.; Rivas-Gonzalo, J. C.; Alcalde-Eon, C. Effect of the Type of Oak Barrels Employed during Ageing on the Ellagitannin Profile of Wines. *Aust. J. Grape Wine Res.* **2017**, *23* (3), 334–341.

- (75) Chatonnet, P.; Boidron, J. N.; Dubourdieu, D.; Pons, M. Evolution of Oakwood Polyphenolic Compounds during Seasoning. First Results. *J. Int. Sci. Vigne Vin* **1994**, *28*, 337–357.
- (76) Mosedale, J. R.; Ford, A. Variation of the Flavour and Extractives of European Oak Wood from Two French Forests. *J. Sci. Food Agric.* **1996**, *70* (3), 273–287.
- (77) Jorda, M.; Manuel, J.; Laureano, O. Ellagitannins from Portuguese Oak Wood (*Quercus Pyrenaica* Willd .) Used in Cooperage : Influence of Geographical Origin , Coarseness of the Grain and Toasting Level Ellagitannins from Portuguese Oak Wood (*Quercus Pyrenaica* Willd .) Used in Cooperage : Influence of Geographical Origin ,. **2007**, No. June 2014.
- (78) Fernandes, A.; Oliveira, J.; Mateus, N.; de Freitas, V. A Review of the Current Knowledge of Red Wine Colour. *J. Int. des Sci. la Vigne du Vin* **2016**, 1–21.
- (79) Michel, J.; Albertin, W.; Jourdes, M.; Le Floch, A.; Giordanengo, T.; Mourey, N.; Teissedre, P. L. Variations in Oxygen and Ellagitannins, and Organoleptic Properties of Red Wine Aged in French Oak Barrels Classified by a near Infrared System. *Food Chem.* **2016**, *204*, 381–390.
- (80) Cabrita, M. J.; Dias, C. B.; Freitas, A. M. C. Phenolic Acids , Phenolic Aldehydes and Furanic Derivatives in Oak Chips : American vs . French Oaks. **2011**, No. April 2016.
- (81) González, R. E.; Calderón, L. S.; Cabeza, R. A. Quantification of Aging Markers Substances in *Quercus Humboldtii* through High Efficiency Liquid Chromatography. *Temas Agrar.* **2008**, *13*, 56–63.
- (82) Monties, B. Composition Chimique Des Bois de Chêne: Composés Phenoliques Relations Avec Quelques Proprietes Physiques et Chimiques Susceptibles D'influencer La Qualité Des Vins et Des Eaux-de-Vie. *Connaiss. Vigne Vin* **1987**, *21* (3), 169–190.
- (83) Winstel, D.; Gautier, E.; Marchal, A. *Chemistry and Biology of Aroma and Taste Role of Oak Coumarins in the Taste of Wines and Spirits : Identification , Quantitation , and Sensory Contribution through Perceptive Interactions*; 2020.
- (84) Gabur, G. D.; Teodosiu, C.; Gabur, I.; Cotea, V. V.; Peinado, R. A.; Nieves, L.; Lerma, D. Evaluation of Aroma Compounds in the Process of Wine Ageing with Oak Chips. *Foods* **2019**, *8* (662), 1–19.

- (85) Jourdes, M.; Michel, J.; Saucier, C.; Quideau, S.; Teissedre, P. L. Identification, Amounts, and Kinetics of Extraction of C-Glucosidic Ellagitannins during Wine Aging in Oak Barrels or in Stainless Steel Tanks with Oak Chips. *Anal. Bioanal. Chem.* **2011**, *401* (5), 1535–1543.
- (86) G. Masson, E. Guichard, N. Fournier, J.-L. P. Stereoisomers of SS-Methyl- γ -Octalactone. II. Contents in the Wood of French(*Quercus Robur* and *Quercus Petraea*)a and American(*Quercus Alb*)a Oak. *Am. J. Enol. Vitic.* **1995**, *46*, 424–428.
- (87) Vansteenkiste, D.; Gent, H.; Acker, J. Van; Thiec, D. Le. Composition , Distribution and Supposed Origin of Mineral Inclusions in Sessile Oak Wood - Consequences for Microdensitometrical Analysis Original Article Composition , Distribution and Supposed Origin of Mineral Inclusions in Sessile Oak Wood – Consequences for Microdensitometrical Analysis. **2007**, No. January, 10–19.
- (88) Puech, J.-L.; Feuillat, F.; Mosedale, J. R. The Tannins of Oak Heartwood: Structure, Properties, and Their Influence on Wine Flavor. *Am. J. Enol. Vitic.* **1999**, *50*, 469–478.
- (89) Martínez, J.; Cadahía, E.; Fernández De Simón, B.; Ojeda, S.; Rubio, P. Effect of the Seasoning Method on the Chemical Composition of Oak Heartwood to Cooperage. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56* (9), 3089–3096.
- (90) Hale, M. D.; McCafferty, K.; Larmie, E.; Newton, J.; Swan, J. S. The Influence of Oak Seasoning and Toasting Parameters on the Composition and Quality of Wine. *Am. J. Enol. Vitic.* **1999**, *50* (4), 495–502.
- (91) Giordanengo, T.; Charpentier, J. P.; Boizot, N.; Roussel, S.; Roger, J. M.; Chaix, G.; Robin, C.; Mourey, N.; Giordanengo, T.; Charpentier, J. P.; Boizot, N.; Roussel, S.; Roger, J. M. Oakscan : Procédé de Mesure Rapide et Non Destructif Des Polyphenols Du Bois de Chêne de Tonnellerie. *Rev. Fr. des Oenologues* **2009**, 234.
- (92) Michel, J.; Jourdes, M.; Le Floch, A.; Giordanengo, T.; Mourey, N.; Teissedre, P.-L. Influence of Wood Barrels Classified by NIRS on the Ellagitannins Content and Composition as Well as the Organoleptic Properties of Wine. *J. Agric. Food Chem.* **2013**, *61* (46), 11109–11118.
- (93) del Alamo-Sanza, M.; Laurie, V. F.; Nevaes, I. Wine Evolution and Spatial

- Distribution of Oxygen during Storage in High-Density Polyethylene Tanks. *J. Sci. Food Agric.* **2015**, *95* (6), 1313–1320.
- (94) Toit, W. du; Marais, J.; Pretorius, I. S.; Toit, M. du. Oxygen in Must and Wine: A Review. *South African J. Enol. Vitic.* **2006**, *27* (1), 76–94.
- (95) Valade, M.; Tribaut-sohier, I.; Bunner, D.; Pierlot, C.; Tusseau, D.; Champenois, V. Les Apports D'oxygene En Vinification et Leurs Impacts Sur Les Vins. 2eme Partie. *Le Vign. Champen.* **2006**, *9*, 1–15.
- (96) Anli, R. E.; Cavuldak, Ö. A. A Review of Microoxygenation Application in Wine. **2013**, No. October 2012, 368–385.
- (97) Khoo, H. E.; Azlan, A.; Tang, S. T.; Lim, S. M. Anthocyanidins and Anthocyanins : Colored Pigments as Food , Pharmaceutical Ingredients , and the Potential Health Benefits. *Food Nutr. Res.* **2017**, *61* (1), 0–21.
- (98) Mulero, J.; Pardo, F.; Zafrilla, P. Antioxidant Activity and Phenolic Composition of Organic and Conventional Grapes and Wines. *J. Food Compos. Anal.* **2010**, *23* (6), 569–574.
- (99) Cheynier, V.; Salas, E.; Souquet, J.; Sarni-manchado, P.; Fulcrand, H. Structure and Properties of Wine Pigments and Tannins. **2006**, *3* (Figure 1), 298–305.
- (100) Escribano-Bailón, M. T.; Guerra, M. T.; Rivas-Gonzalo, J. C.; Santos-Buelga, C. Proanthocyanidins in Skins from Different Grape Varieties. *Z. Leb. Unters Forsch* **1995**, *200*, 221–224.
- (101) He, F.; Liang, N. N.; Mu, L.; Pan, Q. H.; Wang, J.; Reeves, M. J.; Duan, C. Q. Anthocyanins and Their Variation in Red Wines II. Anthocyanin Derived Pigments and Their Color Evolution. *Molecules* **2012**, *17* (2), 1483–1519.
- (102) Fernandes, A.; Oliveira, J.; Teixeira, N.; Mateus, N.; de Freitas, V. A Comprehensive Study on the Knowledge of Red Wine Colour. *OENO One* **2017**, *51*, 1–17.
- (103) Glories, Y. La Couleur Des Vins Rouges 2. Mesure, Origine et Interprétation. *OENO One* **1984**, *18*, 253–271.
- (104) Revilla, E.; López, J. F.; Ryan, J. M. Anthocyanin Pattern of Tempranillo Wines during Ageing in Oak Barrels and Storage in Stainless-Steel Tanks. *Eur. Food Res. Technol.* **2005**, *220* (5–6), 592–596.
- (105) María Monagas, B. B. *Anthocyanins and Anthocyanin-Derived Compounds. In*

- Wine Chemistry and Biochemistry*, 1st ed.; Victoria Moreno-Arribas, M. C. P., Ed.; Springer Science+Business Media: New York, NY, USA, 2009.
- (106) del Álamo Sanza, M.; Nevares Domínguez, I.; García Merino, S. Influence of Different Aging Systems and Oak Woods on Aged Wine Color and Anthocyanin Composition. *Eur. Food Res. Technol.* **2004**, *219* (2), 124–132.
- (107) Boulton, R. The Copigmentation of Anthocyanins and Its Role in the Color of Red Wine: A Critical Review. *Am. J. Enol. Vitic.* **2001**, *52* (2), 67–87.
- (108) Freitas, V. De; Mateus, N. Formation of Pyranoanthocyanins in Red Wines : A New and Diverse Class of Anthocyanin Derivatives. **2011**, 1463–1473.
- (109) Fulcrand, H.; Benabdelja, C.; Rigaud, J.; Cheyner, V.; Moutounet, M. A New Class of Wine Pigments Generated by Reaction between Pyruvic Acid and Grape Anthocyanins. *Phytochemistry* **1998**, *47* (7), 1401–1407.
- (110) Bakker, J.; Timberlake, C. F. Isolation, Identification, and Characterization of New Color-Stable Anthocyanins Occurring in Some Red Wines. *J. Agric. Food Chem.* **1997**, *45* (1), 35–43.
- (111) de Freitas, V.; Rivas-Gonzalo, J. C.; Mateus, N.; Silva, A. M. S.; Santos-Buelga, C. Identification of Anthocyanin-Flavanol Pigments in Red Wines by NMR and Mass Spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50* (7), 2110–2116.
- (112) Oberholster, A.; Elmendorf, B. L.; Lerno, L. A.; King, E. S.; Heymann, H.; Brenneman, C. E.; Boulton, R. B. Barrel Maturation, Oak Alternatives and Micro-Oxygenation: Influence on Red Wine Aging and Quality. *Food Chem.* **2015**, *173*, 1250–1258.
- (113) Garde-Cerdán, T.; Ancín-Azpilicueta, C. Review of Quality Factors on Wine Ageing in Oak Barrels. *Trends Food Sci. Technol.* **2006**, *17* (8), 438–447.
- (114) Chatonnet, P. Influence Des Procédés de Tonnellerie et de Conditions D'élevage Sur La Composition et La Qualité Des Vins Élevés En Fûts de Chêne., Université de Bordeaux, 1995.
- (115) Arroyo, T. eresa; Lozano, J. esus; Cabellos, J. uan M.; Gil-Diaz, M. Evaluation of Wine Aromatic Compounds by a Sensory Human Panel and an Electronic Nose. *Agric. Food Chem.* **2009**, *57*, 11543–11549.
- (116) Peleg, H.; Gacon, K.; Schlich, P.; Noble, A. C. Bitterness and Astringency of Flavan-3-Ol Monomers , Dimers and Trimers. *J. Sci. Food Agric.* **1999**, *1128*

- (August 1995), 1123–1128.
- (117) Fontoin, H.; Saucier, C.; Teissedre, P.-L.; Glories, Y. Effect of pH, Ethanol and Acidity on Astringency and Bitterness of Grape Seed Tannin Oligomers in Model Wine Solution. *Food Qual. Prefer.* **2008**, *19*, 286–291.
- (118) Gil, M.; Kontoudakis, N.; Gonza, E.; Esteruelas, M.; Fort, F.; Canals, J. M.; Zamora, F. Influence of Grape Maturity and Maceration Length on Color, Polyphenolic Composition, and Polysaccharide Content of Cabernet Sauvignon and Tempranillo Wines. **2012**.
- (119) Llaudy, M. C.; Canals, R.; Canals, J.-M.; Rozés, N.; Arola, L.; Zamora, F. New Method for Evaluating Astringency in Red Wine. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *25* (52(4)), 742–746.
- (120) Gombau, J.; Nadal, P.; Canela, N.; Gómez-alonso, S.; García-romero, E.; Smith, P. A.; Hermosín-Gutiérrez, I.; Canals, J. M.; Zamora, F. Measurement of the Interaction between Mucin and Oenological Tannins by Surface Plasmon Resonance (SPR); Relationship with Astringency. *Food Chem.* **2019**, *275*, 397–406.
- (121) Basalekou, M.; Kallithraka, S.; Tarantilis, P. A.; Kotseridis, Y.; Pappas, C. Ellagitannins in Wines: Future Prospects in Methods of Analysis Using FT-IR Spectroscopy. *Lwt* **2019**, *101* (October 2018), 48–53.
- (122) Saucier, C.; Jourdes, M.; Glories, Y.; Quideau, S. Extraction, Detection, and Quantification of Flavano-Ellagitannins and Ethylvescalagin in a Bordeaux Red Wine Aged in Oak Barrels. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54* (19), 7349–7354.
- (123) Fernández de Simón, B.; Cadahía, E.; Conde, E.; García-Vallejo, M. C. Ellagitannins in Woods of Spanish, French and American Oaks. *Holzforschung* **1999**, *53* (2), 147–150.
- (124) García-Estévez, I.; Alcalde-Eon, C.; Martínez-Gil, A. M.; Rivas-Gonzalo, J. C.; Escribano-Bailón, M. T.; Nevares, I.; Del Alamo-Sanza, M. An Approach to the Study of the Interactions between Ellagitannins and Oxygen during Oak Wood Aging. *J. Agric. Food Chem.* **2017**, *65* (31), 6369–6378.
- (125) García-Estévez, I.; Escribano-Bailón, M. T.; Alcalde-Eon, C. Effect of the Presence of Different Oak Ellagitannins in Their Own Disappearance under Oxidative or Inert Atmosphere. *Food Chem.* **2019**, *286* (February), 43–50.

- (126) Glabasnia, A.; Hofmann, T. 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. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54* (9), 3380–3390.
- (127) García-Estévez, I.; Jacquet, R.; Alcalde-Eon, C.; Rivas-Gonzalo, J. C.; Escribano-Bailón, M. T.; Quideau, S. Hemisynthesis and Structural and Chromatic Characterization of Delphinidin 3- O -Glucoside-Vescalagin Hybrid Pigments. *J. Agric. Food Chem.* **2013**, *61* (47), 11560–11568.
- (128) Chassaing, S.; Lefeuvre, D.; Jacquet, R.; Jourdes, M.; Ducasse, L.; Galland, S.; Grelard, A.; Saucier, C.; Teissedre, P. L.; Dangles, O.; Quideau, S. Physicochemical Studies of New Anthocyano-Ellagitannin Hybrid Pigments: About the Origin of the Influence of Oak C-Glycosidic Ellagitannins on Wine Color. *European J. Org. Chem.* **2010**, No. 1, 55–63.
- (129) Michel, J.; Jourdes, M.; Silva, M. A.; Giordanengo, T.; Mourey, N.; Teissedre, P.-L. Impact of Concentration of Ellagitannins in Oak Wood on Their Levels and Organoleptic Influence in Red Wine. *J. Agric. Food Chem.* **2011**, *59* (10), 5677–5683.
- (130) Prat-García, S.; Nevares, I.; Martínez-Martínez, V.; del Alamo-Sanza, M. Customized Oxygenation Barrels as a New Strategy for Controlled Wine Aging. *Food Res. Int.* **2020**, *131* (May), 108982.
- (131) García-Estévez, I.; Escribano-Bailón, M. T.; Rivas-Gonzalo, J. C.; Alcalde-Eon, C. Validation of a Mass Spectrometry Method to Quantify Oak Ellagitannins in Wine Samples. *J. Agric. Food Chem.* **2012**, *60* (6), 1373–1379.
- (132) García-Estévez, I.; Escribano-Bailón, M. T.; Rivas-Gonzalo, J. C.; Alcalde-Eon, C. Development of a Fractionation Method for the Detection and Identification of Oak Ellagitannins in Red Wines. *Anal. Chim. Acta* **2010**, *660* (1–2), 171–176.
- (133) Benzie, I.; Strain, J. J. The Ferric Reducing Ability of plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: the FRAP Assay Analytical Biochemistry. *Anal. Biochem.* **1996**, *239*, 70–76.
- (134) Bondet, V.; Brand-Williams, W.; Berset, C. Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity Using the DPPH• Free Radical Method. *LWT - Food Sci. Technol.* **1997**, *30*, 609–615.

- (135) Singleton, V. L.; Rossi, J. A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* **1965**, *16*, 144–158.
- (136) AENOR, Sensory Analysis. Methodology. Triangle Test (ISO 4120:2004). *Asociación Española de Normalización y Certificación*. 2008.
- (137) Michel, J.; Jourdes, M.; Le Floch, A.; Giordanengo, T.; Mourey, N.; Teissedre, P. L. Influence of Wood Barrels Classified by NIRS on the Ellagitannin Content/composition and on the Organoleptic Properties of Wine. *J. Agric. Food Chem.* **2013**, *61* (46), 11109–11118.
- (138) Andrei, Pe. of species and ecological conditions on ellagitannin content in oak wood from an even-aged and mixed stand of *Q. robur* L. and *Q. petraea* L. ; Jean-claude, B.; Alexis, D.; Gérard, N.; Jean-louis, P. 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. **2006**, *63*, 415–424.
- (139) García-Estévez, I.; Alcalde-Eon, C.; Le Grottaglie, L.; Rivas-Gonzalo, J. C.; Escribano-Bailón, M. T. Understanding the Ellagitannin Extraction Process from Oak Wood. *Tetrahedron* **2015**, *71* (20), 3089–3094.
- (140) Fernández de Simón, B.; Cadahía, E.; Conde, E.; García-Vallejo, M. C. Ellagitannins in Woods of Spanish Oaks. *J. des Sci. Tech. la Tonnellerie* **1998**, *4*, 91–97.
- (141) Prat-García, S.; Oliveira, J.; Alamo-Sanza, M.; Freitas, V. De; Nevares, I.; Mateus, N. Characterization of Anthocyanins and Anthocyanin-Derivatives in Red Wines during Ageing in Custom Oxygenation Oak Wood Barrels. *Molecules* **2021**, *26* (64).
- (142) Guillaume de Pracomtal, M. M.; Teissier du Cros, R.; Monteau, A.-C. Types of Oak Grain, Wine Élevage in Barrel. *Pract. Winer. Vineyard* **2014**, No. July, 64–69.
- (143) Navarro, M.; Kontoudakis, N.; Gómez-Alonso, S.; García-Romero, E.; Canals, J. M.; Hermosín-Gutierrez, I.; Zamora, F. Influence of the Botanical Origin and Toasting Level on the Ellagitannin Content of Wines Aged in New and Used Oak Barrels. *Food Res. Int.* **2016**, *87*, 197–203.
- (144) Prat-García, S.; Martínez-Martínez, V.; del Alamo-Sanza, M.; Müller, B. J.; Mayr,

- T.; Nevares, I. Image of O₂ Dynamics Released by Oak Wood Submerged in Model Wine with Nanoparticle Sensors. *Sensors Actuators, B Chem.* **2019**, *284*, 337–345.
- (145) Jordão, A. M.; Ricardo-Da-Silva, J. M.; Laureano, O. Ellagitannins from Portuguese Oak Wood (*Quercus Pyrenaica* Willd.) Used in Cooperage: Influence of Geographical Origin, Coarseness of the Grain and Toasting Level. *Holzforschung* **2007**, *61* (2), 155–160.
- (146) Cocero, M. J.; Duarte, C. M. M.; Matias, A. A.; Bronze, M. R. Phenolic Characterization of Aging Wine Lees: Correlation with Antioxidant Activities. *Food Chem.* **2018**.
- (147) Alañón, M. E.; Castro-Vázquez, L.; Díaz-Maroto, M. C.; Hermosín-Gutiérrez, I.; Gordon, M. H.; Pérez-Coello, M. S. Antioxidant Capacity and Phenolic Composition of Different Woods Used in Cooperage. *Food Chem.* **2011**, *129* (4), 1584–1590.

