

# **“EFECTO DE LA ADICIÓN DE ACETALDEHIDO EN LA COMPOSICIÓN POLIFENÓLICA DE LOS VINOS DE TEMPRANILLO PROCEDENTES DE DISTINTOS MÉTODOS DE ELABORACION”**

**J.L. Aleixandre Tudó, I. Álvarez Cano y V. Lizama Abad**

## **RESUMEN**

Los compuestos fenólicos son los responsables de la mayoría de características organolépticas de los vinos. El oxígeno tiene un papel importante en la evolución del color del vino, así como en la oxidación de los polifenoles y en la formación de compuestos estables. Una técnica para estabilizar la estructura polifenólica del vino es el uso de la microoxigenación, con la finalidad de formar pequeñas cantidades de acetaldehído, que actúa como puente de unión entre los compuestos polifenólicos. El objetivo de este trabajo es estudiar el efecto de la maceración prefermentativa y la adición de acetaldehído en la composición de vinos tintos de Tempranillo, y establecer una metodología de elaboración que permita incrementar la extracción y estabilización polifenólica. Los resultados obtenidos ponen de manifiesto que la aplicación de acetaldehído contribuye a la estabilidad del color, y a disminuir la astringencia de los vinos estudiados. Estos efectos han sido más pronunciados en los vinos macerados prefermentativamente tanto en frío como con aplicación de nieve carbónica.

**PALABRAS CLAVE:** vino tinto, maceración prefermentativa, acetaldehído, polifenoles y Tempranillo.

## **RESUM**

Els compostos fenòlics són els responsables de la majoria de característiques organolèptiques dels vins. L'oxigen té un paper important en l'evolució del color del vi, així com en l'oxidació dels polifenols i en la formació de compostos estables. Una tècnica per a estabilitzar l'estructura polifenòlica del vi és l'ús de la microoxigenació, amb la finalitat de produir xicotetes quantitats d'acetaldehid, que actua com a pont d'unió entre els compostos fenòlics. L'objectiu d'aquest treball és estudiar l'efecte de la maceració prefermentativa i l'addició d'acetaldehid en la composició dels vins negres de Tempranillo, a part d'establir una metodologia d'elaboració que permeti incrementar l'extracció i estabilització polifenòlica. Els resultats obtinguts posen de manifest que l'aplicació d'acetaldehid contribueix a l'estabilitat del color i a la disminució de l'astringència dels vins estudiats. Aquests efectes han sigut més pronunciats en els vins macerats prefermentativament tant amb fred com amb l'aplicació de neu carbònica.

**PARAULES CLAU:** vi negre, maceració prefermentativa, acetaldehid, polifenols y Tempranillo.

## ABSTRACT

Phenolic compounds are responsible for many of the organoleptic characteristics of wines. The oxygen has an important paper in the evolution of wine colour, so as the poliphenolics oxidation and the formation of stable compounds. A tool to establish the wine poliphenolic structure is the use of the microoxygenation with the purpose to form small quantities of acetaldehyde that form adducts linked by an ethyl bridge between the poliphenols. The aim of this work is to study the effect of the prefermentative maceration and the addition of acetaldheyde in the composition of the Tempranillo red wines wich let increase the poliphenolic extraction and stabilization. The results show us that the application of acetaldehyde contribute to stabilization the wine colour and reduce the astringency in the wines studied. These effects have been with more intensity in the wines with prefermentative maceration using as cold as dry ice.

**KEY WORDS:** red wine, prefermentative maceration, acetaldehyde, polyphenols and Tempranillo.

## 1. INTRODUCCION

La estabilización del color de los vinos tintos, así como la disminución de la astringencia inicial, precisan de cierto aporte de oxígeno, necesario para favorecer las combinaciones y polimerizaciones de los antocianos y las procianidinas. Tradicionalmente, dichas reacciones, se llevaban a cabo en barricas de roble, durante el periodo de crianza y envejecimiento, gracias a una microdifusión del oxígeno a través de las duelas. La primera referencia que se tiene sobre el efecto del oxígeno en los vinos, pertenece a Pasteur, el cual dijo que el oxígeno es el que hace el vino y gracias a su influencia envejece. De una manera artificial, la microoxigenación, empezó a aplicarse en 1993 gracias a las experiencias de Ducournau y Laplace. El fundamento de la técnica es aportar al vino pequeñas cantidades de oxígeno de forma continua, a través de un microdifusor con el fin de reproducir y/o acelerar el proceso de estabilización de materia colorante, que tiene lugar durante la crianza del vino en las barricas. Para asegurar el éxito en el proceso, hay que evitar la acumulación de oxígeno disuelto en el vino, aportando una cantidad inferior a la que el vino es capaz de consumir. El aporte en exceso de oxígeno, puede provocar la formación de largas moléculas de elevado peso molecular que precipitarán, con la consecuente pérdida de intensidad colorante (Vivas and Glories, 1996). Sin embargo, distintos estudios han demostrado como la técnica de microoxigenación, puede ayudar a mejorar la estructura y el cuerpo de los vinos, eliminar aromas a reducción, estabilizar el color y reducir las características herbáceas (Parish et al. 2000). La microoxigenación, puede realizarse a lo largo de todo el proceso de vinificación (Cotterill, 2004), pero se ha demostrado que es mucho más efectiva después de la fase fermentativa (Amati, Arfelli, Castellari, & Simoni, 2000; Bosso, Guaita, Vaudano, & Di-Stefano, 2000; Castellari, Matricardi, Arfelli, Gallassi, & Amati, 2000; Ferrarini, Girardi, De-Conti, & Castellari, 2001; Pérez-Magariño & González, 2002; Pour-Nikfardjam & Dykes, 2003).

La composición fenólica del vino es un indicador de su capacidad para consumir oxígeno, siendo ambas proporcionales entre sí. La eliminación de compuestos fenólicos del vino durante el proceso de elaboración, reduce la capacidad del vino para reaccionar con el oxígeno y las prácticas enológicas que permitan elevar la concentración fenólica como la maceración prefermentativa, prensado fuerte o crianza en barrica pueden aumentar la capacidad de consumo de oxígeno. A través de la aplicación de la maceración prefermentativa tiene lugar la extracción lenta pero progresiva de los compuestos fenólicos, quizás debido a que ésta facilita un íntimo y prolongado contacto entre hollejos y mosto, que durante la fermentación se ve dificultado por la formación del sombrero, y también a la desorganización de las membranas celulares que se produce por la acción de las enzimas de la uva durante la fase prefermentativa, mayor cuanto más baja sea la temperatura inicial a que se someta la vendimia, consiguiendo mediante el enfriamiento con nieve carbónica, aunar la ralentización del proceso fermentativo y la desnaturalización y rotura de las células de los hollejos, por congelación de sus líquidos intracelulares, ejerciendo un efecto drástico sobre los hollejos, desnaturalizando membranas y facilitando la salida de compuestos aromáticos y fenólicos (Reynols, 2001; Parenti *et al.*, 2004, Álvarez *et al.*, 2005).

Entre las muchas reacciones que produce el oxígeno en el vino, las reacciones mediadas por acetaldehído, contribuyen a la estabilización de la materia colorante y/o reducción de la astringencia y amargor. El oxígeno disuelto provoca la formación de acetaldehído por dos vías, la primera es a partir de la oxidación del etanol en presencia

de cationes hierro y/o cobre, y también por la oxidación de una molécula de tanino. La molécula de acetaldehído reaccionará con los flavonoles y los antocianos induciendo la formación de un carbocatión muy reactivo que rápidamente reacciona con otro flavonol o con una molécula de antociano mediante un enlace denominado puente de etilo. Estos compuestos resultantes, son más estables a la decoloración por SO<sub>2</sub> y con mayor intensidad colorante, debido al bloqueo de la evolución tánica, ya que los antocianos fijados en el extremo de la cadena bloquean la polimerización de los compuestos originales. Además, la incorporación de antocianos en las estructuras con flavonoles, provoca una disminución de la astringencia. (Moutonet et al., 1996; Castellari et al., 2000; Atanasova et al., 2002, 2003; LLaudy et al., 2006; McCord, 2003; Cano-Lopez et al., 2006; Jones P.R. et al., 2004; Zoeclein B.W. et al., 2003).

Para obtener óptimos resultados, esta técnica sólo se podrá aplicar a vinos con un adecuado equilibrio de concentraciones antociano y tanino. La proporción relativa entre taninos y antocianos, que debe ser del orden de 4:1. Un ratio inferior conduce a la ruptura de la molécula tanino:antociano y en caso superior, puede provocar demasiada polimerización acompañada de precipitación de éstas (Singleton, 1987; Ribereau-Gayon et al., 2000b; Atonosova et al., 2002a). Sin embargo, la microoxigenación de un vino desequilibrado por falta de antocianos, conducirá a una polimerización sin límite (los antocianos no pueden bloquearla) de los compuestos fenólicos entre sí, provocando sequedad y pardeamiento (Ribereau-Gayon et al., 2000b; Monagas et al., 2005).

En el presente trabajo, se estudia el efecto conjugado de dos técnicas aplicadas al incremento de la calidad de los vinos, es decir, la maceración prefermentativa en frío y la microoxigenación, mediante el seguimiento de la evolución de parámetros polifenólicos de los vinos de Tempranillo elaborados.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

La uva para realizar el estudio procede de una parcela de la Bodega Chozas Carrascal, situada en la D.O. Utiel-Requena. El viñedo tiene 10 años de edad y es de la variedad Tempranillo injertada sobre el portainjerto 110–Richter, estando cultivada en seco y con riego de apoyo por goteo.

La vendimia se ha realizado en cajas de plástico de 18 a 20 Kg, transportándose rápidamente a la bodega. La uva se ha despalillado y estrujado encubándose para su vinificación en depósitos de acero inoxidable de 50 litros de capacidad, sulfitándose con 5 g/hL de anhídrido sulfuroso, elaborándose 33 vinos repartidos entre los tres tipos de vinificaciones, es decir, 11 vinos por cada vinificación, que se especifican a continuación:

- 1<sup>a</sup>. Vinificación sin maceración prefermentativa.
- 2<sup>a</sup>. Vinificación con maceración prefermentativa a 6-8 °C durante 4 días.
- 3<sup>a</sup>. Vinificación con maceración prefermentativa con enfriamiento previo a 0° en nieve carbónica y mantenimiento a 6-8 °C durante 4 días.

Los mostos se han sembrado con 20 g/hL de levaduras seleccionadas de *Sccharomyces cerevisiae*. La fermentación se ha realizado por el sistema tradicional en depósitos cilíndricos de acero inoxidable con camisas de refrigeración para mantener la temperatura entre 27-28 °C. Durante el proceso de maceración-fermentación se han

realizado dos remontados diarios de la mitad del volumen del depósito, descubándose a los 10 días de maceración (densidad entre 997-994).

En las vinificaciones de maceración prefermentativa se ha dejado de aplicar frío a los cuatro días, calentándose el depósito hasta temperatura ambiente, para realizar la siembra de levaduras. En estos depósitos se ha seguido la misma pauta de fermentación-maceración que en los que no se realiza maceración prefermentativa. El descube se ha realizado con el mismo criterio que en los testigos, para que no haya diferencias en el tiempo y temperatura de maceración fermentativa.

Una vez terminada la fermentación alcohólica, se ha realizado la fermentación maloláctica previa adición a todos los depósitos de 1 g/hL de bacterias *Oenococcus oeni*. Terminada ésta los vinos se han corregido a 30 mg/L de sulfuroso libre, trasegándolos para que se homogeneicen y finalmente se embotellan. De cada uno de los vinos elaborados se han embotellado 4 botellas adicionándose en dos de ellas acetaldehído a razón de 60 mL/L/mes durante un mes y medio, con lo que la cantidad total de acetaldehído adicionada es de 90 mL/L.

Las determinaciones analíticas de los parámetros más comunes de los vinos tales como densidad, grado alcohólico, azúcares reductores, acidez total, pH, acidez volátil y sulfuroso total y libre se ha realizado según los métodos que aparecen en el Reglamento Oficial de la Unión Europea. (OIV, 1979). Para los compuestos fenólicos analizados se han utilizado los métodos siguientes: Antocianos totales y Antocianos Copigmentados, Polimerizados y Libres (Ribéreau-Gayon y Stonestreet, 1965; Ribéreau-Gayon, 1979), Catequinas (Sun *et al.*, 1959), Índice de Etanol, Índice de Gelatina, e Índice de Ionización (Glories, 1978), Índice de Polifenoles Totales (Ribereau-Gayón, 1979), Índice de Polimerización (Ruiz, 1994), Índice de PVPP (Blouin, 1977; Vivas, 1995), Índice de Ácido Clorhídrico (Vivas *et al.*, 1995). Índice de DMACH (Vivas *et al.*, 1994). Intensidad Colorante y Tono o Matiz (Comisión Europea, 1990), Taninos Condensados Totales (Saint-Criq *et al.*, 1998).

El análisis estadístico de los resultados ha consistido en un análisis de la varianza multifactorial (ANOVA) para cada una de las variables, teniendo en cuenta el efecto de las técnicas de maceración prefermentativa, la adición o no de acetaldehído, y la interacción entre ambos factores. Se ha calculado el F-ratio, que representa el cociente entre la variabilidad debida al efecto considerado y la varianza residual, teniendo en cuenta que un valor mayor de F-ratio significa un efecto más marcado sobre una variable. Las interacciones entre los dos factores indican que los parámetros polifenólicos en los vinos adicionados de acetaldehído son diferentes dependiendo de la tecnología de maceración aplicada.

### **3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En los vinos elaborados con maceración prefermentativa en frío, con nieve carbónica y sin maceración prefermentativa, se ha ensayado después de la fermentación malololáctica el efecto de la adición de acetaldehído para simular un proceso de microoxigenación, y posteriormente se han conservado durante 19 meses. La composición de los vinos ha sido estudiada utilizando un modelo factorial completo, considerando las técnicas de maceración prefermentativa y la adición o no de acetaldehído. Todas las experiencias se realizaron por duplicado y la analítica de cada

experiencia por triplicado, figurando en las tablas la media y las desviaciones estándar, así como la F-ratio y el nivel de significación entre los distintos tratamientos.

Para una mejor interpretación de los resultados, se han agrupado los distintos apartados de los parámetros polifenólicos directamente relacionados con el color, con la concentración y estado de los antocianos, los relacionados con la concentración total de polifenoles, y los relacionados con la concentración y estado de los taninos.

### 3.1. Evolución de los parámetros relacionados con el color

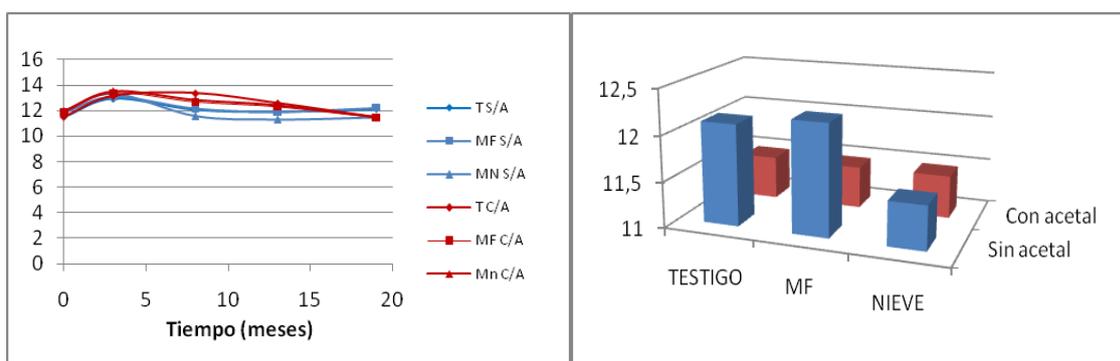
Uno de los atributos más importantes para determinar la calidad y el carácter de un vino es el color. No solo por que pueda ser más o menos atractivo para el consumidor, sino por la información que proporciona sobre el estado de los polifenoles en el vino (Glories, 1978). Como parámetros relacionados con el color, vamos a considerar la Intensidad colorante y el Tono.

En la Tabla 1 figuran las medias, desviaciones estándar, F-ratio y nivel de significación de la Intensidad Colorante, en función de las técnicas de maceración utilizadas y de la aplicación o no de acetaldehído, y en la figura 1 la evolución durante la conservación y sus valores al cabo de 19 meses.

**TABLA 1.** Medias y desviación estándar de la Intensidad Colorante después de la fermentación maloláctica, de la microoxigenación y de los 8, 13 y 19 meses de conservación, y F-ratio y nivel de significación en función de las técnicas de maceración, de la adición de acetaldehído, y la interacción entre ambas.

Técnicas	Tratamiento	Postmalolác	Postmicro.	8 meses	13 meses	19 meses	Tratamiento		Técnica		Tec x Trat	
							F-ratio		F-ratio		F-ratio	
Testigo	Sin MO	11,51±0,71	12,94±0,59	12,07±1,03	11,91±0,80	12,11±0,73	11.32	**	3.77	*	2.73	ns
	Con MO	11,51±0,71	13,14±0,53	13,35±1,76	12,57±0,96	11,47±0,94						
Mf	Sin MO	11,87±0,67	13,08±0,52	12,18±0,76	11,94±0,54	12,22±0,57						
	Con MO	11,87±0,67	13,40±0,43	12,85±0,90	12,37±0,49	11,56±0,49						
MCO2	Sin MO	11,97±0,52	12,31±0,38	11,58±0,81	11,31±0,84	11,48±0,63						
	Con MO	11,97±0,52	13,53±0,44	12,84±0,91	12,41±0,43	11,47±1,05						

Mf: maceración en frío; MCO2: maceación con nieve carbónica; \* p<0,05; \*\* p<0,01; \*\*\* p<0,001; ns:no significativo



**FIGURA 1.** Evolución de la Intensidad Colorante durante la conservación de los vinos y representación gráfica al cabo de 19 meses. T S/A: testigo sin acetaldehído, MF S/A: maceración en frío sin acetaldehído, MN S/A: maceración con nieve carbónica sin acetaldehído, T C/A: testigo con acetaldehído, MF C/A: maceración en frío con acetaldehído, MN C/A: maceración con nieve carbónica con acetaldehído.

La intensidad colorante es la medida más representativa del color de los vinos ya que contempla la aportación al color de los tonos amarillos, rojos y azules

característicos de estos. Esta medida depende de la concentración de compuestos coloreados y del estado de estos en el vino. Al final de la microoxigenación, los vinos adicionados con acetaldehído presentan la mayor Intensidad Colorante, así como los vinos sometidos a maceración prefermentativa. Durante la conservación podemos observar una evolución bastante uniforme para todos los vinos, pero son los vinos microoxigenados los que sufren una mayor caída del color, encontrando diferencias significativas al 99% al final de este período, tanto para el factor tratamiento con acetaldehído como en función de las técnicas de elaboración. El hecho de que los vinos adicionados de acetaldehído presenten valores más bajos puede ser debido a pérdidas por precipitación ocasionadas por el aumento del peso molecular de las combinaciones antociano-antociano formadas después de la adición de acetaldehído. También se observa una importante caída del color durante la conservación en los vinos sometidos a maceración con nieve carbónica y no tratados con acetaldehído, que es superior a la observada en los testigos y en los macerados en frío no tratados con acetaldehído. Aunque no existen interacciones entre los tratamientos, esa importante pérdida de color observada en la maceración con nieve, puede ser la causa de que no haya diferencias entre los vinos macerados con nieve con y sin adición de acetaldehído. Existe una importante controversia en la bibliografía, con respecto a la acción de la microoxigenación en el color de los vinos, numerosos autores observan un incremento de la Intensidad Colorante (Cano-Lopez et al., 2006, 2007, 2009; Timberlake and Bridle, 1976; Ribéreau-Gayón et al., 1983; Sims y Morris, 1986, Atanasova V. et al., 2002) y una mayor estabilidad del color después de un periodo de conservación en botella (Elisa Saitini et al., 2007), mientras que otros observan un ligero descenso (Llaudy M.C. et al., 2006).

En la Tabla 2 figura las medias, desviaciones estándar, F-ratio y nivel de significación del Tono, en función de la técnica de maceración utilizada y de la aplicación o no de acetaldehído, y en la figura 2 la evolución durante la conservación y sus valores al cabo de 19 meses.

**TABLA 2.** Medias y desviación estándar del Tono después de la fermentación maloláctica, de la microoxigenación y de los 8, 13 y 19 meses de conservación, y F-ratio y nivel de significación en función de las técnicas de maceración, de la adición de acetaldehído, y la interacción entre ambas.

Técnicas	Tratamiento	Postmaloláctica	Postmicroox.	8 meses	13 meses	19 meses	Tratamiento		Técnica		Tec x Trat	
							F-ratio		F-ratio		F-ratio	
Testigo	Sin MO	59,41±1,03	63,27±0,97	70,68±2,30	74,50±2,49	78,42±3,04	0.12	ns	1.09	ns	4.16	ns
	Con MO	59,41±1,03	63,45±1,49	71,72±2,93	75,15±2,64	76,92±2,91						
Mf	Sin MO	58,61±0,86	63,04±0,80	69,00±2,00	71,72±2,13	75,25±2,61						
	Con MO	58,61±0,86	62,82±0,92	70,86±2,24	75,19±2,92	75,99±2,85						
MCO2	Sin MO	58,85±1,29	62,04±1,23	71,55±2,37	77,06±3,77	76,01±4,30						
	Con MO	58,85±1,29	62,04±1,23	71,55±2,37	77,06±3,77	76,01±4,30						

Mf: maceración en frío; MCO2: maceación con nieve carbónica; \* p<0,05; \*\* p<0,01; \*\*\* p<0,001; ns:no significativo

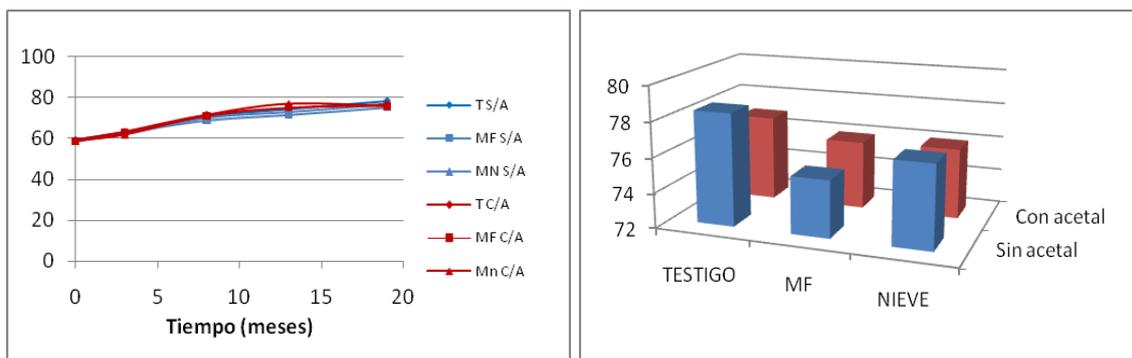


FIGURA 2. Evolución del Tono durante la conservación de los vinos y representación gráfica al cabo de 19 meses. T S/A: testigo sin acetaldehído, MF S/A: maceración en frío sin acetaldehído, MN S/A: maceración con nieve carbónica sin acetaldehído, T C/A: testigo con acetaldehído, MF C/A: maceración en frío con acetaldehído, MN C/A: maceración con nieve carbónica con acetaldehído.

El tono nos indica la contribución del amarillo al color de los vinos. En la gráfica se puede observar un incremento del tono a lo largo del proceso de conservación, siendo este incremento propio de las reacciones de oxidación que sufren todo los vinos con el paso del tiempo y que provocan la aparición de tonos rojo teja característicos de los vinos viejos o evolucionados. Este efecto de incremento del tono ha sido detectado también por otros autores (Alacade-Eon et al., 2006; Baranowski y Nagel, 1983; Bonaga, Parota y Syrghi, 1990; Jurd, 1969; Liao, Cai y Haslam, 1992; Santos-Buelga et al., 1995; Somers, 1971). En la tabla 2 se observa que no existen diferencias significativas entre las diferentes técnicas de vinificación ni entre la adición o no de acetaldehído, ni tampoco interacción entre ambos factores.

### 3.2. Evolución de los parámetros relacionados con la concentración de antocianos

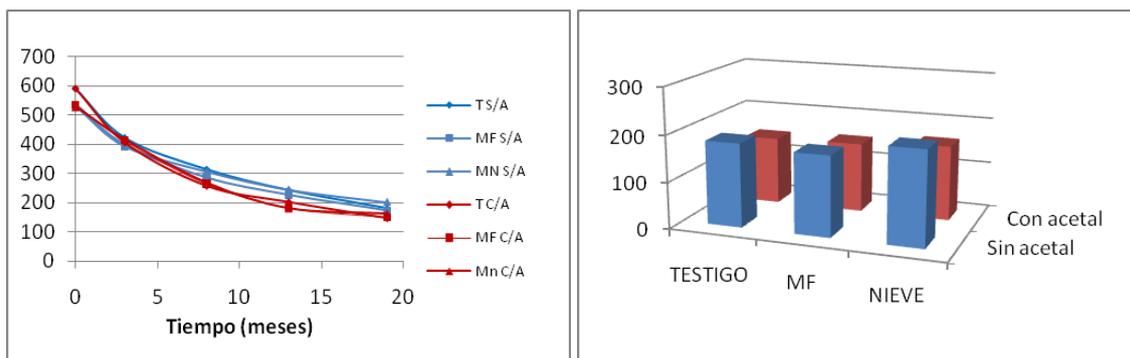
En este apartado se han incluido la concentración total de antocianos y el porcentaje de color que aportan en función del estado en que se encuentren en los vinos: antocianos copigmentados, libres y polimerizados.

En la Tabla 3 figura las medias, desviaciones estándar, F-ratio y nivel de significación de la concentración de antocianos, en función de las técnicas de maceración utilizadas y de la aplicación o no de acetaldehído, y en la figura 3 la evolución durante la conservación y sus valores al cabo de 19 meses.

TABLA 3. Medias y desviación estándar de la concentración de antocianos (mg/L) después de la fermentación maloláctica, de la microoxigenación y de los 8, 13 y 19 meses de conservación, y F-ratio y nivel de significación en función de las técnicas de maceración, de la adición de acetaldehído, y la interacción entre ambas.

Técnicas	Tratam.	Postmalo.	Postmicroox.	8 meses	13 meses	19 meses	Tratamiento		Técnica		Tec x Trat	
							F-ratio		F-ratio		F-ratio	
Testigo	Sin MO	591,60±29,25	422,97±41,48	314,21±29,83	246,96±26,28	180,76±26,84	34.8	***	5.5	**	1.14	ns
	Con MO	591,60±29,26	406,35±19,22	257,32±58,33	202,03±43,49	146,80±44,08						
Mf	Sin MO	536,07±18,26	397,56±23,35	285,26±18,74	226,18±16,61	172,77±12,03						
	Con MO	536,07±18,26	408,90±24,45	258,45±29,87	184,73±40,99	151,80±35,94						
MCO2	Sin MO	528,04±31,69	392,43±8,20	306,79±17,98	246,11±19,40	202,28±22,62						
	Con MO	528,04±31,69	415,86±22,78	267,75±27,79	180,44±38,81	161,67±35,24						

Mf: maceración en frío; MCO2: maceación con nieve carbónica; \* p<0,05; \*\* p<0,01; \*\*\* p<0,001; ns:no significativo



**FIGURA 3.** Evolución de la concentración de antocianos (mg/L) durante la conservación de los vinos y representación gráfica al cabo de 19 meses. T S/A: testigo sin acetaldehído, MF S/A: maceración en frío sin acetaldehído, MN S/A: maceración con nieve carbónica sin acetaldehído, T C/A: testigo con acetaldehído, MF C/A: maceración en frío con acetaldehído, MN C/A: maceración con nieve carbónica con acetaldehído.

Los antocianos se encuentran en el vino libres y combinados con otros compuestos principalmente taninos. Una parte importante de estos antocianos son decolorables por el sulfuroso, entre ellos los antocianos libres y los que se encuentran combinados de forma inestable. Además, el color de estos antocianos varía en función del pH, mientras que otra fracción de antocianos combinados es insensible a la decoloración. El método que hemos utilizado permite determinar la concentración de antocianos decolorables, representando una estimación de la cantidad total de antocianos presentes en el vino.

Los resultados muestran una disminución significativa de la concentración de antocianos decolorables a lo largo de los 19 meses de conservación, debido a la formación de moléculas estables antociano-tanino, no decolorables por el sulfuroso, y a los fenómenos de precipitación de materia colorante cuando no se han podido potenciar estas uniones. Este descenso natural de los antocianos durante el periodo de conservación en botella ha sido identificado por numerosos autores (Tao, Jianxiong; et al., 2007, Sigleton y Tronsdale, 1992; Vivar Quintana et al., 2002; Cano-Lopez et al., 2009). Al cabo de 22 meses de conservación existen diferencias significativas al 99.9% para el factor tratamiento, observándose que aquellos vinos a los que se les ha adicionado acetaldehído presentan una menor concentración de antocianos decolorables por el sulfuroso. Las causas de esta disminución pueden ser debidas a precipitación o/a que los antocianos se hayan combinado de forma estable. Se observa también que existen diferencias significativas al 99% en cuanto al factor técnica de vinificación, encontrándose los valores más elevados en los vinos macerados prefermentativamente y observándose entre ellos el valor más elevado en aquellos vinos macerados prefermentativamente con nieve carbónica. Estas dos técnicas de vinificación favorecen la extracción de compuestos polifenólicos presentes principalmente en los hollejos debido al mayor tiempo de contacto entre estos y el mosto durante el proceso de elaboración. Además, la maceración con nieve carbónica provoca una mayor disolución de estos componentes en el mosto, ya que la sublimación de la nieve carbónica de la fase sólida a gas provoca la disminución de la temperatura a valores próximos a 0 °C y la congelación de los líquidos intracelulares con la consiguiente rotura de las membranas. Por último no se han encontrado diferencias para la interacción de ambos factores.

En la Tabla 4 figuran las medias, desviaciones estándar, F-ratio y nivel de significación de la aportación al color de los antocianos copigmentados (%), en función

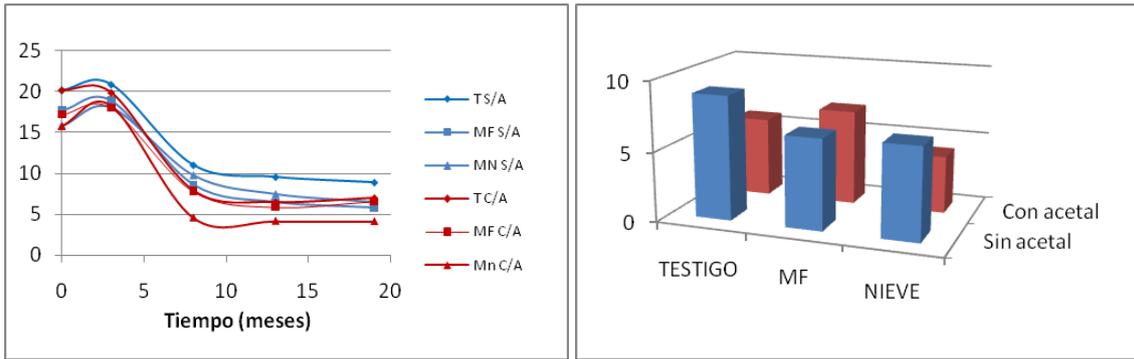
de la técnicas de maceración utilizadas y de la aplicación o no de acetaldehído, y en la figura 4 observamos la evolución durante la conservación y sus valores al cabo de 2 meses.

**TABLA 4.** Medias y desviación de la aportación al color de los antocianos copigmentados (%) después de la fermentación maloláctica, de la microoxigenación y de los 8, 13 y 19 meses de conservación, y F-ratio y nivel de significación en función de las técnicas de maceración, de la adición de acetaldehído, y la interacción entre ambas.

Técnicas	Tratamiento	Postmalo.	Postmicroox.	11 meses	16 meses	22 meses	Tratamiento		Técnica		Tec x Trat	
							F-ratio		F-ratio		F-ratio	
Testigo	Sin MO	19,42±3,69	20,90±3,38	11,02±3,11	9,56±3,07	8,90±3,65	9.28	**	4.44	*	4.08	*
	Con MO	19,42±3,69	19,88±1,65	7,89±4,23	6,48±1,97	5,76±3,35						
Mf	Sin MO	17,73±2,84	18,90±1,93	8,60±1,74	6,45±3,18	6,49±3,52						
	Con MO	17,73±2,84	17,88±2,88	7,84±2,86	5,89±2,68	7,00±2,50						
MCO2	Sin MO	15,81±5,08	18,08±1,16	9,78±2,29	7,48±3,52	6,58±2,53						
	Con MO	15,81±5,08	18,21±2,97	4,58±0,73	4,16±2,58	4,12±2,85						

Mf: maceración en frío; MCO2: maceación con nieve carbónica; \* p<0,05; \*\* p<0,01; \*\*\* p<0,001; ns:no significativo

Podemos observar un incremento de las reacciones de copigmentación durante el periodo de microoxigenación, que llegan a suponer hasta un 20% del color del vino. A partir de ese momento se produce una rotura paulatina de los complejos de copigmentación, que da lugar a un descenso brusco y continuado del porcentaje de color debido a la copigmentación. Este descenso del color aportado por la copigmentación ha sido identificado también por otros autores (Ribéreau-Gayon et al., 2003; Boulton R. 2001; Perez-Magariño et al., 2004), ya que las uniones con los copigmentos se rompen por diversas causas como la temperatura y la presencia o ausencia de etanol (Gómez-Miguel y Heredia, 2004), quedando los antocianos disponibles para intervenir en otras reacciones, principalmente en las de polimerización. Después de la fermentación maloláctica, el mayor nivel de copigmentación se observa en los vinos elaborados de forma tradicional sin estar sometidos a una maceración prefermentativa, la adición de acetaldehído incrementa inicialmente las reacciones de copigmentación, pero estas descienden intensamente durante los meses de conservación. Podemos observar que una vez concluida la fermentación maloláctica y a lo largo del proceso de conservación, existen diferencias con respecto a las técnicas de vinificación empleadas, siendo los vinos testigo los que presentan el mayor porcentaje de color debido a la copigmentación. En cambio, los vinos sometidos a la adición de acetaldehído presentan valores significativamente inferiores. La maceración prefermentativa y la adición de acetaldehído podrían disminuir la fracción de antocianos copigmentados debido a que estas uniones se rompen, y estos antocianos así liberados podrían permanecer libres o combinarse de forma más estable con otros compuestos diferentes de los copigmentos. Por último también se han encontrado diferencias significativas al 95% para la interacción entre ambos factores.



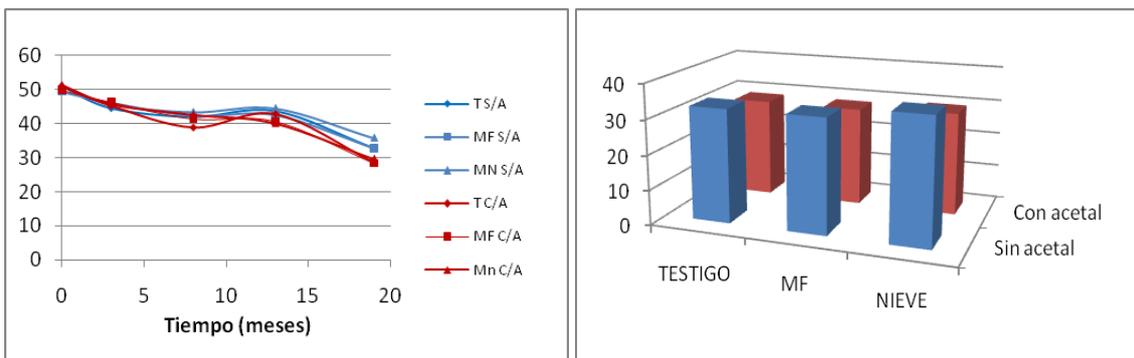
**FIGURA 4.** Evolución de la aportación al color de los antocianos copigmentados (%) durante la conservación de los vinos y representación gráfica al cabo de 19 meses. T S/A: testigo sin acetaldehído, MF S/A: maceración en frío sin acetaldehído, MN S/A: maceración con nieve carbónica sin acetaldehído, T C/A: testigo con acetaldehído, MF C/A: maceración en frío con acetaldehído, MN C/A: maceración con nieve carbónica con acetaldehído.

En la Tabla 5 figuran las medias, desviaciones estándar, F-ratio y nivel de significación de la aportación al color de los antocianos libres (%), en función de las técnicas de maceración utilizadas y de la aplicación o no de acetaldehído, y en la figura 5 la evolución durante la conservación y sus valores al cabo de 19 meses.

**TABLA 5.** Medias y desviación de la aportación al color de los antocianos libres (%) después de la fermentación maloláctica, de la microoxigenación y de los 8, 13 y 19 meses de conservación, y F-ratio y nivel de significación en función de las técnicas de maceración, de la adición de acetaldehído, y la interacción entre ambas.

Técnicas	Tratamiento	Postmaloláctica	Postmicroox.	8 meses	13 meses	19 meses	Tratamiento		Técnica		Tec x Trat	
							F-ratio		F-ratio		F-ratio	
Testigo	Sin MO	51,01±2,87	44,56±1,35	42,02±1,95	43,76±3,58	32,67±5,16	45.62	***	3.56	ns	1.06	ns
	Con MO	51,01±2,87	45,33±0,90	38,96±5,07	42,90±4,64	28,58±4,56						
Mf	Sin MO	49,39±3,35	46,20±0,91	42,39±2,78	42,55±4,06	32,74±2,77						
	Con MO	49,39±3,35	46,26±2,34	41,07±2,47	40,94±3,17	28,77±3,63						
MCO2	Sin MO	51,21±5,82	45,72±0,62	43,37±2,34	44,47±2,80	35,77±4,08						
	Con MO	51,21±5,82	45,72±1,85	42,58±2,92	40,05±3,70	29,58±3,42						

Mf: maceración en frío; MCO2: maceación con nieve carbónica; \* p<0,05; \*\* p<0,01; \*\*\* p<0,001; ns:no significativo



**FIGURA 5.** Evolución de la aportación al color de los antocianos libres (%) durante la conservación de los vinos y representación gráfica al cabo de 22 meses. T S/A: testigo sin acetaldehído, MF S/A: maceración en frío sin acetaldehído, MN S/A: maceración con nieve carbónica sin acetaldehído, T C/A: testigo con acetaldehído, MF C/A: maceración en frío con acetaldehído, MN C/A: maceración con nieve carbónica con acetaldehído.

En cuanto al porcentaje de color aportado por los antocianos libres, vemos que disminuye gradualmente con el paso del tiempo, debido a que reaccionan con otros compuestos, especialmente taninos, para formar complejos que proporcionan una mayor estabilidad del color. Este efecto es similar al encontrado para los antocianos totales decolorables por el sulfuroso, y ha sido observado también por otros autores (Tao, Jianxiong; et al., 2007, Sigleton y Tronsdale, 1992; Vivar Quintana et al., 2002; Cano-Lopez et al., 2009).

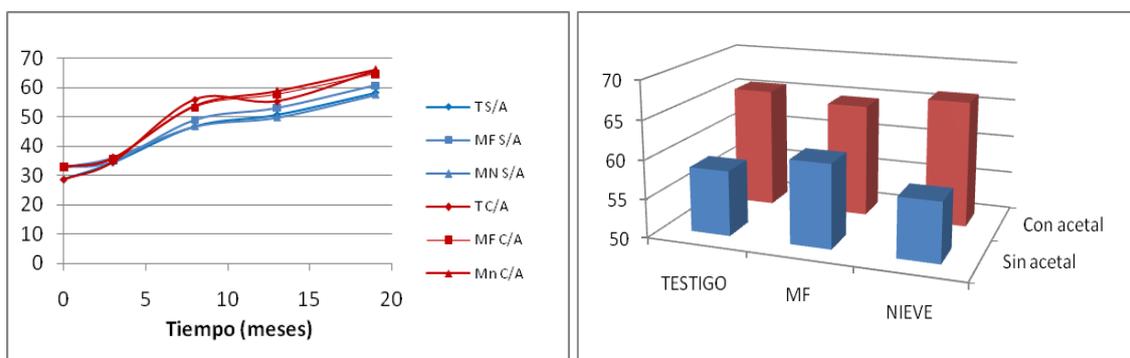
A los 19 meses del periodo de conservación encontramos diferencias estadísticamente significativas al 99.9% para el factor tratamiento y al 95% para el factor técnica de vinificación. Debido al aporte de acetaldehído, la polimerización se incrementa y por tanto el porcentaje de color aportado por los antocianos libres desciende significativamente. En cuanto a las técnicas de vinificación, al final del periodo de conservación se observan los valores ligeramente superiores en los vinos macerados con nieve carbónica. En cambio, no se han encontrado diferencias significativas para la interacción entre ambos factores.

En la Tabla 6 figuran las medias, desviaciones estándar, F-ratio y nivel de significación de la aportación al color de los antocianos polimerizados (%), en función de las técnicas de maceración utilizadas y de la aplicación o no de acetaldehído, y en la figura 6 la evolución durante la conservación y sus valores al cabo de 19 meses.

**TABLA 6.** Medias y desviación de la aportación al color de los antocianos polimerizados (%) después de la fermentación maloláctica, de la microoxigenación y de los 8, 13 y 19 meses de conservación, y F-ratio y nivel de significación en función de las técnicas de maceración, de la adición de acetaldehído, y la interacción entre ambas.

Técnicas	Tratamiento	Postmaloláctica	Postmicroox.	8 meses	13 meses	19 meses	Tratamiento		Técnica		Tec x Trat	
							F-ratio		F-ratio		F-ratio	
Testigo	Sin MO	28,80±1,94	34,54±3,51	46,97±3,74	50,91±3,82	58,43±5,06	62.65	***	0.16	ns	3.61	*
	Con MO	28,80±1,94	34,79±1,55	56,01±8,10	55,39±6,16	65,67±6,90						
Mf	Sin MO	32,88±1,84	34,90±1,78	49,02±2,27	53,06±2,44	60,77±2,92						
	Con MO	32,88±1,84	35,86±2,24	53,92±3,65	57,45±5,09	64,23±4,83						
MCO2	Sin MO	32,98±1,84	36,19±1,21	46,84±3,09	49,90±3,53	57,65±3,43						
	Con MO	32,98±1,84	36,07±2,32	53,99±3,15	58,96±5,45	66,30±4,58						

Mf: maceración en frío; MCO2: maceación con nieve carbónica; \* p<0,05; \*\* p<0,01; \*\*\* p<0,001; ns:no significativo



**FIGURA 6.** Evolución de la aportación al color de los antocianos polimerizados (%) durante la conservación de los vinos y representación gráfica al cabo de 19 meses. T S/A: testigo sin acetaldehído, MF S/A: maceración en frío sin acetaldehído, MN S/A: maceración con nieve carbónica sin acetaldehído, T C/A: testigo con acetaldehído, MF C/A: maceración en frío con acetaldehído, MN C/A: maceración con nieve carbónica con acetaldehído.

Podemos observar como el porcentaje de color debido a los antocianos polimerizados es superior en los vinos microoxigenados, tanto después de la fermentación maloláctica, como durante la conservación. Este incremento de la polimerización de los antocianos durante y después de la microoxigenación, ha sido observado por numerosos autores (Castellari et al., 2000; Atanasova et al., 2002; McCord, 2003; Llaudy et al., 2006; Cano –Lopez et al., 2006), que además encuentran una disminución de la astringencia de los vinos y un aumento en el tamaño de los polímeros tánicos. Este efecto es el contrario el observado en los antocianos libres y también en los antocianos copigmentados, ya que posiblemente estos hayan pasado a formar parte de complejos de polimerización en detrimento de los de copigmentación.

Al final del proceso de conservación observamos como existen diferencias significativas al 99,9% en el factor tratamiento, presentando los vinos adicionados de acetaldehído los valores más elevados. Este comportamiento es el esperado, ya que el objetivo de la microoxigenación, y por tanto el de la adición de acetaldehído, es el de favorecer estas uniones incrementando las estabilidad del color. No se han encontrado diferencias significativas en el factor técnicas de vinificación al final del proceso de conservación, pero en cambio si las encontramos después de la maloláctica, esto nos indica que durante la larga conservación, la influencia de la maceración está lejana en el tiempo, y son otros los factores que condicionan la polimerización. Por último, se ha encontrado que existe interacción significativa al 95% entre las técnicas de vinificación y la adición de acetaldehído.

### 3.3. Evolución de los parámetros relacionados con la concentración total de polifenoles

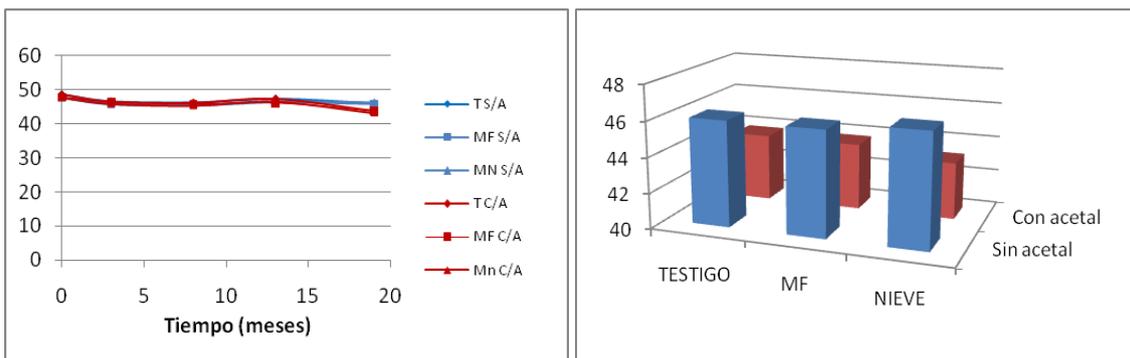
La concentración total de polifenoles en el vino se ha determinado mediante el Índice de Polifenoles Totales (IPT), y el Índice de Folin-Ciocalteu. Ambas técnicas miden la presencia de grupos fenol en el vino, siendo el Índice de Folin más preciso, y el IPT más utilizado y de más sencilla realización.

En la Tabla 7 figura las medias, desviaciones estándar, F-ratio y nivel de significación del Índice de Polifenoles Totales, en función de la técnicas de maceración utilizadas y de la aplicación o no de acetaldehído, y en la figura 7 la evolución durante la conservación y sus valores al cabo de 19 meses.

**TABLA 7.** Medias y desviación estándar del Índice de Polifenoles Totales después de la fermentación maloláctica, de la microoxigenación y de los 8, 13 y 19 meses de conservación, y F-ratio y nivel de significación en función de las técnicas de maceración, de la adición de acetaldehído, y la interacción entre ambas.

Técnicas	Tratamiento	Postmaloláctica	Postmicroox.	8 meses	13 meses	19 meses	Tratamiento		Técnica		Tec x Trat	
							F-ratio		F-ratio		F-ratio	
Testigo	Sin MO	48,66±1,57	46,59±1,52	46,22±2,48	47,36±2,52	45,99±1,54	35.35	***	0.18	ns	1.09	ns
	Con MO	48,66±1,57	46,59±2,00	46,23±2,00	47,40±2,47	43,84±2,97						
Mf	Sin MO	47,70±1,35	46,23±1,48	45,53±1,92	46,45±1,72	45,95±1,69						
	Con MO	47,70±1,35	46,52±4,50	45,77±1,92	46,06±1,81	44,21±2,47						
MCO2	Sin MO	47,77±1,17	45,89±1,48	45,69±2,04	46,71±2,37	46,36±2,11						
	Con MO	47,77±1,77	45,97±1,66	45,43±1,89	46,58±1,21	43,23±2,20						

Mf: maceración en frío; MCO2: maceación con nieve carbónica; \* p<0,05; \*\* p<0,01; \*\*\* p<0,001; ns:no significativo



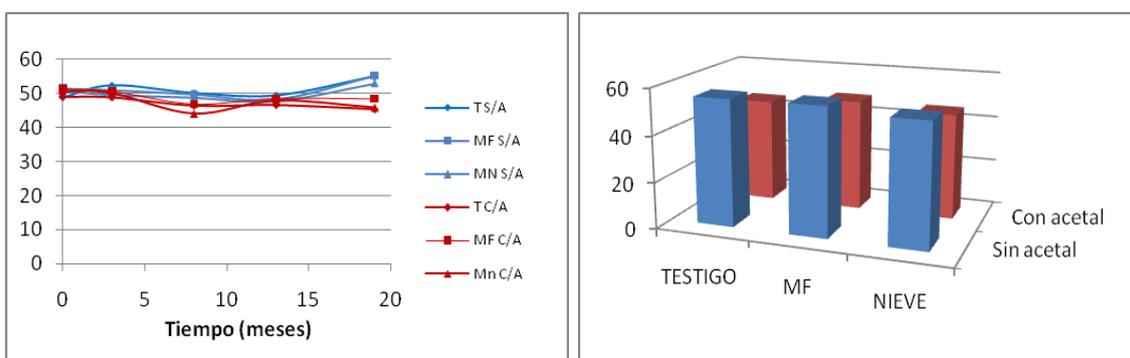
**FIGURA 7.** Evolución del Índice de Polifenoles Totales durante la conservación de los vinos y representación gráfica al cabo de 19 meses. T S/A: testigo sin acetaldehído, MF S/A: maceración en frío sin acetaldehído, MN S/A: maceración con nieve carbónica sin acetaldehído, T C/A: testigo con acetaldehído, MF C/A: maceración en frío con acetaldehído, MN C/A: maceración con nieve carbónica con acetaldehído.

En la Tabla 8 figuran las medias, desviaciones estándar, F-ratio y nivel de significación del Índice de Folin-Ciocalteu, en función de la técnicas de maceración utilizadas y de la aplicación o no de acetaldehído, y en la figura 4 la evolución durante la conservación y sus valores al cabo de 19 meses.

**TABLA 8.** Medias y desviación estándar del Índice de Folin-Ciocalteu después de la fermentación maloláctica, de la microoxigenación y de los 8, 13 y 19 meses de conservación, y F-ratio y nivel de significación en función de las técnicas de maceración, de la adición de acetaldehído, y la interacción entre ambas.

Técnicas	Tratamiento	Postmaloláctica	Postmicroox.	8 meses	13 meses	19 meses	Tratamiento		Técnica		Tec x Trat	
							F-ratio		F-ratio		F-ratio	
Testigo	Sin MO	48,95±1,17	52,42±1,80	50,24±2,99	49,53±3,87	48,99±3,50	98.5	***	4.45	ns	1.76	ns
	Con MO	48,95±1,17	48,77±2,33	47,40±2,34	46,58±2,93	45,35±5,77						
Mf	Sin MO	51,50±2,59	51,08±3,50	49,85±3,04	48,35±3,08	47,26±4,02						
	Con MO	51,50±2,59	50,77±2,23	46,78±2,48	48,36±7,43	47,93±5,02						
MCO2	Sin MO	50,77±2,20	49,55±1,40	48,75±3,80	47,72±1,37	47,82±3,23						
	Con MO	50,77±2,20	50,11±1,79	48,09±2,13	47,96±6,10	45,90±4,42						

Mf: maceración en frío; MCO2: maceación con nieve carbónica; \* p<0,05; \*\* p<0,01; \*\*\* p<0,001; ns:no significativo



**FIGURA 8.** Evolución del Índice de Folin-Ciocalteu durante la conservación de los vinos y representación gráfica al cabo de 19 meses. T S/A: testigo sin acetaldehído, MF S/A: maceración en frío sin acetaldehído, MN S/A: maceración con nieve carbónica sin acetaldehído, T C/A: testigo con acetaldehído, MF C/A: maceración en frío con acetaldehído, MN C/A: maceración con nieve carbónica con acetaldehído.

Tanto en el IPT como en el índice de Folin se aprecia una tendencia a la disminución a lo largo de la conservación de los vinos. Se ha observado que al final de este periodo de conservación existen diferencias significativas al 99,9% tanto en el índice de Folin como en el IPT para el factor tratamiento, ya que los vinos adicionados de acetaldehído presentan diferencias significativas con respecto a los no adicionados, siendo los valores de estos más elevados. Este comportamiento podría explicarse debido a las reacciones mediadas por el acetaldehído, que forman complejos antociano-tanino, polímeros tanino-tanino, y macromoléculas más grandes que pueden precipitar dando lugar a esa menor concentración de polifenoles encontrada. Este comportamiento ha sido observado también por Elisa Saitini et al. (2006), que atribuyen a las reacciones de estabilización que tienen lugar durante la conservación, el hecho de que la disminución sea inferior a la esperada.

En cuanto a las técnicas de vinificación no se han encontrado diferencias significativas para los polifenoles totales al final del proceso de conservación; en cambio, después de la maloláctica, son los vinos macerados en frío los que presenta los mayores valores del Índice de Folin, debido a una mayor extracción polifenólica durante el proceso de vinificación. No se han encontrado diferencias en la interacción de los dos factores para ninguno de los dos índices estudiados

### **3.4. Evolución de los parámetros relacionados con la concentración y estado de los taninos.**

Se estudiarán en este apartado los parámetros relacionados con la concentración de flavanoles: catequinas y proantocianidinas (taninos condensados), así como una serie de índices relacionados con la calidad de los taninos.

En la Tabla 9 figuran las medias, desviaciones estándar, F-ratio y nivel de significación de la concentración de catequinas, en función de las técnicas de maceración utilizadas y de la aplicación o no de acetaldehído, y en la figura 9 la evolución durante la conservación y sus valores al cabo de 19 meses.

La condensación de las catequinas para formar taninos condensados se realiza en las posiciones 6 y 8 de los flavanoles, por tanto cuanto más polimerizados estén los taninos el número de catequinas libres disminuye. El incremento en la concentración de catequinas que se observa en la primera fase del periodo de conservación puede ser debido a que se estén liberando moléculas unidas a otras estructuras. A partir de los 13 meses, se observa como la concentración de catequinas disminuye con lo cual se están produciendo polimerizaciones de catequinas formando taninos condensados, no encontrándose diferencias significativas con la adición de acetaldehído al final del periodo de conservación (19 meses). Otros autores señalan que después de la aplicación de acetaldehído todos los compuestos monómeros del vino disminuyen y entre ellos las catequinas (Tao, Jianxiong et al., 2007), confirmando la continuación de las reacciones de polimerización durante la conservación en botella.

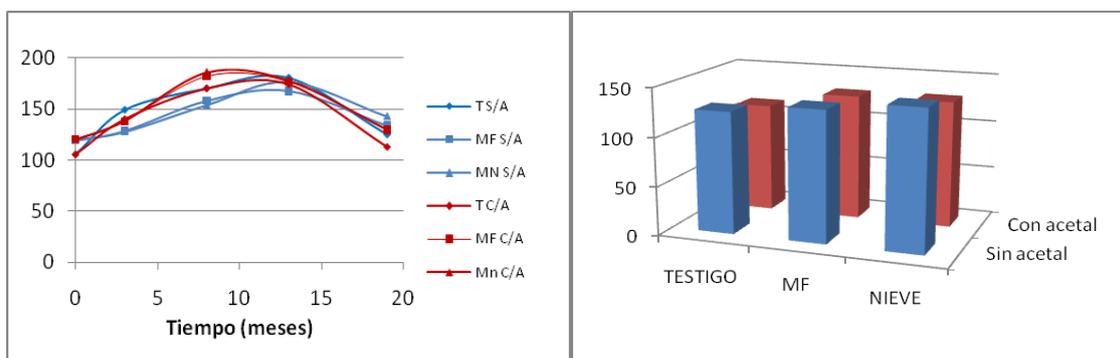
En cuanto a las técnicas de vinificación empleadas, se observan diferencias significativas al 95%, encontrándose valores más elevados de catequinas en aquellos vinos elaborados con técnicas de maceración prefermentativa, que favorecen la extracción de compuestos de las partes solidas de la uva, tanto de los hollejos como de las pepitas, y que por lo tanto incrementan la concentración de estos compuesto en el vino. Siendo este efecto más marcado en los vinos elaborados con maceración

prefermentativa utilizando nieve carbónica debido al efecto de desestructuración celular producido por esta. No se observa interacción entre ambos factores al final de los 19 meses de conservación.

**TABLA 9.** Medias y desviación estándar de la concentración de catequinas (mg/L) después de la fermentación maloláctica, de la microoxigenación y de los 8, 13 y 19 meses de conservación, y F-ratio y nivel de significación en función de las técnicas de maceración, de la adición de acetaldehído, y la interacción entre ambas.

Técnicas	Tratamiento	Postmaloláctica	Postmicroox.	8 meses	13 meses	19 meses	Tratamiento		Técnica		Tec x Trat	
							F-ratio		F-ratio		F-ratio	
Testigo	Sin MO	106,01±34,19	149,27±19,63	170,04±23,44	180,30±19,22	125,31±34,34	2.58	ns	4.26	*	0.6	ns
	Con MO	106,01±34,19	140,21±16,70	169,93±28,03	173,95±31,12	113,26±37,04						
Mf	Sin MO	119,42±8,53	129,04±18,73	157,92±21,13	167,51±22,38	134,12±17,04						
	Con MO	119,42±8,53	138,30±9,00	180,32±15,68	174,55±40,83	129,77±30,25						
MCO2	Sin MO	120,14±7,37	127,77±18,16	153,85±11,09	176,40±15,48	142,85±26,13						
	Con MO	120,14±7,37	138,76±8,45	186,12±13,61	178,21±30,36	130,16±30,99						

Mf: maceración en frío; MCO2: maceación con nieve carbónica; \* p<0,05; \*\* p<0,01; \*\*\* p<0,001; ns:no significativo



**FIGURA 9.** Evolución concentración de catequinas (mg/L) durante la conservación de los vinos y representación gráfica al cabo de 22 meses. T S/A: testigo sin acetaldehído, MF S/A: maceración en frío sin acetaldehído, MN S/A: maceración con nieve carbónica sin acetaldehído, T C/A: testigo con acetaldehído, MF C/A: maceración en frío con acetaldehído, MN C/A: maceración con nieve carbónica con acetaldehído.

En la Tabla 10 figuran las medias, desviaciones estándar, F-ratio y nivel de significación de la concentración de taninos condensados, en función de las técnicas de maceración utilizadas y de la aplicación o no de acetaldehído, y en la figura 10 la evolución durante la conservación y sus valores al cabo de 19 meses.

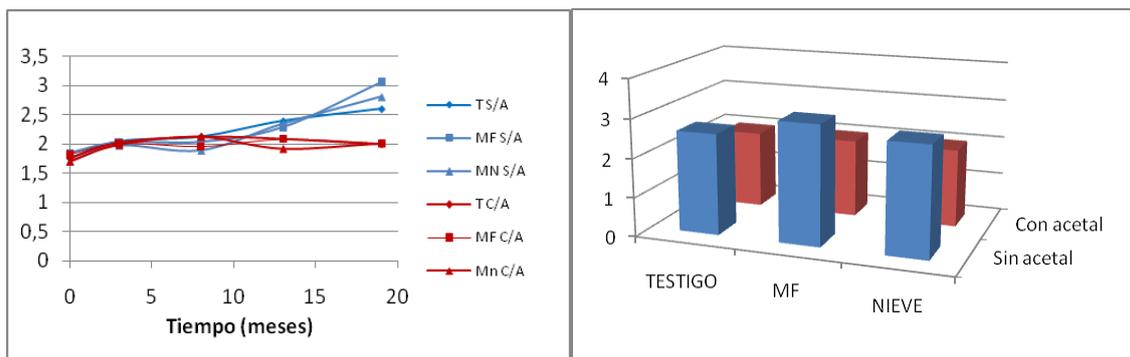
Observamos como la concentración de taninos se incrementa durante el proceso de conservación, siendo este incremento más importante en los vinos no adicionados de acetaldehído, y en los sometidos a maceración prefermentativa. Al final del proceso de conservación se observan diferencias significativas al 99,9%, para el factor tratamiento siendo los vinos no adicionados de acetaldehído los que presentan los mayores valores de estos compuestos. Este comportamiento podría deberse a la precipitación de los complejos tanino-tanino muy voluminosos, mientras que en los otros vinos no han alcanzado un alto grado de polimerización, no alcanzándose un peso molecular elevado y por lo tanto manteniéndose todavía en suspensión en el medio. Para que estas reacciones tengan lugar es necesaria la presencia de oxígeno, que transforma el etanol en acetaldehído, o bien la presencia directa de acetaldehído. Este oxígeno ha sido

incorporado también durante el proceso de elaboración, en las operaciones enotécnicas básicas tales como estrujado, remontados, trasiegos, etc. Otro factor importante a tener en cuenta es la dimensión de los depósitos de 50 litros empleados para la elaboración de estos vinos ya que la relación de la boca del depósito con respecto al volumen de vino que contiene es muy grande. Además, podemos observar también como el paso del tiempo incrementa la tonalidad amarilla, que además de a las reacciones de oxidación en presencia de oxígeno, puede ser debida también a la presencia de grandes polímeros de taninos.

**TABLA 10.** Medias y desviación estándar de la concentración de taninos condensados (g/L) después de la fermentación maloláctica, de la microoxigenación y de los 8, 13 y 19 meses de conservación, y F-ratio y nivel de significación en función de las técnicas de maceración, de la adición de acetaldehído, y la interacción entre ambas.

Técnicas	Tratamiento	Postmaloláctica	Postmicroox.	8 meses	13 meses	19 meses	Tratamiento		Técnica		Tec x Trat	
							F-ratio		F-ratio		F-ratio	
Testigo	Sin MO	1,76±0,16	2,04±0,17	2,13±0,16	2,40±0,19	2,60±0,61	89.35	***	2.68	ns	2.13	ns
	Con MO	1,76±0,16	2,03±0,12	2,13±0,36	2,09±0,33	2,00±0,28						
Mf	Sin MO	1,85±0,22	2,03±0,21	2,04±0,11	2,29±0,20	2,27±0,78						
	Con MO	1,85±0,22	2,01±0,10	1,94±0,17	2,06±0,26	2,03±0,18						
MCO2	Sin MO	1,70±0,13	1,97±0,10	1,89±0,11	2,35±0,18	2,61±0,53						
	Con MO	1,70±0,13	1,99±0,18	2,12±0,16	1,92±0,20	2,01±0,17						

Mf: maceración en frío; MCO2: maceación con nieve carbónica; \* p<0,05; \*\* p<0,01; \*\*\* p<0,001; ns:no significativo



**FIGURA 10.** Evolución concentración de taninos condensados (g/L) durante la conservación de los vinos y representación gráfica al cabo de 19 meses. T S/A: testigo sin acetaldehído, MF S/A: maceración en frío sin acetaldehído, MN S/A: maceración con nieve carbónica sin acetaldehído, T C/A: testigo con acetaldehído, MF C/A: maceración en frío con acetaldehído, MN C/A: maceración con nieve carbónica con acetaldehído.

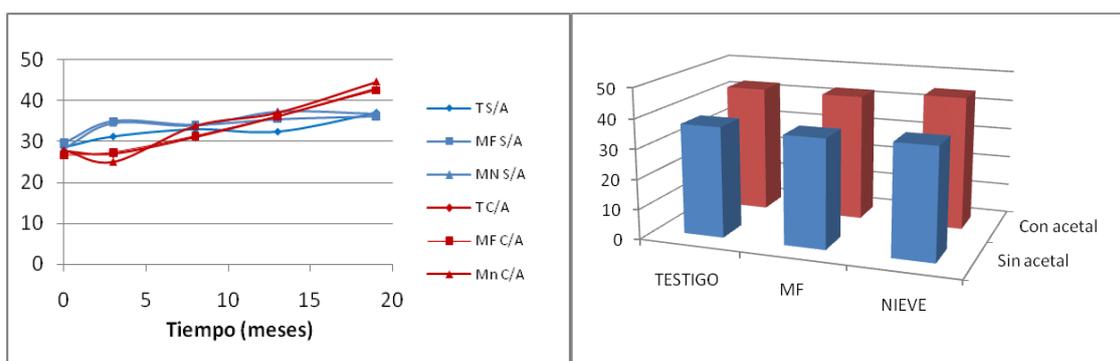
Tao et al. (2007), encuentran un incremento en la concentración de taninos en vinos microoxigenados, aunque otros autores destacan también como se produce la precipitación de estos cuando las moléculas aumentan su tamaño (Llaudy M.C. et al., 2006). Por lo tanto, la conservación del vino durante 19 meses puede dar lugar a que aparezca precipitación en las botellas. No se han encontrado diferencias significativas para el factor técnica de vinificación ni para el efecto combinado entre ambos factores. Aunque las técnicas de maceración prefermentativa incrementan la extracción de polifenoles, como se observa después de la fermentación maloláctica, hay un equilibrio entre las reacciones de condensación y las de precipitación por exceso de polimerización.

En la Tabla 11 figuran las medias, desviaciones estándar, F-ratio y nivel de significación del Índice de PVPP, en función de las técnicas de maceración utilizadas y de la aplicación o no de acetaldehído, y en la figura 11 la evolución durante la conservación y sus valores al cabo de 19 meses.

**TABLA 11.** Medias y desviación estándar del Índice de PVPP (%) después de la fermentación maloláctica, de la microoxigenación y de los 8, 13 y 19 meses de conservación, y F-ratio y nivel de significación en función de las técnicas de maceración, de la adición de acetaldehído, y la interacción entre ambas.

Técnicas	Tratamiento	Postmaloláctica	Postmicroox.	8 meses	13 meses	19 meses	Tratamiento		Técnica		Tec x Trat	
							F-ratio		F-ratio		F-ratio	
Testigo	Sin MO	28,56±1,44	32,23±2,91	32,99±1,28	32,40±2,67	37,00±2,13	12.37	***	0.99	ns	0.38	ns
	Con MO	29,74±1,44	26,95±1,42	31,05±3,86	36,09±2,01	42,85±3,00						
Mf	Sin MO	28,49±1,87	35,08±1,62	34,15±1,40	35,50±2,69	36,23±2,85						
	Con MO	27,56±1,87	26,88±3,16	31,42±3,06	36,14±2,83	42,58±2,47						
MCO2	Sin MO	26,59±3,93	34,63±1,63	34,04±1,45	37,40±4,31	36,86±1,91						
	Con MO	27,58±3,93	24,95±3,37	33,81±3,11	37,07±1,44	44,59±2,26						

Mf: maceración en frío; MCO2: maceación con nieve carbónica; \* p<0,05; \*\* p<0,01; \*\*\* p<0,001; ns:no significativo



**FIGURA 11.** Evolución concentración de del Índice de PVPP (%) durante la conservación de los vinos y representación gráfica al cabo de 19 meses. T S/A: testigo sin acetaldehído, MF S/A: maceración en frio sin acetaldehído, MN S/A: maceración con nieve carbónica sin acetaldehído, T C/A: testigo con acetaldehído, MF C/A: maceración en frio con acetaldehído, MN C/A: maceración con nieve carbónica con acetaldehído.

El índice de PVPP nos muestra el porcentaje de taninos combinado con antocianos. Podemos observar como el porcentaje de estas uniones se incrementa durante el periodo de conservación de los vinos, siendo en los vinos adicionados de acetaldehído donde se observa el mayor incremento, con diferencias estadísticamente significativas al 99,9% con respecto a los vinos no adicionados. Este índice presenta un comportamiento lógico, ya que la incorporación de acetaldehído busca potenciar estas uniones, que aportan una mayor estabilidad de estos compuestos, tanto de los antocianos, responsables del color rojo de los vinos tintos, y como de los taninos, con la finalidad de rebajar su astringencia debido a la menor reactividad de los taninos, ya que muchos de sus grupos ortodifenoles pierden la capacidad de reaccionar con las proteínas de la saliva al estar estos grupos formando parte de complejos de polimerización. Este comportamiento ha sido enunciado anteriormente por otros autores (Perez-Magariño et al., 2007; Castellari et al., 2000; Atanasova et al., 2002, 2003; LLaudy et al., 2006; McCord, 2003; Cano-Lopez et al ., 2006; Saitini E. et al., 2007), siendo este efecto el que busca la incorporación de oxígeno al vino.

Por otra parte, no se han encontrado diferencias estadísticamente significativas para el factor técnicas de vinificación, lo que nos indica que la mayor presencia de polifenoles no asegura la unión de estos entre sí, siendo necesaria la presencia de etanol para catalizar estas reacciones antociano-tanino. Otro factor importante a tener en cuenta es la relación taninos-antocianos presente en el vino. Por lo general se habla de una relación 4:1 para que estos compuestos puedan ser sometidos al proceso de crianza en barrica. Los vinos elaborados no han sido sometidos a crianza, pero con la adición de acetaldehído se ha querido simular el aporte de oxígeno que recibe el vino durante este periodo. Los vinos elaborados cumplen esta proporción ya que presentan en general sobre 2-2.5 g/L de taninos y sobre 500 mg/L de antocianos, aunque serían recomendables concentraciones un poco mayores de estos compuestos.

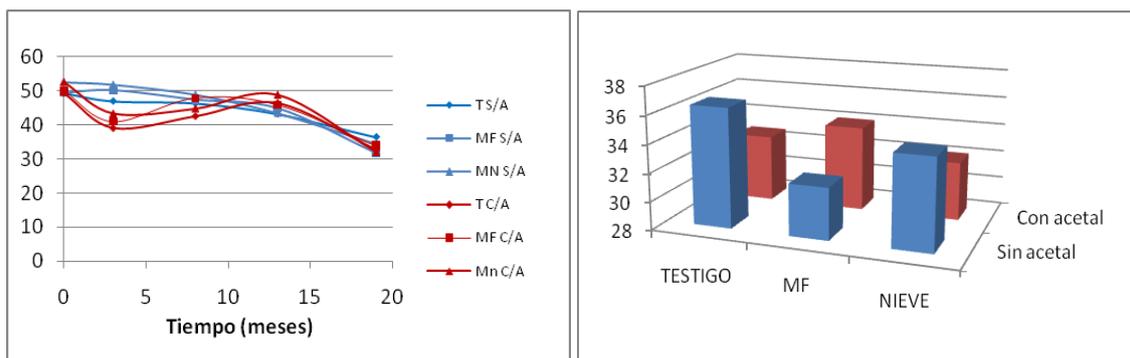
En la Tabla 12 figuran las medias, desviaciones estándar, F-ratio y nivel de significación del Índice de Dmach, en función de las técnicas de maceración utilizadas y de la aplicación o no de acetaldehído, y en la figura 12 la evolución durante la conservación y sus valores al cabo de 19 meses.

**TABLA 12.** Medias y desviación estándar del Índice de Dmach (%) después de la fermentación maloláctica, de la microoxigenación y de los 8, 13 y 19 meses de conservación, y F-ratio y nivel de significación en función de las técnicas de maceración, de la adición de acetaldehído, y la interacción entre ambas.

Técnicas	Tratamiento	Postmaloláctica	Postmicroox.	8 meses	13 meses	19 meses	Tratamiento		Técnica		Tec x Trat	
							F-ratio		F-ratio		F-ratio	
Testigo	Sin MO	49,43±3,48	47,05±7,29	46,43±5,53	43,28±4,37	36,46±9,18	0.52	ns	0.44	ns	1.89	ns
	Con MO	49,43±3,48	39,17±6,93	42,66±7,02	46,54±10,89	32,77±9,94						
Mf	Sin MO	49,39±5,33	50,11±7,89	47,35±4,82	44,83±5,18	31,66±11,20						
	Con MO	49,39±5,33	40,74±6,50	47,66±6,21	48,14±12,81	34,51±5,22						
MCO2	Sin MO	52,57±5,69	51,83±8,89	48,91±3,40	43,45±5,03	34,43±7,84						
	Con MO	52,57±5,69	43,40±7,32	44,81±3,72	48,88±12,29	32,13±3,32						

Mf: maceración en frío; MCO2: maceación con nieve carbónica; \* p<0,05; \*\* p<0,01; \*\*\* p<0,001; ns:no significativo

El índice de DMACH nos indica el grado de polimerización de los taninos, este varía de 10 a 200 en sentido inverso a la masa molecular de los taninos y por tanto a su grado de polimerización. Un grado de condensación media presenta un índice próximo a 50 (peso molecular sobre 1000) y los muy condensados entre 10 y 20 (peso molecular entre 2000 y 3000). Los taninos menos condensados presentan un peso molecular entre 500 y 700 (dímeros y trímeros). Los resultados muestran que los vinos elaborados presentan un índice en torno a 60, lo que nos indica un grado de polimerización medio. Al final del periodo de conservación los valores se sitúan en torno a 30 o 35, debido al aumento del grado de polimerización, pasando las cadenas de proantocianidinas a tener un número más elevado de monómeros. No se observan diferencias significativas al final del proceso de conservación entre técnicas ni entre tratamientos, ni para la interacción entre ellos. Otros autores confirman como el grado de polimerización se incrementa posteriormente al proceso de la microoxigenación (Tao et al., 2007; Llaudy M.C. et al., 2006). Este incremento también ha sido observado en este estudio ya que en la analítica posterior a la aplicación de acetaldehído podemos observar un grado de polimerización más bajo en los vinos microoxigenados, aunque a lo largo de proceso de conservación, se iguala con respecto a los vinos no adicionados de acetaldehído.



**FIGURA 12.** Evolución del Índice de Dmach (%) durante la conservación de los vinos y representación gráfica al cabo de 19 meses. T S/A: testigo sin acetaldehído, MF S/A: maceración en frío sin acetaldehído, MN S/A: maceración con nieve carbónica sin acetaldehído, T C/A: testigo con acetaldehído, MF C/A: maceración en frío con acetaldehído, M n C/A: maceración con nieve carbónica con acetaldehído.

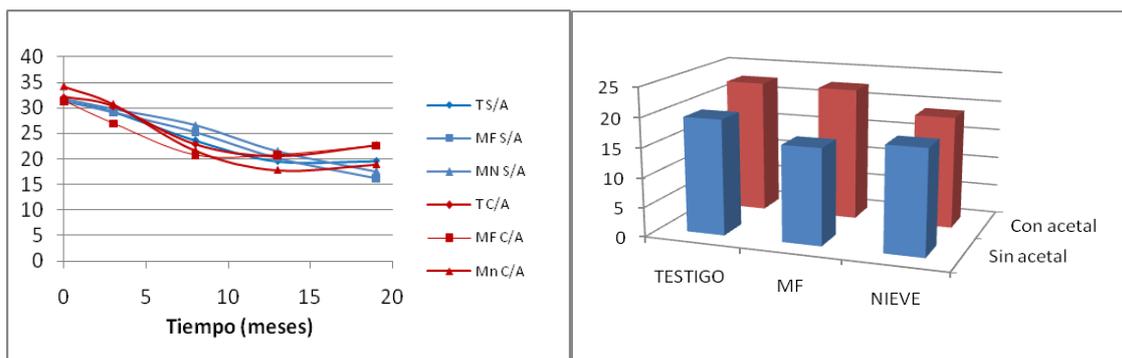
En la Tabla 13 figuran las medias, desviaciones estándar, F-ratio y nivel de significación del Índice de Etanol, en función de las técnicas de maceración utilizadas y de la aplicación o no de acetaldehído, y en la figura 13 la evolución durante la conservación y sus valores al cabo de 19 meses.

**TABLA 13.** Medias y desviación estándar del Índice de Etanol (%) después de la fermentación maloláctica, de la microoxigenación y de los 8, 13 y 19 meses de conservación, y F-ratio y nivel de significación en función de las técnicas de maceración, de la adición de acetaldehído, y la interacción entre ambas.

Técnicas	Tratamiento	Postmaloláctica	Postmicroox.	8 meses	13 meses	19 meses	Tratamiento		Técnica		Tec x Trat	
							F-ratio		F-ratio		F-ratio	
Testigo	Sin MO	31,43±5,26	29,26±2,80	23,64±7,39	19,50±4,92	19,56±4,75	3.81	ns	0.85	ns	0.59	ns
	Con MO	31,25±4,36	29,05±3,61	22,87±7,34	20,14±4,59	22,69±6,95						
Mf	Sin MO	31,72±2,59	29,78±2,44	25,19±7,90	21,55±4,29	16,22±4,99						
	Con MO	32,15±3,45	30,32±3,75	20,08±7,32	20,59±3,26	22,35±6,38						
MCO2	Sin MO	31,34±4,26	26,96±4,03	26,63±3,02	20,76±10,20	17,61±9,46						
	Con MO	34,21±4,19	30,75±3,47	21,65±5,91	17,82±6,01	18,95±5,81						

Mf: maceración en frío; MCO2: maceación con nieve carbónica; \* p<0,05; \*\* p<0,01; \*\*\* p<0,001; ns:no significativo

Podemos observar como el Índice de Etanol sufre ligeras oscilaciones en la primera fase del periodo de conservación hasta que aproximadamente a los 13 meses comienza a incrementarse. Este índice nos informa de las uniones de los taninos con sales inorgánicas, péptidos y polisacáridos, el etanol precipita con facilidad estos polimeros, que contribuyen al aumento de la textura y untuosidad de los vinos. Este aumento es paralelo al observado con la polimerización antociano-tanino y tanino-tanino, aunque un poco más tardío. No se han encontrado diferencias significativas con respecto a los factores estudiados al final del proceso de elaboración, ni tampoco con su interacción, lo que nos hace pensar en que tanto la aplicación de acetaldehído como la elaboración con maceración prefermentativa no influyen en estos fenómenos de unión de taninos con sales inorgánicas, péptidos y polisacáridos.



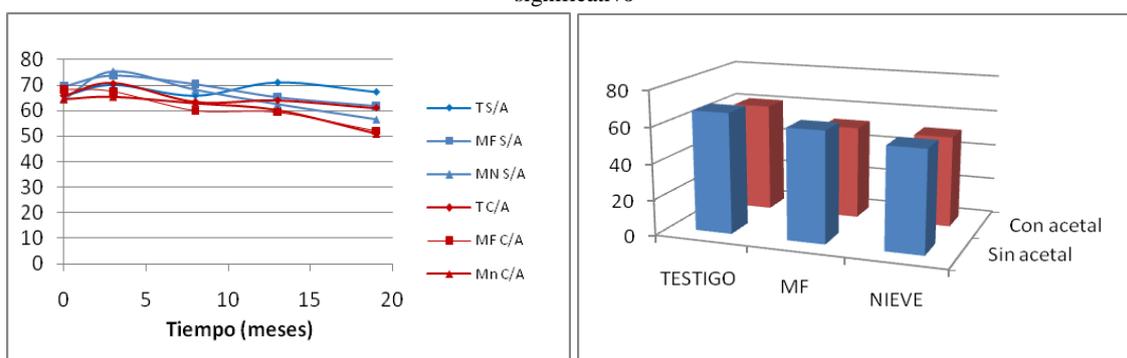
**FIGURA 13.** Evolución del Índice de Etanol (%) durante la conservación de los vinos y representación gráfica al cabo de 19 meses. T S/A: testigo sin acetaldehído, MF S/A: maceración en frío sin acetaldehído, MN S/A: maceración con nieve carbónica sin acetaldehído, T C/A: testigo con acetaldehído, MF C/A: maceración en frío con acetaldehído, MN C/A: maceración con nieve carbónica con acetaldehído.

En la Tabla 14 figuran las medias, desviaciones estándar, F-ratio y nivel de significación del Índice de Gelatina, en función de las técnicas de maceración utilizadas y de la aplicación o no de acetaldehído, y en la figura 14 la evolución durante la conservación y sus valores al cabo de 19 meses.

**TABLA 14.** Medias y desviación estándar del Índice de Gelatina (%) después de la fermentación maloláctica, de la microoxigenación y de los 8, 13 y 19 meses de conservación, y F-ratio y nivel de significación en función de las técnicas de maceración, de la adición de acetaldehído, y la interacción entre ambas.

Técnicas	Tratamiento	Postmaloláctica	Postmicroox.	8 meses	13 meses	19 meses	Tratamiento		Técnica		Tec x Trat	
							F-ratio		F-ratio		F-ratio	
Testigo	Sin MO	65,82±3,99	70,09±8,76	65,85±4,79	71,03±9,13	67,29±8,35	7.52	**	5.82	**	1.03	*
	Con MO	65,82±3,99	70,71±5,63	63,41±4,56	63,99±8,68	61,01±10,54						
Mf	Sin MO	69,56±6,09	73,80±5,48	70,40±4,07	65,29±6,86	61,81±14,66						
	Con MO	69,56±6,09	67,66±3,75	60,49±9,04	60,65±11,50	51,83±10,27						
MCO2	Sin MO	64,54±6,04	75,47±5,67	68,18±3,24	62,52±15,95	56,54±17,76						
	Con MO	64,54±6,04	65,45±5,59	62,88±7,36	60,20±9,94	50,92±14,88						

Mf: maceración en frío; MCO2: maceación con nieve carbónica; \* p<0,05; \*\* p<0,01; \*\*\* p<0,001; ns:no significativo



**FIGURA 14.** Evolución del Índice de Gelatina (%) durante la conservación de los vinos y representación gráfica al cabo de 19 meses. T S/A: testigo sin acetaldehído, MF S/A: maceración en frío sin acetaldehído, MN S/A: maceración con nieve carbónica sin acetaldehído, T C/A: testigo con acetaldehído, MF C/A: maceración en frío con acetaldehído, MN C/A: maceración con nieve carbónica con acetaldehído.

El índice de gelatina está relacionado con la astringencia de los vinos. Las reacciones de condensación de los taninos entre sí, así como las reacciones de

polimerización tanino-antociano, y taninos con polisacáridos, pectidos, etc, son las responsables de esta disminución de la astringencia. Las moléculas de taninos al polimerizarse van perdiendo reactividad, debido a que muchos de sus grupos reactivos libres quedan inactivados al estar formando parte de complejos de unión con otras moléculas y por lo tanto la capacidad de reaccionar con las proteínas de la saliva disminuye provocando un suavizamiento de los vinos.

Tal como podemos observar en los vinos elaborados, se produce una disminución de la astringencia a lo largo del periodo de conservación. Este efecto es observado también por otros autores (Moutonet et al., 1996; Castellari et al., 2000; Atanasova et al., 2002, 2003; LLaudy et al., 2006; McCord, 2003; Cano-Lopez et al., 2006; Jones P.R. et al., 2004; Zoeclein B.W. et al., 2003), siendo una de las consecuencias más importantes de la incorporación de oxígeno al vino. Al cabo de 19 meses se observan diferencias significativas al 99% tanto para el factor técnicas de vinificación como para el factor tratamiento. Para este último, la adición de acetaldehído ha provocado un aumento de la polimerización de taninos, con la consiguiente disminución de la astringencia y suavizamiento de los vinos. En cuanto a las técnicas de vinificación, la mayor extracción de compuestos polifenólicos de las partes sólidas de la uva debido al periodo de maceración prefermentativa, ha incrementado también estas uniones con la posterior pérdida de astringencia. Además los vinos macerados con nieve carbónica son los que presentan los menores valores del Índice de Gelatina, lo que nos hace pensar que el efecto de desestructuración celular causado por la nieve carbónica ha contribuido a una mayor extracción y polimerización fenólica. En cambio, no se observa interacciones entre la maceración prefermentativa y la adición de acetaldehído, con relación a la astringencia.

#### **4. CONCLUSIONES**

1. Al final de la fermentación maloláctica no se observan diferencias ni en el color ni el tono de los vinos elaborados con o sin maceración prefermentativa. Los antocianos totales decolorables, los polifenoles totales y el porcentaje de color que aportan los antocianos copigmentados presentan valores superiores en los vinos testigo no sometidos a maceración prefermentativa, en cambio, el porcentaje de color de los antocianos polimerizados, así como el Índice de PVPP son superiores en los vinos macerados prefermentativamente. La astringencia es inferior en los vinos macerados, y especialmente en los macerados con nieve carbónica.

2. La adición de acetaldehído produce un rápido incremento del color, seguido de una caída superior a la observada en los vinos no adicionados de acetaldehído. No afecta al tono pero disminuye ligeramente los polifenoles totales, los antocianos decolorables, los copigmentados y los libres, durante todo el proceso de conservación, incrementando significativamente la polimerización de los antocianos y la polimerización de los taninos entre sí, con antocianos, y con polisacáridos y pectidos. La adición de acetaldehído da lugar a vinos con una concentración polifenólica ligeramente inferior, pero más estables y suaves, con más untuosidad y menor astringencia. Esta técnica es por tanto de gran interés para la calidad organoléptica de los vinos, y podría ser recomendable para elaborar vinos de Tempranillo, independientemente del estado de madurez de la vendimia.

2. Al final del proceso de conservación prácticamente no se aprecia el efecto de las técnicas de maceración prefermentativa. Solo se observa una ligera disminución del color y de los antocianos copigmentados, y un descenso algo superior de la astringencia. El efecto combinado de maceración prefermentativa y microoxigenación produce un importante descenso de la astringencia, por lo que solo se justificaría la realización de estas técnicas conjuntamente cuando los taninos de hollejos y pepitas no estén suficientemente maduros y proporcionen elevada sensación de astringencia.

## 5. BIBLIOGRAFÍA

- Alcade-Eon, C., Escribano-Bailón, M. T., Santos-Buelga, C., & Rivas-Gonzalo, J. C. (2006). Changes in the detailed pigment composition of red wine during maturity and ageing. A comprehensive study. *Analytica Chimica Acta*, 563, 238–254.
- Alvarez I.; Aleixandre J.; García M.J.; Lizama, V. (2005b). Impact of prefermentative maceration on the phenolic and volatile compounds in the Monastrell red wines. *Analytica Chimica Acta* (en prensa).
- Amati, A., Arfelli, G., Castellari, M., & Simoni, M. (2000). Effetto dell'ossigenazione controllata sulla frazione fenolica dei vini rossi. *Industrie delle Bevande*, XXIX, 606–612.
- Atanasova, V., Fulcrand, H., Cheynier, V., & Moutounet, M. (2002). Effect of oxygenation on polyphenol changes occurring in the course of wine-making. *Analytica Chimica Acta*, 458, 15–27.
- Atanasova, V. Réactions des composés phénoliques dans les vins rouges induites par la technique de micro-oxigénation. Caractérisation de nouveaux produits de condensation des anthocyanes avec l'acétaldehyde. Deuxième Partie, Etude de l'influence de la technique de micro-oxigénation sur la composition phénolique du vin. Thèse Doctorat Science des Aliments, Ensa Montpellier, 2003, pp 83-118.
- Baranowsky E.S.; Nagel C.W. (1983). Kinetics of malvidin-3-glucoside condensation in wine model solutions. *J. FoodSci.* 38, 932-936.
- Blouin J. (1977). Manuel pratique d'analyse des moûts et des vins. Chambre d'Agriculture de la Gironde.
- Bonaga, G., Pallotta, U., & Syrghi, K. (1990). Influenza delle sostanze polifenoliche sulla qualità dei vini bianchi. *Vini d'Italia*, 32(5), 13–38.
- Bosso, A., Guaita, M., Vaudano, E., & Di-Stefano, R. (2000). Influenza dell'ossigeno sull'evoluzione dei composti fenolici durante la conservazione dei vini rossi. *Industrie delle Bevande*, XXIX, 630–640.
- Boulton R., (2001). The copigmentation of Anthocyanins and Its Role in the Color of Red Wine: A Critical Review. *Am. J. Enol. Vitic.* 52 , 67–87.
- Castellari, M., Matricardi, L., Arfelli, G., Gallassi, S., & Amati, A. (2000). Level of single bioactive phenolics in red wine as a function of the oxygen supplied during storage. *Food Chemistry*, 69, 61–67.

- Cano-López, M.; López-Roca, J. M.; Gómez-Plaza, E.; Pardo-Minguez, F. Efecto de la microoxigenación en vinos tintos con diferente contenido polifenólico. *Tecnol. Vino* 2006, *Julio-Agosto*, 45–50.
- Cano-López M.; Pardo-Minguez F.; López-Roca J.M.; Gómez-Plaza E.. Chromatic characteristics and anthocyanin profile of a micro-oxygenated red wine after oak or bottle maturation. *European Food Research Technology* (2007) 225:127–132
- Cano-López M., López-Roca J.M., Pardo-Minguez F., Gómez Plaza E. Oak barrel maturation vs. micro-oxygenation: Effect on the formation of anthocyanin-derived pigments and wine colour *Food Chemistry* 119 (2009) 191–195
- Cottrell, T. 2004. Microoxygenation. A modern tool for red wines. *Wine Business Monthly* 2:1-10.
- Elisa Sartini; Giuseppe Arfelli; Alessandra Fabiani; Andrea Piva. Influence of chips, lees and micro-oxygenation during aging on the phenolic composition of a red Sangiovese wine *Food Chemistry* 104 (2007) 1599–1604
- Ferrarini, R., Girardi, F., De-Conti, D., & Castellari, M. (2001). Esperience di applicazione della microossigenazione come técnica d’affinamento dei vini. *Industrie delle Bevande*, XXX, 116–122.
- Glories Y. (1978) *Recherches sur la matière colorante des vins rouges*. Thèse a L’Université de Bordeaux II.
- Gómez-Miguel M.; Heredia F. (2004). Effect of the maceration techniques on the relationships between anthocyanin composition and objective color of Syrah wines. *J. Agric. Food Chem.*, 52, 5117-5123.
- Jianxiong Tao; Stuart I. Dykes; and Paul A. Kilmartin. Effect of SO<sub>2</sub> Concentration on Polyphenol Development during Red Wine Micro-oxygenation *J. Agric. Food Chem.* 2007, 55, 6104-6109
- Jones P.R., Kwiatkowski M.J., Skouromounis G.K., Francis L., Lattey, E.J. Waters, I.S. Pretorius, P.B. *Aust.Wine Ind. J.* 19 (2004) 17.
- Jurd, L. (1969). Review of polyphenol condensation reactions and their possible occurrence in the aging of wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 20(3), 191–195.
- Liao H.Y. Cai E. Haslam, (1992). “Polyphenol interactions. Anthocyanins: Copigmentation and colour changes in red wines”, *J. Sci. Food. Agric.*, 1992; 59: 299-305.
- Llaudy, M.; Canals, R.; Gonzalez-Manzano, S.; Canals, J. M.; Santos-Buelga, C.; Zamora, F. Influence of micro-oxygenation treatment before oak aging on phenolic compound composition, astringency, and color of red wine. *J. Agric. Food Chem.* 2006, 54, 4246–4252.
- McCord, J. (2003). Application of toasted oak and micro-oxygenation to ageing of Cabernet Sauvignon wines. *Australian & New Zealand Grapegrower Winemaker* 43–53.
- Moutounet, M., Ducournau, P., Chassin, M., & Lemaire, T. (1996). Appareillage d’apport d’oxygène aux vins. Son intére<sup>ˆ</sup>t technologique. In A. Lonvaud-Funel

- (Ed.), *Oenologie 95. 5e symposium international d'oenologie* (pp. 411–414). Paris: Lavoisier Technique & Documentation.
- O.I.V. 1990. *Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des mouts*. Office International de la Vigne et du Vin, Paris.
- Parenti A.; Spugnoli P.; Calamai L.; Ferrari S.; Gori C. (2004). Effects of cold maceration on red wine quality from Tuscan Sangiovesi grape. *Eur. J. Food Res. Technol.*, 218: 360-366.
- Parish, M., Wollan, D., & Paul, R. (2000). Micro-oxygenation a review. *Australian Grapegrower and Winemaker*, 438, 47–50.
- Pérez-Magariño S., González-San José ML. (2004) *J Agric Food Chem* 52:1181–1189
- Pérez-Magariño S.; Sánchez-Iglesias M.; Ortega-Heras M.; González-Huerta C.;González-Sanjosé L.. Colour stabilization of red wines by microoxygenation treatment before malolactic fermentation *Food Chemistry* 101 (2007) 881–893
- Pérez-Magariño, S., & González-Sanjosé, M. L. (2002). Influencia de aportes controlados de oxígeno sobre la calidad de vinos tintos de crianza. *Viticultura-Enología Profesional*, 82, 49–54.
- Pour-Nikfardjam, M. S., & Dykes, S. I. (2003). Micro-oxygenation research at Lincoln University. Part 3: Polyphenolic analysis of Cabernet Sauvignon wine under the application of micro-oxygenation. *Australian New Zealand Grapegrower and Winemaker*, 468, 41–44.
- Reynolds A.; Cliff M.; Girard B; Kopp T. (2001). *Am. J. Enol. Vit.*, 52(3), 235-242.
- Ribéreau-Gayon P. y Stronestreet E. (1965). Le dosage des anthocyanes dans le vin rouge. *Bull. Soc. Chim.*, 9: 119-142.
- Ribéreau-Gayon P. (1974). The chemistry of red wine color. *The Chemistry of Winemaking*. A. D. Webb. Washington.
- Ribéreau-Gayon, P., Pontallier, P., & Glories, Y. (1983). Some interpretations of colour changes in young red wines during their conservation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 34, 505-516.
- Ribereau-Gayon P., Glories Y., Maujean, A., Dubourdiou D. *Handbook of enology: Volume 2. The chemistry of wine stabilization and treatments*. 2000. 404 pp.
- Santos-Buelga C.; Bravo-Haro S.; Rivas-Gonzalo J.C. (1995). Interactions between catechin and malvidine-3-monoglucoside in model solutions. *Z Lebensm. Unters.*
- Sims, C., & Morris, J. (1986). Effects of acetaldehyde and tannins on the color and chemical age of red muscadine wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 37, 163-165.
- Singleton, V. L. (1987). Oxygen with phenols and related reactions in musts, wines and model systems: observations and practical implications. *American Journal of Enology and Viticulture*, 38, 69–77.

- Singleton, V. L., & Trousdale, E. (1992). Anthocyanins–tannin interaction explaining differences in polymeric phenols between white and red wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 43(1), 63–70.
- Somers, T. C. (1971). The polymeric nature of wine pigment. *Phytochemistry*, 10(9), 2175–2186.
- Sun B.S., Leandro C., Ricardo-Da Silva J.M., 1998. Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *J. Agric. Food Chem.*, 46: 4267-4274.
- Timberlake C.F., Bridle P., *Am. J. Enol. Vitic.* 27 (1976) 97.
- Vivas, and N. Glories, Y Role of oak wood ellagitannins in the oxidation process of red wines during aging. *American journal of enology and viticulture*. 1996. v. 47 (1) p.103-107.
- Vivas, N., and Y. Glories. 1995. Racking of red wine matured in barrels. A tentative classification of racking techniques. *Aust. N.Z. Wine Ind. J.* 10:241-243.
- Vivas, N.; Glories, Y.; Lagune, L.; Saucier, C.; Augustin, M. Estimation du degré de polymérisation des procyanidines du raisin et du vin par la méthode au *p*-diméthylaminocinnamaldéhyde. *J. Sci. Vigne Vin* 1994, 28, 319-336.
- Vivar-Quintana, A., Santos-Buelga, C., & Rivas-Gonzalo, J. C. (2002). Anthocyanin-derived pigments and colour of red wines. *Analytica Chimica Acta*, 458, 147–155.
- Zoecklein B.W., Carey R., Sullivan P., *Wine East* 31 (2003) 28.