



**UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA
ESCUELA SUPERIOR DE INGENIERÍA AGRONÓMICA Y DEL MEDIO NATURAL
MÁSTER UNIVERSITARIO EN ENOLOGÍA**

**Mejora del proceso de elaboración de vinos de Bobal
mediante alternativas a la vinificación tradicional y a la
crianza en barricas**

EDUARDO VILUGRÓN ARAYA

DIRECTORAS:

**Dra. M^ª INMACULADA ÁLVAREZ CANO
VICTORIA LIZAMA ABAD
M^ª JOSÉ GARCÍA ESPARZA**

**VALENCIA, ESPAÑA
Julio de 2018**

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo es no tan solo resultado de los objetivos que he ido cumpliendo a lo largo de mi vida académica, sino que es el resultado que obtenido gracias a todas las personas que siempre han estado apoyándome, creyendo, confiando en mí y mis capacidades; Es innegable la alegría y satisfacción que siento al pensar en aquellas personas, además, de la eterna gratitud que les guardaré por estar siempre y desinteresadamente presentes en mi vida.

Por supuesto, a mi familia; Mi madre, la persona más importante en mi vida, quien se ha dedicado a estar en cada paso importante, apoyándome incluso aún desde la distancia, sin nunca escatimar en esfuerzos para ayudarme. A mi padre, por creer en mi determinación aún sin muchas veces comprenderla y quizá hasta estando en desacuerdo. A a mi hermano, que a pesar de ser mellizos no tan cercanos, siempre nos hemos empujado a tratar de ser mejores cada día.

A mis amigos; Pauli, no hace mucha falta que te diga cuanto te quiero amiga, fuiste la primera en la universidad, prácticamente la agronomía la hicimos juntos y fuiste tú quien me impulsó a hacer el intercambio en España (algo que pensaba que me sería imposible). Bárbara, tantas historias amiga, una de las personas que me conoce como nadie en el mundo, me alegra mucho que además de todo compartamos el gusto por la enología, gracias por compartir tanto e impulsarme a ser cada día mejor persona y profesional. Nicole (*Colore*), mi amiga *random*, literalmente el primer regalo dentro de mi viaje de intercambio, fuiste la mejor compañera de piso y gracias a ti nunca me sentí solo durante el viaje, me encantaban las cosas locas que nos pasaban y como siempre logramos sacar algo bueno de todo. Y a Mateu y Sergio, mis *xiquets* del máster, como el agua y el aceite, fuisteis mis mejores *partners* y tengo un montón de buenos momentos juntos, gracias por ello y espero encontraros de nuevo en alguna vendimia por el mundo.

A mis profesores. Carla Jara, Álvaro Peña y Elías Obreque por encantarme con la enología y, sobre todo, por creer que tengo las cualidades suficientes para poder convertirme en enólogo. Al Sr. Decano de la Facultad de Agronomía, Dr. Roberto Neira, por su fundamental ayuda en la gestión de mi intercambio a España.

A Inma, Vicky y Ma José. Por ser mis madres durante mi tiempo por Valencia, por estar (sin ninguna necesidad), siempre al pendiente de mí y por compartir tantas cosas conmigo, no solo a nivel académico, sino que también a nivel personal; Mama Inma, en especial quiero agradecerle por estar ciegamente apoyándome, incluso antes de mi llegada a España, has sido quien más me ha ayudado hasta el día de hoy con el máster y en todo lo que ha hecho falta, sin duda Inma, me has dado todo e incluso más de lo que has podido.

A Amparín, Vicente, Ana, Fran y todo el Pago de Tharsys, por ser mi primera (y mejor) experiencia en bodega, mil gracias por todo lo que me entregaron, guardo excelentes recuerdos tanto de ustedes como de la bodega y cada vez que comienzo una nueva vendimia me recuerdo de vosotros como los mejores.

A todas esas personas especiales que he conocido dentro de mis viajes, Peka, Nežinha, Špelita, Vale, Felipe, Moraima, Jackson, Thea, Annabelle y Nati Fabrizzi. Por ser como son, cada uno marcó la diferencia en los lugares dónde nos conocimos y siempre os recuerdo con mucho cariño.

...Finally, to my American family, the Kings. I love you guys, thank you for accepting me like one more of your family, your love and support. I'll always be your chilean son!

¡De corazón, muchas gracias a todos!

RESUMEN

En este trabajo se pretende optimizar la elaboración de vinos de Bobal procedentes de uvas de media y alta producción estableciendo si existen diferencias en los vinos elaborados por el método tradicional con remontados diarios y con temperatura controlada 25-28 °C y mediante un método alternativo en el que se realiza sangrado del 50% del mosto, que se mantendrá a 16°C y el resto de la pasta se dejará fermentando sin control térmico hasta los 34°C. Por otro lado, estos vinos se han sometido a un proceso de conservación alternativo a la barrica mediante adición de madera de roble en forma chips, cubos y duelas, en botella cerrada y en botellas microoxigenadas mediante adición de acetaldehído. Los resultados muestran que los vinos elaborados por el método tradicional tienen una mayor concentración de polifenoles junto a un mayor grado de polimerización de estos. Los vinos sometidos al tratamiento especiado en cualquiera de sus formatos mostraron un incremento en el contenido polifenólico respecto al testigo, aunque en términos de polimerización de polifenoles no hubo efecto de los tratamientos. Los vinos tratados con cualquiera de los formatos de madera utilizados en el estudio presentaron solamente incrementos de polifenoles asociados al color. Los vinos envejecidos con microoxigenación tuvieron un aumento de sus propiedades cromáticas, a pesar de que no se observó un aumento de la concentración polifenólica, se observó un cambio positivo en términos de taninos condensados y fijación del color favorecida por una mayor cantidad de uniones tanino-antociano.

Palabras clave: Bobal, maceración, sangrado, alternativas, microoxigenación.

ABSTRACT

The objective of this work was the improvement of the winemaking process on Bobal wines coming from vineyards with medium-high yield, setting differences between wines made by traditional method with daily pump overs and controlled temperature between 25-28 °C; and an alternative method doing saignée of 50% of the juice, to maintain it at 16°C, meanwhile the other portion will ferment with no temperature control till 34°C. In other hand, the wines were brought under an alternative aging process from the oak barrel, using oak wood pieces with different forms like chips, cubes, and staves, in fully closed bottles and bottles with microoxygenation applied using acetaldehyde. The results shown that the wines made it by traditional method have higher polyphenolic concentration and a higher polymerization degree. The wines brought under Spiced treatment in with any wood shape shown a higher polyphenolic concentration regarding the witness, although any of that treatments were not capable to make an effect on the polyphenolic polymerization. The wines brought under any wood shape used on this work shown only increase of polyphenolic compounds related to wine color. The wines aged under microoxygenation shown an increase on their chromatic properties, and although it did not show an increase of polyphenolic concentration, a positive change was observed in terms of condensed tannins and color settle of the wines stimulated by an increase between tannin-anthocyanine unions.

Key words: Bobal, maceration, saignée, alternatives, microoxygenation.

CONTENIDOS

1	INTRODUCCIÓN	1
1.1	CARACTERIZACIÓN DEL CULTIVAR.....	1
1.1.1	<i>Descripción Ampelográfica</i>	2
1.2	INFLUENCIA DE LA UTILIZACIÓN DE DIFERENTES RECIPIENTES EN LA FERMENTACIÓN.....	2
1.3	INFLUENCIA DE LA UTILIZACIÓN DE DIFERENTES RECIPIENTES EN LA CRIANZA	4
1.4	ENVEJECIMIENTO TRADICIONAL.....	5
1.5	NUEVAS TECNOLOGÍAS DE ENVEJECIMIENTO	5
2	JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO Y OBJETIVOS	7
2.1	OBJETIVOS	7
2.1.1.	<i>Objetivo General</i>	7
2.1.2.	<i>Objetivos Específicos</i>	7
3	MATERIAL Y MÉTODOS	8
3.1	MATERIALES	8
3.1.1	<i>Materia Prima</i>	8
3.2	MÉTODOS	8
3.2.1	<i>Elaboración de los vinos:</i>	8
3.2.2	<i>Determinaciones analíticas</i>	9
3.2.3	<i>Determinación de Polifenoles</i>	9
	Intensidad Colorante (IC) y Tonalidad (T) (Glories, 1978)	9
	Índice de Polifenoles Totales (IPT) (Ribéreau-Gayon, 1974)	10
	Determinación simplificada de Antocianos totales (J Blouin, 1992)	10
	Taninos Condensados Totales (Ribéreau-Gayón, 1972).....	10
	Antocianos Totales Decolorables (Ribéreau-Gayón, 1972)	11
	Índice de Etanol (Glories, 1984b, 1984a)	11
	Índice de Polimerización de Procianidinas Mediante Espectrofotometría (DMACH) (Nagel, C. W.; Glories, 1991; Vivas, Glories, Lagune, Cédric, & Augustin, 1994)	12
	Índice de Polivinilpirrolidona (PVPP) (Jacques Blouin, 1972)	12
3.2.4	<i>Antocianos Pormenorizados</i>	13
3.2.5	<i>Análisis sensorial de los vinos</i>	13
3.2.6	<i>Tratamiento estadístico</i>	13
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	14
4.1.	DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN DE LA UVA PARA VINIFICACIÓN	14
4.2.	COMPOSICIÓN DE LOS VINOS ELABORADOS.....	15
4.3.	ANÁLISIS SENSORIAL DE LOS VINOS DESPUÉS DE LA FERMENTACIÓN	18
4.4.	CONSERVACIÓN DE LOS VINOS MEDIANTE ALTERNATIVAS A LA BARRICA	18
5	CONCLUSIONES	28
6	BIBLIOGRAFÍA	29
7	ANEXOS	36
7.1	DOSIFICACIÓN DE MICROOXIGENACIÓN	36

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

		Página
Tabla 1	Media, desviación estándar y tratamiento estadístico para el peso del racimo, número de uvas, peso medio de la uva, grado Brix y grado probable de las uvas que fueron a cada depósito	14
Tabla 2	Media, desviación estándar y tratamiento estadístico para el peso del racimo, número de uvas, peso medio de la uva, grado Brix y grado probable de la uva para cada tipo de vinificación.	14
Tabla 3	Concentración de antocianos total y extraíbles en las uvas el día de la vendimia.	15
Tabla 4	Valores medios de la concentración de polifenoles de las uvas el día de la vendimia.	15
Tabla 5	Composición convencional y polifenólica de los vinos	16
Tabla 6	Concentración de antocianos pormenorizados ligados a azúcares (mg/L)	16
Tabla 7	Concentración de compuestos aromáticos (μ /L) en los vinos después de fermentación.	17
Tabla 8	Valores medios y desviaciones estándar de los parámetros relacionados con el color.	19
Tabla 9	Valores medios y desviaciones estándar de los parámetros relacionados con los polifenoles.	20
Tabla 10	Valores medios y desviaciones estándar de los parámetros relacionados con la calidad de los taninos.	21
Tabla 11	Valores medios de los parámetros relacionados con el color en función de la técnica de maceración.	22
Tabla 12	Valores medios de los parámetros polifenólicos en función de la técnica de maceración.	22
Tabla 13	Valores medios de los parámetros polifenólicos en función de la técnica de maceración.	23
Tabla 14	Valores medios de los parámetros relacionados con el color en función de las características de la madera.	23
Tabla 15	Valores medios de los parámetros polifenólicos en función de las características de la madera.	24

Tabla 16	Valores medios de los parámetros polifenólicos en función de las características de la madera.	24
Tabla 17	Valores medios de los parámetros relacionados con el color en función del formato de madera utilizado.	25
Tabla 18	Valores medios de los parámetros polifenólicos en función del formato de madera utilizado.	25
Tabla 19	Valores medios de los parámetros polifenólicos en función del formato de madera utilizado.	26
Tabla 20	Valores medios de los parámetros relacionados con el color en función a la aplicación de microoxigenación.	26
Tabla 21	Valores medios de los parámetros polifenólicos en función a la aplicación de microoxigenación.	26
Tabla 22	Valores medios de los parámetros polifenólicos en función a la aplicación de microoxigenación.	27

1 INTRODUCCIÓN

La Bobal (*Vitis vinifera L. cv Bobal*) es un cultivar español autóctono, cultivado principalmente en la comarca de Valencia, de la cual se piensa es originaria; De manera precisa, abarcando un 72% de la superficie total de viñedo inscrito, se concentra en el municipio ubicado en la zona más occidental de la provincia llamado Requena; De ahí algunas de las sinonimias de esta variedad como Tinta de Requena, Requení y Requena. Es una variedad utilizada exclusivamente para la vinificación, muy austera, resistente a la sequía y de alto vigor, con bayas de color muy intenso, tamaño medio, redondas y zumosas que se caracterizan por obtener altos rendimientos (DO Utiel-Requena, 2016; García-Carpintero, Sánchez-Palomo, & González-Viñas, 2011; Giner Gonzálbez, 2016; Gómez Pérez, 2015; Sánchez Diana, 2008).

De acuerdo con Giner Gonzálbez, 2016 y Gómez Pérez, 2015 los vinos rosados elaborados a partir de esta variedad son de excelente calidad, tanto aromática como gustativa, con tonos predominantemente del orden de los violáceos, pálidos y brillantes; Actualmente los vinos tintos son cada vez de mayor calidad, predominando la elaboración de vinos jóvenes por sobre los de crianza, los primeros ser caracterizan por tener intensos tonos cereza oscuro, de ribetes granates o violáceos; Gran complejidad aromática, resaltando la fruta fresca como la mora y grosella con matices ligeramente herbáceos; Finalmente en boca se aprecia su frutocidad, una acidez robusta que exagera la percepción de taninos rústicos, los cuales bien trabajados derivan en vinos elegantes y fáciles de beber.

Desafortunadamente la gran dependencia climática de esta variedad para su maduración polifenólica, propone un desafío a la hora de conseguir homogeneidad en la calidad de la producción de las añadas; Sumado a esto, La superficie plantada de esta variedad encuentra principalmente en propiedad de cooperativas agrarias, trayendo consigo, que muchas veces por motivos financieros y de logística, las prácticas agrícolas, fechas de vendimia y selección de la materia prima durante la recepción en la bodega sean poco viables en este sistema de producción; Si bien es cierto, esta variedad presenta una muy buena aptitud para el envejecimiento de sus vinos, es necesario el estudio de técnicas enológicas que permitan sopesar esta desventaja y si es posible maximizar lo más posible calidad final del producto (Beltrán Roca, 2017; Fayos Gardó & Calderón García, 2013; Gómez Pérez, 2015; López García, 2016; Madero y Madero, 2016; Nieto Domínguez, 2015).

1.1 CARACTERIZACIÓN DEL CULTIVAR

La Bobal es la segunda variedad tinta más plantada en España. Considerada como autóctona de la zona de Requena, lugar dónde su predominio es casi absoluto, llegando a representar más de un 90% de la superficie cultivada, la cual actualmente gracias a los incentivos de la Unión Europea (U.E) para el arranque de viñedo y la prohibición de mezclas entre vinos blancos y tintos ha reducido a un 72% de la superficie de la zona; Por ende, es la variedad por excelencia de la denominación de origen (D.O) que abarca esa zona (Utiel-Requena), aunque también se encuentra autorizada (con presencia minoritaria) en las DD.OO Alicante y Cariñena (DO Utiel-Requena, 2016; López García, 2016; Muñoz Moreno, 2009).

La D.O Utiel-Requena ha trabajado muy duro para reinventar el concepto de vinos de Bobal, pasando de ser un vino de tipo granel, utilizada para colorear vinos, a ser el vino insigne de muchas bodegas. Esto debido a que el potencial que de esta variedad es muy grande y al compromiso de las bodegas con la D.O por conseguir vinos con cada vez mayor calidad (DO Utiel-Requena, 2016; Muñoz Moreno, 2009).

1.1.1 Descripción Ampelográfica

La Bobal es una variedad de alto vigor, que según lo descrito por López Peidro, (2014), se caracteriza por poseer un peso por racimo mayor al promedio de otras variedades, derivando en producciones de 4.5-5 kg/planta. Prefiere los suelos frescos y profundos, posee gran resistencia a la sequía gracias a su fuerte y robusta raíz, capaz de profundizar mucho en el suelo en su búsqueda de agua y nutrientes; A su vez, es una variedad que brota un poco más tarde afectando, positivamente, en un menor riesgo de heladas primaverales (Vivai Cooperativi Rauscedo (VCR), 2013). De porte semi-erguido y horizontal posee una gran plasticidad para su sistema de formación y poda, que de acuerdo con Gómez Pérez, 2015 y Buesa Pueyo *et al.*, 2016, la poda predilectamente debe ser larga debido a su baja fertilidad basal. Los racimos de esta variedad, así como sus bayas, son de tamaño mediano, muy compactos, irregulares de un color negro intenso, pedúnculo corto y muy lignificado, hollejo grueso y consistente, pulpa blanca, blanda y jugosa (Gómez Pérez, 2015; López García, 2016; López Peidro, 2014; Vivai Cooperativi Rauscedo (VCR), 2013).

1.2 INFLUENCIA DE LA UTILIZACIÓN DE DIFERENTES RECIPIENTES EN LA FERMENTACIÓN

Así como durante el envejecimiento, durante la fermentación alcohólica (FA) el recipiente utilizado para el desarrollo de ésta es fundamental. cada recipiente posee propiedades específicas que determinan las propiedades organolépticas de los vinos (A. Gambuti *et al.*, 2017; Laurie, Salazar, Campos, Caceres-Mella, & Pena-Neira, 2014); Esto producido a causa de su influencia en la cinética de fermentación, fijación del color, desarrollo del perfil aromático, grado de polimerización de polifenoles, entre otros (Durner, Nickolaus, Weber, Trieu, & Fischer, 2015; A. Gambuti *et al.*, 2017; Angelita Gambuti, Rinaldi, Ugliano, & Moio, 2013; Han, Webb, Richter, Parsons, & Waterhouse, 2017; Laurie *et al.*, 2014; Picariello, Gambuti, Picariello, & Moio, 2017). El principio bajo el cual se utilizan diferentes materiales para estas operaciones es su permeabilidad al oxígeno. El oxígeno ha sido extensamente estudiado a causa de su rol crucial durante la vinificación y envejecimiento de los vinos, su importancia radica en que éste es capaz de producir efectos benéficos como perjudiciales, todo esto, de acuerdo con la cantidad a la que se encuentre expuesto el producto. Un exceso de éste produce un daño en el vino que va desde la producción de malos olores hasta su deterioro por microorganismos indeseables (Cerdeira-Drago, Agosin, & Pérez-Correa, 2016; Laurie *et al.*, 2014). Sin embargo, los investigadores se encuentran de acuerdo con que una oxigenación controlada es requerida para el correcto desarrollo de la FA y posteriormente para su envejecimiento (Cerdeira-Drago *et al.*, 2016; Durner *et al.*, 2015; A. Gambuti *et al.*, 2017; Angelita Gambuti *et al.*, 2013; Han *et al.*, 2017; Laurie *et al.*, 2014; Picariello *et al.*, 2017).

Los materiales comúnmente utilizados para la elaboración de fermentadores son: Acero Inoxidable, Hormigón y Madera, aunque también es posible encontrar recipientes de Cerámica, Arcilla, Ges, entre otros (Nevares & del Alamo-Sanza, 2018). El Acero Inoxidable es el material por excelencia para la elaboración de recipientes de fermentación y, en general, de materiales para la industria alimentaria (Alar, Runje, Ivušić, Horvatić, & Mihaljević, 2016; Gabriel, Ballesteros, Rosario, Tumlos, & Ramos, 2018; Williams, Kellar, Jesson, & Watts, 2017); Dentro de sus propiedades más destacables se encuentran su nula interacción con el producto, por lo cual, este material no transfiere sabores ni aromas que pudiesen cambiar directamente el perfil aromático o sensorial del vino, asimismo, tampoco produce pérdidas de agua y/o etanol que hagan necesario operaciones de rellenado (Alar *et al.*, 2016; Nevares & del Alamo-Sanza, 2018). Por otra parte, posee gran versatilidad para elaboración de recipientes con diversos tamaños y formas de acuerdo con las necesidades enológicas. Son recipientes muy fáciles de limpiar y sanitizar, que además, son capaces de proveer gran hermeticidad para la conservación, disminuyendo el riesgo de contaminación microbiológica del vino (Alar *et al.*, 2016; Nevares & del Alamo-Sanza, 2018; Stoica, 2018); A su vez, el acero inoxidable posee una gran resistencia a la oxidación y es un excelente conductor térmico, lo que permite, mediante diversos mecanismos, el rápido control de la temperatura durante la fermentación (Agencia Estatal Consejo

Superior de Investigaciones Científicas (CSIC-CNM), 2013; Reddy *et al.*, 2014; Xiong *et al.*, 2018; Yang & Busby, 2014); Finalmente, gracias a la versatilidad de sus propiedades, se ha desarrollado mucha tecnología en torno a este tipo de recipientes, llegando a obtener recipientes capaces de ser controlados completamente mediante el uso de ordenadores, automatizando el proceso de FA y controlando tanto los parámetros de procesamiento del mosto como la información de la variación de los atributos asociados a calidad del mosto durante fermentación (Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC-CNM), 2013; Toledo, Ruiz-Díez, Pfusterschmied, Schmid, & Sánchez-Rojas, 2018).

El segundo material más utilizado para la construcción de fermentadores es el Hormigón (Nevares & del Alamo-Sanza, 2018). Este material, a diferencia del acero inoxidable, es capaz de proveer una microoxigenación al mosto durante la FA, que influiría positivamente al desarrollo de esta (Nevares & del Alamo-Sanza, 2018; Neves *et al.*, 2015; Salvoldi, Beushausen, & Alexander, 2015). Sin embargo, es bastante reactivo al vino, siendo común su transferencia de elementos como el hierro y calcio, los que además de afectar el pH, en presencia de SO₂ y un medio ácido, provocan una inestabilidad fisicoquímica en el vino. Por otra parte, el material es capaz de transferir olores del tipo terroso al vino, a causa de la presencia de arcilla en la mezcla (Delso Martínez, 2014; Liebermann, Roos, & Stawarczyk, 2017; Martínez-Ramirez, Zamarad, Thompson, & Moore, 2002; Münchow *et al.*, 2014; Ramakrishnan, Wu, Moon, & Orlov, 2017), es por eso que los fermentadores fabricados a partir de este material suelen ir revestidos de una cubierta inerte. Dentro de los materiales para el revestimiento de tanques de fermentación las que más destacan son las resinas epoxi del tipo alimentarias y las cubiertas de tartrato de calcio (debido a su insolubilidad en el vino) (Choi, Maul, Stewart, Hamilton, & P. Douglas, 2013; Delso Martínez, 2014; Peidró Montaner, 2016). Las resinas de epoxi alimentario fueron introducidas alrededor de los años setenta y tienen la ventaja de ser muy resistentes a los golpes, así como a los productos para limpieza y sanitización (Pascual Insa, 2016). Dentro de las propiedades de este tipo de fermentadores destacan su gran inercia térmica, es decir, este material presenta una alta resistencia ya sea a su calentamiento o enfriamiento debido principalmente al grosor de sus paredes, y gracias a esta propiedad, este tipo de fermentadores facilitan la fermentación maloláctica y la mantención de la temperatura durante el almacenamiento de los vinos. Por otra parte, a causa de esta inercia térmica, durante el desarrollo de la FA es necesario la utilización de un sistema de refrigeración en el interior, de manera que la temperatura pueda ser controlada (Delso Martínez, 2014; Li, Jones, Thorpe, & Davis, 2016; Peidró Montaner, 2016; Y. Sun *et al.*, 2017; Tademir, Sengul, & Tademir, 2017; Wei, Zhao, Zhang, Nie, & Hao, 2018; Zhang, Min, Gu, Xi, & Xing, 2015). Asimismo, es necesario destacar que el hormigón a diferencia del acero inoxidable, es incapaz de interactuar con el vino a nivel electromagnético, por lo que procesos como la clarificación y estabilización del vino se ven favorecidos, disminuyendo la cantidad de ácido tartárico a precipitar (Mierczynska-Vasilev & Smith, 2015; Monteagudo Robles, 2013). Finalmente, a nivel organoléptico este tipo de fermentadores, según lo estudiado por (Peidró Montaner, 2016), contribuyen positivamente a la concentración de antocianos y polifenoles, causando un incremento en el color y una menor disminución de éste durante la FA; Sin embargo, afectan significativamente la concentración aromática respecto a los fermentadores de acero inoxidable.

Los recipientes de madera han sido utilizados para la fermentación de los vinos desde el siglo XX, con la idea de potenciar el aporte de CF de la madera desde las primeras etapas de la fermentación con el objetivo de dar mayor complejidad al producto final (Nevares & del Alamo-Sanza, 2018); Éstos fermentadores, en la actualidad, se encuentran operacionales en pocos sitios, debido a sus altos costos y a la dificultad que presentan a la hora de su sanitización (Aguilar Solis, Gadoury, & Worobo, 2016; Costantini *et al.*, 2016). Según diversos investigadores, utilizar este tipo de fermentadores presenta diversas ventajas, las cuales, con el paso de los años acaban por reducirse solo al aporte de una microoxigenación durante la FA; Esto porque de igual manera como sucede durante el envejecimiento en barricas, luego de varias temporadas de uso el aporte en CF por parte de estos recipientes es prácticamente nulo (Costantini *et al.*, 2016). Por otra parte, la dificultad para disipar el calor por parte de la madera hace necesaria la instalación de sistemas de enfriamiento al interior de los recipientes, así como también, de salas debidamente acondicionadas, de modo

que la temperatura pueda ser controlada tanto al interior como al exterior de los barriles, evitando que durante el año, cuando los recipientes se encuentran vacíos y sin utilizar, tiendan a researse produciendo que las duelas se encojan y deban ser rehidratadas para su utilización al año siguiente; permitiendo así, sortear dicho proceso, largo y engorroso, ahorrando el empleo de una gran cantidad de agua y tiempo para su realización (Tonnellerie Radoux, 2008).

1.3 INFLUENCIA DE LA UTILIZACIÓN DE DIFERENTES RECIPIENTES EN LA CRIANZA

El envejecimiento del vino es un aspecto importante porque contribuye a incrementar la calidad y complejidad de los vinos; es, además, un proceso característico del vino y de algunos productos destilados. que permite distinguirlos de cualquier otra bebida, por ello, es fundamental pensar el tipo de recipiente a utilizar, debido a que este será determinante tanto en las características organolépticas finales del producto, como en su comportamiento durante el envejecimiento.

La importancia de este proceso era ya conocido en la antigüedad de Grecia y la época romana, dónde para afamados vinos como el Falerno o Sorrentino eran necesarios 15-20 años de envejecimiento en jarras de barro o ánforas para ser considerados de gran calidad (Antonaros, 2000; Darriet & Pons, 2017; Dumitriu, López de Lerma, Zamfir, Cotea, & Peinado, 2017). El objetivo de este proceso básicamente busca mejorar las características organolépticas (estructura, astringencia y persistencia) del vino mediante la guarda de éste en recipientes que le permitan madurar, de modo que se produzca una mezcla compleja de nuevos aromas y sabores que se complementen con los preexistentes en el vino.

Para realizar este proceso, el material por excelencia es la madera de roble (*Quercus sp.*), siendo la única utilizada para la elaboración de vinos de calidad. La principal causa del envejecimiento en bodega de roble es la extracción de compuestos aromáticos de la madera, los cuales, al combinarse con los aromas intrínsecos del vino a envejecer contribuyen significativamente al enriquecimiento y complejidad del *Bouquet* y su sabor (Darriet & Pons, 2017). Por otra parte, el segundo motivo por el cual se utiliza es por la microoxigenación que provee al vino durante la crianza (A. Gambuti *et al.*, 2017; González-Neves, Gil, Favre, & Piccardo, 2014; Hatice Kalkan & Dündar, 2017; Picariello *et al.*, 2017; Quaglieri, Jourdes, Waffo-Teguo, & Teissedre, 2017); La microoxigenación es fundamental en la fijación del color, proporcionando incrementos importantes de este en el vino, además de mejorar las características sensoriales de los vinos; el oxígeno es capaz de oxidar el etanol, haciendo que éste sirva como puente para la polimerización de las proantocianidinas del vino, permitiéndoles formar polímeros y nuevos pigmentos de mayor peso molecular. En tercer lugar, se encuentra el aporte de elagitaninos de la madera, los cuales en conjunto con la microoxigenación favorecen las interacciones tanino-antociano y tanino-tanino, derivando en una disminución de la astringencia del vino; Por otra parte, estos taninos son capaces de contribuir a la fijación del color, formación de copigmentos y nuevos compuestos que mejoren las características organolépticas del vino (Baca-Bocanegra, Nogales-Bueno, Heredia, & Hernández-Hierro, 2018; Hernández-Orte *et al.*, 2014; Oberholster *et al.*, 2015).

Los recipientes de acero inoxidable y hormigón revestido con resina epoxy (Choi *et al.*, 2013; Delso Martínez, 2014; Peidró Montaner, 2016), al ser inertes no son capaces de aportar oxígeno al vino, por lo que usualmente no son muy utilizados para el envejecimiento, sino más bien para el almacenamiento de vinos que van a salir al mercado. Como ventajas para ello se tiene que recipientes acero pueden controlar fácilmente la temperatura, a diferencia de los de hormigón que poseen gran inercia térmica (Delso Martínez, 2014; Li *et al.*, 2016; Peidró Montaner, 2016; Y. Sun *et al.*, 2017; Tasdemir *et al.*, 2017; Wei *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2015), así como también, pueden ser cerrados herméticamente de manera que, si el tanque se encuentra lleno, el oxígeno disuelto en el vino puede llegar a valores muy bajos, reduciendo riesgo de contaminaciones microbiológicas y oxidaciones. Por tanto, este tipo de recipientes no es apto para el envejecimiento porque no son capaces de realizar aportes ni favorecer la evolución de los vinos (Agencia

Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC-CNM), 2013; Reddy *et al.*, 2014; Xiong *et al.*, 2018; Yang & Busby, 2014).

1.4 ENVEJECIMIENTO TRADICIONAL

El envejecimiento o crianza de los vinos es un proceso que mediante el uso de tecnologías y técnicas enológicas busca incrementar las características organolépticas de éste; El aumento de dichas características, al ser propiedades intrínsecas del producto, son asociadas a un aumento en la calidad éste (Prosser-Snelling & Morris, 2017; Real Academia Española (RAE), 2017; X. Sun *et al.*, 2016). El envejecimiento, es un proceso indispensable a la hora de producir vinos de alta calidad, tradicionalmente es llevado a cabo utilizando barricas de roble. El uso de barricas propicia cambios en el color, estructura y principalmente en el aroma, a partir de las reacciones de los compuestos fenólicos (CF) del vino con los CF extraídos desde la madera, ayudando a disminuir la astringencia, aumentar la complejidad aromática y fijar el color, lo que se traduce en un incremento de la estabilidad y complejidad general del vino (Gortzi, Metaxa, Mantanis, & Lalas, 2013; Morais *et al.*, 2018; Navarro *et al.*, 2017; Pizarro, Rodríguez-Tecedor, Esteban-Díez, Pérez-Del-Notario, & González-Sáiz, 2014). Las principales especies de roble utilizadas para este proceso son: *Quercus alba* (*Q. alba*) proveniente de Norte América, *Q. robur* (también conocido como *Q. pedunculata*) y *Q. Sessilis* (también conocido como *Q. pêtreta* o *Q. sessiliflora*) provenientes de Francia (Tao, García, & Sun, 2014).

1.5 NUEVAS TECNOLOGÍAS DE ENVEJECIMIENTO

La utilización de toneles o barricas de madera para el almacenado del vino se ha conocido desde alrededor del año 51 a.c; Tradicionalmente, éste era el envase utilizado tanto para el transporte, como para el almacenamiento de vino, en lugares como Grecia, Galia e Hispania, durante la época romana, debido a la gran abundancia de esta madera en los lugares de producción de vino (Nevares & del Alamo-Sanza, 2018).

Sin embargo, el envejecimiento de los vinos mediante la utilización de barricas presenta una serie de inconvenientes que deben ser considerados al momento de utilizar esta tecnología para la crianza. El tiempo del que debe disponerse, es uno de los primero puntos críticos a considerar, puesto que éste al ser extenso transforman el vino en activos inmovilizados dentro de la bodega; Los cuales, con el paso del tiempo inevitablemente, ya sea por fenómenos de evaporación, fugas o simplemente por absorción de la madera, provocan pérdidas del producto (Hatice Kalkan & Dündar, 2017). Además, durante ese tiempo, el vino se encuentra expuesto al riesgo de colonización por microorganismos que deterioren sus propiedades organolépticas como *Brettanomyces/Dekkera*, *Acetobacter sp.*, entre otros (Berbegal *et al.*, 2018; Ciani & Comitini, 2014; Costantini *et al.*, 2016; Fras, Campos, Hogg, & Couto, 2014; Hommel, 2014; Malfeito-Ferreira, 2014; Smith & Divol, 2016). Por otra parte, la amortización de dichas barricas, a pesar de estar determinada por el enólogo, generalmente es bastante baja debido al gran desgaste producido por la cesión de compuestos fenólicos a los sucesivos vinos y a su dificultad de sanitización (Costantini *et al.*, 2016). Asimismo, la sanitización de los barriles, es de gran importancia para los procesos de crianza y conservación del vino; Es necesario destacar que ésta, es la mayor acelerante para la renovación del parque de barricas, porque a pesar de las nuevas tecnologías, no existe un método de sanitización que pueda garantizar completamente la eliminación de microorganismos dentro de la barrica sin deteriorarla ni dejar residuos perjudiciales para el próximo vino envejecer (Aguilar Solis *et al.*, 2016; Costantini *et al.*, 2016). Finalmente, para trabajar con este modelo de crianza, se debe disponer de una gran inversión inicial, espacio, infraestructura y personal calificado necesario para el trabajo con los barriles (González Quiroga, 2015).

Debido a las mencionadas desventajas que presenta el uso de barricas de roble, se han investigado nuevas tecnologías que permitan principalmente disminuir el tiempo y costo del envejecimiento. Algunas de estas tecnologías involucran la crianza con trozos de madera, microoxigenación (MOx), crianza sobre lías o aplicación de algunos tratamientos físicos; La utilización de trozos de madera (chips), especialmente los provenientes de madera de roble, es una práctica cada vez más común, con la cual se puede enriquecer el vino con sabores y aromas similares a los obtenidos del envejecimiento en barricas de roble (BR); No obstante, se debe tener en consideración que en la utilización de chips de roble, en tanques de acero inoxidable, no logra proporcionar la MOx natural que se produce al utilizar BR, de modo que para emular dicha MOx, los investigadores sugieren recurrir a la adición de dosis controladas de oxígeno (Hernández-Orte *et al.*, 2014; Morais *et al.*, 2018; Navarro, Kontoudakis, Gómez-Alonso, *et al.*, 2016; Tao *et al.*, 2014). Según Navarro *et al.*, 2016 y Tao *et al.*, 2014, la MOx es positiva para el vino tinto; El oxígeno disuelto permite la formación de etanal a partir de etanol, el cual puede interactuar con flavanoles, formando carbocationes muy reactivos que rápidamente reaccionan con otros flavanoles o con antocianinas, produciendo puentes de etilo flavanol-flavanol y/u oligómeros flavanol-antocianina. Como resultado de estas reacciones, la MOx ayuda a mejorar la salud de las levaduras (durante la FA), a la estabilización del color, complejidad aromática, sabor y estructura del vino; Así como también contribuye con reducción de la astringencia, aromas y sabores no deseados.

Es así como, la utilización de trozos de madera, principalmente chips, ha surgido como una alternativa a la crianza del vino en barricas, la cual permite una emulación de dicho envejecimiento en un corto periodo de tiempo, disminuyendo así costes de producción. La utilización de las alternativas a la barrica de roble fue un tema controversial en Europa, por lo que recién el año 2001 por la Unión Europea permitió el uso de esta tecnología para la elaboración de vinos comerciales bajo las regulaciones EC 2165/2005. A nivel de perfil aromático cabe destacar que, según lo estudiado por diversos autores, esta tecnología aporta a los vinos principalmente compuestos aromáticos como el furfural (almendras tostadas), dimetilpirazinas (cacao), maltol (caramelo), wiskylactonas (cacao), vainillina (vainilla), eugenol (clavo) y fenoles volátiles (notas ahumadas) (Fernández de Simón, Cadahía, Muiño, Álamo, & Nevares, 2010; Pérez-Juan & Luque de Castro, 2015). Por otra parte, estos formatos de madera son capaces de entregar taninos de la madera al vino, favoreciendo la mejora de las características organolépticas del vino mediante su colaboración en las reacciones de polimerización, interacciones antociano-tanino, tanino-tanino y la fijación del color en los vinos. Finalmente, desde el punto de vista económico, este proceso es mucho más barato que el uso de barricas de roble, básicamente porque no requiere infraestructura extra para su implementación, más que los tanques de acero inoxidable que se encuentran en la bodega; Por otra parte, existe una gran variedad de gamas, formatos, grados de tostados con los que el enólogo puede hacer vinos con diferentes estilos y a precios asequibles al consumidor.

Basado en estos antecedentes, el objetivo de este estudio es analizar si existe una mejora de las características organolépticas de vinos de Bobal elaborados con diferentes tecnologías de fermentación-maceración al ser sometidos a un envejecimiento utilizando chips, cubos y duelas, con diferentes niveles de tostado y apoyado de una microoxigenación como alternativa a la crianza en barrica.

2 JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO Y OBJETIVOS

La uva Bobal se caracteriza por su elevado color y por la rusticidad de sus taninos. Esto es debido principalmente a la dificultad que tienen estas uvas para alcanzar una óptima madurez polifenólica. La vinificación tradicional en vinos tintos puede ocasionar una elevada extracción de taninos que puede perjudicar a la calidad organoléptica de estos vinos. Introducir una nueva tecnología de vinificación que ocasione una menor extracción de taninos puede resultar muy interesante para la calidad de los vinos de Bobal.

Una parte importante de las uvas Bobal cultivadas en Utiel-Requena se caracterizan por la rusticidad de sus taninos, que pueden perjudicar organolépticamente los vinos. Esto es debido principalmente a la dificultad que tienen estas uvas para alcanzar una óptima madurez polifenólica. Para vinificar estas uvas se utilizan actualmente distintas tecnologías de vinificación. Una de las posibilidades es macerar durante muy poco tiempo para evitar la extracción de taninos amargos y astringentes, dando lugar a vinos rosados o a tintos muy sencillos y ligeros. Pero también se puede realizar una maceración más intensa, obteniéndose vinos con mucho color y mucho tanino, que debido a su rusticidad en muchos casos se utilizan como vinos de mezcla. Además, es frecuente realizar procesos de termovinificación para realizar una extracción rápida de compuestos polifenólicos en ausencia de alcohol, dificultando así la extracción de taninos que puedan dotar de astringencia los vinos producidos, pero con la consiguiente modificación de los componentes naturales de la uva.

Introducir nuevas tecnologías de fermentación encaminadas a extraer selectivamente los compuestos polifenólicos de la uva Bobal sin ocasionar deterioro en su calidad, es un importante reto que se plantea actualmente el sector. Estos vinos, debido a su estructura fenólica, precisan procesos de estabilización posteriores a la fermentación, que tradicionalmente se realizaba en barricas, con el consiguiente encarecimiento del vino. Actualmente existen alternativas a la barrica mucho más económicas, como la utilización de chips de roble en cualquiera de sus niveles de tostado junto con microoxigenación, técnicas que dan lugar a vinos con más complejidad aromática, con color más estable y con taninos menos reactivos.

2.1 OBJETIVOS

2.1.1. Objetivo General

Aplicar mejoras tecnológicas para incrementar la calidad de los vinos de Bobal.

2.1.2. Objetivos Específicos

- A. Establecer si existen diferencias durante la fermentación-maceración entre los vinos elaborados por el método tradicional y aquellos elaborados mediante un método innovador por sangrado.
- B. Determinar la composición polifenólica y aromática de los vinos envejecidos con distintas alternativas a la barrica de roble (chips, cubos y duelas con distintos niveles de tostado).
- C. Determinar la composición polifenólica y aromática de los vinos conservados de forma natural o utilizando una técnica de efectos similares a las de microoxigenación.
- D. Establecer la influencia del proceso de fermentación-maceración en el envejecimiento de los vinos aromática y polifenólica en los vinos elaborados con distintas tecnologías de fermentación-maceración envejecidos con alternativas al roble con y sin microoxigenación.

3 MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 MATERIALES

3.1.1 Materia Prima

La variedad de uva usada para este estudio fue Bobal de la Denominación de Origen Utiel-Requena. Las uvas, pertenecientes a los socios de la Cooperativa Viticultores San Juan Bautista (San Juan de Requena), y se caracterizan principalmente por proceder de viñedo joven, más productivo debido a la edad o a los distintos tipos de suelo en los que se cultiva, al aporte de irrigación o sometidos a prácticas agrícolas enfocadas a la producción. Estas presentan una tipología de uva cuya maduración será más heterogénea e incompleta, y son las más habituales, por lo que han sido objeto de este estudio.

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Elaboración de los vinos:

En una primera etapa se tipificarán las uvas que entran en bodega con el objetivo de conocer la composición de aquellas que van a someterse a vinificación tradicional o por sangrado.

Por tanto, el plan experimental constara de los siguientes ítems:

- Tipificación de la materia prima para la optimización del potencial vitivinícola.
- Elaboración diferencial en función de la materia prima, mediante el uso de la técnica tradicional y de una técnica innovadora por sangrado y aplicación de distintas temperaturas.
- Afinamiento del producto obtenido en función de los distintos tipos de derivados de la madera.

Al llegar la uva en remolques la bodega procedente de un viñedo de gran tamaño situado en San Juan (Requena), se procedió a su estrujado y despalillado y la pasta se distribuyó de forma aleatoria en cuatro depósitos de 10.000 L. Con la uva de los depósitos 1 y 2 se realizaron elaboraciones tradicionales por duplicado, manteniendo la temperatura a 27-28°, aplicando dos remostados diarios, y procediendo a su prensado a los siete días de iniciado el proceso de maceración-fermentación, procediéndose a terminal la fermentación alcohólica en ausencia de partes sólidas.

Las uvas de los depósitos 3 y 4 se vinificaron por duplicado con la técnica del sangrado, procediendo al encubado de la pasta en los depósitos de acero inoxidable, cuando la fermentación estaba comenzando la fase tumultuosa, con una temperatura, siempre controlada, por debajo de 25°C, una vez efectuada la extracción de componentes aromáticos y colorantes se separó el 50% del mosto por la técnica de sangrado, a través de las rejillas de sangrado de los depósitos. Este 50% del líquido fue a un depósito subterráneo y fermentó a temperatura controlada entre unos 16-18°C para preservar la fracción aromática. El resto del encubado del depósito inicial, que mayoritariamente era pasta, se dejó fermentar sin control de temperatura hasta los 34°C durante siete días, para luego proceder a su prensado y posterior mezclado con el mosto-vino extraído previamente (una vez igualadas sus temperaturas). Con esta tecnología, se buscaba una extracción selectiva de los taninos maduros de la pepita, favoreciendo por el incremento de temperatura y baja concentración de alcohol. Además, en la fracción de sangrado mantenida a baja temperatura, se preservarían los compuestos aromáticos tanto primarios de la uva, como los secundarios consecuencia de la fermentación.

Una vez concluida la fermentación alcohólica, se prensaron las pastas, se mezclaron los vinos que habían sido elaborados por duplicado con sus vinos procedentes del prensado, para luego ser sembrados con bacterias lácticas de *Oenococcus oeni* para realizar la fermentación maloláctica de los vinos, procediéndose

a analizarlos al cabo de 2 meses.

Después de ese corto almacenamiento post-fermentativo, se procedió a trasegar los vinos obtenidos de forma tradicional y por sangrado, a depósitos de 50 L donde se mezclaron y posteriormente embotellaron para adicionar en botella las distintas alternativas a la crianza. En esta etapa se pretendía obtener vinos de variedad de uva Bobal que respetaran su identidad, sin los aportes o modificaciones organolépticas que producen distintas técnicas, como la utilización de barricas nuevas.

Las alternativas utilizadas fueron chips, cubos y duelas, de pequeño tamaño, en una dosis de 3 g de producto por litro de vino. Además, se utilizaron alternativas de tres tipos de madera de roble francés, una que aporta sensaciones afrutadas, otra vainilladas y la última especiadas. En total se realizaron 9 tratamientos por cuadruplicado y por vino, dejando también los vinos sin tratamiento como testigo, o sea, un total de 44 botellas por cada uno de los dos vinos (9 protocolos y un testigo, por cuadruplicado), el procedente de sangrado y el de elaboración tradicional.

La mitad de las botellas se dejaron con las alternativas durante 1 mes, y a la otra mitad se le aplicó acetaldehído para simular el proceso de microoxigenación que tiene lugar en las barricas, a razón de 3 mL por litro y mes. Una vez transcurrido el periodo de tratamiento, se suspendió la microoxigenación, se separaron las alternativas y se taponaron de nuevo los vinos, determinándose su composición a los 15 días de embotellado.

3.2.2 Determinaciones analíticas

Los métodos analíticos se han subdividido según el objetivo perseguido con cada proceso y/o analítica realizada. En primer lugar, se encuentra la metodología para la determinación del perfil polifenólico de los vinos y en segundo lugar para su perfil aromático.

3.2.3 Determinación de Polifenoles

Para la determinación del perfil polifenólico de los vinos de este estudio se procedió a la realización de la siguiente analítica:

Intensidad Colorante (IC) y Tonalidad (T) (Glories, 1978)

Este parámetro, junto a la tonalidad o matiz, son convencionalmente utilizados para la determinación de las características cromáticas de vinos tintos y rosados. Esto debido a que el color en el vino puede ser cuantificado por la suma de las densidades ópticas a 420 nm (amarillo), 520 nm (rojo) y 620 nm (azul) determinadas con relación al agua destilada en una cubeta de 10 mm de recorrido óptico.

Para el análisis, el vino fue previamente centrifugado por 15 minutos a 4000 rpm, posteriormente se configuró el espectrofotómetro para la lectura de las muestras en multi-longitud de onda, realizando la medición por duplicado a 420 nm, 520 nm y 620 nm frente al agua destilada; Una vez hecha la medición, ésta es corregida para referirla a la cubeta estándar de 10 mm de recorrido óptico, finalmente se procede a la sumatoria de las absorbancias, reflejando la intensidad colorante.

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

La tonalidad o matiz, es el parámetro que nos permite determinar la relación entre el color rojo y amarillo con el objetivo de cuantificar la importancia del segundo en la contribución al color del vino; Para ello se procedió a realizar el cociente entre las observancias del amarillo (420 nm) sobre el rojo (520 nm) de acuerdo con la fórmula que sigue: **Tonalidad (T) = $\left(\frac{A_{420}}{A_{520}}\right) \times 100$**

Índice de Polifenoles Totales (IPT) (Ribéreau-Gayon, 1974)

El Índice de Polifenoles Totales es el valor que entrega una medida aproximada de los polifenoles presentes en el vino. Éste índice se basa en la propiedad de los anillos bencénicos de presentar máximos característicos de absorbancia a 215 y 278-280 nm; La absorbancia a 280 nm además de ser característica, es relativamente constante para cualquier compuesto fenólico, por tanto, es la longitud de onda predilecta para realizar esta medición, ya sea, en cualquier tipo de vino o extracto, sin verse afectada por influencia del pH.

Para la determinación de fenoles totales en mostos y vinos es necesario utilizar una unidad arbitraria para su expresión, esto debido a la amplia gama de compuestos fenólicos existentes y presentes en el vino; Por lo que como estándar se expresa el resultado en equivalentes de ácido gálico (EAG), es decir, se determina la cantidad de ácido gálico necesario para obtener el mismo resultado producido por la muestra.

Para la medición de este índice, las muestras fueron centrifugadas por 15 minutos a 4000 rpm, luego se tomaron las muestras por duplicado, las cuales fueron diluidas a razón 1:50 en matraces aforados, para posteriormente, ser medidas en el espectrofotómetro utilizando cubetas de cuarzo de paso óptico a longitudes de onda de 275 y 280 nm, utilizando un blanco de agua. Finalmente, el resultado se corrige de acuerdo con el tamaño de cubeta y factor de dilución utilizados.

$$\text{IPT solución} = A_{280} \times Fd$$

Siendo: A_{280} = Absorbancia a 280 nm obtenida del espectrofotómetro
Fd = Factor de dilución utilizado (Para el caso del presente trabajo 1:50)

Determinación simplificada de Antocianos totales (J Blouin, 1992)

Para la determinación de antocianos totales, se utilizó la metodología de Puissant-Leon modificada por Blouin (1992), para lo cual: Se tomaron 0.2 mL de muestra, a las cuales se añadieron 3.8 mL de HCl 1M, luego, una vez reposado por 3 horas se procedió a la medición de la absorbancia, utilizando una cubeta de 10 mm de camino óptico y una longitud de onda de 520 nm, frente a un blanco de HCl 1M. Una vez realizada la medición, se realizó el cálculo de los antocianos mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Antocianos(mg/L)} = A_{520} \times D \times \frac{529}{26.4}$$

Dónde:

A_{520} = Absorbancia a 280 nm obtenida del espectrofotómetro
D = Dilución (para este caso 20)
529 = Absorbancia de una disolución 1% p/v de malvidina-3-glucósido
26.4 = Absortividad molar de la malvidina-3-glucósido

Taninos Condensados Totales (Ribéreau-Gayón, 1972)

Esta metodología se basa en la propiedad de las proantocianidinas, de ser parcialmente transformadas en antocianidinas rojas mediante su calentamiento en medio ácido (reacción Bate-Smith); Como resultado ciertas uniones de las proantocianidinas son hidrolizadas y posteriormente transformadas en antocianidinas, las cuales se permiten su determinación por medición colorimétrica.

Para esta determinación el vino fue centrifugado por 15 minutos a 4000 rpm, luego se diluyó 1 mL del sobrenadante en 49 mL de agua, obteniendo una dilución 1/50 en un matraz aforado. Una vez realizada la dilución se procedió por duplicado a realizar la determinación, para la cual se usaron dos tubos de ensayo: tubo 1 y tubo 2 (ambos por duplicado), a los cuales se les introdujo 1 mL de vino diluido, 0.5 mL de agua destilada y 3 mL de HCl 12 N.

El tubo 1 se tapó herméticamente y se protegió de la luz con papel de aluminio. Posteriormente se colocó dentro de un baño maría a 100°C durante 30 minutos. Por otra parte, el tubo 2 se dejó a temperatura ambiente. Al cabo de 30 minutos de ebullición se sacó el tubo 1 del baño y se refrigeró rápidamente.

Posteriormente, a los dos tubos se les añadió 0,5 mL de etanol absoluto (o de 96°), para luego de agitarlos y medirles las absorbancias a 550 nm en cubetas de 10 mm de camino óptico, utilizando como blanco agua destilada. Finalmente, la concentración de taninos fue dada por la siguiente ecuación:

$$\text{Taninos Condensados Totales (g/L)} = (A_1 - A_2) \times 19.33$$

Siendo:

A_1 = Contenido tubo 1

A_2 = Contenido tubo 2

19.33 = Coeficiente de extinción molar de la cianidina obtenida por la hidrólisis ácida de los taninos condensados, corregido para dar el resultado en g/L.

Antocianos Totales Decolorables (Ribéreau-Gayón, 1972)

Este método se basa en la propiedad de los antocianos libres en el vino para ser decolorados por anhídrido sulfuroso. Para ello se utilizó vino centrifugado por 15 minutos a 4000 rpm, a partir de cual se preparó una solución A con 0.5 mL de vino, 0.5 mL de Etano-HCl al 0.1% de HCl y 10 mL de HCl al 2% (a partir de HCl 35%). Una vez hecha la solución, se procedió a preparar por duplicado 2 tubos.

En el tubo A se colocaron 2.5 mL de la solución A y 1 ml de agua destilada; Mientras que en el tubo B se colocaron: 2.5 mL de la solución A y 1 mL de bisulfito de sodio al 15%. Una vez homogenizados los tubos se esperaron 20 minutos para luego medir la absorbancia a 520 nm en cubetas de 10 mm de vidrio o cuarzo de las muestras.

Índice de Etanol (Glories, 1984b, 1984a)

Este índice se basa en la propiedad de los taninos para precipitar en presencia de etanol cuando éstos están unidos sales inorgánicas, péptidos y con polisacáridos. Por tanto, aumentando el grado alcohólico con alcohol del 96% se puede saber el porcentaje de taninos combinados sales inorgánicas, péptidos y con polisacáridos. Para ello se utilizó vino centrifugado por 15 minutos a 4000 rpm, del cual se colocaron en un tubo (por duplicado) 0.5 mL del sobrenadante y 4.5 mL de etanol del 96%, luego de homogenizar se dejaron las muestras por 24 hrs a temperatura ambiente, para posteriormente volver a centrifugar por 15 minutos a 4000 rpm, produciendo el precipitado de los taninos, una vez centrifugado se diluyó el sobrenadante 1/10 para posteriormente medir la absorbancia de la disolución a 280 nm en cubeta de 10 mm de camino óptico, obteniendo así A_2 .

Finalmente, el índice de etanol viene determinado por la siguiente ecuación:

$$\text{I. Etanol (\%)} = \left(\frac{A_1 - A_2}{A_1} \right) \times 100$$

Dónde:

A_1 = Valor IPT de la muestra

A_2 = Absorbancia de la muestra luego de la precipitación

Índice de Polimerización de Procianidinas Mediante Espectrofotometría (DMACH) (Nagel, C. W.; Glories, 1991; Vivas, Glories, Lagune, Cédric, & Augustin, 1994)

La finalidad de este índice es determinar el grado de polimerización de los taninos ya sean de uva o vino, para ello se utilizó el aldehído p-dimetilaminoacetaldehído (reactivo DMACH). Este compuesto es utilizado gracias a su especificidad para unirse en los sitios específicos donde los taninos pueden unir otra molécula que les permita aumentar su grado de polimerización. Por tanto, menor número de uniones entre el reactivo DMACH y los taninos polimerizados del medio, indican un mayor grado de polimerización.

Para realizar la determinación en primer lugar se preparó el reactivo DMACH, para lo cual, en un matraz aforado se diluyeron 100 mg de DMACH en 10 mL de HCl 12N, para luego enrasar con 100 mL de metanol. Hecho esto, se centrifugó el vino por 15 minutos a 4000 rpm, posteriormente se realizó una dilución 1/20 del sobrenadante en metanol de la cual se prepararon 2 tubos, ambos por duplicado.

En el tubo 1 colocaron: 0.5 mL de vino diluido y 2.5 mL del reactivo DMACH, una vez agitado se esperaron 10 minutos para medir su absorbancia a una longitud de onda de 640 nm en una cubeta de vidrio o cuarzo de 10 mm. Obteniendo A_m .

El tubo 2 fue el testigo en el cual se introdujeron: 0.5 mL de vino diluido y 2.5 mL de metanol, donde tal como en el tubo 1, se agitó y esperó 10 minutos para medir la absorbancia a 640 nm. Obteniendo A_t .

Teniendo las absorbancias se procedió a calcular la absorbancia del reactivo DMACH:

$$A_{DMACH} = A_m - A_t$$

Finalmente, para el cálculo del índice de DMACH se utilizó la siguiente ecuación:

$$I. DMACH (\%) = \left(\frac{A_{DMACH}}{T} \right) \times 100$$

Dónde: A_{DMACH} = Valor de la absorbancia del reactivo DMACH
 T = Taninos condensados totales (g/L)

Índice de Polivinilpirrolidona (PVPP) (Jacques Blouin, 1972)

El índice de polivinilpirrolidona (PVPP) indica el porcentaje de antocianos combinados con los taninos. La mayor concentración de combinaciones justifica una mayor contribución de los antocianos al color (presentan un rojo más intenso) y sobre todo la estabilidad del color, evitando la oxidación de antocianos (Blouin, 1977). El método consiste en valorar mediante colorimetría las combinaciones que se generan entre los antocianos-taninos del vino utilizando la polivinilpirrolidona para fijar a los polifenoles. Para ello se utilizó vino centrifugado 15 minutos a 4000 rpm, tomando muestras por triplicado en un tubo de ensayo mantenido a 0°C se introdujo: 1 mL de vino diluido 1/5 con agua destilada, 1 mL de PVPP 0,6%. Se agitó y se dejó en reposo durante 10 minutos. A continuación, se añadieron 3 mL de TCA al 20% y una vez agitado y se dejó reposar durante otros 10 minutos. Posteriormente se centrifugó la disolución durante 8 minutos a 4000 rpm para finalmente medir su absorbancia a 280 nm en cubeta de cuarzo de 10 mm de camino óptico frente a un blanco de TCA 6% para obtener $D0_1$.

Para obtener el índice de Polivinilpirrolidona se utilizó la siguiente ecuación:

$$I. PVPP (\%) = \left(\frac{D0_0 - D0_1}{D0_0} \right) \times 100$$

Dónde: $D0_0$ = Valor del IPT de la muestra
 $D0_1$ = Densidad óptica del vino tratado con PVPP

3.2.4 Antocianos Pormenorizados

La determinación de los antocianos pormenorizados se realizó mediante la técnica de cromatografía líquida de alta resolución HPLC, cuantificándose la concentración de delphinidina, cianidina, peonidina, petunidina y malvidina. Para ello, se empleó el equipo de HPLC JASCO serie MD-2010 Plus, (JASCO, Tokyo, Japón), equipado con un detector de Diode Array. La separación se efectuó mediante la columna Gemini NX de 250 mm x 4.6 mm de 5 µm Phenomenex (Torrance, CA). Los solventes utilizados como fase móvil, fueron ácido trifluoroacético 0.1% en agua bidestilada (Fase A) y acetonitrilo 100% (Fase B) a un flujo de 0.5 mL/min. El volumen de inyección fue 20 µL de muestra filtrada por filtro de celulosa de 0,45 µm de tamaño de poro. El gradiente de utilizado fue (% B): 10% de 0 a 5 min, 15% de 5 a 25 min, 18% de 30 a 60 min, 35% de 60 a 70 min, reequilibrando la columna a las condiciones iniciales y ha sido ligeramente modificado del realizado por Boido *et al.*, 2006. La detección se realizó a 520 nm de longitud de onda y se cuantificaron mediante una recta patrón construida con distintas concentraciones de malvidina-3-glucósido (S-0911, Extrasynthèse, Genay, Francia).

3.2.5 Análisis sensorial de los vinos.

La determinación de los compuestos volátiles de las muestras de vino se llevó a cabo siguiendo la metodología propuesta por (Ortega, López, Cacho, & Ferreira, 2001) y las modificaciones especificadas realizadas por Hernández-Orte *et al.*, 2014. Se ha utilizado un Cromatógrafo de gases HP-6890, dotado de detector de ionización de llama y columna capilar HP-INNOWax (CrosslinkedPolyethyleneGlycol), de 60 m de longitud, 0,25 mm de diámetro interno y H₂ como gas portador. Condiciones de trabajo: temperatura del inyector y detector de 270°C, relación Split de 1:25. Flujo de hidrogeno de 40 mL/min y el flujo de aire de 450 mL/min. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado.

3.2.6 Tratamiento estadístico

El análisis estadístico se ha realizado para los resultados finales de los vinos sometidos a alternativas a la madera y a microoxigenación con acetaldehído. El tratamiento 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.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN DE LA UVA PARA VINIFICACIÓN

La uva de Bobal procedente de una misma parcela se recibió en la bodega en remolques de 5.000 Kg de capacidad, y con ella se llenaron 4 depósitos de 20.000 Kg. Los remolques se destinaron aleatoriamente a uno u otro depósito con la finalidad de que la uva estuviese lo mejor repartida posible. De cada remolque se tomaron muestras de racimos para determinar la composición de la uva entrante y se determinó el número de uvas por racimo, el peso medio de la uva, su grado Brix y su grado alcohólico probable.

En la tabla 1 se recoge la media, desviación y tratamiento estadístico para el peso del racimo, número de uvas, peso medio de la uva, grado Brix y grado probable, de los racimos muestreados para cada depósito.

Tabla 1.- Media, desviación estándar y tratamiento estadístico para el peso del racimo, número de uvas, peso medio de la uva, grado Brix y grado probable de las uvas que fueron a cada depósito

DEPÓSITO	Peso RACIMO	Nº uvas por racimo	Peso med/uva	° BRIX	°PROBABLE
1	525,28 ± 192,56 b	221,50 ± 89,21 b	2,58 ± 1,02 a	19,04 ± 2,55 b	11,22 ± 1,52 b
2	461,27 ± 200,13 a	169,59 ± 77,61 a	2,72 ± 1,01 b	19,03 ± 2,32 b	11,23 ± 1,37 b
3	570,63 ± 227,06 cd	201,50 ± 86,9 b	2,85 ± 0,62 bc	18,14 ± 2,44 ab	10,70 ± 1,44 ab
4	642,49 ± 328,36 c	229,79 ± 105,98 b	3,01 ± 1,03 c	17,82 ± 2,09 a	10,62 ± 1,23 a

Letras diferentes en la misma columna indican que hay diferencias significativas al 95% entre las uvas que van a los distintos depósitos.

En la tabla 2 se recogen los valores medios de los racimos que van a ser vinificados de distinta forma, vinificación tradicional por el método seguido habitualmente en la cooperativa (depósitos 1 y 2) y vinificación innovadora con sangrado (depósitos 3 y 4).

Tabla 2.- Media, desviación estándar y tratamiento estadístico para el peso del racimo, número de uvas, peso medio de la uva, grado Brix y grado probable de la uva para cada tipo de vinificación.

DEPÓSITO	Peso RACIMO	Nº uvas por racimo	Peso med/uva	° BRIX	°PROBABLE
1+2	493,16 ± 195,45 a	195,46 ± 86,94 a	2,64 ± 1,00 a	19,03 ± 2,44 b	11,22 ± 1,45 b
3+4	621,01 ± 260,49 b	215,59 ± 94,19 a	2,99 ± 0,76 b	17,84 ± 2,36 a	10,53 ± 1,39 a

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas al 95%.

Podemos ver que los racimos que han ido a los depósitos 3 y 4 y que van a ser sometidos a maceración por sangrado son los que presentan mayor tamaño, uvas más grandes y con menor azúcar. Los racimos que van a los depósitos 1 y 2 que van a ser sometidos a maceración tradicional tipo cooperativa son significativamente más pequeños que los anteriores, con menor peso medio de la uva, y una concentración de azúcar superior a los anteriores. Esto nos indica que el estado de madurez de las uvas, y por tanto su madurez tecnológica y polifenólica no es la misma, y casualmente las uvas que van a fermentar tradicionalmente están un poco más maduras que los que van a sangrado, y esto va a dificultar la interpretación final de los resultados, ya que lo ideal sería partir de materia prima totalmente homogénea.

A la entrada de la uva en bodega se ha determinado también la madurez polifenólica de las uvas, con el objetivo de conocer la riqueza polifenólica de estas uvas, así como la facilidad o dificultad para extraer estos polifenoles, que viene determinado por su extractibilidad. En la tabla 3 se recoge la concentración de

antocianos totales y extraíbles en las uvas el día de la vendimia.

Tabla 3.- Concentración de antocianos total y extraíbles en las uvas el día de la vendimia.

ANTOCIANOS mg/L			
DEPÓSITO	TOTAL	EXTRAIBLE	EXTRACTIBILIDAD
1+2	802,56 b	426,93 b	46,78 a
3+4	764,04 a	398,27 a	47,80 a

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas al 95%.

En cuanto a los antocianos, observamos que las uvas que van a vinificación tradicional tienen una mayor concentración y las uvas que van a vinificarse por sangrado parten ya de una menor concentración de antocianos tanto totales y extraíbles, debido a que su proceso de maduración es inferior. En cambio, esta pequeña diferencia en la concentración, no se traduce en una mayor o menor extractibilidad de esos antocianos, ya que no encontramos diferencias significativas para este parámetro.

La concentración de polifenoles totales es también inferior en las uvas de depósitos que van a vinificación por sangrado, y en este caso una madurez más deficiente, ocasiona una mayor dificultad para extraer algunos compuestos polifenólicos (tabla 4).

Tabla 4.- Valores medios de la concentración de polifenoles de las uvas el día de la vendimia.

POLIFENOLES mg/L			
DEPÓSITO	TOTAL	EXTRAIBLE	EXTRACTIBILIDAD
1+2	4654,86 b	2279,46 b	51,03b
3+4	4304,62 a	2199,82 a	48,90a

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas al 95%.

Las uvas utilizadas para la vinificación son algo heterogéneas, siendo las uvas del depósito 4 las menos maduras y con menos polifenoles, lo que ocasiona que la media de los depósitos 3 y 4 sea inferior a la media de 1 + 2. El hecho de que haya diferencias significativas entre las uvas que van a vinificación tradicional y a vinificación por sangrado va a complicar la comparación entre estos vinos, ya que, debido al azar las uvas que han ido a los depósitos 1 y 2 están ligeramente más maduras que las que han ido a los depósitos 3 y 4 (especialmente las que han ido al depósito 4, que son los racimos más grandes y menos maduros). Las uvas utilizadas para la vinificación son algo heterogéneas, siendo las uvas del depósito 4 las menos maduras y con menos polifenoles, lo que ocasiona que la media de los depósitos 3 y 4 sea inferior a la media de 1+2.

4.2. COMPOSICIÓN DE LOS VINOS ELABORADOS

En las tablas 5 y 6 se recogen los valores medios y el ANOVA de la composición convencional y polifenólica de los vinos elaborados. Podemos observar que los vinos de uvas vinificadas tradicionalmente, además de mayor grado alcohólico tienen mayor acidez y menor pH, más color, mayor concentración de polifenoles y mejor relación taninos/antocianos. Los vinos elaborados por sangrado, en cambio, muestran menos color y menor carga polifenólica. Ya en los parámetros de madurez polifenólica observamos que las uvas destinadas a estos vinos contenían menos polifenoles, pero las diferencias se incrementan en los vinos con respecto a las uvas, por lo que podríamos pensar que el método de elaboración también contribuye a una menor extracción polifenólica, ya que el sangrado ocasiona reducción del volumen de mosto en contacto con los hollejos, y esto ha traído consigo una menor extracción. Esto se desprende del hecho de que las

concentraciones potenciales de color y antocianos extraíbles en las uvas que van al C13 y C14 son superiores a las encontradas en estos vinos, mientras que en el resto de los vinos se aproximan mucho más.

Tabla 5.- Composición convencional y polifenólica de los vinos

VINO	C1+C2	C13+C14
Densidad	0,991 a	0,989 a
Grado Alcohólico	11,2 b	10,5 a
pH	3,58 a	3,61 a
Acidez Total	5,02 b	4,95 a
IC	11,89 b	8,07 a
Tono	47,09 b	44,16 a
Antocianos (mg/L)	486,65 b	434,77 a
IPT	48,09 b	43,69 a
Polifenoles (mg/L)	3317,64 b	2815,87 a
Taninos (mg/L)	2248,20 b	1724,72 a
Relación Tanino/Antociano	3,89 b	3,67 a

Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas al 95%.

Tabla 6.- Concentración de antocianos pormenorizados ligados a azúcares (mg/L)

VINOS	C1+C2	C13+C14
Delfinidina-3-glu	2,751	2,772
Cianidina-3-glu	0,538	0,348
Petunidina-3-glu	3,241	3,421
Peonidina-3-glu	5,671	5,135
Malvidina-3-glu	80,750	77,793
Acetato de Delfinidina	0,968	0,465
Acetato de Malvidina	0,000	0,000
Cafeoato de Malvidina <i>trans</i>	0,000	0,000
Cumarato de Cianidina <i>trans</i>	0,399	0,289
Cumarato de Petunidina <i>trans</i>	3,291	0,303
Cumarato de Malvidina <i>cis</i>	0,000	0,000
Cumarato de Peonidina <i>trans</i>	0,000	3,990
Cumarato de Malvidina <i>trans</i>	0,000	0,000
TOTAL (mg/Lmalvidina 3-glucosido)	112,609	109,517
% respecto a [Antocianos]	22% a	25% b

A pesar del bajo contenido en antocianos de los vinos de Bobal elaborados tradicionalmente, estas uvas tienen un porcentaje más elevado de antocianos ligados a azúcares (glucosilados, cumaroilados, cafeoilados y acetilados), tal como se aprecia en la tabla 6, y como estos antocianos son mucho más resistentes a la oxidación, al efecto del sulfuroso, pH, etc., que los antocianos libres (resto de los antocianos), es de esperar que esto minimice las caídas de antocianos y por tanto de color durante la conservación.

En la tabla 7 se recoge los valores medios de la composición aromática de los vinos elaborados, agrupados por familias aromáticas.

Tabla 7.- Concentración de compuestos aromáticos (μL) en los vinos después de fermentación.

VINOS		C1+C2	C13+C14
Alcoholes	1-propanol	17720,00	14588,55
	isoamilico	28,71	38,00
	cis-3-hexenol	46,00	2,95
	propilenglicol	16,51	6,23
	2 feniletanol	16530,00	30402,70
	TOTAL	34341,22 a	45038,42 b
Ésteres y Acetatos	propionato etilo	0,00	2,95
	Isobutirato etilo	512,03	497,55
	decanoato etilo	435,81	468,12
	hexonoato etilo	7,23	25,69
	acetato hexilo	33,88	20,00
	lactato etilo	51,38	0,00
	2 fenilacetato	38,27	111,13
	octanoato etilo	22,56	20,00
	succinatodietilo	275,31	292,54
TOTAL	1376,46 a	1437,97 b	
Terpenos y norisoprenoides	a terpineol	630,00	810,00
	citronerol	160,07	110,50
	a pinem	690,00	554,29
	b pinem	630,00	780,00
	b damascenona	23,31	34,84
	TOTAL	2133,38 a	2289,63 b
Lactonas	Γ -octalactona	0,00	0,00
	TOTAL	0,00	0,00
Fenoles volátiles	Eugenol	331,00	453,20
	TOTAL	331,00 a	453,20 b
Aldehídos fenólicos	Vainillina	3,20	8,60
	TOTAL	8,00 a	13,40 b
Diacetales	Dimetoxietano	112,00	117,00
	TOTAL	112,00 b	63,78 a
TOTAL AROMAS($\mu\text{g/L}$)		38.297,27 a	49.344,84 b

Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas al 95%.

Los vinos elaborados por sangrado son los que mayor concentración de compuestos aromáticos tienen, a pesar de que proceden de uvas menos maduras. Hay que destacar también, que la técnica de sangrado ha contribuido a incrementar la concentración de todas las familias aromáticas estudiadas en estos vinos.

Los vinos elaborados con sangrado muestran una cantidad significativamente superior de alcoholes superiores con respecto a la tradicional, lo que será positivo para la calidad del vino, ya que los alcoholes superiores son beneficiosos siempre que no superen una concentración máxima de 350-400 mg/L que es muy superior a la encontrada en cualquiera de nuestros vinos. Los ésteres y acetatos, y los terpenos y norisoprenoides, compuestos muy favorables para la calidad organoléptica, son superiores también en los vinos elaborados por sangrado, lo que indica que las bajas temperaturas de fermentación de la fracción de vino de sangrado han potenciado la formación de ésteres y el mantenimiento de los terpenos y norisoprenoides. También el eugenol y la vainillina se encuentran en mayor cantidad en los vinos de sangrado que en los de maceración tradicional.

4.3. ANÁLISIS SENSORIAL DE LOS VINOS DESPUÉS DE LA FERMENTACIÓN

Con los vinos elaborados por sangrado se realizaron test triangulares con la finalidad de demostrar si hay diferencias organolépticas entre los vinos elaborados, para ello se han realizado pruebas de emparejamiento entre iguales, y en ellas ninguno de los catadores encontró diferencias entre los vinos C1 y C2, ni entre los C13+C14, por lo que se procedieron a mezclar los dos de maceración tradicional C1 y C2 por un lado para obtener el vino tradicional, y los vinos C13 y C14 para obtener el vino de sangrado.

Posteriormente, se pretendió demostrar que hay diferencias organolépticas entre el vino de Bobal tradicional (C1+C2) y el tecnológico por sangrado (C13+C14), mediante un nuevo test triangular:

Para ello se han utilizado tres nomenclaturas distintas para cada vino:

Vino tradicional.246 - 672 - 731
Vino de sangrado.185 - 444 - 563

Los catadores realizaron cada uno 3 pruebas triangulares en las que se pedía que determinasen que vino era el diferente y que describiesen las diferencias, consiguiendo todos los catadores diferenciar claramente los dos vinos en todos los ejercicios:

Prueba triangular 1: 246 - 444 - 672
Prueba triangular 2: 185 - 563 - 731
Prueba triangular 3: 185 - 246 - 731

A continuación, se procedió al análisis descriptivo de los vinos:

Vino de maceración tradicional: color más intenso, aroma a fruta roja más madura, con más cuerpo, más estructurado y astringente. Se nota una mayor presencia de alcohol.

Vino elaborado por sangrado: mayor presencia de carbónico, menos color, aroma a fruta más fresca, mayor calidad aromática que el anterior, acidez ligeramente más elevada y menos estructura en boca. El alcohol destaca menos.

4.4. CONSERVACIÓN DE LOS VINOS MEDIANTE ALTERNATIVAS A LA BARRICA

A partir de los vinos elaborados, se procedió a realizar los tratamientos con los distintos formatos de madera como alternativa a la conservación en barricas. Las alternativas fueron aplicadas con distintos formatos de madera: chips, cubos y duelas, utilizando roble francés con tres características aromáticas, afrutado, vainillado y especiado. Al mismo tiempo con estos vinos se hicieron dos lotes, uno de ellos se microoxigenó con acetaldehído a dosis de 3 mL/L/mes y el otro lote permaneció solo con las alternativas a la barrica. El periodo durante el cual se realizó el experimento tuvo una duración de 4 semanas, dentro de las cuales, durante 20 días se realizaron las aplicaciones de acetaldehído en días alternos a través de jeringas que atravesaban el tapón de corcho, permitiendo así realizar las aplicaciones sin la necesidad de abrir las botellas y manteniendo al mínimo el aporte externo de oxígeno.

Una vez concluido el ensayo, se procedió a la realización de la analítica correspondiente. En las tablas 8, 9 y 10 se recogen los valores medios y desviaciones estándar de los parámetros relacionados con el color, polifenoles e índices de calidad de los taninos, en los vinos. siendo los vinos de maceración con código 1 = maceración por sangrado y código 2 = maceración tradicional; Código para las características de la madera E = *Especiado*, F = *Afrutado* y V = *Vainillado*; Código para el formato de fragmentos de madera C = *Chip*, S = *Duelas* y P = *Cubos*; Código para la microoxigenación, 1 = *Con acetaldehído* y 2 = *Sin acetaldehído*.

Tabla 8. Valores medios y desviaciones estándar de los parámetros relacionados con el color.

Tratamiento	Nº vino	A420		A520		A620		IC		Tono	
		Media	DS	Media	DS	Media	DS	Media	DS	Media	DS
11	1	2,85	0,07	3,38	0,07	0,79	0,04	7,02	0,18	84,39	0,53
1FP1	2	2,93	0,05	3,43	0,06	0,84	0,03	7,19	0,14	85,51	0,23
1FC1	3	2,93	0,04	3,44	0,04	0,82	0,02	7,19	0,09	85,06	0,20
1FS1	4	2,92	0,04	3,47	0,03	0,82	0,02	7,22	0,09	84,31	0,42
1VP1	5	2,91	0,03	3,44	0,04	0,82	0,03	7,18	0,09	84,67	0,21
1VC1	6	2,80	0,11	3,38	0,05	0,78	0,02	6,96	0,18	82,82	1,99
1VS1	7	2,35	0,07	3,31	0,01	0,72	0,01	6,39	0,09	70,92	2,07
1EP1	8	2,14	0,03	3,20	0,04	0,66	0,02	6,01	0,05	66,88	1,25
1EC1	9	2,76	0,01	3,31	0,01	0,73	0,01	6,80	0,03	83,42	0,14
1ES1	10	2,76	0,02	3,35	0,04	0,72	0,01	6,84	0,07	82,40	0,64
12	11	2,42	0,32	3,19	0,09	0,64	0,04	6,25	0,45	75,76	7,97
1FP2	12	2,70	0,01	3,20	0,01	0,69	0,01	6,58	0,03	84,46	0,13
1FC2	13	2,72	0,07	3,26	0,11	0,69	0,04	6,67	0,22	83,22	0,58
1FS2	14	2,03	0,06	3,06	0,02	0,59	0,01	5,68	0,08	66,24	1,70
1VP2	15	1,91	0,01	2,98	0,03	0,58	0,02	5,47	0,05	64,09	0,51
1VC2	16	1,94	0,02	3,08	0,01	0,60	0,01	5,62	0,03	63,03	0,53
1VS2	17	1,86	0,01	3,05	0,01	0,56	0,00	5,47	0,02	61,07	0,27
1EP2	18	1,84	0,02	2,97	0,02	0,54	0,01	5,36	0,04	62,05	0,33
1EC2	19	1,92	0,03	3,01	0,02	0,55	0,01	5,48	0,05	63,74	0,68
1ES2	20	1,91	0,02	3,04	0,02	0,53	0,01	5,48	0,03	62,95	0,17
21	21	3,13	0,11	4,20	0,11	0,92	0,06	8,25	0,28	74,48	0,75
2FP1	22	3,19	0,05	4,29	0,05	0,94	0,01	8,43	0,11	74,37	0,31
2FC1	23	3,25	0,06	4,42	0,10	0,99	0,05	8,67	0,20	73,62	0,38
2FS1	24	3,24	0,04	4,43	0,06	0,97	0,03	8,65	0,13	73,12	0,09
2VP1	25	3,28	0,05	4,43	0,10	1,00	0,03	8,71	0,18	73,89	0,90
2VC1	26	3,27	0,02	4,37	0,03	1,00	0,01	8,64	0,04	74,75	0,14
2VS1	27	3,21	0,03	4,32	0,02	0,95	0,01	8,48	0,07	74,38	0,34
2EP1	28	3,36	0,03	4,53	0,03	1,05	0,01	8,94	0,07	74,14	0,23
2EC1	29	3,27	0,05	4,40	0,06	0,99	0,03	8,65	0,15	74,26	0,12
2ES1	30	3,33	0,09	4,54	0,16	1,04	0,07	8,90	0,32	73,53	0,55
22	31	3,28	0,03	4,45	0,06	0,98	0,01	8,72	0,11	73,76	0,25
2FP2	32	3,28	0,02	4,38	0,05	1,00	0,01	8,65	0,08	74,86	0,23
2FC2	33	3,33	0,04	4,48	0,06	1,02	0,01	8,83	0,11	74,43	0,11
2FS2	34	3,40	0,02	4,64	0,01	1,06	0,01	9,10	0,03	73,19	0,39
2VP2	35	3,41	0,03	4,55	0,04	1,05	0,03	9,01	0,10	74,90	0,03
2VC2	36	3,43	0,03	4,63	0,00	1,07	0,01	9,13	0,03	74,06	0,63
2VS2	37	3,20	0,02	4,31	0,03	0,94	0,02	8,45	0,07	74,32	0,05
2EP2	38	3,29	0,01	4,40	0,01	0,98	0,02	8,67	0,03	74,67	0,20
2EC2	39	3,37	0,06	4,54	0,11	1,03	0,05	8,93	0,22	74,15	0,45
2ES2	40	3,20	0,07	4,31	0,12	0,93	0,04	8,44	0,22	74,43	0,47

Tabla 9. Valores medios y desviaciones estándar de los parámetros relacionados con los polifenoles.

Tratamiento	Nº vino	IPT		Polifenoles (mg/L)		Antocianos (mg/L)		Taninos cond (mg/l)	
		Media	DS	Media	DS	Media	DS	Media	DS
11	1	42,15	0,59	2744,63	68,17	258,75	5,94	1764,83	176,73
1FP1	2	41,53	0,93	2837,05	61,18	246,45	6,55	2161,09	141,90
1FC1	3	40,46	3,30	2681,28	20,62	238,08	6,25	2074,83	96,51
1FS1	4	37,55	2,86	2734,39	61,52	243,03	6,79	1987,80	120,37
1VP1	5	42,59	0,18	2821,72	52,92	236,88	5,23	2067,15	124,29
1VC1	6	42,45	1,14	2724,55	35,27	228,42	5,76	2163,51	85,34
1VS1	7	44,18	0,52	2724,15	41,93	232,44	9,40	2006,84	421,81
1EP1	8	42,93	1,37	2743,44	80,69	234,75	7,05	2040,76	293,32
1EC1	9	44,38	1,48	2748,19	43,48	233,37	8,36	2098,75	166,48
1ES1	10	43,72	0,12	2730,54	77,13	232,80	7,36	2104,07	359,47
12	11	45,02	0,18	2763,57	36,58	235,08	10,22	1742,12	20,36
1FP2	12	47,41	1,06	2772,91	51,09	217,14	7,09	1862,45	83,79
1FC2	13	43,99	0,35	2635,80	37,18	210,17	3,01	1889,02	85,41
1FS2	14	45,54	0,86	2607,52	69,11	215,70	6,73	1661,90	251,45
1VP2	15	40,43	6,91	2750,34	90,39	209,37	6,64	1516,92	310,96
1VC2	16	43,42	1,89	2679,69	86,17	207,75	8,69	1595,69	313,06
1VS2	17	45,37	0,25	2582,41	27,40	204,21	8,48	1645,47	332,54
1EP2	18	44,14	1,07	2651,02	56,41	205,71	5,89	1668,66	186,63
1EC2	19	46,73	0,57	2637,95	78,62	201,60	7,54	1748,88	459,33
1ES2	20	46,00	1,10	2564,25	27,64	203,34	13,05	1910,29	101,91
21	21	47,13	1,34	2786,88	64,32	325,95	7,13	2054,30	230,64
2FP1	22	49,72	3,05	2834,67	69,14	336,20	14,97	2105,62	56,20
2FC1	23	49,45	1,57	2901,07	171,02	339,61	9,78	2196,85	26,48
2FS1	24	50,68	3,00	2807,92	43,92	345,04	11,43	2131,13	71,73
2VP1	25	51,04	2,11	2802,66	70,97	380,46	11,43	2088,61	197,87
2VC1	26	51,79	5,06	2835,35	19,29	411,88	7,28	2209,90	179,72
2VS1	27	48,02	2,67	2715,55	66,72	445,31	7,88	2232,23	152,42
2EP1	28	50,04	3,21	2677,38	77,45	482,73	7,28	2458,29	140,01
2EC1	29	49,13	1,59	2726,92	45,21	495,76	11,41	2128,72	67,54
2ES1	30	49,05	3,57	2676,87	83,58	511,58	4,42	2386,77	112,52
22	31	49,15	2,87	2585,41	111,73	481,00	4,75	2081,84	145,36
2FP2	32	52,24	1,96	2994,91	37,97	490,89	4,68	2079,91	184,57
2FC2	33	49,96	1,08	2681,73	44,95	481,85	6,96	2070,24	36,51
2FS2	34	51,30	2,64	2497,62	170,56	495,28	7,28	2023,37	41,20
2VP2	35	51,29	0,98	2795,81	154,46	502,70	11,43	2117,41	165,31
2VC2	36	51,34	1,40	2979,64	80,70	538,12	11,43	2007,90	150,17
2VS2	37	49,13	0,97	3027,71	26,65	513,55	7,28	2109,87	169,61
2EP2	38	52,00	4,22	3094,74	60,17	506,97	15,46	2116,64	165,03
2EC2	39	48,89	2,22	3024,94	24,11	524,40	18,22	2189,61	72,35
2ES2	40	50,29	1,90	3086,03	114,09	516,66	18,76	2101,65	110,44

Tabla 10. Valores medios y desviaciones estándar de los parámetros relacionados con la calidad de los taninos

Tratamiento	Nº vino	IPVPP (%)		I.DMACH %		I.ETANOL %	
		Media	DS	Media	DS	Media	DS
11	1	19,89	2,17	41,01	3,27	42,09	5,10
1FP1	2	22,69	3,54	42,83	4,72	42,39	3,23
1FC1	3	20,19	3,52	42,72	3,15	37,46	3,08
1FS1	4	30,31	0,28	40,93	3,50	30,93	5,90
1VP1	5	21,48	2,00	38,10	4,50	39,52	0,58
1VC1	6	23,33	1,87	38,88	3,63	39,15	1,35
1VS1	7	22,36	2,01	39,83	8,59	41,60	0,71
1EP1	8	27,11	3,70	37,31	2,87	39,70	2,61
1EC1	9	32,91	2,04	36,02	2,95	41,65	2,70
1ES1	10	26,67	1,22	31,89	3,92	41,07	0,38
12	11	24,87	1,22	46,23	5,40	43,25	0,65
1FP2	12	26,82	0,83	40,82	5,47	45,88	1,63
1FC2	13	26,52	1,89	43,70	4,27	41,92	0,53
1FS2	14	24,78	2,26	48,98	8,45	43,97	1,19
1VP2	15	26,17	2,00	45,43	7,90	34,79	12,06
1VC2	16	25,04	2,10	44,14	4,56	41,46	3,16
1VS2	17	29,21	1,96	51,35	9,68	44,29	0,38
1EP2	18	31,37	2,52	47,38	7,05	42,66	1,26
1EC2	19	33,20	0,91	42,70	8,41	45,42	0,76
1ES2	20	30,00	0,91	35,79	2,43	44,75	1,14
21	21	22,25	2,92	24,84	2,73	61,76	3,53
2FP1	22	23,50	2,11	21,89	5,18	59,75	3,53
2FC1	23	26,50	5,66	22,14	1,34	55,83	0,96
2FS1	24	33,72	5,98	20,98	3,36	60,24	2,74
2VP1	25	36,73	5,11	21,30	0,83	60,86	4,33
2VC1	26	29,59	6,65	18,88	1,06	59,95	3,09
2VS1	27	27,45	3,60	18,03	1,62	56,90	5,73
2EP1	28	24,26	2,27	17,07	2,53	57,92	5,55
2EC1	29	26,27	2,30	20,54	0,95	56,91	2,57
2ES1	30	32,38	5,47	15,98	4,44	60,62	3,55
22	31	18,74	3,57	25,24	0,96	55,28	4,16
2FP2	32	23,37	2,62	23,82	1,80	63,83	1,39
2FC2	33	16,77	0,78	23,95	2,78	55,92	5,26
2FS2	34	19,86	6,84	24,11	0,57	66,67	5,87
2VP2	35	18,05	3,37	24,78	4,40	62,24	4,89
2VC2	36	22,41	5,63	27,46	5,77	64,94	1,95
2VS2	37	16,49	1,61	25,60	0,72	65,63	2,34
2EP2	38	20,84	6,17	25,99	0,40	65,64	4,82
2EC2	39	17,43	3,76	25,29	0,85	64,10	3,28
2ES2	40	23,08	4,42	27,99	1,14	64,81	3,36

En la tabla 11 se recogen las medias de los valores de los parámetros relacionados con el color agrupados en función de la técnica de maceración, siendo los vinos con código 1 los de maceración por sangrado (S), y con código 2 los de maceración tradicional.

Tabla 11. Valores medios de los parámetros relacionados con el color en función de la técnica de maceración

Maceración	A420		A520		A620		IC		Tono	
	MEDIA	DS	MEDIA	DS	MEDIA	DS	MEDIA	DS	MEDIA	DS
Sangrado	2,43 ± 0,44 a		3,23 ± 0,17 a		0,68 ± 0,11 a		6,34 ± 0,70 a		74,85 ± 9,94 a	
Tradicional	3,29 ± 0,08 b		4,43 ± 0,12 b		1,00 ± 0,04 b		8,71 ± 0,24 b		74,16 ± 0,51 a	
F-ratio	643,21		389,95		398,52		565,46		0,58	
P-value	0,0000		0,0000		0,0000		0,0000		0,6655	

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas al 95%.

Como es posible deducir de la tabla 11 existe una diferencia significativa en términos de la IC para los vinos macerados por sangrado versus los macerados tradicionalmente; En la cual, la maceración por sangrado logró una menor intensidad colorante en los vinos, a diferencia de lo que se esperaría normalmente, Según (Wu *et al.*, 2017), al realizar un sangrado se aumentó la concentración de piel por unidad de mosto, por consiguiente se esperaría que dicho tratamiento aumentara la concentración de polifenoles, como las antocianinas, derivando en un aumento en la intensidad del color de los vinos.

En relación al tono, no existe diferencia significativa entre los vinos debido en gran medida al grado de juvenilidad de éstos, el cual no ha dado tiempo a la oxidación de antocianos ni a la formación de piranoantocianos (Quagliari *et al.*, 2017), que son los compuestos asociados a tonos amarillos-naranjos; Además, a pesar de que la maceración tradicional tuvo mayores concentraciones para las antocianinas asociadas al rojo, amarillo y azul, se puede observar que existe una proporcionalidad en la diferencia de los valores, permitiendo que el tono se mantuviese constante para ambos tratamientos.

En la tabla 12 se recogen las medias de los valores de los parámetros relacionados con la concentración de polifenoles en función de la técnica de maceración, siendo los vinos con código 1 los de maceración por sangrado, y con código 2 los de maceración tradicional.

Tabla 12. Valores medios de los parámetros polifenólicos en función de la técnica de maceración

Maceración	IPT		Pol (mg/L)		Ant (mg/L)		Tan cond (mg/l)	
	MEDIA	DS	MEDIA	DS	MEDIA	DS	MEDIA	DS
Sangrado	43,50 ± 2,36 a		2706,77 ± 74,70 a		224,75 ± 16,80 a		1885,55 ± 204,43 a	
Tradicional	50,08 ± 1,37 b		2826,69 ± 167,68 b		456,30 ± 71,64 b		2144,54 ± 112,06 b	
F-ratio	184,18		28,02		238,51		48,55	
P-value	0,0000		0,0000		0,0000		0,0000	

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas al 95%.

Ocurriendo lo mismo que en la tabla anterior, de manera curiosa, los vinos de maceración tradicional obtuvieron mayores concentraciones en todos los parámetros polifenólicos analizados (tabla 12). Pese a ser consistentes con los resultados la tabla de IC, son contradictorios respecto a lo estudiado por diversos investigadores (Lukić, Budić-Leto, Bubola, Damijanić, & Staver, 2017; Wu *et al.*, 2017); Por lo que según lo explicado por las Tablas 1 y 2, cabe presumir que la diferencia inicial en la calidad de la materia prima fue el factor determinante para la obtención de estos resultados, debido a que las uvas que se utilizaron en la maceración tradicional mostraron una diferencia significativamente más alta en términos del contenido de azúcares de las bayas, la cual es uno de los parámetros básicos para la determinación de madurez de la fruta.

En la tabla 13 se recogen las medias de los valores de los parámetros relacionados con la calidad de los taninos agrupados en función de la técnica de maceración, siendo los vinos con código 1 los de maceración por sangrado, y con código 2 los de maceración tradicional.

Tabla 13. Valores medios de los parámetros polifenólicos en función de la técnica de maceración

Maceración	IPVPP		I.DMACH		I.ETANOL	
	MEDIA	DS	MEDIA	DS	MEDIA	DS
Sangrado	26,25 ± 3,98	a	41,80 ± 4,78	b	41,20 ± 3,62	a
Tradicional	23,98 ± 5,76	a	22,79 ± 3,40	a	60,99 ± 3,67	b
F-ratio	2,73		397,30		665,72	
P-value	0,0568		0,0000		0,0000	

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas al 95%.

Como se puede apreciar, basándonos en el índice de PVPP, podemos observar que no existen diferencias entre los tratamientos en términos del favorecimiento en las uniones antociano-tanino. Esto es importante destacarlo, debido a que estas uniones son responsables de la estabilización del color, minimización de las pérdidas polifenólicas por precipitación, así como también la sensibilidad de los antocianos a los cambios de pH (Peidró Montaner, 2016). Por otra parte, el presentar diferencias significativas para los índices DMACH y Etanol, puede ser explicado en el caso de la maceración tradicional, que a pesar de presentar un valor menor DMACH o mayor grado de polimerización de los taninos, se puede inferir que este resultado está ligado a una mayor polimerización de taninos con polisacáridos, péptidos y sales; reflejados en una mayor precipitación de compuestos en el índice de etanol. En cambio, para el tratamiento de sangrado, simplemente se puede observar que existe una menor polimerización de los taninos y por consiguiente una menor precipitación de estos gracias al etanol, pero también se puede inferir que, al tener una menor cantidad de taninos polimerizados, una gran proporción de éstos se encuentran ligados a antocianos para la fijación del color compensando así el valor de PVPP.

En la tabla 14 se recogen las medias de los valores de los parámetros relacionados con el color agrupados en función de las características de la madera.

Tabla 14. Valores medios de los parámetros relacionados con el color en función de las características de la madera

Características de la madera	A420		A520		A620		IC		Tono	
	MEDIA	DS	MEDIA	DS	MEDIA	DS	MEDIA	DS	MEDIA	DS
Testigo	2,63 ± 0,61	a	3,53 ± 0,68	a	0,75 ± 0,22	a	6,91 ± 1,47	a	74,16 ± 8,82	ab
Afrutado	2,99 ± 0,39	b	3,88 ± 0,61	a	0,87 ± 0,15	a	7,74 ± 1,11	a	77,70 ± 6,43	b
Vainillado	2,77 ± 0,62	a	3,82 ± 0,66	a	0,84 ± 0,19	a	7,46 ± 1,45	a	72,74 ± 7,19	a
Especiado	2,72 ± 0,65	a	3,80 ± 0,67	a	0,82 ± 0,20	a	7,34 ± 1,51	a	71,09 ± 6,52	a
F-ratio	4,86		0,13		0,85		0,68		7,62	
P-value	0,0387		0,9411		0,4783		0,5639		0,0012	

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas al 95%.

De acuerdo con estos resultados, se puede apreciar que existen mayores diferencias en los parámetros colorimétricos relacionados a las características de la madera empleada; Cabe destacar que a nivel de IC estadísticamente los vinos no poseen diferencia, lo cual no ocurre así con el tono, dónde los vinos afrutados presentaron un ligero aumento de su absorbancia para el color amarillo, mostrando una diferencia significativa en comparación al vainillado y especiado, pero no siendo suficiente para diferenciarse del testigo. Estos resultados se encuentran dentro de lo esperado, según lo estudiado por (Baca-Bocanegra *et al.*, 2018) la adición de alternativas a la bodega de roble utilizadas en este trabajo no causan efectos significativos en la extractabilidad de las antocianinas desde la piel de las bayas.

En la tabla 15 se recogen las medias de los valores de los parámetros relacionados con la concentración de polifenoles en función de las características de la madera, pudiendo deducir que a pesar de que las características de la madera no fomentan la extractabilidad de los compuestos fenólicos desde las pieles (Baca-Bocanegra *et al.*, 2018); Estas alternativas al provenir de madera de roble, además de aromas,

transfieren compuestos fenólicos al vino; Esto queda claramente reflejado en la diferencia significativa que existe entre el testigo y los vinos especiados. Esto se debe principalmente a que de los alternativos utilizados en este estudio, el tipo especiado, debido a su mayor grado de tostado, era el que poseía características más potentes en términos organolépticos; diseñados según el fabricante para potenciar la estructura, grasa y persistencia de los vinos, atributos que según Maraboli *et al.*, 2017 están correlacionados con la concentración de polifenoles en el vino que puedan polimerizarse. En los vinos vainillados y afrutados el impacto no es tan notorio, lo cual puede deberse al corto tiempo que se mantuvieron el contacto el vino y los alternativos, a pesar de haber sido 1 semana más que lo propuesto por el fabricante, pareciese que no fue suficiente. Según Dumitriu *et al.*, 2016 sería posible ver un cambio significativo a partir de los 3 meses; Por otra parte, la dosis utilizada también pudo haber influido, puesto que se utilizaron 3 g/L y el fabricante recomienda utilizar hasta 6 g/L, por lo que se recomendaría investigar más para poder decir algo que fuese concluyente.

Tabla 15. Valores medios de los parámetros polifenólicos en función de las características de la madera

Características de la madera	IPT		Pol (mg/L)		Ant (mg/L)		Tan cond (mg/l)	
	MEDIA	DS	MEDIA	DS	MEDIA	DS	MEDIA	DS
Testigo	45,56 ± 2,84	a	2687,33 ± 90,10	a	302,19 ± 141,43	a	1951,00 ± 299,91	a
Afrutado	46,65 ± 4,80	ab	2748,91 ± 137,54	ab	321,62 ± 112,38	ab	2020,35 ± 151,13	a
Vainillado	46,75 ± 4,13	ab	2786,63 ± 123,06	b	342,59 ± 135,28	b	1980,12 ± 248,79	a
Especiado	47,07 ± 3,70	b	2786,30 ± 162,60	b	350,99 ± 141,90	b	2021,31 ± 262,11	a
F-ratio	1,86		1,58		11,39		1,02	
P-value	0,0645		0,0593		0,0327		0,4232	

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas al 95%.

En la tabla 16 se recogen las medias de los valores de los parámetros relacionados con la calidad de los taninos agrupados en función de las características de la madera, siendo los vinos afrutados los tratados con madera en sus distintos formatos del tipo afrutado (F), vainillados los tratados con madera en sus distintos formatos del tipo vainillado (V) y Especiados a los tratados con madera en sus distintos formatos del tipo especiado (E).

Tabla 16. Valores medios de los parámetros polifenólicos en función de las características de la madera

Características de la madera	IPVPP		I.DMACH		I.ETANOL	
	MEDIA	DS	MEDIA	DS	MEDIA	DS
Testigo	26,78 ± 5,56	a	34,75 ± 3,22	a	47,68 ± 9,53	a
Afrutado	24,59 ± 4,65	a	33,07 ± 4,94	a	50,40 ± 4,36	a
Vainillado	24,86 ± 5,50	a	32,82 ± 5,42	a	50,94 ± 7,18	a
Especiado	24,96 ± 4,23	a	32,66 ± 4,98	a	51,65 ± 3,98	a
F-ratio	1,19		0,80		2,21	
P-value	0,6452		0,4968		0,0746	

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas al 95%.

Como se puede observar en la tabla 16, la característica de la madera no posee influencia en la polimerización los taninos ni en su combinación con antocianos. Esto puede quedar explicado de la misma manera que en el caso de la tabla anterior, para los taninos condensados, puesto que este tipo de reacciones toman tiempo para producirse, por lo que se recomendaría realizar un ensayo más largo para obtener resultados que puedan evidenciar diferencias entre los tratamientos.

En la tabla 17 se recogen las medias de los valores de los parámetros relacionados con el color agrupados en función al formato de la madera, siendo chips los tratados con madera en formato chip (C), cubos los tratados con madera en formato cubo (P) y (S) los tratados con madera en formato duela.

Tabla 17. Valores medios de los parámetros relacionados con el color en función del formato de madera utilizado

Frangmentos de madera	A420		A520		A620		IC		Tono	
	MEDIA	DS	MEDIA	DS	MEDIA	DS	MEDIA	DS	MEDIA	DS
Testigo	2,63 ± 0,61	a	3,53 ± 0,68	a	0,75 ± 0,22	a	6,91 ± 1,47	a	74,16 ± 8,82	b
Chips	2,85 ± 0,58	a	3,82 ± 0,66	a	0,85 ± 0,19	a	7,52 ± 1,39	a	74,54 ± 7,66	b
Cubos	2,92 ± 0,52	a	3,86 ± 0,65	a	0,85 ± 0,18	a	7,63 ± 1,33	a	75,55 ± 7,21	b
Duelas	2,79 ± 0,59	a	3,82 ± 0,65	a	0,82 ± 0,19	a	7,42 ± 1,41	a	72,57 ± 6,83	a
F-ratio	0,55		0,06		0,34		0,20		2,36	
P-value	0,6468		0,9813		0,7937		0,8946		0,0634	

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas al 95%.

Como se aprecia en la tabla 17, para la IC no hubo diferencias significativas entre los tratamientos con diferentes formatos de madera y el testigo; En cambio para el Tono el tratamiento con duelas mostró una diferencia significativa con los demás tratamientos y el testigo, siendo esto explicado por principalmente por la contribución del amarillo en la medición, puesto que, para la medición del rojo, duelas y chips presentaron el mismo valor.

En la tabla 18 se recogen las medias de los valores de los parámetros relacionados con la concentración de polifenoles en función al formato de la madera, y de aquí se desprende que, el formato de madera utilizado produjo diferencias significativas a nivel de Antocianos coloreados y Antocianos y Polifenoles totales, siendo favorecidos por la utilización de cualquiera de los formatos de madera empleados en este estudio. Por otra parte, los tratamientos no tuvieron efecto sobre los IPT ni sobre la concentración de taninos condensados.

Tabla 18. Valores medios de los parámetros polifenólicos en función del formato de madera utilizado

Frangmentos de madera	IPT		Pol (mg/L)		Ant (mg/L)		Tan cond (mg/l)	
	MEDIA	DS	MEDIA	DS	MEDIA	DS	MEDIA	DS
Testigo	45,56 ± 2,84	a	2687,33 ± 90,10	a	302,19 ± 141,43	a	1951,00 ± 299,91	a
Chips	47,11 ± 4,48	a	2814,72 ± 123,94	b	337,52 ± 127,82	ab	2023,63 ± 243,14	a
Cubos	46,83 ± 3,77	a	2771,43 ± 132,81	b	342,58 ± 138,31	b	2031,16 ± 192,97	a
Duelas	46,74 ± 3,88	a	2729,58 ± 176,53	ab	346,58 ± 138,34	b	2025,12 ± 212,17	a
F-ratio	0,83		3,75		7,56		1,02	
P-value	0,0645		0,0593		0,0327		0,5421	

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas al 95%.

En la tabla 19 se recogen las medias de los valores de los parámetros relacionados con la calidad de los taninos agrupados en función al formato de los fragmentos de la madera. Curiosamente y contrario a los esperado, los formatos de madera no tuvieron efecto alguno en los vinos en términos del favorecimiento de la fijación del color (índice de PVPP), así como tampoco para la polimerización de taninos con taninos (índice de DMACH) ni taninos con polisacáridos, péptidos ni sales. Estos resultados resultan contradictorios con lo estudiado por Gortzi *et al.*, 2013 y Wu *et al.*, 2017, quienes observaron aumentos en los índices de PVPP y DMACH para chips de roble, considerando válidos sus resultados, debido a que los fragmentos de madera liberan taninos hidrolizables, los cuales serían capaces de producir uniones con otros taninos, aumentando el grado de polimerización, o con antocianos para la fijación del color.

Tabla 19. Valores medios de los parámetros polifenólicos en función del formato de madera utilizado

Frangmentos de madera	IPVPP		I.DMACH		I.ETANOL	
	MEDIA	DS	MEDIA	DS	MEDIA	DS
Testigo	26,78 ± 5,56	a	34,75 ± 3,22	a	47,68 ± 9,53	a
Chips	25,20 ± 5,01	a	32,23 ± 7,75	a	51,27 ± 5,36	a
Cubos	25,01 ± 5,35	a	32,20 ± 6,04	a	50,39 ± 8,18	a
Duelas	26,36 ± 5,20	a	31,79 ± 4,72	a	51,79 ± 5,98	a
F-ratio	1,19		0,80		0,21	
P-value	0,6452		0,4968		0,8971	

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas al 95%.

En la tabla 20 se recogen las medias de los valores de los parámetros relacionados con el color agrupados en función a la aplicación de microoxigenación, siendo con acetaldehído equivalente a la aplicación de microoxigenación y sin acetaldehído equivalente a la no aplicación de microoxigenación. Como era de esperar, el tratamiento con acetaldehído aumentó la IC, estadísticamente gracias a un aumento de la contribución del amarillo en la medida, debido a que los colores rojo y azul no presentaron diferencia significativa entre los tratamientos. Por otra parte, se observa un aumento significativo en el tono de los vinos microoxigenados, gracias al aumento del color amarillo. Estos resultados se encuentran dentro de lo esperado, porque según Baca-Bocanegra *et al.*, 2018; Lukić *et al.*, 2017 y Wu *et al.*, 2017, la aplicación de una MOx al vino durante la crianza tiende a favorecer las uniones de antocianos con taninos, formando compuestos que contribuyen al color, que además poco susceptibles a los cambios de pH y presencia de SO₂.

Tabla 20. Valores medios de los parámetros relacionados con el color en función a la aplicación de microoxigenación

Microoxigenación	A420		A520		A620		IC		Tono	
	MEDIA	DS	MEDIA	DS	MEDIA	DS	MEDIA	DS	MEDIA	DS
Con acetaldehído	2,99 ± 0,33	b	3,88 ± 0,53	a	0,88 ± 0,12	a	7,75 ± 0,95	b	77,54 ± 5,76	b
Sin acetaldehído	2,72 ± 0,66	a	3,78 ± 0,72	a	0,80 ± 0,22	a	7,30 ± 1,58	a	71,47 ± 6,84	a
F-ratio	11,23		1,16		1,94		5,02		36,89	
P-value	0,0010		0,2823		0,0786		0,0364		0,0000	

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas al 95%.

En la tabla 21 se recogen las medias de los valores de los parámetros relacionados con la concentración de polifenoles en función a la aplicación de microoxigenación.

Tabla 21. Valores medios de los parámetros polifenólicos en función a la aplicación de microoxigenación

Microoxigenación	IPT		Pol (mg/L)		Ant (mg/L)		Tan cond (mg/l)	
	MEDIA	DS	MEDIA	DS	MEDIA	DS	MEDIA	DS
Con acetaldehído	45,90 ± 4,16	a	2762,76 ± 62,12	a	322,97 ± 100,04	a	2123,10 ± 143,18	b
Sin acetaldehído	47,68 ± 3,36	a	2770,70 ± 193,32	a	358,07 ± 151,58	a	1906,99 ± 211,12	a
F-ratio	2,53		0,75		2,09		30,92	
P-value	0,0625		0,7470		0,0809		0,0000	

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas al 95%.

En base a lo que se puede observar en la tabla 21, podemos decir que a pesar de no haber diferencias significativas en casi todos los parámetros medidos para la determinación de polifenoles, los taninos condensados muestran una diferencia significativa respecto al tratamiento sin acetaldehído, este resultado es consistente con estudios de otros autores quienes observaron que la microoxigenación durante la crianza de los vinos es positiva y fomenta la condensación de los taninos (González-Neves *et al.*, 2014; Gambuti *et al.*, 2017; Hatice Kalkan and Dünder, 2017; Picariello *et al.*, 2017).

En la tabla 22 se recogen las medias de los valores de los parámetros relacionados con la calidad de los

taninos agrupados en función a la aplicación de microoxigenación. Vemos que el tratamiento con acetaldehído tuvo en efecto positivo sobre la concentración de combinaciones antociano-tanino, de acuerdo con la diferencia significativa encontrada para el índice de PVPP. Respecto al índice DMACH y etanol, al no haber diferencias significativas para el índice de etanol, pero sí para el DMACH, se puede inferir que el tratamiento con microoxigenación afectó positivamente el grado de polimeración de los taninos, pero dicha polimeración no se produjo con polisacáridos, péptidos ni sales.

Tabla 22. Valores medios de los parámetros polifenólicos en función a la aplicación de microoxigenación

Microoxigenación	IPVPP		I.DMACH		I.ETANOL	
	MEDIA	DS	MEDIA	DS	MEDIA	DS
Con acetaldehído	26,48 ± 4,81	b	41,80 ± 8,07	a	49,31 ± 4,38	a
Sin acetaldehído	23,75 ± 4,96	a	22,79 ± 6,36	b	52,87 ± 3,88	a
F-ratio	4,76		10,39		4,24	
P-value	0,0270		0,0015		0,0412	

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas al 95%.

5 CONCLUSIONES

1. Tal como era de esperar, los vinos de Bobal elaborados por el método de sangrado presentan menor color, menor concentración de polifenoles, de taninos y de antocianos, que los vinos elaborados tradicionalmente, aunque tienen un porcentaje más elevado de antocianos ligados a azúcares que los hace más resistentes a la oxidación y decoloración, por lo que estos antocianos serán más estables en el tiempo.
2. Los vinos elaborados por sangrado poseen una concentración mucho más elevada de compuestos de todas las familias aromáticas aromáticos, tanto de alcoholes superiores como de ésteres y acetatos, y de terpenos, norisoprenoides y aldehídos fenólicos, compuestos muy favorables para la calidad organoléptica de los vinos.
3. Al final del periodo de conservación con las alternativas a la madera, los vinos de sangrado siguen presentando menos color y menores concentraciones de compuestos polifenólicos, pero las diferencias con los vinos de sangrado son menores que al final de la fermentación, lo que puede ser atribuido a una mayor estabilidad de los compuestos polifenólicos ocasionada por la extracción a bajas temperaturas durante la técnica del sangrado.
4. No se observan diferencias en el color de los vinos en función de las características de la madera de roble utilizada en las alternativas con respecto a los vinos testigo, pero sí un incremento de la concentración de polifenoles ocasionado por el aporte de los derivados de la madera al vino. No hay diferencias, en cambio, en función de que la madera presente características de afrutado, vainillado o especiado.
5. El formato de los fragmentos de madera no afecta a la intensidad colorante, pero sí al tono, que fue inferior en los vinos tratados con el formato duela. Todos los tipos de fragmento incrementaron la concentración de polifenoles y mantuvieron más estable el color, pero no afectaron al estado de polimerización de los taninos del vino.
6. Como era de esperar, el tratamiento con acetaldehído aumentó el color de los vinos, la contribución del amarillo al color, el tono, la unión de antocianos con taninos, y la polimerización de los taninos entre sí, dando lugar a moléculas más estables que permiten mantener más tiempo el color y la estructura de los vinos.
7. A la vista de los resultados obtenidos, podemos decir que la maceración con sangrado da lugar a vinos con menos color y estructura más ligera, pero con una concentración aromática muy superior, y que si estos vinos se someten a conservación en presencia de alternativas al roble incrementarán su estructura, y si además se aporta microoxigenación sufrirán un incremento de la estabilidad de sus compuestos polifenólicos por potenciarse mediante esta técnica las reacciones de polimerización de sus polifenoles.

6 BIBLIOGRAFÍA

- Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC-CNM). (2013). *Roadmap Sector 3: Implementation of Microsystems in the Wine & Beer Sector*. Retrieved from <http://www.foodmicrosystems.eu/wp-content/uploads/FoodMicroSystems-D4.4.pdf>
- Aguilar Solis, M. de L. A., Gadoury, D. M., & Worobo, R. W. (2016). An In vitro and In vivo Evaluation of Peroxyacetic Acid as an Alternative Sanitizer for Wine Barrels. *Ciencia e Tecnica Vitivinicola*, 31(1), 41–50. <https://doi.org/10.1051/ctv/20163101041>
- Alar, V., Runje, B., Ivušić, F., Horvatić, A., & Mihaljević, M. (2016). Metalurgija : časopis Fakulteta, instituta i željezare Sisak. *Metallurgy*, 55(3), 437–440. Retrieved from <https://hrcak.srce.hr/153641>
- Antonaros, A. (2000). *La grande storia del vino*. (Edizioni Pendragon, Ed.). Bologna: Pendragon. Retrieved from <https://books.google.com/books?id=C0CAgodadfoC&pgis=1>
- Baca-Bocanegra, B., Nogales-Bueno, J., Heredia, F. J., & Hernández-Hierro, J. M. (2018). Influence of oak wood chips–grape mix maceration on the extraction of anthocyanins from low-extractable anthocyanin content red grapes. *European Food Research and Technology*, 244(4), 729–734. <https://doi.org/10.1007/s00217-017-2999-7>
- Beltrán Roca, P. J. (2017, September 21). *Análisis del impacto económico de la reforma de la OCM-Vitivinícola en la comarca Utiel-Requena*. Universitat Politècnica de València, Valencia (Spain). <https://doi.org/10.4995/Thesis/10251/90492>
- Berbegal, C., Spano, G., Fragasso, M., Grieco, F., Russo, P., & Capozzi, V. (2018). Starter cultures as biocontrol strategy to prevent *Brettanomyces bruxellensis* proliferation in wine. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(2), 569–576. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8666-x>
- Blouin, J. (1972). *Manuel pratique d'analyses des moûts et des vins*. Chambre d'agriculture Gironde. Retrieved from <https://babordplus.u-bordeaux.fr/notice.php?q=id:1027779>
- Blouin, J. (1992). *Techniques d'analyses des moûts et des vins*. (Dujardin-Salleron, Ed.). Dujardin-Salleron. Retrieved from <https://books.google.com/books?id=GHCzcQAACAAJ>
- Boido, E., Alcalde-Eon, C., Carrau, Francisco; Dellacassa, E. and, & Rivas-Gonzalo, J. C. (2006). Aging Effect on the Pigment Composition and Color of *Vitis vinifera* L. Cv. Tannat Wines. Contribution of the Main Pigment Families to Wine Color. <https://doi.org/10.1021/JF061240M>
- Buesa Pueyo, I., Pérez, D. ., Yeves, A. ., Sanz, F. ., Chirivella Romero, C., & Intrigliolo Molina, D. S. (2016). Poda tardía en Bobal y Tempranillo para retrasar el ciclo fenológico: respuesta agronómica y enológica. *II Jornadas de Viticultura : Comunicaciones Técnicas : Madrid, 3-4 de Noviembre de 2016, 2016, ISBN 978-84-617-6515-7, Págs. 373-377, 373–377*. Retrieved from <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6026534>
- Cerda-Drago, T. G., Agosin, E., & Pérez-Correa, J. R. (2016). Modelling the oxygen dissolution rate during oenological fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, 106, 97–106. <https://doi.org/10.1016/J.BEJ.2015.10.014>
- Choi, S., Maul, S., Stewart, A., Hamilton, H. R., & P. Douglas, E. (2013). Effect of silane coupling agent on the durability of epoxy adhesion for structural strengthening applications. *Polymer Engineering & Science*, 53(2), 283–294. <https://doi.org/10.1002/pen.23261>
- Ciani, M., & Comitini, F. (2014). *Brettanomyces*. In C. A. . Batt & M.-L. Tortillouy (Eds.), *Encyclopedia of Food Microbiology* (2nd Editio, pp. 316–323). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730->

0.00046-X

- Costantini, A., Vaudano, E., Cravero, M. C., Petrozziello, M., Piano, F., Bernasconi, A., & Garcia-Moruno, E. (2016). Dry ice blasting, a new tool for barrel regeneration treatment. *European Food Research and Technology*, 242(10), 1673–1683. <https://doi.org/10.1007/s00217-016-2667-3>
- Darriet, P., & Pons, A. (2017). Wine. In *Springer Handbook of Odor* (pp. 25–26). Cham: Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-26932-0_8
- Delso Martínez, M. (2014). *Estudio de la influencia del depósito ovoide de hormigón en la elaboración y evolución de vinos blancos*. Universidad de la Rioja. Retrieved from https://biblioteca.unirioja.es/tfe_e/TFE000985.pdf
- DO Utiel-Requena. (2016). MEMORIA ANUAL 2016. Requena: DO Utiel-Requena. Retrieved from https://utielrequena.org/wp-content/uploads/2015/03/MEMORIA_WEB2.pdf
- Dumitriu, G.-D., de Lerma, N. L., Cotea, V. V., Zamfir, C.-I., & Peinado, R. A. (2016). Effect of aging time, dosage and toasting level of oak chips on the color parameters, phenolic compounds and antioxidant activity of red wines (var. Fetească neagră). *European Food Research and Technology*, 242(12), 2171–2180. <https://doi.org/10.1007/s00217-016-2714-0>
- Dumitriu, G.-D., López de Lerma, N., Zamfir, C.-I., Cotea, V. V., & Peinado, R. A. (2017). Volatile and phenolic composition of red wines subjected to aging in oak cask of different toast degree during two periods of time. *LWT*, 86, 643–651. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2017.08.057>
- Durner, D., Nickolaus, P., Weber, F., Trieu, H.-L., & Fischer, U. (2015, January). Evolution of Anthocyanin-Derived Compounds during Micro-Oxygenation of Red Wines with Different Anthocyanin-Flavanol Ratios. In S. B. Ebeler, G. Sacks, S. Vidal, & P. Winterhalter (Eds.), *American Chemical Society Symposium Series - Advances in Wine Research* (pp. 253–274). Washington, DC: American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/bk-2015-1203.ch016>
- Fayos Gardó, T., & Calderón García, H. (2013). REVESCO : revista de estudios cooperativos. *REVESCO: Revista de Estudios Cooperativos*, ISSN 1135-6618, Nº. 111, 2013, Págs. 32-59, (111), 32–59. https://doi.org/http://dx.doi.org/10.5209/rev_REVE.2013.v111.42675
- Fernández de Simón, B., Cadahía, E., Muiño, I., Álamo, M. Del, & Nevares, I. (2010). *American journal of enology and viticulture*. *American Journal of Enology and Viticulture* (Vol. 46). American Society of Enologists. Retrieved from <http://www.ajevonline.org/content/61/2/157.short>
- Fras, P., Campos, F. M., Hogg, T., & Couto, J. A. (2014). Production of volatile phenols by *Lactobacillus plantarum* in wine conditions. *Biotechnology Letters*, 36(2), 281–285. <https://doi.org/10.1007/s10529-013-1351-y>
- Gabriel, A. A., Ballesteros, M. L. P., Rosario, L. M. D., Tumlos, R. B., & Ramos, H. J. (2018). Elimination of *Salmonella enterica* on common stainless steel food contact surfaces using UV-C and atmospheric pressure plasma jet. *Food Control*, 86, 90–100. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2017.11.011>
- Gambutì, A., Rinaldi, A., Ugliano, M., & Moio, L. (2013). Evolution of Phenolic Compounds and Astringency during Aging of Red Wine: Effect of Oxygen Exposure before and after Bottling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(8), 1618–1627. <https://doi.org/10.1021/jf302822b>
- Gambutì, A., Siani, T., Picariello, L., Rinaldi, A., Lisanti, M. T., Ugliano, M., ... Moio, L. (2017). Oxygen exposure of tannins-rich red wines during bottle aging. Influence on phenolics and color, astringency markers and sensory attributes. *European Food Research and Technology*, 243(4), 669–680. <https://doi.org/10.1007/s00217-016-2780-3>

- García-Carpintero, E. G., Sánchez-Palomo, E., & González-Viñas, M. A. (2011). Aroma characterization of red wines from cv. Bobal grape variety grown in La Mancha region. *Food Research International*, 44(1), 61–70. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.11.013>
- Giner Gonzálbez, J. F. (2016). *Análisis foliar, interpretación y obtención de las normas DRIS para la Viticultura de la comarca Utiel-Requena. Estudio de sus relaciones con los parámetros que caracterizan su aptitud enológica*. Universitas Miguel Hernández. Retrieved from <http://www.tdx.cat/handle/10803/406574>
- Glories, Y. (1978). *Recherches sur la matière colorante des vins rouges*. Université de Bordeaux II. <https://doi.org/1978BOR20018>
- Glories, Y. (1984a). La couleur des vins rouges. 2e partie : mesure, origine et interprétation. *OENO One*, 18(4), 253. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.1984.18.4.1744>
- Glories, Y. (1984b). La couleur des vins rouges. Ire partie : les équilibres des anthocyanes et des tanins. *OENO One*, 18(3), 195. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.1984.18.3.1751>
- Gómez Pérez, A. (2015, January 25). *Efecto de la Microoxigenación, la Crianza Sobre Lias y la Adición de Preparados de Levadura Seca Inactiva, en la Composición Polifenólica de los Vinos Tintos de Bobal*. Universitat Politècnica de València, Valencia (Spain). <https://doi.org/10.4995/Thesis/10251/62186>
- González-Neves, G., Gil, G., Favre, G., & Piccardo, D. (2014). Efecto de la microoxigenación en contacto con duelas de madera sobre el color de vinos tintos. In *37th World Congress of Vine and Wine and 12th General Assembly of the OIV* (p. 06004). Les Ulis, France: EDP Sciences. <https://doi.org/10.1051/oivconf/201406004>
- González Quiroga, I. (2015). *Proyecto de edificación de una bodega de elaboración, crianza y embotellado de vino tinto con Denominación de Origen Ribera del Duero en Peñafiel (Valladolid)*. Universidad de Valladolid. Retrieved from <http://uvadoc.uva.es/handle/10324/11148>
- Gortzi, O., Metaxa, X., Mantanis, G., & Lalas, S. (2013). Effect of artificial ageing using different wood chips on the antioxidant activity, resveratrol and catechin concentration, sensory properties and colour of two Greek red wines. *Food Chemistry*, 141(3), 2887–2895. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2013.05.051>
- Han, G., Webb, M. R., Richter, C., Parsons, J., & Waterhouse, A. L. (2017). Yeast alter micro-oxygenation of wine: oxygen consumption and aldehyde production. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(11), 3847–3854. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8252>
- Hatice Kalkan, Y., & Dündar, E. (2017). New techniques for wine aging. *BIO Web of Conferences*, 9, 02012. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20170902012>
- Hernández-Orte, P., Franco, E., Huerta, C. G., García, J. M., Cabellos, M., Suberviola, J., ... Cacho, J. (2014). Criteria to discriminate between wines aged in oak barrels and macerated with oak fragments. *Food Research International*, 57, 234–241. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.01.044>
- Hommel, R. K. (2014). Acetobacter. In C. A. . Batt & M.-L. Tortello (Eds.), *Encyclopedia of Food Microbiology* (2nd Editio, pp. 3–10). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00001-X>
- Laurie, V. F., Salazar, S., Campos, M. I., Caceres-Mella, A., & Pena-Neira, A. (2014). Periodic Aeration of Red Wine Compared to Microoxygenation at Production Scale. *American Journal of Enology and Viticulture*, 65(2), 254–260. <https://doi.org/10.5344/ajev.2014.13105>
- Li, S., Jones, B., Thorpe, R., & Davis, M. (2016). An investigation into the thermal conductivity of hydrating sprayed concrete. *Construction and Building Materials*, 124, 363–372.

<https://doi.org/10.1016/J.CONBUILDMAT.2016.07.091>

- Liebermann, A., Roos, M., & Stawarczyk, B. (2017). The Effect of Different Storage Media on Color Stability of Self-Adhesive Composite Resin Cements for up to One Year. *Materials*, *10*(3), 300. <https://doi.org/10.3390/ma10030300>
- López García, R. C. (2016, January 15). *Evaluación de diferentes métodos de maceración aplicados a la mejora de la calidad de vinos tintos de la variedad Bobal a partir de los valores de su composición polifenólica y sensorial, procesados mediante técnicas de análisis multicriterio*. Universitat Politècnica de València, Valencia (Spain). <https://doi.org/10.4995/Thesis/10251/61495>
- López Peidro, J. (2014). *Estudio comparativo de las características de los racimos de los cultivares bobal y macabeo en la comarca de Utiel-Requena (Valencia)*. Universitat Politècnica de València. Retrieved from <https://riunet.upv.es/handle/10251/39694>
- Lukić, I., Budić-Leto, I., Bubola, M., Damijanić, K., & Staver, M. (2017). Pre-fermentative cold maceration, saignée, and various thermal treatments as options for modulating volatile aroma and phenol profiles of red wine. *Food Chemistry*, *224*, 251–261. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2016.12.077>
- Madero y Madero, S. (2016). *Desempeño de las bodegas cooperativas de Castilla-La Mancha en etapas de expansión y crisis*. Universidad de Castilla-La Mancha. Retrieved from <https://ruidera.uclm.es/xmlui/handle/10578/9791>
- Malfeito-Ferreira, M. (2014). WINES | Wine Spoilage Yeasts and Bacteria. In C. A. Batt & M.-L. Tortellou (Eds.), *Encyclopedia of Food Microbiology* (2nd Editio, pp. 805–810). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00390-6>
- Martinez-Ramirez, S., Zamarad, A., Thompson, G. E., & Moore, B. (2002). Organic and inorganic concrete under SO₂ pollutant exposure. *Building and Environment*, *37*(10), 933–937. [https://doi.org/10.1016/S0360-1323\(01\)00065-8](https://doi.org/10.1016/S0360-1323(01)00065-8)
- Medel-Marabolí, M., Romero, J. L., Obrique-Slier, E., Contreras, A., & Peña-Neira, A. (2017). Effect of a commercial tannin on the sensorial temporality of astringency. *Food Research International*, *102*, 341–347. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2017.09.099>
- Mierczynska-Vasilev, A., & Smith, P. A. (2015). Current state of knowledge and challenges in wine clarification. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, *21*, 615–626. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12198>
- Monteagudo Robles, A. (2013). *Evolución de un vino tinto de tempranillo conservado en diferentes depósitos y barricas*. (M. J. García-a Esparza & M. I. Álvarez Cano, Eds.). Universidad Politécnica de Valencia, Valencia.
- Morais, R., Peres, E., Boaventura-Cunha, J., Mendes, J., Cosme, F., & Nunes, F. M. (2018). Distributed monitoring system for precision enology of the Tawny Port wine aging process. *Computers and Electronics in Agriculture*, *145*(September 2017), 92–104. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2017.12.019>
- Münchow, E. A., Ferreira, A. C. A., Machado, R. M. M., Ramos, T. S., Rodrigues-Junior, S. A., & Zanchi, C. H. (2014). Effect of acidic solutions on the surface degradation of a micro-hybrid composite resin. *Brazilian Dental Journal*, *25*(4), 321–326. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25250496>
- Muñoz Moreno, A. (2009). *Geología y vinos de España*. Ilustre Colegio Oficial de Geólogos.
- Nagel, C. W.; Glories, Y. (1991). Use of a Modified Dimethylaminocinnamaldehyde Reagent for Analysis

- of Flavonols. *American Journal of Enology and Viticulture*, 42(4), 364–366. Retrieved from <http://www.ajevonline.org/content/42/4/364>
- Navarro, M., Kontoudakis, N., Canals, J. M., García-Romero, E., Gómez-Alonso, S., Zamora, F., & Hermosín-Gutiérrez, I. (2017). Improved method for the extraction and chromatographic analysis on a fused-core column of ellagitannins found in oak-aged wine. *Food Chemistry*, 226, 23–31. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.043>
- Navarro, M., Kontoudakis, N., Giordanengo, T., Gómez-Alonso, S., García-Romero, E., Fort, F., ... Zamora, F. (2016). Oxygen consumption by oak chips in a model wine solution; Influence of the botanical origin, toast level and ellagitannin content. *Food Chemistry*, 199, 822–827. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.12.081>
- Navarro, M., Kontoudakis, N., Gómez-Alonso, S., García-Romero, E., Canals, J. M., Hermosín-Gutiérrez, I., & Zamora, F. (2016). Influence of the botanical origin and toasting level on the ellagitannin content of wines aged in new and used oak barrels. *Food Research International*, 87, 197–203. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.07.016>
- Nevares, I., & del Alamo-Sanza, M. (2018). New Materials for the Aging of Wines and Beverages: Evaluation and Comparison. In A. Mihai Grumezescu & A. Maria Holban (Eds.), *Food Packaging and Preservation* (Vol. 9, pp. 375–407). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811516-9.00011-7>
- Neves, R., da Fonseca, B. S., Branco, F., de Brito, J., Castela, A., & Montemor, M. F. (2015). Assessing concrete carbonation resistance through air permeability measurements. *Construction and Building Materials*, 82, 304–309. <https://doi.org/10.1016/J.CONBUILDMAT.2015.02.075>
- Nieto Domínguez, A. (2015, September 2). *Estudio del proceso de maduración de la uva Bobal procedente de tratamientos de poda de raíces, variaciones en la inclinación de las espaldas y estrés hídrico*. Universitat Politècnica de València. Retrieved from <https://riunet.upv.es/handle/10251/54204>
- Oberholster, A., Elmendorf, B. L., Lerno, L. A., King, E. S., Heymann, H., Breneman, C. E., & Boulton, R. B. (2015). Barrel maturation, oak alternatives and micro-oxygenation: Influence on red wine aging and quality. *Food Chemistry*, 173, 1250–1258. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2014.10.043>
- Ortega, C., López, R., Cacho, J., & Ferreira, V. (2001). Fast analysis of important wine volatile compounds: Development and validation of a new method based on gas chromatographic–flame ionisation detection analysis of dichloromethane microextracts. *Journal of Chromatography A*, 923(1–2), 205–214. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)00972-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)00972-4)
- Pascual Insa, J. (2016, November 4). *Desarrollo de un nuevo material biodegradable para el sector agrario basado en ácido poliláctico reforzado con gluten y aceite de linaza epoxidado como plastificante*. Universitat Politècnica de València. Retrieved from <https://riunet.upv.es:443/handle/10251/73277>
- Peidró Montaner, M. J. (2016, January 26). *Estudio de la Composición de Vinos de Tempranillo y Cabernet Sauvignon Fermentados y Conservados en Hormigón, Acero Inoxidable y Barricas*. Universitat Politècnica de València, Valencia. <https://doi.org/10.4995/Thesis/10251/62204>
- Pérez-Juan, P. M., & Luque de Castro, M. D. (2015). Use of Oak Wood to Enrich Wine with Volatile Compounds. In *Processing and Impact on Active Components in Food* (pp. 471–481). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-404699-3.00057-3>
- Picariello, L., Gambuti, A., Picariello, B., & Moio, L. (2017). Evolution of pigments, tannins and acetaldehyde during forced oxidation of red wine: Effect of tannins addition. *LWT - Food Science and Technology*, 77, 370–375. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2016.11.064>

- Pizarro, C., Rodríguez-Tecedor, S., Esteban-Díez, I., Pérez-Del-Notario, N., & González-Sáiz, J. M. (2014). Experimental design approach to evaluate the impact of oak chips and micro-oxygenation on the volatile profile of red wines. *Food Chemistry*, *148*, 357–366. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.039>
- Prosser-Snelling, E., & Morris, E. (2017). Quality Indicators. *Obstetrics, Gynaecology and Reproductive Medicine*, *27*(9), 290–292. <https://doi.org/10.1016/j.ogrm.2017.06.008>
- Quaglieri, C., Jourdes, M., Waffo-Teguo, P., & Teissedre, P. L. (2017). Updated knowledge about pyranoanthocyanins: Impact of oxygen on their contents, and contribution in the winemaking process to overall wine color. *Trends in Food Science and Technology*, *67*, 139–149. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.07.005>
- Ramakrishnan, G., Wu, Q., Moon, J., & Orlov, A. (2017). Reactions of SO₂ on hydrated cement particle system for atmospheric pollution reduction: A DRIFTS and XANES study. *Chemical Engineering Journal*, *319*, 57–64. <https://doi.org/10.1016/J.CEJ.2017.02.135>
- Real Academia Española (RAE). (2017). Calidad. In *Real Academia Española*. Retrieved from <http://dle.rae.es/?id=6nVpk8P%7C6nXVL1Z>
- Reddy, M. P., William, A. A. S., Prashanth, M. M., Kumar, S. N. S., Ramkumar, K. D., Arivazhagan, N., & Narayanan, S. (2014). Assessment of Mechanical Properties of AISI 4140 and AISI 316 Dissimilar Weldments. *Procedia Engineering*, *75*, 29–33. <https://doi.org/10.1016/J.PROENG.2013.11.006>
- Ribéreau-Gayón, J; Peynaud, E; Sudraud, J; Ribéreau-Gayón, P. (1972). *Traité d'oenologie -Sciences et techniques du Vin, tome 1: Analyse et contrôle des Vin*. Paris.
- Riberéau-Gayon, P. (1974). *Chemistry of Winemaking*. (A. D. Webb, Ed.) (Vol. 137). WASHINGTON, D. C.: AMERICAN CHEMICAL SOCIETY. <https://doi.org/10.1021/ba-1974-0137>
- Salvoldi, B. G., Beushausen, H., & Alexander, M. G. (2015). Oxygen permeability of concrete and its relation to carbonation. *Construction and Building Materials*, *85*, 30–37. <https://doi.org/10.1016/J.CONBUILDMAT.2015.02.019>
- Sánchez Diana, N. (2008, July 28). *Influencia de diferentes factores agrológicos y tecnológicos sobre la mejora de la calidad de los vinos tintos de bobal*. Riunet. Universitat Politècnica de València, Valencia (Spain). <https://doi.org/10.4995/Thesis/10251/3306>
- Smith, B. D., & Divol, B. (2016). *Brettanomyces bruxellensis*, a survivalist prepared for the wine apocalypse and other beverages. *Food Microbiology*, *59*, 161–175. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.06.008>
- Stoica, M. (2018). Sustainable Sanitation in the Food Industry - Improving Production and Processing. In C. M. Galanakis (Ed.), *Sustainable Food Systems from Agriculture to Industry* (pp. 309–339). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811935-8.00009-3>
- Sun, X., Li, L., Ma, T., Zhao, F., Yu, D., Huang, W., & Zhan, J. (2016). High hydrostatic pressure treatment: An artificial accelerating aging method which did not change the region and variety non-colored phenolic characteristic of red wine. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, *33*, 123–134. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.10.017>
- Sun, Y., Gao, P., Geng, F., Li, H., Zhang, L., & Liu, H. (2017). Thermal conductivity and mechanical properties of porous concrete materials. *Materials Letters*, *209*, 349–352. <https://doi.org/10.1016/J.MATLET.2017.08.046>
- Tao, Y., García, J. F., & Sun, D. W. (2014). Advances in Wine Aging Technologies for Enhancing Wine Quality and Accelerating Wine Aging Process. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *54*(6),

817–835. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.609949>

- Tasdemir, C., Sengul, O., & Tasdemir, M. A. (2017). A comparative study on the thermal conductivities and mechanical properties of lightweight concretes. *Energy and Buildings*, *151*, 469–475. <https://doi.org/10.1016/J.ENBUILD.2017.07.013>
- Toledo, J., Ruiz-Díez, V., Pfusterschmied, G., Schmid, U., & Sánchez-Rojas, J. L. (2018). Flow-through sensor based on piezoelectric MEMS resonator for the in-line monitoring of wine fermentation. *Sensors and Actuators B: Chemical*, *254*, 291–298. <https://doi.org/10.1016/J.SNB.2017.07.096>
- Tonnellerie Radoux. (2008). *Manual de uso y mantenimiento de tinas y « foudres »*. Jonzac, France. Retrieved from <http://www.prowines.cl/assets/files/productos/cubas-Manual-uso-foudres.pdf>
- Vivai Cooperativi Rauscedo (VCR). (2013). VCR Catalogue. Retrieved from <http://www.vivairauscedo.com/calameo/?bkcode=00121961998fee83357c5&authid=hyvxxza82pg2>
- Vivas, N., Glories, Y., Lagune, L., Cédric, S., & Augustin, M. (1994). Estimation du degré de polymérisation des procyanidines du raisin et du vin par la méthode au α -diméthylaminocinnamaldéhyde. *OENO One*, *28*(4), 319. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.1994.28.4.1138>
- Wei, J., Zhao, L., Zhang, Q., Nie, Z., & Hao, L. (2018). Enhanced thermoelectric properties of cement-based composites with expanded graphite for climate adaptation and large-scale energy harvesting. *Energy and Buildings*, *159*, 66–74. <https://doi.org/10.1016/J.ENBUILD.2017.10.032>
- Williams, D. F., Kellar, E. J. C., Jesson, D. A., & Watts, J. F. (2017). Surface analysis of 316 stainless steel treated with cold atmospheric plasma. *Applied Surface Science*, *403*, 240–247. <https://doi.org/10.1016/J.APSUSC.2017.01.150>
- Wu, Y., Xing, K., Zhang, X., Wang, H., Wang, F., Wang, Y., & Li, J. (2017). Effect of pre-fermentation saignée treatment on phenolic compound profile in wine made of Cabernet Sauvignon. *Journal of Food Biochemistry*, *41*(4), e12380. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12380>
- Xiong, Y., Yue, Y., Lu, Y., He, T., Fan, M., Ren, F., & Cao, W. (2018). Cryorolling impacts on microstructure and mechanical properties of AISI 316 LN austenitic stainless steel. *Materials Science and Engineering: A*, *709*, 270–276. <https://doi.org/10.1016/J.MSEA.2017.10.067>
- Yang, Y., & Busby, J. T. (2014). Thermodynamic modeling and kinetics simulation of precipitate phases in AISI 316 stainless steels. *Journal of Nuclear Materials*, *448*(1–3), 282–293. <https://doi.org/10.1016/J.JNUCMAT.2014.02.008>
- Zhang, W., Min, H., Gu, X., Xi, Y., & Xing, Y. (2015). Mesoscale model for thermal conductivity of concrete. *Construction and Building Materials*, *98*, 8–16. <https://doi.org/10.1016/J.CONBUILDMAT.2015.08.106>

7 ANEXOS

7.1 DOSIFICACIÓN DE MICROOXIGENACIÓN

Para suministrar la MOx durante el ensayo, se utilizaron 3 mL O₂ por litro al mes, por tanto, para realizar la aplicación se utilizará una solución de acetaldehído (MeCHO). El cálculo para esta disolución se muestra como sigue:

$$\text{Dosis Total} = \frac{3 \text{ mL O}_2}{\text{L x mes}} \Leftrightarrow \frac{4'29 \text{ mg O}_2}{\text{L x Mes}} \quad (1)$$

Por otra parte, sí:

$$\begin{aligned} 32 \text{ g O}_2 &\Leftrightarrow 22'4 \text{ L O}_2 \\ &\Downarrow \\ 32.000 \text{ mg O}_2 &\Leftrightarrow 22.400 \text{ mL O}_2 \quad (2) \end{aligned}$$

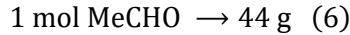
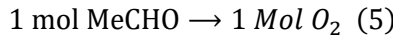
$$\therefore 1 \text{ mg O}_2 = 0.7 \text{ mL O}_2 \quad (3)$$

$$1'430 \text{ mg O}_2 = 1 \text{ mL O}_2 \quad (4)$$

Entonces, utilizando (1) -> (2) calculamos los moles totales a aplicar durante el tratamiento:

$$\text{Dosis Total} = \frac{1 \text{ mol O}_2 \times 4'290 \text{ mg O}_2}{32.000 \text{ mg O}_2} = 1.340 \times 10^{-4} \left[\frac{\text{mol O}_2}{\text{L x Mes}} \right] \quad (5)$$

Por otra parte, considerando:



Entonces, utilizando (6) -> (5) calculamos la cantidad de acetaldehído a utilizar:

$$\frac{44 \text{ g MeCHO} \times 1'34 \times 10^{-4}}{1 \text{ mol MeCHO}} = 5'899 \times 10^{-3} \text{ g MeCHO}$$

Considerando $\rho_{4^\circ\text{C}} = 782 \left[\frac{\text{g}}{\text{L}} \right]$ para el acetaldehído, entonces:

$$x = 7'540 \times 10^{-3} \left[\frac{\text{mL}}{\text{L x Mes}} \right]$$

\therefore deben ser aplicados $7'540 \times 10^{-3}$ mL de Acetaldehído por Litro al mes. Por tanto, si se han de aplicar 8 dosis:

$$\frac{7'540 \times 10^{-3} \left[\frac{\text{mL}}{\text{L x Mes}} \right]}{8 \left[\frac{\text{Dosis}}{\text{Mes}} \right]} = 9'425 \times 10^{-4} \left[\frac{\text{mL}}{\text{L x Dosis}} \right] \Leftrightarrow 0'942 \left[\frac{\mu\text{L}}{\text{L x Dosis}} \right]$$

Considerando que las botellas contienen 0'750 L cada una. Entonces:

$$\frac{0'942 \left[\frac{\mu\text{L}}{\text{Dosis x L}} \right] \times 0'75 \text{ L}}{1 \text{ L}} = 0'706 \left[\frac{\mu\text{L}}{\text{Dosis x 0'750L}} \right]$$

Finalmente, la dosis a aplicar de acetaldehído a cada botella de 0'750 L, con el objetivo de aplicar $3 \left[\frac{\text{mL O}_2}{\text{L x Mes}} \right]$, será de 0'706 μL .

Para la aplicación del acetaldehído, se utilizará una disolución de 25 mL, dónde al aplicar 20 μL de ésta se estará aplicando la dosis requerida, por tanto:

$$\frac{0'706 \left[\frac{\mu\text{L}}{\text{Dosis x 0'750L}} \right] \times (25 \times 10^3) [\mu\text{L}]}{20 \left[\frac{\mu\text{L}}{\text{Dosis x 0'750L}} \right]} = 882'65 \mu\text{L} \Leftrightarrow 0'882 \text{ mL}$$

Por lo tanto, para preparar la disolución de 25 mL, se utilizarán 0'882 mL de acetaldehído, de tal manera que al utilizar 20 μL de dicha solución, se aplicará la dosis de 0'706 μL de Acetaldehído requerida en cada botella durante el ensayo.