

EFFECTO DE LA MICROOXIGENACIÓN EN LA EVOLUCIÓN DE LOS VINOS DE MONASTRELL PROCEDENTES DE DISTINTOS TRATAMIENTOS DE COPIGMENTACIÓN

MASTER EN GESTIÓN Y SEGURIDAD ALIMENTARIA

JUAN ALBERTO ANAYA MARTÍNEZ

DIRECTORES:
María Inmaculada Álvarez Cano
Victoria Lizama Abad

CENTRO:
Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural
Universidad Politécnica de Valencia

“EFECTO DE LA MICROOXIGENACIÓN EN LA EVOLUCIÓN DE LOS VINOS DE MONASTRELL PROCEDENTES DE DISTINTOS TRATAMIENTOS DE COPIGMENTACIÓN”

Anaya, J.A.; Álvarez, I.; Lizama, V.; García, M.J.

RESUMEN

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

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

RESUM

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

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

ABSTRACT

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

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

INTRODUCCIÓN

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

La composición fenólica del vino es un indicador de su capacidad para consumir oxígeno, siendo ambas proporcionales entre sí. La eliminación de compuestos fenólicos del vino durante el proceso de elaboración, reduce la capacidad del vino para reaccionar con el oxígeno y las prácticas enológicas que permitan elevar la concentración fenólica como la maceración prefermentativa, prensado fuerte o crianza en barrica pueden aumentar la capacidad de consumo de oxígeno. A través de la aplicación de la maceración prefermentativa tiene lugar la extracción lenta pero progresiva de los compuestos fenólicos, quizás debido a que ésta facilita un íntimo y prolongado contacto entre hollejos y mosto, que durante la fermentación se ve dificultado por la formación del sombrero, y también a la desorganización de las membranas celulares que se produce por la acción de las enzimas de la uva durante la fase prefermentativa, mayor cuanto más baja sea la temperatura inicial a que se someta la vendimia.

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

también por la oxidación de una molécula de tanino. La molécula de acetaldehído reaccionará con los flavonoles y los antocianos induciendo la formación de un carbocatión muy reactivo que rápidamente reacciona con otro flavonol o con una molécula de antociano mediante un enlace denominado puente de etilo. Estos compuestos resultantes, son más estables a la decoloración por SO₂ y con mayor intensidad colorante, debido al bloqueo de la evolución tánica, ya que los antocianos fijados en el extremo de la cadena bloquean la polimerización de los compuestos originales. Además, la incorporación de antocianos en las estructuras con flavonoles, provoca una disminución de la astringencia (Zoeclein B.W. et al., 2003; McCord, 2003; Jones P.R. et al., 2004; LLaudy et al., 2006; Cano-Lopez et al., 2006).

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

La suplementación prefermentativa de copigmentos puede suponer un incremento de los procesos naturales de asociación inter e intra moleculares de los antocianos y un incremento de la intensidad y estabilidad del color. La adición prefermentativa de rutina, ácido cafeico y catequina incrementa más o menos significativamente el color de los vinos. Así, existen estudios de copigmentación con ácido cafeico, catequina y rutina en adición prefermentativa, mostrando el ácido cafeico un notable efecto en la extracción de color, y la rutina un efecto potenciador de la copigmentación y extracción de antocianos (Darías-Martín et al., 2001, 2002; Hermosín et al., 2005; Schwarz et al., 2005). La adición de copigmentos en viñedo y en fases pre y post fermentativas fue ensayada por Álvarez et al. (2006, 2008) adicionando distintos copigmentos combinados con técnicas de maceración prefermentativa en frío y de microoxigenación post-fermentativa, obteniendo que en uvas y vinos de variedad tempranillo, la adición de copigmentos aumenta los procesos de copigmentación.

Tras la fermentación, el contenido en antocianos decrece por degradación, precipitación, unión con sulfuroso, acomplejado con metales (Mirabel *et al.*, 1999). Minimizar estas pérdidas de color es importante para conservar la calidad de los vinos. La gran reactividad de los antocianos es también la causa su desaparición progresiva durante el envejecimiento del vino. Para explicar dicha desaparición, se han propuesto reacciones de oxidación de sus formas calconas con pérdida irreversible del color (Brouillard, 1982; Furtado et al., 1993), así como reacciones de asociación entre antocianos y flavonoles, dando lugar a “pigmentos poliméricos” que estabilizan el color (Somers, 1976).

Las combinaciones entre antocianos y flavanoles, mediante polimerizaciones parciales originan formas resonantes que aportan un grado de estabilidad a este tipo de compuestos, y permiten preservar el color de los vinos, sugiriendo algunos autores que las reacciones de copigmentación de antocianos que tiene lugar en los vinos jóvenes podría constituir un primer paso en la formación de pigmentos más estables durante el envejecimiento de los mismos (Brouillard y Dangles, 1994; Santos-Buelga *et al.*, 2001; Cacho, 2003).

Las técnicas de vinificación ejercen gran influencia en la extracción de los componentes de las uvas, afectando a la concentración y composición de los vinos tintos. Temperatura, duración de la maceración, presencia o ausencia de etanol, son factores que afectan a dichas características así como a los fenómenos de copigmentación (Gómez-Mínguez y Heredia, 2004). La maceración prefermentativa en frío permite una mayor y mejor extracción polifenólica, influyendo en el aumento de la concentración de antocianos, el índice de ionización y la copigmentación de los mismos, que afecta entre otros a la estabilidad del color, consiguiendo aunar la ralentización del proceso fermentativo y la desorganización de las membranas celulares de los hollejos y facilitando la salida de compuestos aromáticos y fenólicos (Reynols *et al.*, 2001; Gómez-Mínguez y Heredia, 2004; Parenti *et al.*, 2004; Álvarez *et al.*, 2004, 2005). La maceración prefermentativa en frío debe realizarse a temperaturas próximas a los 5-8 °C. Combinada con una temperatura de fermentación que potencie la extracción de compuestos polifenólicos favorables a la calidad del vino, y con un tiempo de maceración fermentativa no muy elevado que limite la cantidad de alcohol, constituye un criterio enológico de gran interés en la vinificación en tinto (Reynols *et al.*, 2001; Álvarez *et al.*, 2006).

Uno de los problemas que presenta la variedad Monastrell es su largo ciclo de maduración, que obliga a vendimiar la uva con alto grado alcohólico para poder conseguir una madurez polifenólica suficiente que permita obtener un color estable y una concentración tánica equilibrada. Esto obliga a comercializar vinos con un alto contenido alcohólico, no muy aceptados por el consumidor, y contrarios a la política de descenso del consumo de alcohol, y con una muy baja acidez que obliga a retoques que suelen desequilibrar organolépticamente al vino, y esto junto con la elevada concentración de enzimas polifenoloxidasas que presenta la variedad, ocasiona graves problemas en la elaboración, dificultando la estabilidad del color y el equilibrio polifenólico de estos vinos. La aplicación de copigmentos en campo mediante la utilización de extractos vegetales ricos en determinados copigmentos, junto con la incorporación de técnicas de maceración prefermentativa que potencien la copigmentación inducida en el campo, podría dar lugar a un adelanto de la madurez antociánica de las uvas y a una mayor polimerización polifenólica posterior, que permitiese realizar la vendimia sin tener que llegar a los estados de sobremaduración habituales.

En el presente trabajo, se estudia el efecto conjugado de dos factores relacionados con el incremento de la calidad de los vinos, es decir, la maceración prefermentativa en frío y la microoxigenación, mediante el

seguimiento de la evolución de parámetros polifenólicos de los vinos de Monastrell elaborados.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se ha llevado a cabo en un viñedo de la variedad Monastrell ubicado en la localidad de Fontanars dels Alforins (Valencia), perteneciente a la Denominación de Origen "Valencia", subzona Clariano. Se trata de un viñedo de nueve años de Monastrell/Richter-110 (110-R), conducido en espaldera simple, sistema de poda en cordón royat doble y cultivada en secano.

Seguimiento de la maduración de la uva

Las labores de cultivo realizadas en la parcela fueron las habituales en la zona, procurando eliminar cualquier factor limitante al desarrollo del ensayo, ya fuera de tipo nutricional o sanitario, que pudiera distorsionar los resultados obtenidos a partir de los tratamientos experimentales aplicados.

Se realizó el seguimiento de la maduración polifenólica de esta parcela con la finalidad de aplicar los extractos y copigmentos en el momento óptimo, cuando el potencial antociánico de la vendimia permitiera que fuera efectiva la copigmentación en la uva.

La evaluación de las características tecnológicas de calidad de la uva se realizó de acuerdo con los métodos oficiales de la U.E. Los muestreos de las parcelas para el seguimiento de la maduración se verificaron semanalmente a partir del envero, concentrándose cada dos-tres días en fechas próximas a la madurez. Para el seguimiento de Índices de maduración se partió de un muestreo que afectaba a todas las plantas implicadas en cada una de las parcelas elementales, tomando una cantidad de uva suficiente para la realización de las analíticas. En cada uno de los racimos se tomaron las bayas dos a dos y de caras opuestas (expuesta al sol / no expuesta al sol) adquiriéndose uvas de las partes superior (2), media (4) e inferior (2).

Las uvas se emplearon directamente para la determinación del peso de 100 bayas, triturándose posteriormente durante 2 segundos en una picadora, separándose mediante colador inmediatamente las fases sólida y líquida. Con la fase líquida se realizaron, después de centrifugación, las determinaciones correspondientes a pH, acidez total tartárica, grado en la escala Brix determinado con un refractómetro de mesa digital, contenido en ácido málico mediante método enzimático, intensidad colorante e índice de polifenoles totales presentes en el mosto mediante espectrofotometría.

Aplicación del extracto y el copigmento

Diez días antes del momento estimado como idóneo para realizar la vendimia, se procedió a la aplicación de extractos y copigmentos en las parcelas previamente marcadas. Se realizaron ensayos en campo de aplicación de extracto de trigo sarraceno, así como adición directa en campo

y en bodega de rutina. Se llevo a cabo dos experiencias conjuntas, en una de ellas se aplico el extracto vegetal rico en copigmento, y en la otra fue aplicado directamente el copigmento.

Todas las aplicaciones se realizaron mediante pulverización foliar en la zona de los racimos. El extracto y el copigmento se disolvieron previamente en agua, hasta alcanzar una concentración que nos permitiera una aplicación en campo similar a la que se realizó prefermentativamente en bodega (90 mg/Kg de uva), y se incorporaron junto con un surfactante no iónico que favoreciera la adherencia a los hollejos (Cera de Montana 20 % a dosis 2,5 mL/L), a razón de 200 mL de disolución para cada cepa. Se considera, basándonos en la experiencia previa, que este período de tiempo era el óptimo para que se produjeran las reacciones de copigmentación esperadas.

El copigmento rutina (Ru) fue adquirido comercialmente. La procedencia de la rutina es de SIGMA Rutin hydrate. Mínimun R5143 (25g).

El extracto de trigo sarraceno (Tr) fue preparado en el laboratorio del Departamento de Tecnología de Alimentos de la UPV-Valencia, mediante extracción alcohólica de harina de trigo sarraceno, adquirida comercialmente de Laboratorios GUINAMA, Valencia-España, en agitación con calor y posterior concentración con rotavapor y filtrado.

Mediante HPLC se determinó la concentración polifenólica de los extractos para calcular la cantidad a añadir en la aplicación, aproximándola a la concentración del copigmento puro.

El diseño experimental de los ensayos fue de tipo factorial, en bloques completos al azar con tres repeticiones, siendo las parcelas elementales de 30 cepas cada una para aquellas que recibían tratamiento. Las aplicaciones realizadas del diseño experimental fueron las siguientes:

- Rutina (Ru) (0,5 g/L).
- Extracto de trigo sarraceno (Tr) (concentración de rutina equivalente a 0,5 g/L).

Microvinificación de las uvas

Una vez alcanzados los índices de madurez previamente fijados, sin llegar a la sobremaduración de las uvas, se estableció el momento óptimo de vendimia del ensayo completo. La vendimia se realizó 10 días después de la aplicación del copigmento, de forma manual, en cajas de 20 kg, procediéndose en el plazo máximo de una hora a su despalillado y estrujado en una despalilladora de paletas-estrujadora de rodillos, previa toma de muestras para determinar la composición de la uva. La pasta fue encubada en depósitos de 50 L, conteniendo cada uno de ellos una cantidad de 30 Kg de pasta de vendimia. Para el sulfitado de la uva se adicionaron 5 g/hL de SO₂. Todos los ensayos de vinificación se realizaron por triplicado.

Se emplearon levaduras seleccionadas *Sacharomyces cerevisiae*, var. Bayanus, procediendo a una maceración-fermentación a 27-28 °C para todos los tratamientos, aplicando dos remontados diarios con las mismas

pautas para todas ellas, extrayéndose muestras cada 2 días durante el proceso de maceración-fermentación.

Se estableció para los vinos no criomacerados de un momento óptimo de descube, fijado en 10 días, que se aplicó para todos los vinos elaborados. Se practicó entonces un prensado a baja presión, 1,2 atmósferas, y mezcla del vino flor con el vino de primera prensada. Y se determinó la composición aromática y polifenólica de los vinos, antes de la fermentación maloláctica.

La fermentación maloláctica se favoreció con la adición previa de 1g/hL de bacterias *Oenococcus oeni*. Una vez concluida la fermentación maloláctica, y previo sulfitado a 30 mg/L de sulfuroso libre, los vinos se trasegaron y homogeneizaron, y se extrajeron muestras para determinar la composición aromática y polifenólica de los vinos.

Maceración prefermentativa en frío

Las experiencias con maceración prefermentativa en frío (MF) prolongaron durante 5 días la pasta sin fermentar, enfriando la pasta estrujada a 6-8 °C y conservando esta temperatura mediante aportación de frío a las camisas de los depósitos.

Fermentación alcohólica

Los mostos en los que no se realizó maceración prefermentativa en frío fueron los primeros en iniciar la fermentación, previa siembra de 20 g/hL de levaduras seleccionadas *Sacharomyces cerevisiae*, var. *Bayanus*. La fermentación se realizó por el sistema tradicional en depósitos cilíndricos de fondo plano provistos de camisas para el control de temperatura. La temperatura de fermentación se mantuvo entre 27-28 °C. Durante el proceso de maceración-fermentación se realizaron dos remontados diarios de la mitad del volumen de mosto cada vez, siguiendo diariamente la evolución de temperatura y densidad. Se tomaron muestras cada tres días para realizar el seguimiento de la extracción de compuestos y la valoración organoléptica, para determinar el momento óptimo de descube, que se estableció en aquel en que los vinos alcanzaran una estructura suficiente para poder realizar con ellos crianza, sin extraer compuestos herbáceos de hollejos o amargos y duros de pepitas. Una vez sangrado el depósito se practicó prensado con prensa de membrana hidráulica, y se añadió el vino de un primer prensado a 1,2 atmósferas de presión. Se tomaron muestras del vino antes y después de mezclarlo con el vino prensa. En el mismo depósito se dejó concluir la fermentación alcohólica, controlando que la temperatura no descendiera de 20 °C para que la fermentación agotara todos los azúcares, dando por terminada la misma cuando los vinos presentaron menos de 2 g/L de azúcares reductores.

En los ensayos de maceración prefermentativa en frío, se dejó de aplicar frío a los cuatro días y se calentó el depósito hasta temperatura ambiente, para realizar la siembra de levaduras al quinto día. En estos depósitos se siguió la misma pauta de fermentación-maceración que en los que no se realizó maceración prefermentativa en frío. El descube se realizó con el

mismo criterio que en los testigos, para evitar diferencias en el tiempo y temperatura de maceración fermentativa en unos y otros.

Fermentación maloláctica

Una vez concluida la fermentación alcohólica, se realizó la fermentación maloláctica previa adición a todos los depósitos de 1 g/hL de bacterias *Oenococcus oeni*. Una vez concluida la fermentación maloláctica, los vinos fueron corregidos a 30 mg/L de sulfuroso libre, trasegados previo enfriamiento, homogeneizados y trasegados a un recipiente de cristal de 10 litros.

Microoxigenación

De cada uno de los vinos elaborados se embotellaron dos botellas adicionándose en una de ellas acetaldehído a razón de 60 mL/L/mes durante un mes y medio, con lo que la cantidad total de acetaldehído adicionada es de 90 mL/L lo cual representa en torno a 15 saturaciones del vino.

Determinación de la composición de los vinos una vez concluida la fermentación maloláctica.

Al mes de concluida la fermentación maloláctica, se determinaron los parámetros fisicoquímicos convencionales, la composición fenólica y el color de los vinos elaborados. Las determinaciones analíticas se realizaron por triplicado, estableciendo la media de las tres determinaciones efectuadas, y repitiendo las determinaciones si un dato se observaba que era anómalo. El valor final de cada compuesto para cada ensayo, fue la media de las tres vinificaciones y de las tres determinaciones analíticas efectuadas por vinificación. A continuación se procede a estudiar los resultados obtenidos y a elaborar las conclusiones.

Determinaciones polifenólicas

Para la determinación de la Intensidad Colorante y Tonalidad se sigue el método oficial de análisis de la UE (Comisión Europea, 1990). Para ello se realizan mediciones directas de la muestra a 420, 520 y 620 nm mediante un espectrofotómetro UV/VIS JASCO V-530 con cubetas de vidrio de 0,1 cm de paso de luz y utilizando el agua destilada como referencia.

El método utilizado para cuantificar el contenido polifenólico total de los vinos es el de Singleton y Rossi (1965). El principio del método consiste en la oxidación en medio básico de los grupos hidroxilo de los fenoles por el reactivo de Folin-Ciocalteu (mezcla de los ácidos fosfotúngstico y fosfomolibdico), que se reduce produciendo una mezcla de óxidos azules de tungsteno y molibdeno. Esta coloración produce una absorbancia máxima a los 750 nm y es proporcional al contenido de compuestos polifenólicos.

Para la determinación de los antocianos coloreados se utiliza el método por decoloración por bisulfito (García-Barceló, 1990). Este método se basa

en la propiedad que presentan estos compuestos de cambiar de estructura química con la variación del pH del medio en su combinación con bisulfito sódico.

El porcentaje de color debido a los antocianos copigmentados, polimerizados y libres se determinan siguiendo la metodología descrita por Boulton (1996), ajustando previamente las muestras a pH 3,60 y filtrando a través de una membrana de 0,45 μm de tamaño de poro.

Para determinar los taninos totales se utiliza el método recogido por Saint-Criq et al. (1998). Esta determinación se basa en la propiedad característica de los flavanodiolos 3-4, llamada reacción de Bate-Smith: la hidrólisis en medio ácido, con calor y en presencia de oxígeno transforma estas moléculas en antocianinas (coloreadas).

Para evaluar el grado de polimerización de los taninos se utilizará el método de p-dimetilaminocinamaldehído (DMACH) propuesto por Vivas et al. (1994). El grado de condensación de las proantocianidinas será tanto más alto cuanto más bajo sea el índice DMACH.

El índice de Gelatina, propuesto por Glories (1978), está basado en la propiedad de los taninos de formar con las proteínas combinaciones estables.

Análisis estadístico de los resultados.

El tratamiento estadístico fue llevado a cabo con el programa informático STATGRAPHICS CENTURION XV para Windows. El análisis estadístico realizado ha consistido en un análisis de la varianza (ANOVA) para cada una de las variables establecidas, teniendo en cuenta el efecto de las técnicas de maceración prefermentativa y la adición o no de acetaldehído. Se ha calculado el Test-F, que representa el cociente entre la variabilidad debida al efecto considerado y la varianza residual, teniendo en cuenta que un valor mayor de Test-F significa un efecto más marcado sobre una variable. Asimismo, se ha calculado el p-valor, que es la probabilidad de que la hipótesis de partida del contraste, sea cierta o falsa.

RESULTADOS Y DISCUSION

En los vinos elaborados con maceración prefermentativa en frío y sin maceración prefermentativa, se ha ensayado después de la fermentación maloláctica y de la adición de acetaldehído para simular un proceso de microoxigenación, y posteriormente se han conservado durante 12 meses.

La composición de los vinos ha sido estudiada utilizando un modelo factorial completo, considerando las técnicas de maceración prefermentativa y la adición o no de acetaldehído.

Todas las experiencias se realizaron por duplicado y la analítica de cada experiencia por triplicado, figurando en las tablas la media y las desviaciones típicas, así como el Test F y el nivel de significación entre los distintos factores.

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

Evolución de los parámetros relacionados con el color

El color del vino es un atributo sensorial muy importante, no sólo por ser la primera imagen del vino, sino también porque es un indicador de otros atributos relacionados con su aroma y su sabor. Por el color del vino se puede tener una idea de su edad, concentración tánica, estado de conservación, e incluso de su calidad sanitaria, como ausencia de alteraciones, enfermedades y defectos.

La intensidad colorante es una medida representativa del color de los vinos, ya que contempla la aportación al color de los tonos amarillos, rojos y azules característicos de los vinos. Esta medida depende de la concentración de compuestos coloreados y del estado de estos compuestos.

En la Tabla 1 figuran las medias y desviaciones típicas de la evolución de la Intensidad Colorante al cabo de 12 meses, en función de las técnicas de maceración utilizadas y de la aplicación o no de acetaldehído. En la figura 1 se muestra la evolución durante la conservación y sus valores al cabo de 12 meses.

TABLA 1. Medias y desviaciones típicas de la Intensidad Colorante después de la fermentación maloláctica, de la microoxigenación y de los 6, 9 y 12 meses de conservación.

Técnica	Tratamiento	0 meses	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses
Tradicional	Sin MO	9,5 (1,6)	9,5 (1,2)	9,4 (0,9)	9,5 (1,3)	9,6 (1,5)
	Con MO	9,5 (1,6)	9,8 (1,4)	9,9 (1,2)	10,0 (1,3)	10,1 (1,2)
MF	Sin MO	10,0 (2,7)	10,1 (1,8)	10,0 (1,6)	10,0 (2,2)	10,1 (2,3)
	Con MO	10,0 (2,7)	10,4 (2,2)	10,4 (1,8)	10,4 (2,5)	10,5 (1,8)

La intensidad colorante es la medida más representativa del color de los vinos ya que contempla la aportación al color de los tonos amarillos, rojos y azules característicos de estos. Esta medida depende de la concentración de compuestos coloreados y del estado de estos en el vino. Al final de la microoxigenación, los vinos adicionados con acetaldehído presentan la mayor Intensidad Colorante, así como los vinos sometidos a maceración prefermentativa con frío. Durante la conservación podemos observar una evolución bastante uniforme para todos los vinos, pero son los vinos no microoxigenados los que sufren una mayor caída del color, siendo superior en los vinos de maceración tradicional que en los vinos de maceración prefermentativa en frío. Existe una importante controversia en la bibliografía, con respecto a la acción de la microoxigenación en el color de los vinos, numerosos autores observan un incremento de la Intensidad Colorante

(Ribéreau-Gayón et al., 1983; Sims y Morris, 1986; Cano-Lopez et al., 2006, 2007, 2009) y una mayor estabilidad del color después de un periodo de conservación en botella (Elisa Saitini et al., 2007), mientras que otros observan un ligero descenso (Llaudy, et al., 2006).

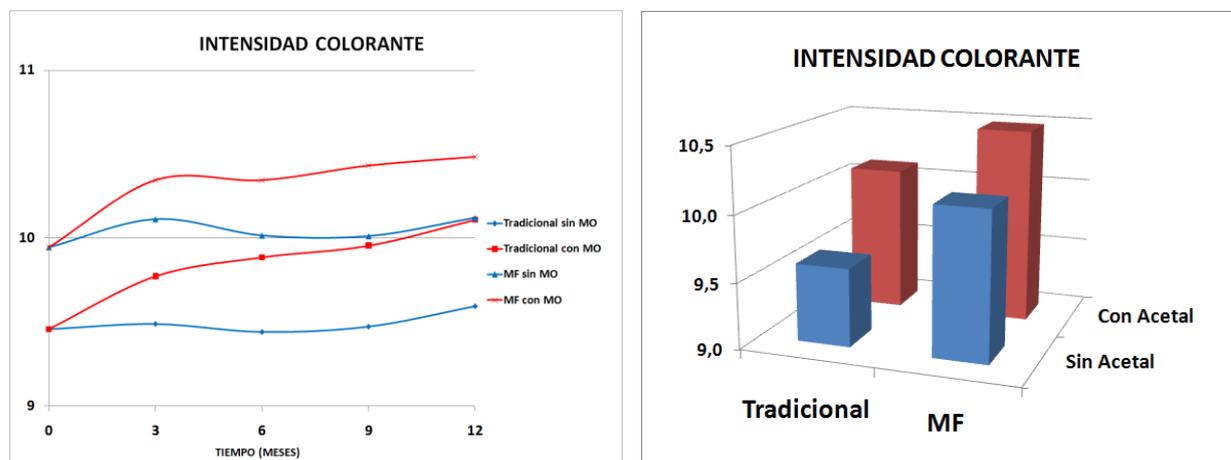


FIGURA 1. Evolución de la Intensidad Colorante durante la conservación de los vinos y representación gráfica al cabo de 12 meses. Tradicional: maceración tradicional, MF: maceración prefermentativa en frío, Sin MO: sin microoxigenación (sin acetaldehído), Con MO: con microoxigenación (con acetaldehído).

En la Tabla 2 figuran los resultados del ANOVA de la Intensidad Colorante, en función de las técnicas de maceración utilizadas y de la aplicación o no de acetaldehído, al final del proceso de conservación.

TABLA 2. Resultados de la ANOVA

			Test F	P-valor
Tratamiento (A)	Sin MO	9,9 (0,3) (a)	0,80	0,3810
	Con MO	10,3 (0,3) (a)		
Técnica (B)	Tradicional	9,9 (0,3) (a)	0,85	0,3670
	MF	10,3 (0,4) (a)		
A x B	-----	-----	0,02	0,8788

Tal y cómo refleja la tabla, con el objetivo de ver la posible influencia de los factores en la Intensidad Colorante, se han realizado dos tipos de contrastes: por un lado el Test F y su homólogo p-valor. Para evitar todas las explicaciones estadísticas de ambos contrastes nos centraremos en los p-valores. Como tanto los asociados al tratamiento y a la técnica como el asociado a la interacción entre ambos son mayores que 0,05 no se puede rechazar la hipótesis nula a favor de la alternativa, es decir, que con un nivel de significatividad del 95% se tiene evidencia estadística suficiente para afirmar que no hay diferencias significativas entre las diferentes técnicas de vinificación, entre la adición o no de acetaldehído, ni tampoco entre la interacción entre ambos factores.

Con el fin de no ser muy repetitivo, en las sucesivas tablas introducidas de análisis estadístico se comentará única y exclusivamente lo concerniente al p-valor y la posible influencia o no de los tratamientos aplicados.

En la Tabla 3 figuran las medias y desviaciones típicas de la evolución del Tono al cabo de 12 meses, en función de las técnicas de maceración utilizadas y de la aplicación o no de acetaldehído. En la figura 2 se muestra la evolución durante la conservación y sus valores al cabo de 12 meses.

TABLA 3. Medias y desviaciones típicas del Tono después de la fermentación maloláctica, de la microoxigenación y de los 6, 9 y 12 meses de conservación.

Técnica	Tratamiento	0 meses	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses
Tradicional	Sin MO	69,4 (3,9)	68,9 (3,2)	71,0 (3,9)	74,4 (2,4)	77,8 (3,2)
	Con MO	69,4 (3,9)	68,5 (2,8)	71,4 (2,7)	75,9 (2,9)	78,7 (2,8)
MF	Sin MO	66,5 (4,7)	64,3 (3,7)	67,8 (3,5)	70,5 (3,7)	72,8 (3,4)
	Con MO	66,5 (4,7)	64,0 (2,9)	66,5 (3,5)	70,7 (3,4)	73,6 (3,9)

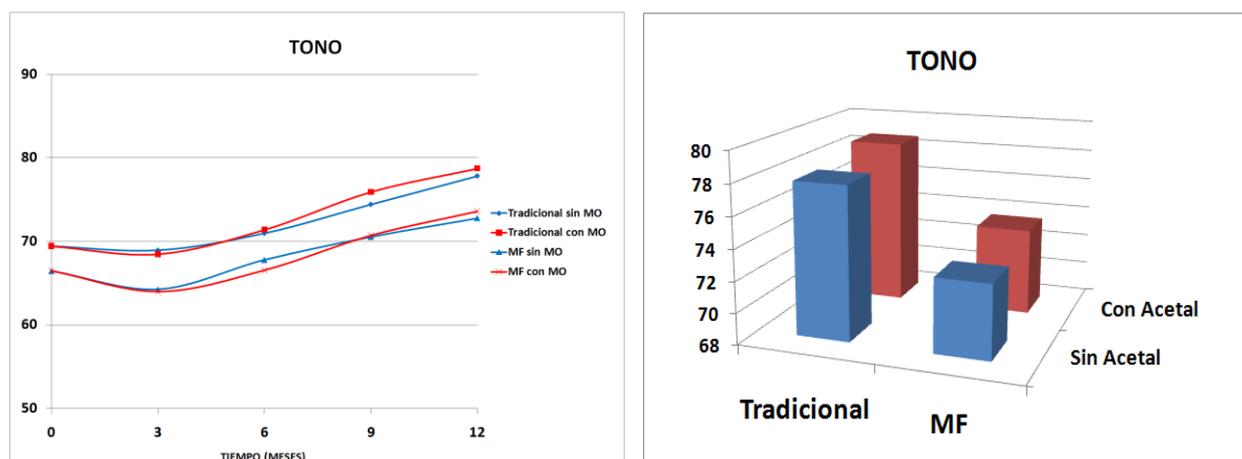


FIGURA 2. Evolución del Tono durante la conservación de los vinos y representación gráfica al cabo de 12 meses. Tradicional: maceración tradicional, MF: maceración prefermentativa en frío, Sin MO: sin microoxigenación (sin acetaldehído), Con MO: con microoxigenación (con acetaldehído).

El Tono nos indica la contribución del amarillo al color de los vinos. En la gráfica se puede observar un incremento del Tono a lo largo del proceso de conservación, siendo este incremento propio de las reacciones de oxidación que sufren todo los vinos con el paso del tiempo y que provocan la aparición de tonos rojo teja característicos de los vinos viejos o evolucionados. Este efecto de incremento del Tono ha sido detectado también por otros autores (Jurd, 1969; Somers, 1971; Baranowski y Nagel, 1983; Bonaga, Parota y Syrghi, 1990; Santos-Buelga et al., 1995; Alcade-Eon et al., 2006).

En la Tabla 4 figuran los resultados del ANOVA del Tono, en función de las técnicas de maceración utilizadas y de la aplicación o no de acetaldehído, al final del proceso de conservación.

En lo que respecta al Tono, vemos claramente diferencias entre unas técnicas u otras. Al ser los p-valores del tratamiento y de la interacción entre el tratamiento y la técnica empleadas, mayores que 0,05, no se puede

rechazar la hipótesis nula a favor de la alternativa, es decir, que con un nivel de significatividad del 95% se tiene evidencia estadística suficiente para afirmar que no hay diferencias significativas entre la adición o no de acetaldehído, ni tampoco entre la interacción de ambos factores. Sin embargo, no podemos decir lo mismo en el caso de la técnica, puesto que al ser su p-valor menor que la potencia de contraste sí hay diferencias significativas entre las diferentes técnicas de vinificación, lo que implica que dependiendo de la técnica aplicada se observarán diferencias en el Tono, siendo los vinos con maceración tradicional los que presentan un mayor tono a diferencia de los vinos con maceración prefermentativa en frío.

TABLA 4. Resultados de la ANOVA

			Test F	P-valor
Tratamiento (A)	Sin MO	75,3 (0,7) (a)	0,71	0,4087
	Con MO	76,1 (0,7) (a)		
Técnica (B)	Tradicional	78,3 (0,7) (b)	24,94	0,0000
	MF	73,2 (0,8) (a)		
A x B	-----	-----	0,00	0,9759

Parámetros relacionados con los antocianos

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

En la Tabla 5 figuran las medias y desviaciones típicas de la evolución de la concentración de los antocianos coloreados (mg/L) al cabo de 12 meses, en función de las técnicas de maceración utilizadas y de la aplicación o no de acetaldehído. En la figura 3 se muestra la evolución durante la conservación y sus valores al cabo de 12 meses.

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

Los resultados muestran una disminución significativa de la concentración de antocianos coloreados a lo largo de los 12 meses de conservación, debido a la formación de moléculas estables antociano-tanino, no decolorables por el sulfuroso, y a los fenómenos de precipitación de materia colorante cuando no se han podido potenciar estas uniones. Este descenso natural de los antocianos durante el periodo de conservación en botella ha sido identificado por numerosos autores (Vivar Quintana et al.,

2002; Cano-Lopez et al., 2009). En aquellos vinos a los que se les ha adicionado acetaldehído presentan una menor concentración de antocianos decolorables por el sulfuroso. Las causas de esta disminución pueden ser debidas a la precipitación o/a que los antocianos se hayan combinado de forma estable. En los vinos con maceración prefermentativa en frío se favorece la extracción de compuestos polifenólicos presentes principalmente en los hollejos debido al mayor tiempo de contacto entre estos y el mosto durante el proceso de elaboración.

TABLA 5. Medias y desviaciones típicas de la concentración de antocianos coloreados (mg/L) después de la fermentación maloláctica, de la microoxigenación y de los 6, 9 y 12 meses de conservación.

Técnica	Tratamiento	0 meses	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses
Tradicional	Sin MO	574,04 (34,15)	413,6 (8,4)	324,63 (2,19)	282,5 (1,5)	239,8 (1,7)
	Con MO	574,04 (34,15)	420,6 (3,4)	308,72 (2,16)	261,8 (1,3)	221,9 (7,4)
MF	Sin MO	593,1 (22,4)	431,5 (5,4)	322,7 (0,5)	295 (2)	247,5 (1,6)
	Con MO	593,1 (22,4)	445,8 (5,4)	313,81 (3,15)	269,9 (2,3)	230,0 (5,4)

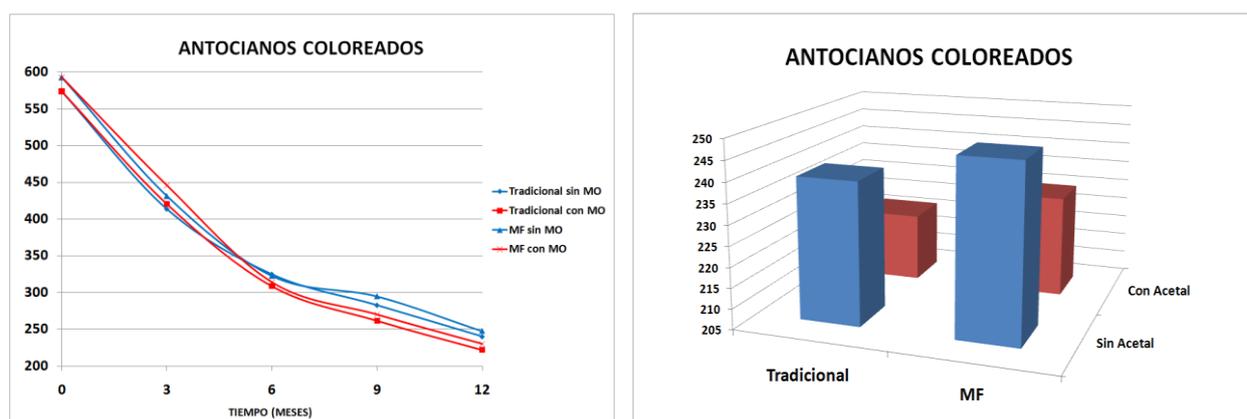


FIGURA 3. Evolución de los antocianos coloreados (mg/L) durante la conservación de los vinos y representación gráfica al cabo de 12 meses. Tradicional: maceración tradicional, MF: maceración prefermentativa en frío, Sin MO: sin microoxigenación (sin acetaldehído), Con MO: con microoxigenación (con acetaldehído).

En la Tabla 6 figuran los resultados del ANOVA de la concentración de antocianos coloreados (mg/L), en función de las técnicas de maceración utilizadas y de la aplicación o no de acetaldehído, al final del proceso de conservación.

En el caso de la concentración de los antocianos coloreados, vemos claramente diferencias entre la adición o no de acetaldehído. Al ser los p-valores de la técnica y de la interacción entre el tratamiento y la técnica empleadas, mayores que 0,05, no se puede rechazar la hipótesis nula a favor de la alternativa, es decir, que con un nivel de significatividad del 95% se tiene evidencia estadística suficiente para afirmar que no hay diferencias significativas entre las técnicas de vinificación, ni tampoco entre la interacción de ambos factores. Sin embargo, no podemos decir lo mismo en el caso entre la adición o no de acetaldehído, puesto que al ser su p-valor

menor que la potencia de contraste sí hay diferencias significativas entre las diferentes tratamientos, lo que implica que dependiendo del tratamiento aplicado se observarán diferencias en la concentración de antocianos coloreados, siendo los vinos sin adición de acetaldehído los que presentan una mayor concentración a diferencia de los vinos con adición de acetaldehído.

TABLA 6. Resultados de la ANOVA

			Test F	P-valor
Tratamiento (A)	Sin MO	243,69 (5,09) (b)	6,08	0,0212
	Con MO	225,94 (5,09) (a)		
Técnica (B)	Tradicional	230,9 (4,7) (a)	1,19	0,2858
	MF	238,7 (5,4) (a)		
A x B	-----	-----	0,00	0,9816

En la Tabla 7 figuran las medias y desviaciones típicas de la evolución del porcentaje de color debido a los antocianos copigmentados al cabo de 12 meses, en función de las técnicas de maceración utilizadas y de la aplicación o no de acetaldehído. En la figura 4 se muestra la evolución durante la conservación y sus valores al cabo de 12 meses.

TABLA 7. Medias y desviaciones típicas del porcentaje de color debido a los antocianos copigmentados (%) después de la fermentación maloláctica, de la microoxigenación y de los 6, 9 y 12 meses de conservación.

Técnica	Tratamiento	0 meses	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses
Tradicional	Sin MO	22,44 (3,15)	23,4 (1,3)	16,4 (1,8)	12,72 (1,05)	10,6 (1,5)
	Con MO	22,44 (3,15)	21,8 (1,5)	11,2 (1,5)	10,3 (0,4)	8,7 (2,3)
MF	Sin MO	22,3 (8,8)	21,0 (0,6)	16,6 (1,8)	11,9 (1,5)	11,6 (2,4)
	Con MO	22,3 (8,8)	20 (1)	11,8 (1,4)	10,70 (2,18)	9,1 (1,3)

Podemos observar un incremento de las reacciones de copigmentación durante el periodo de microoxigenación, que llegan a suponer hasta un 20% del color del vino. A partir de ese momento se produce una rotura paulatina de los complejos de copigmentación, que da lugar a un descenso brusco y continuado del porcentaje de color debido a la copigmentación. Este descenso del color aportado por la copigmentación ha sido identificado también por otros autores (Boulton R. 2001; Perez-Magariño et al., 2004), ya que las uniones con los copigmentos se rompen por diversas causas como la temperatura y la presencia o ausencia de etanol (Gómez-Miguel y Heredia, 2004), quedando los antocianos disponibles para intervenir en otras reacciones, principalmente en las de polimerización. Después de la fermentación maloláctica, el mayor nivel de copigmentación se observa en los vinos elaborados de forma tradicional sin estar sometidos a una maceración prefermentativa en frío, la adición de acetaldehído incrementa

inicialmente las reacciones de copigmentación, pero estas descienden intensamente durante los meses de conservación. La maceración prefermentativa con frío y la adición de acetaldehído podrían disminuir la fracción de antocianos copigmentados debido a que estas uniones se rompen, y estos antocianos así liberados podrían permanecer libres o combinarse de forma más estable con otros compuestos diferentes de los copigmentos.

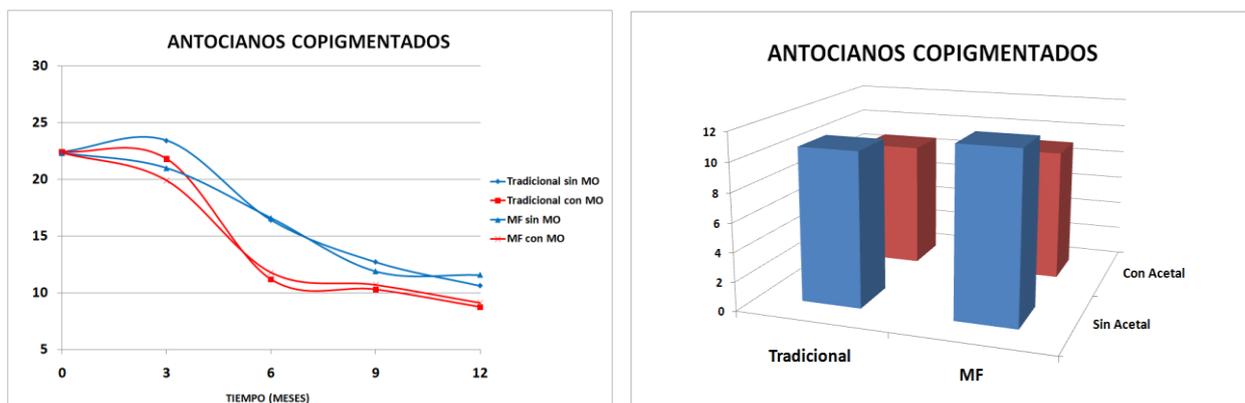


FIGURA 4. Evolución del porcentaje del color debido a los antocianos copigmentados (%) durante la conservación de los vinos y representación gráfica al cabo de 12 meses. Tradicional: maceración tradicional, MF: maceración prefermentativa en frío, Sin MO: sin microoxigenación (sin acetaldehído), Con MO: con microoxigenación (con acetaldehído).

En la Tabla 8 figuran los resultados del ANOVA del porcentaje de color debido a los antocianos copigmentados, en función de las técnicas de maceración utilizadas y de la aplicación o no de acetaldehído, al final del proceso de conservación.

Como ocurre en el último análisis realizado, en el ANOVA del porcentaje de color debido a los antocianos copigmentados se refleja que no hay diferencias significativas entre las diferentes técnicas de vinificación, ni tampoco entre la interacción de ambos factores pero que sí las hay entre la adición o no de acetaldehído, siendo los vinos sin adición de acetaldehído los que presentan un mayor porcentaje a diferencia de los vinos con adición de acetaldehído.

TABLA 8. Resultados de la ANOVA

			Test F	P-valor
Tratamiento (A)	Sin MO	11,1 (0,6) (b)	6,24	0,0197
	Con MO	8,9 (0,6) (a)		
Técnica (B)	Tradicional	9,7 (0,6) (a)	0,58	0,4539
	MF	10,3 (0,7) (a)		
A x B	-----	-----	0,11	0,7419

En la Tabla 9 figuran las medias y desviaciones típicas de la evolución del porcentaje de color debido a los antocianos libres al cabo de 12 meses,

en función de las técnicas de maceración utilizadas y de la aplicación o no de acetaldehído. En la figura 5 se muestra la evolución durante la conservación y sus valores al cabo de 12 meses.

TABLA 9. Medias y desviaciones típicas del porcentaje de color debido a los antocianos libres (%) después de la fermentación maloláctica, de la microoxigenación y de los 6, 9 y 12 meses de conservación.

Técnica	Tratamiento	0 meses	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses
Tradicional	Sin MO	49,0 (1,3)	43,4 (0,9)	43,1 (1,8)	41,60 (1,18)	42,4 (1,5)
	Con MO	49,0 (1,3)	44,6 (1,5)	43,4 (0,7)	40 (1)	39,4 (2,5)
MF	Sin MO	49,5 (3,5)	45,0 (0,8)	40,4 (1,8)	40,9 (1,6)	41,2 (1,4)
	Con MO	49,5 (3,5)	44,0 (0,9)	42,76 (1,09)	39,09 (2,09)	40,1 (1,4)

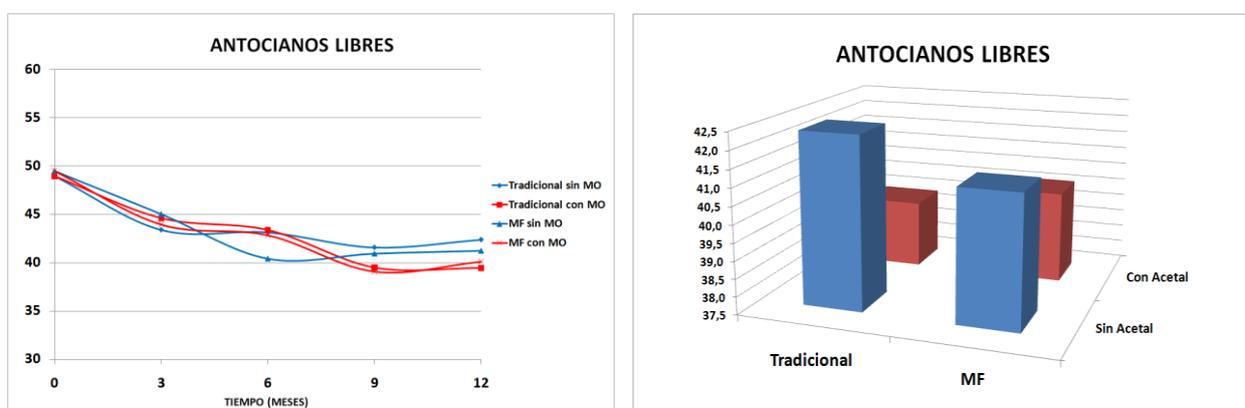


FIGURA 5. Evolución del porcentaje de color debido a los antocianos libres (%) durante la conservación de los vinos y representación gráfica al cabo de 12 meses. Tradicional: maceración tradicional, MF: maceración prefermentativa en frío, Sin MO: sin microoxigenación (sin acetaldehído), Con MO: con microoxigenación (con acetaldehído).

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

Debido al aporte de acetaldehído, la polimerización se incrementa y por tanto el porcentaje de color aportado por los antocianos libres desciende significativamente. En cuanto a las técnicas de vinificación, al final del periodo de conservación se observan los valores ligeramente superiores en los vinos macerados de forma tradicional.

En la Tabla 10 figuran los resultados del ANOVA del porcentaje de color debido a los antocianos libres, en función de las técnicas de maceración utilizadas y de la aplicación o no de acetaldehído, al final del proceso de conservación.

Como se observa en la tabla, en el estudio del porcentaje de color debido a los antocianos libres no existen diferencias significativas entre las

diferentes técnicas de vinificación, entre la adición o no de acetaldehído, ni tampoco entre la interacción de ambos factores.

TABLA 10. Resultados de la ANOVA

			Test F	P-valor
Tratamiento (A)	Sin MO	41,8 (0,7) (a)	3,66	0,0678
	Con MO	39,8 (0,7) (a)		
Técnica (B)	Tradicional	40,9 (0,7) (a)	0,06	0,8162
	MF	40,7 (0,8) (a)		
A x B	-----	-----	0,76	0,3930

En la Tabla 11 figuran las medias y desviaciones típicas de la evolución del porcentaje de color debido a los antocianos polimerizados al cabo de 12 meses, en función de las técnicas de maceración utilizadas y de la aplicación o no de acetaldehído. En la figura 6 se muestra la evolución durante la conservación y sus valores al cabo de 12 meses.

TABLA 11. Medias y desviaciones típicas del porcentaje de color debido a los antocianos polimerizados (%) después de la fermentación maloláctica, de la microoxigenación y de los 6, 9 y 12 meses de conservación.

Técnica	Tratamiento	0 meses	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses
Tradicional	Sin MO	28,6 (2,6)	30,6 (0,2)	40,4 (0,2)	45,71 (0,13)	47,8 (0,3)
	Con MO	28,6 (2,6)	33,6 (0,2)	46,1 (0,3)	48,76 (0,09)	50,2 (0,3)
MF	Sin MO	27,1 (5,4)	34,0 (0,2)	43,3 (0,3)	47,2 (0,2)	48,7 (0,6)
	Con MO	27,1 (5,4)	36,1 (0,2)	48,6 (0,4)	50,2 (0,3)	51,3 (0,9)

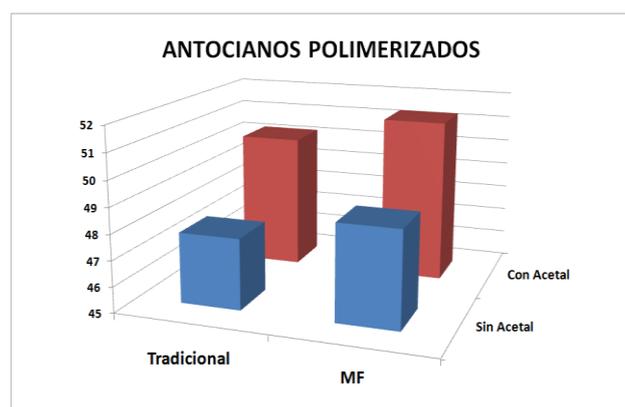
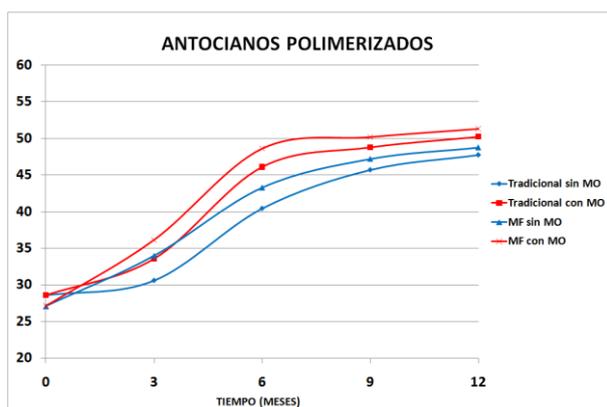


FIGURA 6. Evolución de los antocianos polimerizados (%) durante la conservación de los vinos y representación gráfica al cabo de 12 meses. Tradicional: maceración tradicional, MF: maceración prefermentativa en frío, Sin MO: sin microoxigenación (sin acetaldehído), Con MO: con microoxigenación (con acetaldehído).

Podemos observar como el porcentaje de color debido a los antocianos polimerizados es superior en los vinos microoxigenados, tanto después de la fermentación maloláctica, como durante la conservación. Este incremento de

la polimerización de los antocianos durante y después de la microoxigenación, este comportamiento es el esperado, ya que el objetivo de la microoxigenación, y por tanto el de la adición de acetaldehído, es el de favorecer estas uniones incrementando la estabilidad del color. Este efecto ha sido observado por numerosos autores (McCord, 2003; Llaudy et al., 2006; Cano –Lopez et al., 2006), que además encuentran una disminución de la astringencia de los vinos y un aumento en el tamaño de los polímeros tánicos. Este efecto es el contrario el observado en los antocianos libres y también en los antocianos copigmentados, ya que posiblemente estos hayan pasado a formar parte de complejos de polimerización en detrimento de los de copigmentación.

En la Tabla 12 figuran los resultados del ANOVA del porcentaje de color debido a los antocianos polimerizados, en función de las técnicas de maceración utilizadas y de la aplicación o no de acetaldehído, al final del proceso de conservación.

TABLA 12. Resultados de la ANOVA

			Test F	P-valor
Tratamiento (A)	Sin MO	48,24 (1,06) (a)	2,88	0,1024
	Con MO	50,78 (1,06) (a)		
Técnica (B)	Tradicional	49 (1) (a)	0,48	0,4957
	MF	50,03 (1,13) (a)		
A x B	-----	-----	0,00	0,9746

Tal y cómo refleja la tabla, los p-valores obtenidos al realizar los contrastes pertinentes del porcentaje de antocianos polimerizados, nos proporcionan evidencia estadística suficiente para afirmar que no hay diferencias significativas entre las diferentes técnicas de vinificación ni entre la adición o no de acetaldehído, ni tampoco entre la interacción entre ambos factores.

Evolución del parámetro relacionado con la concentración total de polifenoles.

La concentración total de polifenoles en el vino se ha determinado mediante el Índice de Folin-Ciocalteu. Esta técnica mide la presencia de grupos fenol en el vino.

En la Tabla 13 figuran las medias y desviaciones típicas de la evolución del Índice de Folin al cabo de 12 meses, en función de las técnicas de maceración utilizadas y de la aplicación o no de acetaldehído. En la figura 7 se muestra la evolución durante la conservación y sus valores al cabo de 12 meses.

En el índice de Folin se aprecia una tendencia a la disminución a lo largo de la conservación de los vinos. Los vinos adicionados de acetaldehído presentan valores más bajos con respecto a los no adicionados, siendo los

valores de estos más elevados. Este comportamiento podría explicarse debido a las reacciones mediadas por el acetaldehído, que forman complejos antociano-tanino, polímeros tanino-tanino, y macromoléculas más grandes que pueden precipitar dando lugar a esa menor concentración de polifenoles encontrada. Este comportamiento ha sido observado también por Elisa Saitini et al. (2006), que atribuyen a las reacciones de estabilización que tienen lugar durante la conservación, el hecho de que la disminución sea inferior a la esperada. Los vinos macerados en frío son los que presentan los mayores valores de Índice de Folin, debido a una mayor extracción polifenólica durante el proceso de vinificación.

TABLA 13. Medias y desviaciones típicas del Índice de Folin después de la fermentación maloláctica, de la microoxigenación y de los 6, 9 y 12 meses de conservación.

Técnica	Tratamiento	0 meses	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses
Tradicional	Sin MO	51,41 (1,18)	51,04 (0,17)	49,4 (0,3)	47,8 (0,3)	49,947 (1,114)
	Con MO	51,41 (1,18)	51,4 (0,5)	49,9 (0,6)	48,3 (0,6)	48,7 (0,5)
MF	Sin MO	55,5 (1,4)	54,8 (0,5)	53,0 (0,9)	51,4 (0,9)	53,3 (0,5)
	Con MO	55,5 (1,4)	54,9 (0,3)	53,0 (0,6)	51,4 (0,6)	52,3 (0,7)

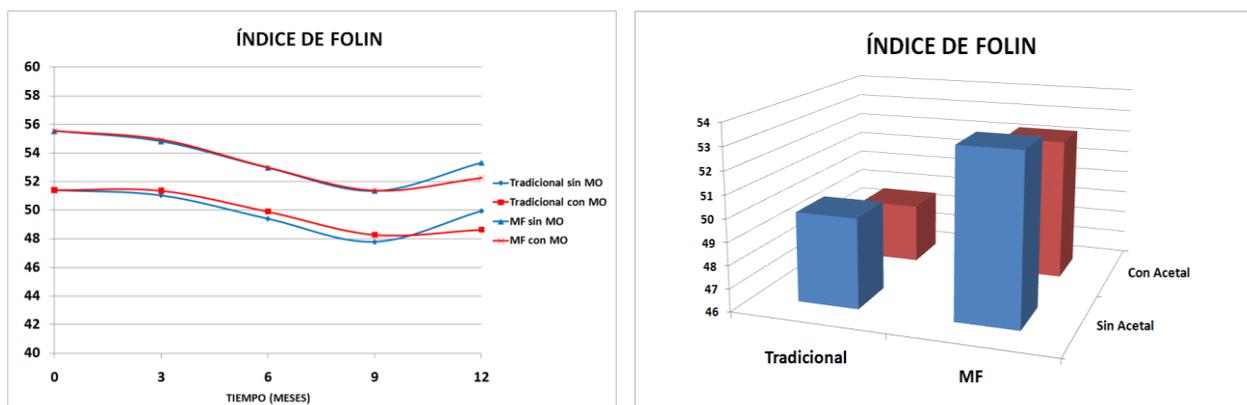


FIGURA 7. Evolución del Índice de Folin durante la conservación de los vinos y representación gráfica al cabo de 12 meses. Tradicional: maceración tradicional, MF: maceración prefermentativa en frío, Sin MO: sin microoxigenación (sin acetaldehído), Con MO: con microoxigenación (con acetaldehído).

En la Tabla 14 figuran los resultados del ANOVA del Índice de Folin, en función de las técnicas de maceración utilizadas y de la aplicación o no de acetaldehído, al final del proceso de conservación.

El análisis del Índice de Folin refleja que no hay diferencias significativas entre la adición o no de acetaldehído, ni tampoco entre la interacción de ambos factores pero que sí las hay entre las diferentes técnicas de vinificación, como ya ocurría cuando se analizaba el Tono.

TABLA 14. Resultados de la ANOVA

			Test F	P-valor
Tratamiento (A)	Sin MO	51,6 (0,6) (a)	1,74	0,2001
	Con MO	50,5 (0,6) (a)		
Técnica (B)	Tradicional	49,3 (0,6) (a)	15,05	0,0007
	MF	52,8 (0,7) (b)		
A x B	-----	-----	0,01	0,9040

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

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

En la Tabla 15 figuran las medias y desviaciones típicas de la evolución de la concentración de taninos condensados al cabo de 12 meses, en función de las técnicas de maceración utilizadas y de la aplicación o no de acetaldehído. En la figura 8 se muestra la evolución durante la conservación y sus valores al cabo de 12 meses.

TABLA 15. Medias y desviaciones típicas de los taninos condensados (g/L) después de la fermentación maloláctica, de la microoxigenación y de los 6, 9 y 12 meses de conservación.

Técnica	Tratamiento	0 meses	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses
Tradicional	Sin MO	2,01 (0,09)	2,03 (0,13)	2,3 (0,2)	2,4 (0,3)	2,3 (0,2)
	Con MO	2,01 (0,09)	2,1545 (0,1009)	1,8 (0,2)	1,8 (0,2)	1,9 (0,2)
MF	Sin MO	2,0 (0,3)	2,21 (0,08)	2,46 (0,08)	2,6 (0,2)	2,52 (0,13)
	Con MO	2,0 (0,3)	2,31 (0,12)	2,12 (0,14)	2,0 (0,3)	2,2 (0,2)

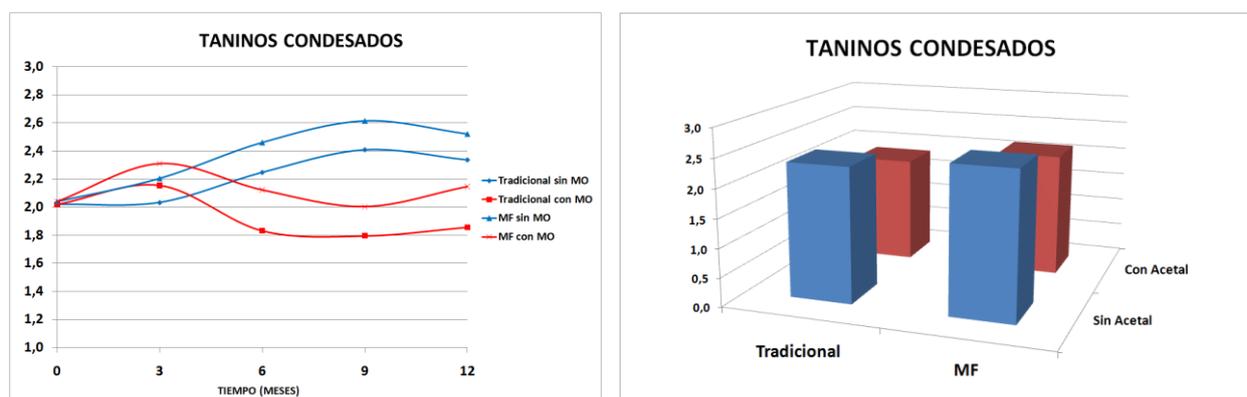


FIGURA 8. Evolución de los taninos condensados (g/L) durante la conservación de los vinos y representación gráfica al cabo de 12 meses. Tradicional: maceración tradicional, MF: maceración prefermentativa en frío, Sin MO: sin microoxigenación (sin acetaldehído), Con MO: con microoxigenación (con acetaldehído).

Observamos como la concentración de taninos se incrementa durante el proceso de conservación, siendo este incremento más importante en los vinos no adicionados de acetaldehído, y en los sometidos a maceración prefermentativa. Este comportamiento podría deberse a la precipitación de los complejos tanino-tanino muy voluminosos, mientras que en los otros vinos no han alcanzado un alto grado de polimerización, no alcanzándose un peso molecular elevado y por lo tanto manteniéndose todavía en suspensión en el medio. Para que estas reacciones tengan lugar es necesaria la presencia de oxígeno, que transforma el etanol en acetaldehído, o bien la presencia directa de acetaldehído. Este oxígeno ha sido incorporado también durante el proceso de elaboración, en las operaciones enotécnicas básicas tales como estrujado, remontados, trasiegos, etc. Otro factor importante a tener en cuenta es la dimensión de los depósitos de 50 litros empleados para la elaboración de estos vinos ya que la relación de la boca del depósito con respecto al volumen de vino que contiene es muy grande.

Llaudy M.C. et al. (2006), encuentran un incremento en la concentración de taninos en vinos microoxigenados, aunque otros autores destacan también como se produce la precipitación de estos cuando las moléculas aumentan su tamaño. Por lo tanto, la conservación del vino durante 12 meses puede dar lugar a que aparezca precipitación en las botellas.

En la Tabla 16 figuran los resultados del ANOVA de la concentración de taninos condensados, en función de las técnicas de maceración utilizadas y de la aplicación o no de acetaldehído, al final del proceso de conservación.

En el ANOVA realizado para el estudio de la concentración de taninos condensados tal y cómo se refleja en la tabla, podemos rechazar la hipótesis nula a favor de la alternativa según el tipo de tratamiento empleado, mientras que en el caso de la técnica o en la interacción de ambos factores no podemos rechazarla, lo cual implica que en la concentración de taninos condensados no influye las técnicas de vinificación ni la combinación de ambos factores.

TABLA 16. Resultados de la ANOVA

			Test F	P-valor
Tratamiento (A)	Sin MO	2,43 (0,09) (b)	11,00	0,0029
	Con MO	2,00 (0,09) (a)		
Técnica (B)	Tradicional	2,09 (0,08) (a)	3,40	0,0776
	MF	2,33 (0,09) (a)		
A x B	-----	-----	0,16	0,6905

En la Tabla 17 figuran las medias y desviaciones típicas de la evolución del Índice de DMACH (%) al cabo de 12 meses, en función de las técnicas de maceración utilizadas y de la aplicación o no de acetaldehído. En la figura 9 se muestra la evolución durante la conservación y sus valores al cabo de 12 meses.

TABLA 17. Medias y desviaciones típicas del Índice de DMACH (%) después de la fermentación maloláctica, de la microoxigenación y de los 6, 9 y 12 meses de conservación.

Técnica	Tratamiento	0 meses	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses
Tradicional	Sin MO	60,11 (3,03)	62,7 (3,4)	52,5 (4,8)	49,359 (5,004)	53,8 (3,3)
	Con MO	60,11 (3,03)	56,5 (2,3)	58 (3)	56,3 (4,9)	52 (1)
MF	Sin MO	66,5 (10,4)	63,1 (3,3)	49,2 (0,9)	44,6 (1,7)	49,7 (1,7)
	Con MO	66,5 (10,4)	56,6 (3,4)	55,7 (4,2)	55,7 (1,4)	45,2 (5,3)

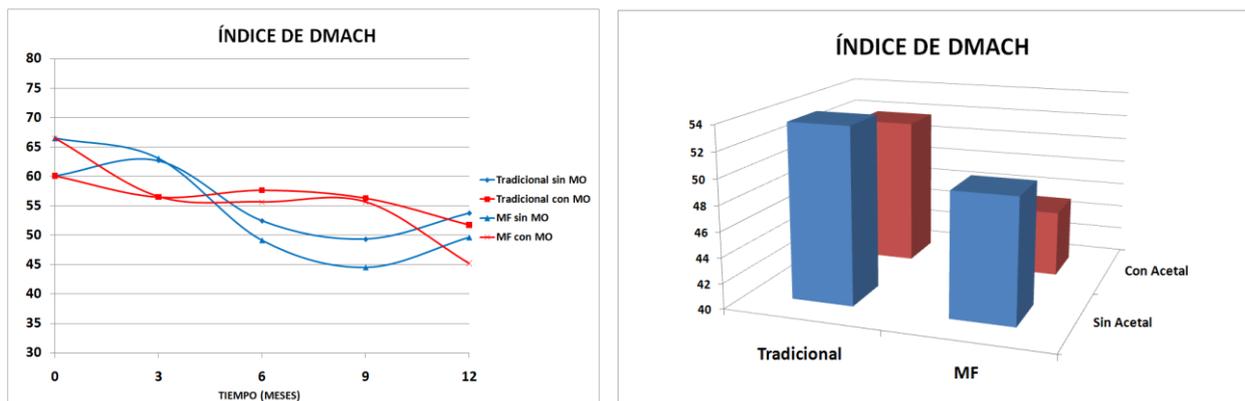


FIGURA 9. Evolución del Índice de DMACH (%) durante la conservación de los vinos y representación gráfica al cabo de 12 meses. Tradicional: maceración tradicional, MF: maceración prefermentativa en frío, Sin MO: sin microoxigenación (sin acetaldehído), Con MO: con microoxigenación (con acetaldehído).

El índice de DMACH nos indica el grado de polimerización de los taninos, este varía de 10 a 200 en sentido inverso a la masa molecular de los taninos y por tanto a su grado de polimerización. Un grado de condensación media presenta un índice próximo a 50 (peso molecular sobre 1000) y los muy condensados entre 10 y 20 (peso molecular entre 2000 y 3000). Los taninos menos condensados presentan un peso molecular entre 500 y 700 (dímeros y trímeros). Los resultados muestran que los vinos elaborados presentan un índice en torno a 65, lo que nos indica un grado de polimerización medio. Al final del periodo de conservación los valores se sitúan en torno a 45 o 55, debido al aumento del grado de polimerización, pasando las cadenas de proantocianidinas a tener un número más elevado de monómeros. Otros autores confirman como el grado de polimerización se incrementa posteriormente al proceso de la microoxigenación (Llaudy M.C. et al., 2006). Este incremento también ha sido observado en este estudio ya que en la analítica posterior a la aplicación de acetaldehído podemos observar un grado de polimerización más bajo en los vinos microoxigenados, aunque a lo largo de proceso de conservación, prácticamente se igualan con respecto a los vinos no adicionados de acetaldehído.

En la Tabla 18 figuran los resultados del ANOVA del Índice de DMACH (%), en función de las técnicas de maceración utilizadas y de la aplicación o no de acetaldehído, al final del proceso de conservación.

En este caso, no podemos rechazar la hipótesis nula a favor de la alternativa con un nivel de significatividad del 95%, puesto que no hay

diferencias significativas entre las diferentes técnicas de vinificación, entre la adición o no de acetaldehído, ni tampoco entre la interacción de ambos factores.

TABLA 18. Resultados de la ANOVA

			Test F	P-valor
Tratamiento (A)	Sin MO	51,7 (2,6) (a)	0,79	0,3820
	Con MO	48,5 (2,6) (a)		
Técnica (B)	Tradicional	52,8 (2,4) (a)	2,17	0,1534
	MF	47,4 (2,7) (a)		
A x B	-----	-----	0,11	0,7412

En la Tabla 19 figuran las medias y desviaciones típicas de la evolución del Índice de Gelatina (%) al cabo de 12 meses, en función de las técnicas de maceración utilizadas y de la aplicación o no de acetaldehído. En la figura 10 se muestra la evolución durante la conservación y sus valores al cabo de 12 meses.

TABLA 19. Medias y desviaciones típicas del Índice de Gelatina (%) después de la fermentación maloláctica, de la microoxigenación y de los 6, 9 y 12 meses de conservación.

Técnica	Tratamiento	0 meses	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses
Tradicional	Sin MO	44,80 (5,14)	53 (1)	50 (1)	50,4 (9,7)	43,01 (1,13)
	Con MO	44,80 (5,14)	30,1 (3,5)	27,4 (1,5)	28,2 (1,7)	31,2 (1,9)
MF	Sin MO	45 (15)	53,9 (1,5)	50,9 (1,9)	49,8 (1,4)	41,8 (1,6)
	Con MO	45 (15)	31,8 (3,4)	28,9 (4,3)	30,6 (1,5)	28,4 (3,5)

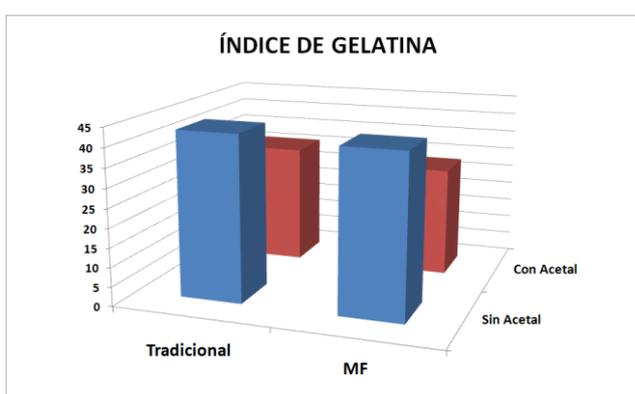
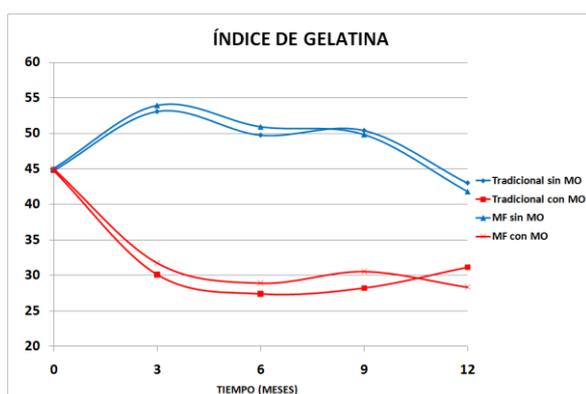


FIGURA 10. Evolución del Índice de Gelatina (%) durante la conservación de los vinos y representación gráfica al cabo de 12 meses. Tradicional: maceración tradicional, MF: maceración prefermentativa en frío, Sin MO: sin microoxigenación (sin acetaldehído), Con MO: con microoxigenación (con acetaldehído).

El índice de gelatina está relacionado con la astringencia de los vinos. Las reacciones de condensación de los taninos entre sí, así como las reacciones de polimerización tanino-antociano, y taninos con polisacáridos,

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

Tal como se puede observar en los vinos elaborados, se produce una disminución de la astringencia a lo largo del periodo de conservación. Este efecto es observado también por otros autores (McCord, 2003; Zoeclein B.W. et al., 2003; Jones P.R. et al., 2004; LLaudy et al., 2006; Cano-Lopez et al., 2006), siendo una de las consecuencias más importantes de la incorporación de oxígeno al vino. La adición de acetaldehído ha provocado un aumento de la polimerización de taninos, con la consiguiente disminución de la astringencia y suavizamiento de los vinos. En cuanto a las técnicas de vinificación, la mayor extracción de compuestos polifenólicos de las partes sólidas de la uva debido al periodo de maceración prefermentativa en frío, ha incrementando también estas uniones con la posterior perdida de astringencia.

En la Tabla 20 figuran los resultados del ANOVA del Índice de Gelatina (%), en función de las técnicas de maceración utilizadas y de la aplicación o no de acetaldehído.

Ya para terminar con el análisis estadístico, comentar que en el estudio del Índice de Gelatina, sólo apreciamos diferencias significativas en la adición o no de acetaldehído, siendo los vinos no adicionados con acetaldehído los que presentan una mayor astringencia a diferencia de los vinos adicionados con acetaldehído.

TABLA 20. Resultados de la ANOVA

			Test F	P-valor
Tratamiento (A)	Sin MO	42,4 (1,7) (b)	27,98	0,0000
	Con MO	29,8 (1,7) (a)		
Técnica (B)	Tradicional	37,1 (1,6) (a)	0,71	0,4081
	MF	35,1 (1,8) (a)		
A x B	-----	-----	0,11	0,7460

CONCLUSIONES

1. Al final de la fermentación maloláctica no se observan diferencias ni en el color ni el tono de los vinos elaborados con o sin maceración prefermentativa. Los antocianos coloreados, los polifenoles totales, el porcentaje de color debido a los antocianos polimerizados y el porcentaje de color debido a los antocianos copigmentados presentan valores superiores en los vinos sometidos a maceración prefermentativa en frío, en cambio, el Tono, el Índice de Dmach y el Índice de Gelatina son superiores en los vinos

no macerados prefermentativamente en frío. La astringencia es ligeramente inferior en los vinos macerados prefermentativamente en frío. Esta técnica es por tanto de gran interés para la calidad organoléptica y polifenólica de los vinos, y podría ser recomendable para elaborar vinos de crianza de Monastrell a partir de uvas con una elevada carga polifenólica junto con una elevada capacidad extractiva.

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

3. Al final del proceso de conservación prácticamente no se aprecia el efecto de las técnicas de vinificación. El efecto combinado de maceración prefermentativa y microoxigenación produce un importante descenso de la astringencia, por lo que solo se justificaría la realización de estas técnicas conjuntamente cuando los taninos de hollejos y pepitas no estén suficientemente maduros y proporcionen elevada sensación de astringencia.

REFERENCIAS

- ALCADE-EON, C., ESCRIBANO-BAILÓN, M.T., SANTOS-BUELGA, C., & RIVAS-GONZALO, J. C. 2006. Changes in the detailed pigment composition of red wine during maturity and ageing. A comprehensive study. *Analytica Chimica Acta*, 563, 238–254.
- ÁLVAREZ, I.; GARCÍA, M. A.; MARTÍN, P.; GONZÁLEZ, R.; RODRÍGUEZ, M., 2004. Efecto de la maceración prefermentativa en frío en la composición de vinos tintos de Tempranillo. En "III Congreso Español de Ingeniería de Alimentos". Pamplona.
- ÁLVAREZ, I.; GARCÍA, M. A.; MARTÍN, P.; GONZÁLEZ, R. 2005. Utilización de la criomaceración para mejorar la extracción de compuestos polifenólicos en uvas de Tempranillo procedentes de cultivo con altos niveles de fertilización. *Jornadas Técnicas de los grupos de investigación enológica española*. GIENOL.
- ALVAREZ, I.; ALEIXANDRE, J.; GARCÍA, M.J.; LIZAMA, V. 2006. Impact of prefermentative maceration on the phenolic and volatile compounds in the Monastrell red wines. *Analytica Chimica Acta* 563, 109-116.
- ALVAREZ, I.; ALEIXANDRE, J.; GARCÍA, M.J.; LIZAMA, V. JL. 2008. Effect of the prefermentative addition of copigments on the polyphenolic composition of Tempranillo wines after malolactic fermentation. *European Food Research and Technology*. On line DOI 10.1007/s00217-008-0957-0.
- BARANOWSKI, E.S.; NAGEL, C.W. (1983). Kinetics of malvidin-3-glucoside condensation in wine model solutions. *J. FoodSci.* 38, 932-936.
- BONAGA, G., PAROTA, U., & SYRGHI, K. 1990. Influenza delle sostanze polifenoliche sulla qualità dei vini bianchi. *Vini d'Italia*, 32(5), 13–38.

- BOULTON, R. B., 1996. Methods for the assessment of copigmentation in red wines. Presented at the 47th Annual Meeting of the American Society for Enology and Viticulture, Reno, NV.
- BOULTON, R., 2001. "The copigmentation of Anthocyanins and Its Role in the Color of Red Wine: A Critical Review". *Am. J. Enol. Vitic.* 52, 67 – 87.
- BROUILLARD, R. 1982. Chemical structure of anthocyanidins. In: *Anthocyanins as foodcolors*. P. Markakis (Ed.). pp 1-40. Academic Press, N. York.
- BROUILLARD, R.; DANGLES, O. 1994. Anthocyanin molecular interactions: the first step in the formation of new pigments during wine aging. *Food Chemistry*, 51, 365-371.
- CACHO, J. (2003). El vino y su composición y nuestros sentidos. *Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas, Químicas y Naturales de Zaragoza (España)* 47: 13.
- CANO-LÓPEZ, M., LÓPEZ-ROCA, J.M., GÓMEZ-PLAZA, E., PARDO-MINGUEZ, F. 2006. Efecto de la microoxigenación en vinos tintos con diferente contenido polifenólico. *Tecnol. Vino* 2006, Julio-Agosto, 45–50.
- CANO-LÓPEZ, M., LÓPEZ-ROCA, J.M., GÓMEZ-PLAZA, E., PARDO-MINGUEZ, F. 2007. Chromatic characteristics and anthocyanin profile of a micro-oxygenated red wine after oak or bottle maturation. *European Food Research Technology* (2007) 225:127–132
- CANO-LÓPEZ, M., LÓPEZ-ROCA, J.M., GÓMEZ-PLAZA, E., PARDO-MINGUEZ, F. 2009. Oak barrel maturation vs. micro-oxygenation: Effect on the formation of anthocyanin-derived pigments and wine colour *Food Chemistry* 119 (2009) 191–195
- COMISIÓN EUROPEA, 1990. Reglamento (CEE) No 2676/90 de 17 de septiembre de 1990 por el que se determinan los métodos oficiales de análisis de vinos, zumos y mostos de uva. En: *Diario Oficial de las Comunidades Europeas* L272 (3 de octubre de 1990). Comisión Europea ed. Bruselas. Bélgica: 0001-0192.
- COTTRELL, T. 2004. Microoxygenation. A modern tool for red wines. *Wine Business Monthly* 2:1-10.
- DARIAS-MARTÍN, J., CARRILLO, M., DÍAZ, E., BOULTON, R.B., 2001. "Enhancement of wine colour by prefermentation addition of copigments". *Food Chemistry* 73 (2001) 217 – 220.
- DARIAS-MARTÍN, J., B. MARTÍN, M. CARRILLO, R. LAMUELA, C. DÍAZ AND R. BOULTON 2002. The effect of caffeic acid on the color of red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50 (7): 2062-2067.
- ELISA SAITINI, GIUSEPPE ARFELLI, ALESSANDRA FABIANI, ANDREA PIVA 2007. Influence of chips, lees and micro-oxygenation during aging on the phenolic composition of a red Sangiovese wine *Food Chemistry* 104 (2007) 1599–1604.
- FERRARINI, R., GIRARDI, F., DE-CONTI, D., & CASTELLARI, M. 2001. Esperienze di applicazione della microossigenazione come tecnica d'affinamento dei vini. *Industrie delle Bevande*, XXX, 116–122.
- FURTADO, P.; FIGUEREIDO, P.; CHAVES, H.; PINA, F. 1993. Photochemical and thermal degradation of anthocyanidins. 7. *Photochem. Photobiol. A. Chem.* 75,113-118.
- GARCÍA BARCELÓ, J., 1990. Técnicas analíticas para vinos. GAB. ISBN: 84-404-7827-5.
- GLORIES, Y. 1978. Recherches sur la matière colorante des vins rouges. Thèse a L'Université de Bordeaux II.
- GÓMEZ-MINGUEZ, M.; HEREDIA, F. 2004. Effect of the maceration techniques on the relationships between anthocyanin composition and objective color of Syrah wines. *J. Agric. Food Chem.*, 52, 5117-5123.
- HERMOSÍN GUTIÉRREZ, I. y SCHWARZ, M. 2005. Efectos de la naturaleza del copigmento y de la variedad de uva en el color de vinos tintos elaborados con adicción prefermentativa de copigmentos. *Actas de las VIII Jornadas de los Grupos de Investigación Enológica (GIENOL)*. Palencia. 80-82.
- JONES, P.R., KWIATKOWSKI, M.J., SKOUROUMOUNIS, G.K., FRANCIS, L., LATTEY, E.J., WATERS, I.S., PRETORIUS, P.B. *Aust. Wine Ind. J.* 19 (2004) 17.
- JURD, L. 1969. Review of polyphenol condensation reactions and their possible occurrence in the aging of wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 20(3), 191–195.
- LLAUDY, M., CANALS, R., GONZALEZ-MANZANO, S., CANALS, J.M., SANTOS-BUELGA, C., ZAMORA, F. 2006. Influence of micro-oxygenation treatment before oak aging on phenolic compound composition, astringency, and color of red wine. *J. Agric. Food Chem.* 2006, 54, 4246–4252.

- MIRABEL, M.; SAUCIER, C.; GUERRA, C.; GLORIES, Y. (1999). Copigmentation model wine solutions: occurrence and relation to wine aging. *Am. J. Enol. Vitic.* 50, 211-217.
- Mc CORD, J. 2003. Application of toasted oak and micro-oxygenation to ageing of Cabernet Sauvignon wines. *Australian & New Zealand Grapegrower Winemaker* 43–53.
- PARENTI, A.; SPUGNOLI, P.; CALAMAI, L.; FERRARI, S.; GORI, C. 2004. Effects of cold maceration on red wine quality from Tuscan Sangiovesi grape. *Eur. J. Food Res. Technol.*, 218: 360-366.
- PARISH, M., WOLLAN, D., & PAUL, R. 2000. Micro-oxygenation a review. *Australian Grapegrower and Winemaker*, 438, 47–50.
- PÉREZ-MAGARIÑO, S., & GONZÁLEZ-SANJOSÉ, M. L. 2002. Influencia de aportes controlados de oxígeno sobre la calidad de vinos tintos de crianza. *Viticultura-Enología Profesional* n of micro-oxygenation. *Australian New Zealand Grapegrower and Winemaker*, 468, 41–44.
- PÉREZ-MAGARIÑO, S., & GONZÁLEZ-SANJOSÉ, M. L. 2004. *J Agric Food Chem* 52:1181–1189
- POUR-NIKFARDJAM, M. S., & DYKES, S.L. 2003. Micro-oxygenation research at Lincoln University. Part 3: Polyphenolic analysis of Cabernet Sauvignon wine under the application
- REYNOLDS, A.; CLIFF, M.; GIRARD, B; KOPP, T. 2001. *Am. J. Enol. Vit.*, 52(3), 235-242.
- RIBÉREAU-GAYON, P., PONTALLIER, P., & GLORIES, Y. 1983. Some interpretations of colour changes in young red wines during their conservation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 34, 505-516.
- RIBÉREAU-GAYON, P., GLORIES, Y., MAUJEAN, A., DUBOURDIEU, D. 2000. *Handbook of enology: Volume 2. The chemistry of wine stabilization and treatments.* 2000. 404 pp.
- SAINT-CRIQ, N., VIVAS, N, GLORIES, Y. 1998. Maturité phenolique: definition et contrôle. *Revue Francaise d'Oenologie.* 173: 22-25.
- SANTOS-BUELGA, C., BRAVO-HARO, S., RIVAS-GONZALO, J.C. 1995. Interactions between catechin and malvidine-3-monoglucoside in model solutions. *Z Lebensm. Unters.*
- SANTOS-BUELGA, C. 2001. Sustancias polifenólicas y color del vino tinto. *Enología Avui*, 29-37.
- SCHWARZ, M.; PICAZO-BACETE, J.J.; WINTERHALTER, P.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, 2005. Effect of copigments and grape cultivar on the color of red wines fermented after the addition of copigments. *J. Agric. Food Chem*, 53, 8372-8381.
- SIMS, C., & MORRIS, J. 1986. Effects of acetaldehyde and tannins on the color and chemical age of red muscadine wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 37, 163-165.
- SINGLETON, V. L., ROSSI, J. A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdic phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.*, 16 (3): 144-158.
- SOMERS, T. C. 1971. The polymeric nature of wine pigment. *Phytochemistry*, 10(9), 2175–2186.
- SOMERS, T.C. 1976. Pigment development during ripening of the grape. *Vitis* 14:269-277.
- VIVAS, N., GLORIES, Y., LAGUNE, L., SAUCIER, C., AUGUSTIN, M., 1994. Estimation of the polymerisation level of procyanidins from grapes and wines by use of p-dimethylaminocinnamaldehyde. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, 28: 319-336.
- VIVAR-QUINTANA, A., SANTOS-BUELGA, C., RIVAS-GONZALO, J. C. 2002. Anthocyanin-derived pigments and colour of red wines. *Analytica Chimica Acta*, 458, 147–155.
- ZOECKLEIN, B. W., CAREY, R., SULLIVAN, P., *Wine East* 31 (2003) 28.