

UNIVERSIDAD POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

ESCOLA TÈCNICA SUPERIOR D'ENGINYERIA
AGRONÒMICA I DEL MEDI NATURAL



**Estudio de productos alternativos a las barricas para la
crianza de vinos. Efecto sobre la composición
polifenólica.**

TRABAJO DE FIN DE GRADO

Alumno/a

NICOLE DURAN COYA

Directora académica

VICTORIA LIZAMA ABAD

Valencia, Septiembre 2015



Curso académico 2014-2015

VALENCIA, SEPTIEMBRE 2015

RESUMEN:

La industria enológica es un sector que siempre está buscando reinventarse debido a la elevada competencia a la que está sometida. Por ello, es importante estudiar métodos alternativos a los tradicionales que nos ayuden a conseguir un producto de calidad con un buen rendimiento y a un buen precio. En esta necesidad enológica se centra este trabajo, más concretamente a la crianza de los vinos. La crianza en barrica requiere una elevada inversión y algunas bodegas no pueden asumirla. Por ello, está surgiendo una técnica alternativa a la crianza en barrica, utilizando las llamadas chips o virutas de roble. Es un sustituto donde podemos conseguir un producto de calidad a coste más bajo que con la crianza en barrica. Por ello, este trabajo se centra en el estudio de las virutas desde dos aspectos. Por un lado, el estudio de las virutas y sacar su perfil polifenólico; para ello, se estudiaron 6 tipos de virutas de roble con diferentes grados de tostado. Dichas virutas se dejaron macerar en acetona/agua a diferentes condiciones (con y sin agitación y a diferentes dosis) transcurrido 24 horas de maceración y tras ser las muestras filtradas y centrifugadas se procedió a sacado su perfil polifenólico mediante técnicas simple de espectrofotometría.

Por otro lado, y paralelamente se estudió el efecto de las virutas sobre la composición del vino. Para ello, se pusieron en contacto diferentes tipos de virutas y un vino tinto de la variedad de uva Monastrell durante un mes, en distintas condiciones (diferentes dosis, con o sin microoxigenación). El estudio se centra en conocer el efecto que tienen los diferentes tipos de virutas y aplicación de la microoxigenación sobre la estabilidad polifenólica de los vinos. Para ello, por espectrofotometría, se analizaron componentes de color (I.C., concentración de antocianos, Índice de PVPP,) así como la interacción entre los taninos (concentración de taninos, I.P.T., Índice de DMACH). Además se estudió el efecto de los tratamientos sobre el perfil antocianídico de los vino mediante técnicas de HPLC.



Academic course 2014-2015

VALENCIA, SEPTEMBER 2015

ABSTRACT:

The wine industry that is always looking for improve due due to high competition. It is therefore important to study alternative methods to traditional help us get a quality product and a good price. In this proyect we are going to study that. The barrel aging requires a high investment and some wineries can not assume it. Therefore, it is an emerging alternative to barrel aging technique using so-called chips or oak chips. It is a substitute where we can get a quality product at lower cost than with the barrel aging. Therefore, this work is focused on the study of the chips from two aspects. On the one hand, the study of chips and get their phenolic profile; for this, 6 types of oak chips with different degrees of roasting were studied. Such chips left macerated in acetone / water at different conditions (with and without agitation and different doses), 24 hours after maceration and after being filtered and centrifuged samples proceeded to their polyphenolic profile by simple spectrophotometric techniques.

On the other hand, and in parallel the effect of chips was studied on the composition of the wine. For that, they put in contact differents types of chips with red wine from the grape variety Monastrell for a month, under different conditions (different doses, with or without micro-oxygenation). The study focuses on understanding the impact that different types of chips and application of micro-oxygenation on wines polyphenolic stability. To do this, spectrophotometry color components (IC, concentration of anthocyanins, index PVPP) and the interaction between the tannins (tannins concentration, IPT, DMACH index) were analyzed. In addition the effect of treatments on the profile antocianídico wine by HPLC techniques was studied.

*“El mejor vino no es necesariamente
el más caro, sino el que se comparte”*

George Brassens

Dedicatorias y agradecimientos

Es justo empezar agradeciendo a todo el departamento de enología del centro de investigación de la Universitat Politècnica de València, en especial a mi tutora Victoria Lizama por brindarme la oportunidad de hacer un proyecto de lo que más me gusta, la enología. Gracias a ello, ahora se a lo que me quiero dedicar toda mi vida.

Quiero agradecerérselo a toda mi familia, mis hermanos pero en especial a mi padre, Néstor, y mi madre, Claudia, sin su gran esfuerzo y dedicación yo no estaría ahora aquí. De mayor me conformo con ser la mitad de fuerte que sois vosotros.

Como no, agradecerérselo a mis amigas de la carrera. En especial a Alba, Rosalía, Eva y Jessica. Habéis hecho de estos cuatro años de los mejores vividos en mi vida.

Y por último y no menos importante a Carlos. Por la enorme paciencia que me tienes y por ser el gran apoyo en mi vida. Eres el mejor compañero de viaje.

I.	INTRODUCCIÓN	1
I.1.1	Clasificación y distribución del género <i>Quercus</i>	2
I.1.2.	Anatomía de la madera de roble.	3
I.1.2.1.	Concepto del grano y anillo de crecimiento	3
I.1.3.	Composición química de la madera de roble	4
I.1.3.1	Principales sustancias volátiles procedentes del roble	5
I.1.3.2.	Compuestos fenólicos procedentes de la madera de roble.	6
I.1.4.	El vino: su composición polifenólica	8
I.1.5.	Proceso de obtención de la madera para tonelería	9
I.1.5.1.	Secado de la madera	10
I.1.5.1.1.	Lixiviado de la madera	10
I.1.5.1.2.	Diferencias entre el secado natural y artificial	11
I.1.5.2.	Tostado de la madera	11
I.1.5.2.1.	Influencia del tostado en las características del vino durante la crianza	12
I.1.6.	La crianza del vino	12
I.1.6.1.	Evolución de los compuestos fenólicos del vino durante la crianza; incidencia organoléptica	13
I.1.7.	Microoxigenación	14
I.1.8.	Técnicas alternativas a la crianza en bodega: las virutas	16
II.	OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO	19
II.1.1.	Objetivos	19
II.1.2.	Plan de trabajo	19
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	20
III.1.1.	Virutas	20
III.1.2.	El vino	21
III.1.3.	Métodos analíticos	22
III.1.3.1.	Extracción de los componentes polifenólicos de las virutas	22
III.1.3.2.	Análisis de las virutas	23
III.1.3.3.	Diseño experimental del vino	23
III.1.3.4.	Determinaciones analíticas del vino	24
III.1.3.5.	Técnica de microoxigenación	25
III.1.3.6.	Tratamiento estadístico	26
III.1.3.7.	Análisis de la varianza	26
IV.	RESULTADOS	27
IV.1.1.	Composición química de las virutas	27
IV.1.2.	Resultados del análisis del vino	30
IV.1.2.1.	Efecto del tipo de viruta sobre la composición polifenólica de los vinos después de un mes de embotellado	30
IV.1.2.2.	Efecto de la microoxigenación sobre la composición polifenólica de los vinos después de un mes de embotellado	34

IV.1.2.3. Efecto de la dosis sobre la composición polifenólica de los vinos después de un mes de embotellado	37
V. CONCLUSIÓN	40
VI. BIBLIOGRAFÍA	41

I. INTRODUCCIÓN

I.1.1. CLASIFICACIÓN Y DISTRIBUCIÓN DEL GÉNERO *Quercus*

El roble pertenece al género *Quercus*, formado por 150 especies. Constituye, dentro de la familia de las Fagáceas, la subfamilia Quercoideae, que se extiende por el hemisferio norte, a lo largo de Europa, América del Norte, América Central y Sudeste de Asia, y algo en el norte de África y Sudamérica. El número de especies aumenta de Este a Oeste, siendo Méjico el país con mayor diversidad.

En Europa, el género *Quercus* está representado por 29 especies, que se agrupan en 4 subgéneros: *Oersted* (antiguo *Lepidobalanus*), *Erythrobalanus*, *Cerris* y *Sclerophyllodrys*, cuya distribución territorial se encuentra muy mezclada.

El género *Oersted* (ant. *Lepidobalanus*) incluye las dos principales especies utilizadas para tonelería: *Q. petraea* o *sessilis* y *Q. robur* o *pedunculata*. Estas especies se encuentran prácticamente repartidas por todo el continente europeo pero el principal productor es Francia, donde se cultivan unos tres millones de hectáreas de robledales. Por su fuerte hibridación, no es fácil distinguir entre *Q. robur* y *Q. petraea*. La mayoría de los bosques explotados para la producción de duela están poblados por las dos especies, pero algunos ofrecen poblaciones más puras que otros, en función de las condiciones más idóneas para el desarrollo de cada una de ellas, de modo que en la práctica se distingue la zona de procedencia y no la especie. *Quercus petraea* se adapta bien a los suelos arenosos y no es muy exigente en luminosidad. Esta especie se cultiva según la técnica haute futaie o monte alto regular, en la que los árboles son altos y de buena calidad, pudiendo llegar a diámetros de más de 60 cm. (Keller, 1992; Vivas, 1998). La especie *Q. robur* se cultiva con la técnica taillis sous futaie o monte bajo con resalvos, porque requiere mucha iluminación y suelos fértiles.

En España, según el último Inventario Forestal (1999) disponemos de una superficie de bosques de robles de 125.000 ha. Incluyéndose en estos datos sin distinción el conjunto de *Q. robur* y *Q. petraea*. Estas masas forestales se localizan principalmente en el Norte y Nordeste de la Península.

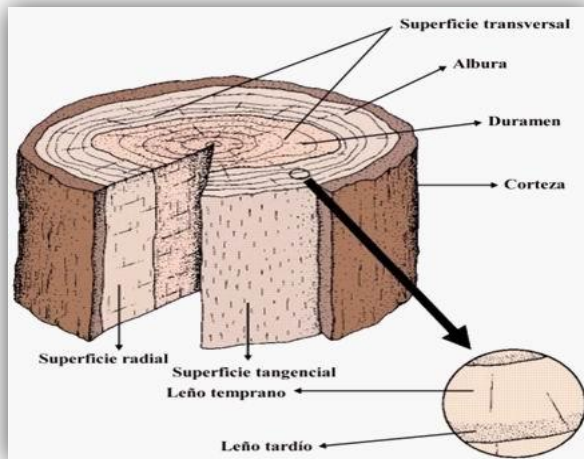
En América se cultivan del orden de 24 especies, encuadradas todas ellas dentro de dos grandes grupos, robles blancos (subgénero *Quercus* Oersted) y robles rojos (subgénero *Erythrobalanus*) pero únicamente los robles blancos se emplean para la fabricación de barricas. Evidentemente, no todos ellos son iguales para el envejecimiento de vinos de calidad, por lo que es necesario identificar la madera por su procedencia. Debido a su superioridad desde el punto de vista enológico, en Estados Unidos se conoce a la especie *Q. alba* como “True White Oak” (roble blanco verdadero). Esta especie se cultiva en la costa Este de los EEUU y se identifica también por su lugar de origen, siendo las zonas productoras principales: Missouri, Ohio, Illinois, Tennessee, Oregón, etc

I.1.2. ANATOMÍA DE LA MADERA DE ROBLE

La anatomía de la madera puede influenciar en la abundancia relativa de ciertos componentes químicos debido a su desigual distribución entre los tejidos de la madera. También puede influir sobre la velocidad y el grado de extracción y el intercambio gaseoso (Mosedale *et al.*, 1999). La madera de roble está constituida por diferentes tejidos dispuestos de manera compleja en las tres dimensiones del espacio (Mosedale *et al.*, 1999). La constitución anatómica de la madera, en donde las células pueden tener naturaleza y forma muy variable, induce propiedades físico-mecánicas, anatómicas e incluso tecnológicas distintas según la sección considerada. Si observamos el corte transversal de un tronco de roble, podemos distinguir:

- Corteza muerta o exterior: zona más externa que protege a la madera.
- Corteza interna o viva: la encargada de las funciones conductoras
- Cambium: causante del crecimiento en espesor del tronco. A partir del cambium se forman los anillos de crecimiento. Su actividad se desarrolla sólo cuando las condiciones climáticas son favorables
- Albura: de color claro. Contiene células vivas con funciones conductoras y de almacenamiento.

- Duramen: de color más oscuro y mayor grosor. Formada por células muertas con función de soporte mecánico.
- Médula: tejido blando alrededor del cual se produjo el primer crecimiento en espesor del tallo recién formado.



- **Figura I.1.2.** –Sección transversal de un tronco de roble

I.1.2.1. CONCEPTO DEL GRANO Y ANILLOS DE CRECIMIENTO

El desarrollo del roble produce una capa de madera (xilema) llamada anillo de crecimiento. Cada anillo representa un año de vida del árbol. Las plantas leñosas se caracterizan por tener un crecimiento secundario o en espesor gracias a la actividad de una delgada capa (cambium), situada entre la corteza interna y la albura. De esta manera, la nueva madera y nueva corteza se producen anualmente, desarrollándose entre capas de corteza y madera formadas en años anteriores, lo que en los casos de los árboles lleva a que anualmente se vaya incrementando su diámetro hasta tener un tamaño suficiente que permita su aprovechamiento maderero. Los anillos de crecimiento son heterogéneos, porosos y formados por vasos gruesos al comienzo del anillo (también llamado madera de primavera) y posteriormente vasos densos y madera rica en fibra (también llamada madera de verano)

El grano es la anchura media y regular de los anillos de crecimiento (Vivas, 2005). Se denomina roble de grano fino a aquel que presenta un crecimiento de los anillos de

crecimiento pequeños y de grano grueso a aquel que lo presenta grande. El tamaño y la regularidad del grano depende evidentemente de la especie de roble, pero también de las condiciones edafoclimáticas del terreno en que está plantado.

I.1.3. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA MADERA DE ROBLE

La madera de roble está compuesta básicamente por los componentes que se muestran en la tabla a continuación:

Tabla I.1.3- Composición química de la madera de roble (Zamora, 2003)

Celulosa	40%
Lignina	25%
Hemicelulosa	20%
Taninos elágicos	10%
Otros componentes	5%

A continuación, se describirán las principales sustancias que participarán en el aroma y sabor de los vinos. Por un lado, las principales sustancias volátiles que encontramos en la madera y posterior los compuestos fenólicos de la madera de roble.

I.1.3.1. PRINCIPALES SUSTANCIAS VOLÁTILES PROCEDENTES DE LA MADERA DE ROBLE.

Compuestos procedentes de la lignina, es uno de los grupos más importantes. Las formas de extracción pueden ser de origen bioquímico, a través de la biodegradación de la lignina, origen químico por hidroalcoholisis y acidólisis y de origen físico por hidrotermólisis cuando se lleva a cabo el doblado de la duela o pirolisis cuando se lleva a cabo el tostado interno de la misma. (Monties, 1987). Dentro de este grupo cabe destacar el guayacol y el 4-metilguayacol, siendo su origen la degradación térmica de la lignina en el tostado. Cabe destacar la vainillina. Este es el principal responsable del

aroma a vainilla En la siguiente tabla están representados los compuestos volátiles que proceden de la lignina.

Tabla I.1.3.1. - Compuestos aromáticos procedentes de la lignina

		Descripción	Origen
Fenil cetonas	Acetofenona	Vainilla	LIGNINA
	Acetovainillona		
	Propiovainillona		
	Butirivainillona		
Fenoles volátiles	Guayacol	Quemado	
	Metil-guayacol		
	Etil-guayacol		
	Eugenol	Clavo de especia	
	Etil-4-fenol	Sudor de caballo	

Otro grupo importante son los compuestos volátiles que proceden de los polisacáridos de la madera. Estos proceden de la hemicelulosa y celulosa mediante reacciones de Maillard dando lugar a la aparición de furanos y heterociclos volátiles. Son de rápida extracción durante la crianza aunque normalmente su concentración es baja para participar en notas olfativas. (Chatonet *et al.*, 1990). En la siguiente tabla están representados los compuestos aromáticos que proceden de los polisacáridos.

Tabla I.1.3.2.- Compuestos aromáticos procedentes de los polisacáridos.

		Descripción	Origen
Furanos	Furfural	Almendra Tostada	POLISACARIDOS
	Metilfurfural		
	Hidroximetilfurfural		

INTRODUCCIÓN

	Alcohol furfúrico		
Otros heterocíclicos volátiles	Maltol	Caramelo, tostado	
	Dimetilpirazina	Café, avellana tostada	
Ácido acético		Vinagre	
Aldehídos fenoles	Vainillina	Vainilla	
	Siringaldehído	-	
	Sinapaldehído	-	
	Coniferaldehído	.	

Y el último grupo importante son los compuestos aromáticos que proceden de la degradación de lípidos de la madera de roble, aunque también está presente en la madera verde. Aquí se encuentra uno de los compuestos más importantes cedidos por la madera desde el punto de vista sensorial, los isómeros de *cis* y *trans* de la β -metil- γ -octalactona, más comúnmente conocido como whisky lactona. Los encontramos en vinos y en bebidas espirituosas pasadas por madera.

Tabla I.1.3.3.- Compuestos aromáticos procedentes de los lípidos.

		Descripción	Origen
β -metil- γ -octolactona	Isómero <i>cis</i>	Nuez de coco, roble	LIPIDOS
	Isómero <i>trans</i>		

I.1.3.2. COMPUESTOS FENÓLICOS PROCEDENTES DE LA MADERA DE ROBLE.

Son las sustancias no volátiles que tendrán una participación en el sabor y la evolución de los vinos. Los compuestos fenólicos de la madera de roble se suele agrupar en los grupos que se muestran a continuación:

LOS ÁCIDOS FENOLES

La madera de roble posee especialmente dos: el ácido elágico y el ácido gálico. Bajo el punto de vista de la contribución organoléptica, el ácido gálico contribuye en la sensación ácida de los vinos, mientras que el ácido elágico puede considerarse bastante neutro desde el punto de vista gustativo. Ambos ácidos pueden participar en la evolución del color del vino tinto mediante su contribución como copigmentos y mediante su acción antioxidante.

LOS TANINOS GÁLICOS

Los taninos gálicos consisten en una molécula de glucosa cuyos grupos OH están total o parcialmente esterificados con moléculas de ácido gálico. Su hidrólisis en medio ácido rinde ácido gálico y, por lo tanto, los taninos gálicos serán uno de los orígenes del ácido gálico en los vinos. Su contribución organoléptica consiste en dar sabor ácido, ligeramente astringente y muy amargo. La madera de roble no posee grandes cantidades de este tipo de tanino y, por lo tanto, su contribución en el sabor será mínima.

LOS TANINOS ELÁGICOS

A diferencia de los taninos gálicos, los taninos elágicos o elagitaninos como se conocen comúnmente son muy abundantes en la madera de roble y por tanto su contribución en el sabor y la evolución de los vinos será importante. Los taninos elágicos participan principalmente en la sensación de astringencia en los vinos. Un cierto aporte puede reforzar la estructura del vino, especialmente durante los primeros años de vida del vino; aunque un exceso de dicho compuesto puede ser negativo, al marcar excesivamente el vino con lo llamado “sabor a tablón”. De todos modos, esta sensación desaparecerá debido a que se produce una hidrólisis en medio ácido y esto dará lugar a la aparición de ácido elágico. Los taninos elágicos también contribuyen en la evolución del color por su efecto antioxidante.

LAS CUMARINAS

Pueden considerarse como derivados de los ácidos cinámicos que se forman mediante esterificaciones intramoleculares. Las cumarinas pueden estar en forma de heterósidos o en su correspondiente forma de agliconas. En la madera de roble están mayoritariamente en forma de heterósidos, los cuales son muy amargos. No obstante, la enzima cumarina esterasa la hidroliza transformándola en aglicona. Este proceso de hidrólisis tiene lugar durante el secado natural de la madera como ya se explicará posteriormente.

LOS FLAVONOLES

Los flavonoles se dividen en catequinas y procianidinas que participarán en la sensación de amargor y especialmente de astringencia. Su contribución en los vinos puede considerarse despreciable, debido a que el vino tinto ya posee de por sí elevadas concentraciones de dichos compuestos.

I.1.4. EL VINO: SU COMPOSICIÓN POLIFENÓLICA.

Los compuestos fenólicos se localizan en las partes sólidas de la uva (hollejo, raspón y pepitas) y son responsables del color, astringencia y estructura de los vinos, por lo que tienen una considerable incidencia en sus características organolépticas.

Durante la crianza en barrica los compuestos fenólicos experimentan importantes transformaciones que conducen a cambios notables en la composición de los vinos, por ello pueden considerarse el factor que determina su aptitud al envejecimiento, y en las propiedades fisiológicas (efecto vitamínico P, acción bactericida, propiedad antitóxica, etc.). Son el origen del color y de la astringencia, y según su naturaleza pueden tener interés nutricional y farmacológico.

En general, se suelen dividir en dos subgrupos: los flavonoides y los no flavonoides. A continuación se explicará detalladamente estos dos subgrupos.

LOS NO FLAVONOIDES

Incluyen dos grandes familias los ácidos fenólicos y los estilbenos. Los ácidos fenólicos se dividen en ácido benzoico y ácido cinámico. Pueden estar en forma libre o esterificados con el ácido tartárico o cualquier otro componente del vino. Tienen un papel de copigmentos en el vino tinto y participan en el color de vinos jóvenes aunque no tienen mucha relevancia en vinos tintos. Tienen un sabor amargo y astringente aunque no influye en vinos tintos. Los estilbenos se localiza sólo en el hollejo de la uva. No tienen mucha relevancia ni organolépticamente ni bajo el punto de vista del color.

LOS FLAVONOIDES

Incluyen 4 grandes familias: los flavonoles, los flavanonoles, los antocianos y los flavanoles. Los flavonoles son responsables del color amarillo de la piel de la uva, por ello, su localización se limita al hollejo. Como se ha comentado anteriormente, pueden estar en forma de heterósidos o de agliconas. Su contribución en el vino es escasa, solo participa contribuyendo su parte amarilla. Los flavanonoles y flavonas tienen una estructura muy similar a los flavonoles. Los antocianos son los responsables del color rojo azulado de la piel de la uva tinta. Su localización se limita a los hollejos y en la pulpa en la variedad tintorera.

I.1.5. PROCESO DE OBTENCIÓN DE MADERA PARA TONELERÍA

Los robles que emplean en tonelería son árboles con una edad comprendida entre 120 y 150 años. Desde el corte de los árboles hasta la obtención de la madera apta para la fabricación de duelas y/o virutas, la madera se somete al cortado por aserrado o hendido (dependiendo del tipo de roble), secado (natural o artificial), y tostado (grado ligero, medio o superior).

I.1.5.1. SECADO DE LA MADERA

La etapa de secado consiste en una deshidratación de la madera cuyo objetivo es que la tasa de humedad esté en equilibrio con la humedad ambiental. Sin ello, la barrica no se mantendría estanca. El secado de la madera no debe ser demasiado rápido a fin de evitar la aparición de fisuras por retracción y ruptura de las fibras. La madera verde contiene 65-75% de humedad. Cuando la madera pierde su agua libre sus dimensiones

cambian, lo denominado retracción volumétrica. En Francia la madera secada generalmente a una humedad relativa del 12% en verano y 15-18% el resto del año. Cuando la barrica está llena tiene una humedad relativa del 30% debido al hinchamiento de las duelas a causa del vino. La experiencia ha llevado a determinar que se necesitan entre 10 a 12 meses de secado de la madera independientemente de las condiciones climáticas del lugar y el espesor de la madera. Para el secado, la madera se apila unas encima de otras. La superficie puede ser humectada por el agua de lluvia, pero la rehidratación es muy débil y no afecta ni a las capas internas ni al interior de las pilas. El origen geográfico de la madera no afecta a su secado ni el tamaño del grano ya que se trata de un fenómeno puramente físico espontáneo. Para un secado óptimo la media anual de temperatura debe ser de entre 15-20°C con variaciones de 12 a 15°C entre la máxima y la mínima.

1.1.5.1.1 LIXIVIADO DE LA MADERA

Bajo la lluvia las pilas de madera están sometidas al chorreo del agua que puede arrastrar una parte de sustancias hidrosolubles. Los elagitaninos de la madera son muy solubles en agua y como consecuencia son susceptibles a estar sometidos al fenómeno de lavado por la lluvia. La eliminación de una parte de sustancias hidrosoluble de la madera, se sitúa principalmente durante los primeros seis meses de secado, cuando la madera está verde y aún rica en agua. Luego en el curso del secado, la disminución de la humedad relativa y el apretamiento de las fibras de madera aprisionan los extraíbles en la masa. La fracción arrastrada por el lavado es de poca importancia en magnitud, pero organolépticamente se aprecia que es más amargo que el extracto que no ha sido arrastrado por el lavado. Las condiciones climáticas y, particularmente, las precipitaciones totales influyen mucho en el fenómeno de lavado.

1.1.5.1.2. DIFERENCIAS ENTRE EL SECADO NATURAL Y ARTIFICIAL

La diferencia en el extracto seco entre el secado natural y el artificial son escasas. Las diferencias fundamentales las encontramos en el porcentaje de compuestos fenólicos y en los compuestos aromáticos. Como ya se ha comentado, el secado natural permite la eliminación de una parte insoluble de la madera, se trata sobre todo de compuestos fenólicos. El lixiviado y la oxidación química de componentes fenólicos, aunque es de

intensidad escasa, participan en el resultado final. La insolubilización de una parte de los elagitaninos así como la degradación de origen microbiano en el curso del secado natural son dos factores principalmente influyentes sobre la composición de la madera.

Otra diferencia fundamental es el los compuestos aromáticos. La madera secada naturalmente es más aromática que la madera fresca. Los componentes mayoritarios del aroma en la madera fresca aumentan todos en el curso del secado natural. Por el contrario, en el secado artificial en estufa no provoca variaciones sensibles en la concentración de sus sustancias aromáticas por lo que perdemos esos matices que presenta la madera secada naturalmente.

I.1.5.2 TOSTADO DE LA MADERA

Una vez que están las duelas secas se procede a la última fase, en la que el tostado tiene una gran influencia en la composición química final de la madera. Se realiza para la formación de la barrica y el montaje de las duelas que la constituyen sin que se produzcan roturas o fisuras.

Dependiendo la temperatura y el tiempo de tostado, obtendremos un tostado débil, medio o fuerte. En la siguiente tabla se muestran los tiempos y temperaturas para cada una de ellas. Estos valores son indicativos y variarán de una tonelería a otra.

Tabla I.1.5.- Tipos de tostado, duración y temperatura (Vivas, 2005)

Tipo de tostado	Duración (min)	Temperatura (°C)
Tostado débil	30	120-130
Tostado medio M-	35	160-170
Tostado medio M+	40	180-190
Tostado fuerte	45	200-210

Esta etapa es muy importante para la calidad aromática que conferirá la madera al vino. El calentamiento puede llevarse a cabo de dos maneras: abierto o cerrado; el método cerrado es poner una cubierta metálica que la boca superior.

I.1.5.2.1. INFLUENCIA DEL TOSTADO EN LAS CARACTERÍSTICAS DEL VINO DURANTE LA CRIAZA

El tostado da lugar a la formación de numerosos compuestos aromáticos debido a la degradación parcial de los polímeros parietales de la madera, cuyas notas variarán.

El mayor impacto aromático corresponde al tostado ligero, si bien estará mayoritariamente marcado por los aromas de las la β -metil- γ -octalactona. Así mismo el tostado ligero producirá una aportación muy alta de taninos elágicos. En el caso de que el secado de la madera no haya sido el adecuado podría representar un aporte excesivo y dar lugar a notas de tablón.

El tostado medio tendrá cierta disminución del impacto aromático en comparación con el tostado ligero, pero ganará equilibrio y complejidad. Las notas de las la β -metil- γ -octalactona disminuirán y se incrementarán el resto de sustancias volátiles, especialmente la vainillina. Así mismo, el aporte de taninos elágicos será menor que en el caso del tostado ligero.

El tostado fuerte pierde ligeramente intensidad olfativa, pero sobre todo se altera enormemente el equilibrio entre las familias de los aromas. Básicamente se disminuyen las la β -metil- γ -octalactona y aumentan los fenoles volátiles, las vainillina y los furanos. También se observa un fuerte descenso de los taninos elágicos que el roble aporta al vino

I.1.6. LA CRIANZA DEL VINO

La crianza del vino en barrica de roble es un fenómeno realmente complejo en el que participan diversos procesos mediante los cuales el vino se transforma, ganando

complejidad y estabilidad. En la siguiente figura se muestran los procesos que tienen lugar durante la crianza

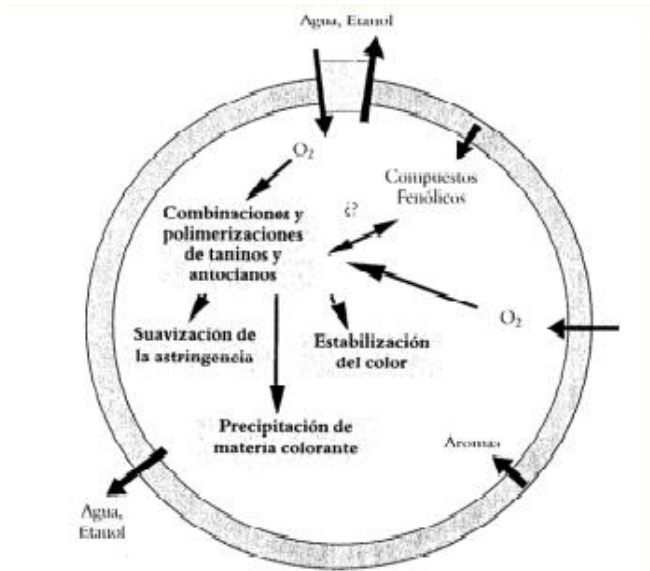


Figura I.1.6.- Influencia de la crianza en la barrica sobre la evolución del vino tinto (Zamora,F. 2003)

Por una parte, el roble le aporta al vino una serie de compuestos fenólicos y aromáticos que mejoran su calidad aromática y gustativa. Por otro lado, al barrica permite una oxigenación moderada que tiene lugar a través de la porosidad de la madera, a través de las juntas de las interduelas y/o a través de esquivé. Esta microoxigenación aporta el sustrato necesario para que las reacciones de polimerización y combinación de los antocianos y prociadinidas se lleven a cabo como se explicará más adelante.

I.1.6.1. EVOLUCIÓN DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS DEL VINO DURANTE LA CRIANZA; INCIDENCIA ORGANOLÉPTICA

Tanto el color y su estabilidad, como las características relacionadas con la estructura y la astringencia de un vino se fundamentan sobre su composición en compuestos fenólicos.

Las transformaciones que tienen lugar durante el envejecimiento se traducen en las combinaciones mediante etanal de los compuestos polifenólicos (tanino-tanino; antociano-tanino) y en polimerizaciones de las procianidinas directas o mediadas por etanal, que darán lugar a precipitaciones de la materia colorante y también a una suavización de la astringencia y del sabor amargo del vino (Zamora, 2003).

I.1.7. MICROOXIGENACIÓN

El oxígeno juega un papel principal en este tipo de reacciones, ya que transforma el etanol en acetaldehído, pudiendo actuar éste último, en diversos procesos que favorecen la combinación entre los antocianos y los flavonoles, entre flavanoles e incluso entre los propios antocianos. Estas moléculas, además de ser estructuralmente más estables, poseen una mayor estabilidad de color frente a cambios de pH y son menos sensibles a la decoloración por SO₂

Su uso durante la etapa de desarrollo celular al inicio de la fermentación permite acelerar el crecimiento y reproducción celular. En las fases finales de la fermentación, cuando las condiciones del mosto son marcadamente anaerobias, permite la síntesis de ácidos grasos insaturados y otros esteroides que son imprescindibles para el correcto funcionamiento celular. Además de la utilidad de las aplicaciones de oxígeno como activadores de fermentación, también existe otra faceta de la microoxigenación en el envejecimiento de los vinos (especialmente de la fracción fenólica) y en la estabilidad de la materia colorante.

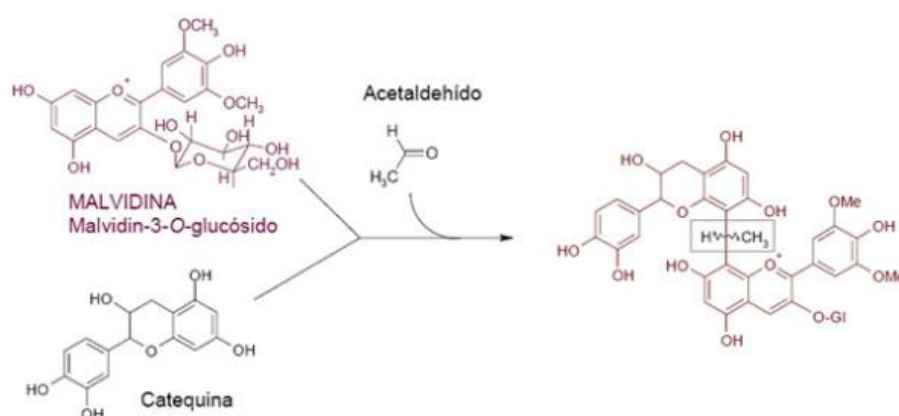


Figura I.1.6.- Formación de pigmentos poliméricos mediada por acetaldehído

Durante el envejecimiento en bodega de los vinos tintos se producen una serie de reacciones de evolución de la fracción fenólica. De estas son fundamentalmente importantes las reacciones de polimerización entre antocianos y proantocianidinas. Esta polimerización supone la síntesis de formas de color de mayor estabilidad y persistencia en el vino.

La formación de pigmentos poliméricos está mediada por acetaldehído. El acetaldehído actúa como molécula puente facilitando la unión de antocianos con proantocianidinas entre posiciones nucleofílicas de sus anillos aromáticos. Estas moléculas además de ser estructuralmente más estables, poseen una mayor estabilidad de color frente a cambios de pH y son menos sensibles a decoloración por SO₂.

Teniendo en cuenta los efectos positivos de este tipo de reacciones en la calidad del vino y dado el elevado coste de la crianza en bodegas, se genera la necesidad de buscar técnicas alternativas económicas y/o rápidas, que también conduzcan a la estabilización del color y a la suavización de la astringencia. De esta idea nace la microoxigenación artificial, que simulando lo que ocurre en la bodega, permite dispersar una cantidad determinada y regular de oxígeno, de tal manera, que este último no se acumule en el vino y promueva las reacciones indicadas

I.1.8. TÉCNICAS ALTERNATIVAS A LA CRIANZA EN BARRICA: LAS VIRUTAS

En los últimos años se han buscado alternativas a las barricas de roble para el proceso de envejecimiento de vinos. La adición de productos alternativos al vino fue aprobada y legislada hace unos años por la Comunidad Europea (CE 2165/2005 y CE 1507/2006) y más recientemente, la CE ha definido las normas para la utilización de trozos de madera en la elaboración de vinos y las condiciones de etiquetado de los mismos (Reglamento CE Nº 1507/2006). En España se permite, sin que haya obligación de indicarlo, aunque no puede mencionarse términos como "fermentado", "envejecido" o "criado" en barrica en el etiquetado. Finalmente, la práctica se ha extendido a gran velocidad. Pero en algunos países como Australia, EEUU, o Chile, estas prácticas se estaban llevando a cabo desde hace varios años.

Se usan diferentes formas de madera de roble como chips, cubos, polvos, virutas y duelas que contribuyen a cambiar organolépticamente al vino. En este caso no existe el intercambio gaseoso (al menos que se combine con una microoxigenación) que existe en la barrica y solo se aprovecha la extracción de taninos y compuestos aromáticos. En función del objetivo que se busca, es necesario adaptar el tipo de madera, tostado y el momento de aplicación, aunque en general las dosis oscilan entre 2 y 15 g/L. Al igual que las barricas, el origen de la madera, su acondicionamiento y tostado influyen en las modificaciones sensoriales que producirán en el vino.

Lo que más se maneja para diferenciar los tipos de virutas, copos o "chips" es la intensidad de tostado. Los fabricantes de chips los ofrecen con una amplia gama propiedades. Se pueden usar maderas sin tostar y entonces aportan al vino principalmente taninos y algo de lactonas con sensaciones de astringencia y sabores a madera fresca, coco, fruta fresca y gustos lácticos y de hongos que aparecieron en el momento del secado de la madera al aire. En las de tostado medio aparecen la vainilla, y los sabores de almendra y pan tostado con sensaciones dulces en boca. Finalmente en la muy tostada aparecen aromas de humo, hollín y alquitrán con sensaciones de acritud.

Hay una mayor estabilización del color en vinos criados con chips con respecto a los conservados en tanques de acero inoxidable en ausencia de chips (Del Álamo et al., 2004). También modifican el potencial redox del vino, tal es así que Del Álamo et al. (2006) estudiaron durante 11 meses la influencia de la crianza en barricas con respecto a la de tanques de acero inoxidable con agregado de chips y de duelas en cantidad tal de lograr una relación superficie expuesta/volumen similar a las barricas y observaron que el potencial redox que se logra con el agregado de chips es similar al de la crianza en barrica, mientras que con la utilización de duelas este aumenta en niveles similares a la barrica pero luego cae rápidamente. Comparando vinos introducidos en barricas de roble americano con otros en tanque con el agregado de diferentes maderas Piracci y otros (2001) encontraron mayor color en los vinos en barricas y más efectiva la acción de las duelas que la de los chips.

Las virutas de roble se agregan en diferentes momentos de la vinificación siendo lo usual colocar las virutas a utilizar en una bolsa y sumergirlas en el vino durante 1 a 2 meses, removiendo de tiempo en tiempo el vino para facilitar la difusión de sus componentes extraíbles.

Factores como el tamaño, la cantidad de madera añadida, el tiempo de contacto con el vino, afectan a las características sensoriales y químicas de los vinos (Del Alamo Sanza, Escudero y De Castro Torio, 2004; Del Alamo Sanza y Nevares Dominguez, 2006; Frangipane, Santis y Ceccarelli, 2007). Por ejemplo, Chira y Teissedre (2013) vieron que con maderas de diferente nivel de tostado los elagitaninos totales, expresados como miligramos de ácido elágico libre por litro de vino, eran muy variables, observándose concentraciones desde 6,31 mg/L hasta 26,1 mg/L. Asimismo, se observó que a menor nivel de tostado la concentración resultante en los vinos era mayor. Esas diferencias eran de esperar por la degradación termolítica que experimentan los elagitaninos durante el proceso de tostado (Doussot *et al.*, 2002; Mosedale *et al.*, 1999). También se observó una mayor extracción durante los tres primeros meses. Esto también lo observó Michel *et al.* (2011) en vino tinto en contacto con virutas de roble. El máximo de extracción se observó a los 2-3 meses, y después de 9 meses disminuyó. Jourdes (2011) y Jordao (2012) obtuvieron resultados parecidos, observando que intensidades

de tostado suave y media de madera de roble muestran mayor actividad antioxidante que las de tostado fuerte. Esto parece indicar que el tostado reduce la actividad antioxidante de la madera de roble.

Otros autores han estudiado el efecto de los chips en la composición fenólica de diferentes vinos (Del Álamo *et al.*, 2004 y 2006, De Coninck *et al.* 2006 y Gallego *et al.* 2012), mientras que otros se han centrado en los compuestos volátiles, principalmente en los extraídos de la maderas. Así Guchu *et al* (2006) evaluaron la influencia del origen geográfico del roble, el nivel de tostado y el tiempo de contacto en vino blanco. Arapitsas *et al.* (2004) también estudiaron el tiempo de contacto, pero sólo durante 14 días, y el tamaño de los chips en vino tinto. Frangipane *et al* (2007) estudiaron cuatro tipos de chips en vino tinto también. Hay una gran variabilidad entre todos estos estudios, probablemente debido a que hay muchos factores que afectan a la cualidades del roble utilizado: origen, especie (Sauvageot *et al.*, 1999), el método utilizado para obtener los chips, y la técnica de secado (natural o artificial) (Masson *et al.*, 2000).

Por ello, para saber los compuestos que el roble cede al vino, el uso de vinos sintéticos tiene la ventaja de asegurar la ausencia de cualquier actividad microbiana. Al mismo tiempo, usando vino sintético, se asegura que no hay compuestos fermentados. Chira y Teissedre en otro estudio (2013), obtuvieron resultados parecidos a los mencionados anteriormente para un vino sintético. En este caso los vinos estuvieron en contacto con chips con diferente nivel de tostado durante 3 meses y las concentraciones obtenidas variaban entre 0,95 y 13,73 mg de ácido elágico libre por litro de vino sintético. También se vio que a mayor nivel de tostado menor es la concentración. Los primeros 2 meses la extracción fue más rápida que durante el último mes.

II. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO

II.1.1. OBJETIVOS

La crianza del vino en barrica de roble es un tipo de envejecimiento del vino del cual se ha estudiado mucho y es el más utilizado en el mundo de la crianza. Pero es un método de envejecimiento que requiere un elevado coste. Por ello, se ha descubierto métodos alternativos al envejecimiento en barrica de roble como es el envejecimiento con virutas de madera de roble. Un método de un coste mucho menor que una barrica de roble y con buenos resultados. Por ello, los objetivos de este trabajo son:

- Cuantificar la concentración de taninos de virutas comerciales de roble utilizando métodos simplificados que cualquier enólogo pueda utilizar en su bodega como una herramienta de control de calidad.
- Observar el efecto de cada tipo de viruta sobre el vino dejándolo macerar un mes y, tras ello analizarlo.
- Estudiar el efecto de la microoxigenación sobre la composición polifenólica de los vinos.

II.1.2. PLAN DE TRABAJO

Para acometer los objetivos planteados, se lleva a cabo el siguiente plan de trabajo:

- Búsqueda bibliográfica sobre técnicas de extracción de taninos en virutas.
- Aplicación técnicas de extracción en virutas y cuantificar la fracción tánica.
- Ensayar distintas condiciones de maceración de vino con las virutas y microoxigenación.
- Analizar los vinos obtenidos.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

III.1.1 VIRUTAS

Las virutas utilizadas son de la casa comercial “INCANTO CHIPS & MINISTAVES” (Sepsa Enartis). El fabricante indica que son productos de maderas seleccionadas de roble francés o americano secadas de 18 a 36 meses y tostadas mediante el uso de un proceso único y original para secar productos de elevada calidad.

Se han utilizados 6 tipos de virutas:

- CHIPS Y MINIDUELAS CAMEL: roble francés de tostado medio. Características aromáticas: caramelo de café con leche (“Viuda de Solano” o “Werthers original”), capuchino, azúcar caramelizado, mantequilla, almendra, piñones, avellana tostada, vainilla y una ligera nota especiada. Características gustativas: aumenta notablemente el dulzor, redondez y suavidad.
- CHIPS Y MINIDUELAS CREAM: roble francés de tostado medio Características aromáticas: Explosión de aromas a vainilla, coco, mantequilla, capuchino, crema de natillas, ligera canela y roble fresco. Características gustativas: Amplitud aromática, incrementa suavidad, volumen y dulzor sin aumentar excesivamente la sensación tánica. Fácil integración.
- CHIPS Y MINIDUELAS DARK CHOCOLATE Composición: roble francés tostado medio +. Características aromáticas: cacao negro puro, café negro, almendra tostada, avellana tostada, regaliz, pimienta. Intensifica la fruta roja en los vinos tintos. Impacto gustativo: Resalta la intensidad tánica, el volumen, la explosión aromática y una atrayente nota dulce amarga.
- ARROZ Y CHIPS NATURAL Composición: roble francés no tostado. El secado prolongado de la madera permite la degradación de las sustancias más agresivas y amargas, preservando los taninos y la fracción polisacáridica de la madera más noble. Características aromáticas: Realza la fruta, minimiza las reducciones y frescor preservando las características varietales Características gustativas: aumenta la estructura del vino, volumen y suavidad mejorando equilibrio y finura

- CHIPS Y MINIDUELAS SPECIAL FRUIT Composición: roble francés de tostado medio. Características aromáticas: ligeramente especiado, tostado, chocolate, caramelo y vainilla, notas que incrementan la fruta y complejidad. Características gustativas: incrementa suavidad, explota el volumen y estructura sin aumentar excesivamente la sensación tánica.
- CHIPS Y MINIDUELAS TOFFEE Composición: roble francés tostado medio +. Características aromáticas: café cortado, pan tostado, almendra tostada, avellanas dulces, vainilla, albaricoque. Ahumados intensos. Características gustativas: Vinos muy redondos, dulces y suaves. Intensidad y complejidad aromática

III.1.2. EL VINO

El vino utilizado es vino tinto de la variedad de uva Monastrell. Se trata de un vino con parámetros analíticos normales para ser un vino tinto y cuya composición polifenólica es aceptable, cuya materia prima tenía un buen estado sanitario, elaborado en 2014. A continuación se detalla la composición química:

Tabla III.1.2. - Perfil analítico del vino de partida

Acidez total	5,2g /L ácido tartárico
pH	4
°Alcohólico	12,2%
Acidez volátil	0,40 g/L ácido acético
SO₂ libre	30 mg/L
SO₂ total	70 mg/L
IPT	39
Concentración de antocianos totales	220 mg/L
IC	7,4
Concentración de tanino condensados	1,8 g/L

III.1.3. MÉTODOS ANALÍTICOS.

III.1.3.1. EXTRACCIÓN DE LOS COMPONENTES POLIFENÓLICOS DE LAS VIRUTAS

Para acometer el primer objetivo del trabajo, se lleva a cabo una puesta a punto de la metodología de extracción de compuestos fenólicos de las virutas que son objeto de este estudio.

Se realizó una extracción de las virutas en una disolución de acetona/ agua (7:3 (Vivas et al., 2004) y se dejó macerar en oscuridad durante 24 horas a diferentes condiciones: Dosis 40 y 80 g/L en 50 mL de disolución, con y sin agitación. Transcurrida las 24 horas, se llevó a cabo un filtrado con lana de vidrio y una eliminación de la acetona mediante corriente de nitrógeno a temperatura de 35°C. Una vez eliminada toda la acetona, las muestras se centrifugaron 15 minutos a 10000 rpm y se filtraron mediante filtros de acetato de celulosa de 0,45 µm de diámetro (Filter-Lab, Barcelona).

III.1.3.2. ANÁLISIS DE LAS VIRUTAS

Se realizaron dos determinaciones. Por un lado el Índice de Polifenoles Totales (IPT) y por otro lado la determinación de taninos hidrolizables mediante la precipitación de la metilcelulosa

ÍNDICE DE POLIFENOLES TOTALES (Land et al., 1993; Ribereau-Gayon et al., 1999)

Se realizaron lecturas de la absorbancia a 280 nm. Previo a realizar las lecturas, se realizó una dilución de cada muestra con un factor 1/100 con agua destilada. En los análisis de extractos de virutas, se expresan los resultados en Compuestos Fenólicos Totales (mg/L) empleando la siguiente fórmula: C.F.T. (mg/L) = $80 \times A_{280} \times 100$

DETERMINACION DE TANINOS MEDIANTE LA PRECIPITACIÓN DE METILCELULOSA (C.J. Sarneckis; R.G. Damberg et al.)

Esta determinación se basa en las interacciones taninos-polímero, que dan como resultado un complejo insoluble, que precipita y se separa por centrifugación. La medida requiere la preparación de dos muestras: una control y una muestra

MATERIALES Y MÉTODOS

tratamiento. La muestra de control representa la concentración de fenoles totales presentes en la matriz, mientras que la muestra tratamiento representa la concentración fenólica que permanecen en la solución sobrenadante después de que los taninos han precipitado. La cantidad de taninos se determina midiendo la absorbancia a. Usamos para el blanco agua destilada. $Abs\ final = abs\ muestra\ tratamiento - abs\ muestra\ control$

III.1.3.3. DISEÑO EXPERIMENTAL DEL VINO

El vino utilizado de la variedad Monastrell se puso a macerar en botellas de vidrio de 0,75 L sometidos a diferentes condiciones: dosis 2 y 3,5 gramos por litro, con y sin microoxigenación. Esto lo hicimos con cada tipo de viruta y por duplicado.

El vino se tuvo 5 semanas en contacto con las virutas. Las muestras con microoxigenación en intervalos de 2 y 4 días les suministrábamos acetaldehído comenzándose el tratamiento la tercera semana del periodo de contacto virutas-vino.

III.1.3.4. DETERMINACIONES ANALÍTICAS DEL VINO

INTENSIDAD COLORANTE (Glories, 1984)

Para la determinación de la intensidad colorante y tonalidad se siguen los métodos oficiales 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-630 (Tokyo, Japón). Medimos la absorbancia a 420, 520 y 620. La suma de las 3 absorbancias nos dará el valor de la intensidad colorante $IC = (A_{420} + A_{520} + A_{620})$.

ANTOCIANOS LIBRES TOTALES (Ojeda et al., 2002).

A 0,1 mL de muestra se le añaden 10 mL de ácido clorhídrico 0,1 M, se esperan 3 horas y se lee la absorbancia a 520 nm, utilizando blanco HCl 0,1 M.

ÍNDICE DE PVPP (*Blouin, 1977; Vivas et al., 1995*)

Este índice nos indica el porcentaje de antocianos que está combinado con los taninos. Al ser estas combinaciones más estables que los antocianos libres, este índice también indica, de forma indirecta, el grado de estabilidad del color del vino (Glories, 1984).

ÍNDICE DE POLIFENOLES TOTALES (Land et al., 1993; Ribereau-Gayon et al., 1999)

Se realizaron lecturas de la absorbancia a 280 nm, bajo luz ultravioleta. Previo a realizar las lecturas, se realizó una dilución de cada muestra con un factor 1/100.

TANINOS CONDENSADOS (*Saint-Criq et al., 1998*)

Para determinar los taninos totales se utiliza el método descrito por Sun et al., (1959). 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). El método se basa en la capacidad de condensación de las catequinas con los compuestos carbonílicos en medio ácido (HCl). Medimos la absorbancia de ambos tubos a 550 nm. Para el blanco hemos utilizado agua destilada.

ÍNDICE DE DMACH (*Vivas, 1994*)

Este método sirve para evaluar el grado de polimerización de los taninos del vino propuesto por Vivas et al., (1994). Los autores proponen una nueva técnica de evaluación del grado de polimerización de taninos del vino usando un aldehído específico, el p-dimetilaminocinamaldehído (DMACH), que se usa para medir el grado de condensación de las proantocianidinas que será tanto más alto cuanto más bajo sea el índice. Medimos la absorbancia a 640 nm. Para el blanco usamos metanol. D.O. DMACH = (Dm-Dt) Index DMACH % = (D.O. DMACH / ([taninos condensados]*100)).

DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS DE ANTOCIANOS MEDIANTE HPLC

Las muestras para realizar el estudio fueron analizadas mediante un equipo HPLC JASCO serie MD-2010 Plus (JASCO, Tokyo, Japón), equipado con un desgasificador, una bomba cuaternaria, un inyector automático, además de un compartimiento

termostatzado para la columna y un detector diode array (JASCO LCNet II/ADC, Tokyo, Japón). Primeramente se prepararon los patrones de malvidina (67,5 ppm, 125 ppm, 250 ppm y 500 ppm de malvidina) para obtener la recta patrón. Se analizaron las muestras de menor a mayor concentración mediante la técnica de HPLC basada en el método de Ferrer (2011), con la columna en fase reversa termostatzada a 35°C, pero con algunas modificaciones. Siendo la fase móvil A una disolución acuosa al 0,1% de ácido trifluoroacético y la fase B acetonitrilo 100%. Dado que Ferrer (2011) emplea una columna de 150 mm, hemos tenido que adaptar los gradientes a la columna Gemini NX Phenomnax de 250 mm (Torrance, CA), resultando: 10% de B durante 4,8 minutos, un gradiente lineal de 10 a 15% de B en 19,2 minutos y de 30 a 35% de B en 8 minutos. El flujo de trabajo fue de 0,5 mL/min y el volumen inyectado de 20 µL. Los picos eluidos se monitorearon a 520 nm. Las muestras de vino se centrifugaron en tubos eppendorf y se analizaron siguiendo las mismas condiciones que los patrones. Después se procedió a la identificación de los picos estableciendo el tiempo de retención con patrones de los antocianos presentes en su forma glucosilada, es decir, delfinidina-3-glu, cianidina-3-glu, peonidina-3-glu, petunidina-3-glu y malvidina-3-glu, todos ellos procedentes de la casa comercial Extrasynthèse (Genay, Francia). Las formas acetiladas y cumaroidadas, se detectaron por comparativa con los espectros de absorción establecidos en el trabajo de Ferrer (2011) realizado sobre hollejos de Graciano. Por último se expresaron los resultados en equivalentes de malvidina (ppm), haciendo uso de la recta patrón previamente obtenida.

III.1.3.5. TÉCNICA DE MICROOXIGENACIÓN

Se parte de la base que la dosis que se utiliza inicialmente es de 3 mL/L/mes, que es la dosis habitual. Teniendo en cuenta que 1 mL de oxígeno equivale a 1,43 mg, y que cada mol de oxígeno dará lugar a un mol de acetaldehído, obtenemos que tenemos que aplicar a las muestras de vino una dosis de 7,543 mL/L/mes que lo repartimos en 8 dosis y teniendo en cuenta que nuestras botellas no son de un litro sino de 0,75 litros obtenemos que debemos aplicar en cada dosis 20 µL de acetaldehído. Se prepara una

disolución de acetaldehído en agua para aplicar en 8 dosis de 20 μL en cada botella con microoxigenación.

III.1.3.6. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO

El tratamiento estadístico de los valores obtenidos en las determinaciones analíticas de virutas y vinos, se ha llevado a cabo con el programa informático STATGRAPHICS Plus 5.1 para Windows. Se ha realizado un análisis unifactorial de la varianza (ANOVA), para estudiar el efecto de los tratamientos.

A continuación se describe el fundamento de los distintos procedimientos estadísticos empleados.

III.1.3.7. ANALISIS DE LA VARIANZA

El análisis de la varianza (ANOVA) engloba una serie de métodos estadísticos para contrastar diferencias entre las medias de varios grupos de datos. Mediante estos métodos se divide la variación total existente en el conjunto de datos en diversas fuentes de variación, y se determina mediante un contraste de hipótesis, si la aportación relativa de cada una de ellas a la variación total es significativa o no. En este trabajo se han utilizados dos métodos del análisis de la varianza: el análisis unidireccional de la varianza, también llamado análisis de la varianza simple o análisis de la varianza para un solo factor; en este modelo la variación total contenida en los datos, se debe por un lado, a la variación asignable al factor o factores considerados, y por otro, a la variación residual que se imputa a causas no controlables o no asignables al factor o factores total.

IV. RESULTADOS

Este apartado se estructura en varios puntos donde se analizan los resultados obtenidos en los diferentes ensayos. En primer lugar, se ha obtenido un perfil tánico de las virutas. Para ello, hicieron dos determinaciones analíticas por espectrofotometría, obteniéndose Índice de Polifenoles Totales (IPT) y concentración de taninos hidrolizables.

A posterior, se presentarán los resultados obtenidos con los ensayos de los vinos y el efecto causado de las diferentes condiciones (tipos de virutas; con o sin microoxigenación y diferentes dosis) en la composición de taninos e interacción entre taninos.

IV.1.1. COMPOSICIÓN TÁNICA DE LAS VIRUTAS

Con el objetivo de poner a punto una técnica sencilla para análisis de la composición polifenólica de virutas, se realizaron distintos ensayos consistentes en la maceración de una cantidad conocida de virutas durante 24 horas en una disolución acetona:agua (7:3) (Vivas *et al.*, 2004). Con la finalidad de mejorar la extracción, se compararon distintas dosis, así como la necesidad de agitar o no las muestras

A continuación se presenta los resultados del índice de polifenoles totales de los distintos extractos, los resultados están presentados en mg de tanino/g de madera.

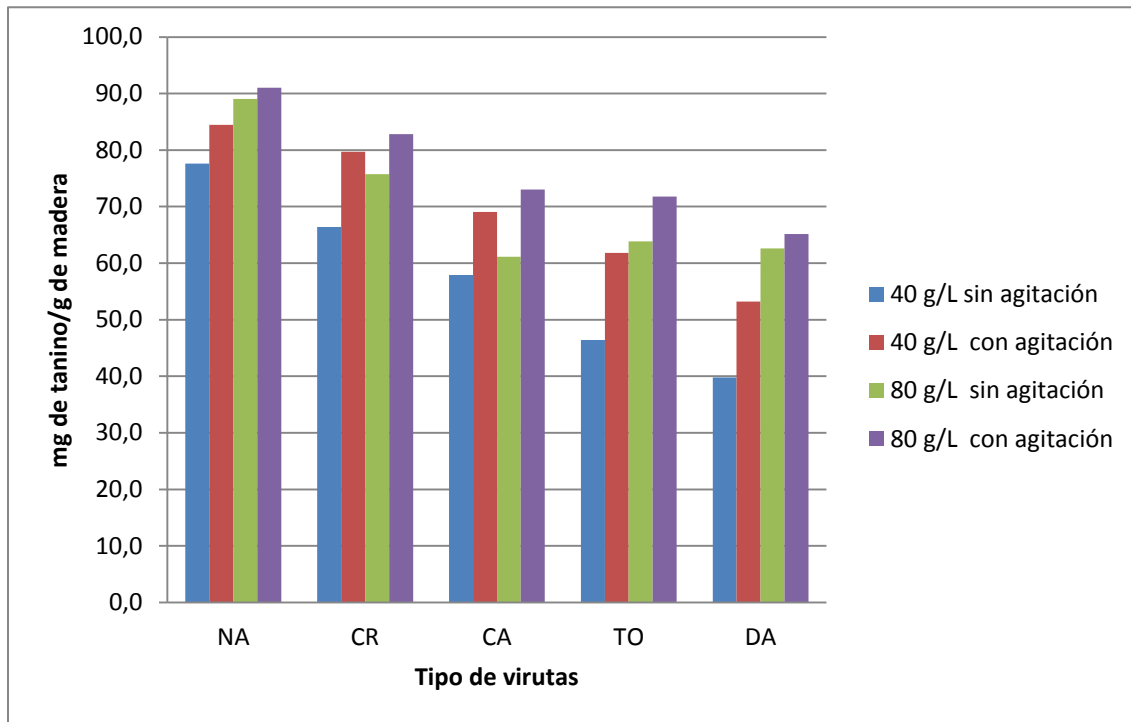


Figura IV.1. - Concentración de Compuestos Fenólicos Totales (mg/g de madera) en diferentes condiciones y tras 24 horas de maceración en acetona/agua. Resultados ordenados desde el tipo de viruta menos tostada a la más tostada. NA-Natural/ CR-Cream/ CA-Caramel/ TO-Toffee/ DA-Dark chocolate

En la figura IV.1 se ve representado el efecto de cada tipo de viruta y sus diferentes condiciones (agitación, no agitación y diferentes dosis) sobre la concentración de tanino tras 24 horas de maceración en acetona/agua.

A mayor tostado, las virutas están sometidas a proceso más agresivo donde sucede un resquebrajamiento, una pérdida de compuestos tánicos y estos se ve reflejado en los resultados donde se observa una tendencia en la concentración tánica que va disminuyendo en tipos de virutas más tostadas. Fijándose en cada tipo de viruta y sus diferentes condiciones, se presenta una tendencia donde hay una mayor concentración de taninos a mayor dosis y aplicando agitación. Se puede deducir que a mayor dosis obtenemos mayor concentración en el extracto y que la agitación favorece dicha extracción. En el tipo de viruta “Cream” y “Caramel” se observa que la

mayor concentración tánica es en 40 g/L con agitación. Con todo esto, se deduce que la agitación favorece la extracción de las virutas.

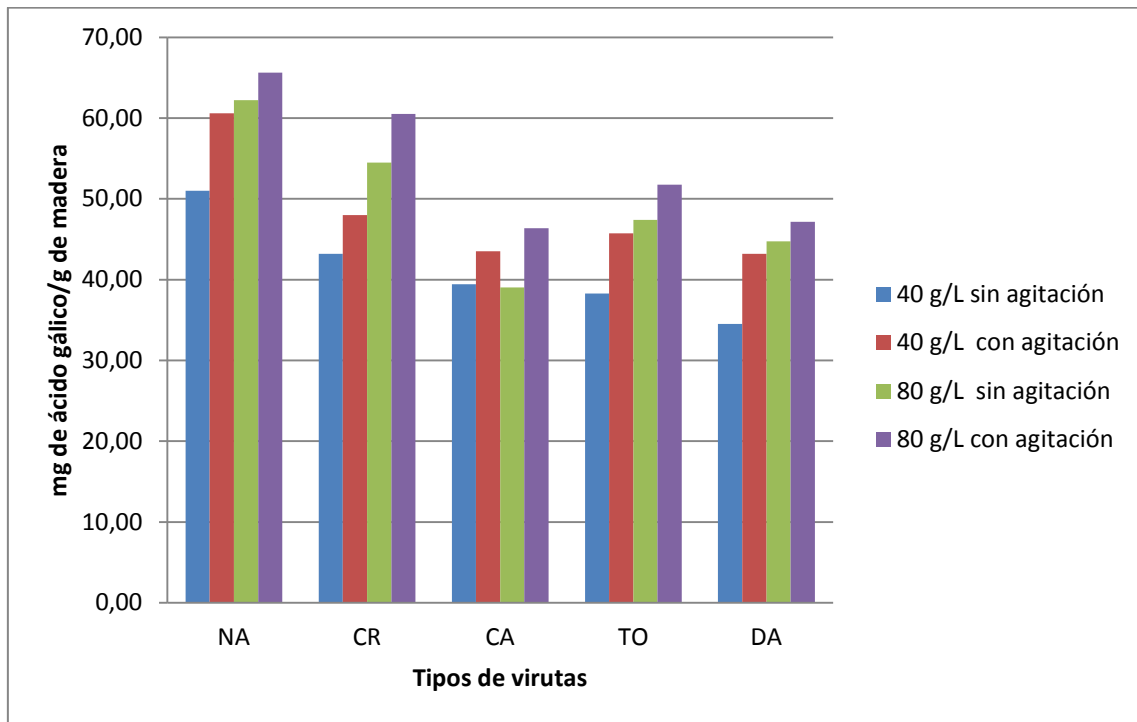


Figura IV.1.2.- Concentración de taninos hidrolizables precipitados por metil celulosa (mg de ácido gálico/g de madera) en diferentes condiciones y tras 24 horas de maceración en acetona/agua. Resultados ordenados desde el tipo de viruta menos tostada a la más tostada. NA-Natural/ CR-Cream/ CA-Caramel/ TO-Toffee/ DA-Dark chocolate

En la gráfica se ve representada la concentración de taninos hidrolizables en cada una de las virutas. Los taninos hidrolizables son los que actuarán como antioxidantes y de una manera directa e indirectamente participarán en la formación de acetaldehído, favoreciendo los puentes de etilo entre polifenoles, y ayudando a la estabilización del color y reducción de la sensación de astringencia de los taninos.

Se observa que en ensayos con tipos de virutas más tostadas, la concentración de taninos hidrolizables disminuye siendo la muestra de viruta tipo “Natural” la que tiene mayor concentración de taninos hidrolizables. La única muestra que no sigue este comportamiento es la viruta tipo “Caramel”, ya que sus resultados son más bajos que muestras más tostadas como “Toffee” o “Dark chocolate”. Esto puede ser debido a que, el tipo de viruta Caramel puede estar mezclada con otros tipos de virutas más

tostadas y por eso dar lugar a resultados en concentración de taninos hidrolizables más elevado de lo esperado.

IV.1.2. RESULTADOS DEL ANÁLISIS DEL VINO

IV.1.2.1. EFECTO DEL TIPO DE VIRUTA SOBRE LA COMPOSICIÓN POLIFENÓLICA DE LOS VINOS DESPUÉS DE 1 MES DEL EMBOTELLADO

Para establecer diferencias de comportamiento entre los tipos de virutas empleados, se lleva a cabo la analítica de la composición de polifenoles en los vinos. Por una parte, se cuantificarán antocianos (totales y pormenorizados) e Intensidad Colorante. Además, para estimar las reacciones entre polifenoles, se determinarán la concentración de taninos condensados, IPT, Índice de PVPP, Índice DMACH.

Tabla IV.1.- Valores medios y ANOVA de la Intensidad Colorante, y concentración de antocianos de los vinos después de un mes del embotellado.

Tipo viruta	Intensidad Colorante	Antocianos Totales (mg/L)	Malvidina-3-Glu (mg/L)	Antocianos Glucosilados (mg/L)
Testigo	6,96 ± 0,13d	210,24 ± 5,69ab	17,50 ± 0,58	22,44 ± 0,68
Natural	6,39 ± 0,096a	216,22 ± 6,13b	17,6 ± 0,87	22,55 ± 1,10
Cream	6,70 ± 0,09c	212,49 ± 5,37ab	14,49 ± 5,99	18,6 ± 7,7
Special fruit	6,92 ± 0,083d	206,43 ± 5,15 ^a	17,37 ± 1,31	22,25 ± 1,70
Caramel	6,73 ± 0,09c	210,22 ± 13,27ab	17,31 ± 0,95	22,2 ± 1,26
Toffee	6,69 ± 0,07c	209,73 ± 3,7ab	16,33 ± 1,29	20,9 ± 1,71
Dark chocolate	6,59 ± 0,07b	209,08 ± 4,35ab	15,8 ± 0,91	20,21 ± 1,24
valor P	0,000	0,0257	0,1795	0,1886
F ratio	30,8	2,71	1,57	1,54

Valores con distinta letra indican que existen diferencias significativas (valor $P < 0.05$). Ausencia de letras o letras iguales indican que no existen diferencias significativas (valor $P > 0.05$). Las virutas están ordenadas de la menos tostada a la más tostada.

En la tabla IV.1, se reflejan los resultados estadísticos obtenidos en el análisis ANOVA, sobre el efecto de cada tipo de viruta en la composición antocianídica e Intensidad Colorante de los vinos.

Se han obtenido diferencias significativas sólo en la Intensidad Colorante. En los ensayos con los tipos de virutas “Caramel”, “Cream” y “Toffee” tienen un comportamiento similar al ser virutas con mayor grado de tostado, provocan un ligero descenso en la Intensidad Colorante debido, probablemente, a que son por lo que cederán más compuestos “amarronados” al vino. En el estudio realizado por Arlegui (2014) sobre “el efecto de chips de roble sobre la actividad antioxidante y composición fenólica de un vino de Tempranillo”, tras realizar un ensayo con diferentes tipos de virutas en el vino, concluye que los ensayos con vino que no ha tenido contacto con virutas muestran mayor Intensidad Colorante que las muestras que han estado en contacto con virutas, esto puede justificar los resultados obtenidos en este estudio ya que la que presenta mayor Intensidad Colorante es el ensayo del “Testigo” en comparación a los demás ensayos con virutas. Aunque por otro lado, no se observa en general dicha tendencia en los resultados. Sí se observa que las muestras con tipos de viruta más tostadas tienen resultados de Intensidad Colorante bastante bajos, esto es debido a que las virutas más tostadas tienen menos taninos y por tanto menor protección antioxidante. Contrariamente a lo esperado, el ensayo realizado con el tipo de viruta “Natural”, su Intensidad Colorante es significativamente menor que los ensayos con tipos de virutas más tostadas. Una justificación a este resultado, se puede encontrar en el estudio realizado por Davaux y Favarel (2011) concluye que la estabilización del vino se observa a los tres meses de contacto con virutas, que es cuando éstas han cedido la mayoría de sus compuestos al vino. Además, hay que tener en cuenta que la analítica se realizó al mes siguiente del embotellado, por lo que es posible que en controles posteriores se observen diferencias en la estabilización y/o oxidación de materia colorante.

RESULTADOS

El ensayo con el tipo de viruta “Natural” (el tipo de viruta menos tostada) teóricamente será el que aporte mayor concentración de elagitaninos al medio y, por lo tanto, una mayor capacidad antioxidante que previene una menor pérdida por oxidación de los antocianos, tal y como encontramos en la determinación de antocianos totales en dicho ensayo. Hay que tener en cuenta que el vino inicialmente, tenía 220 mg/L de antocianos totales, por lo que se ha producido una pérdida por precipitación y/o oxidación en todos los ensayos, pero en menor medida en el adicionado con virutas tipo “Natural”. La concentración de antocianos pormenorizados resulta muy similar a la concentración de antocianos totales, aunque en estos no observamos diferencias significativas entre los diferentes ensayos.

Teóricamente, los vinos con menores valores de Intensidad Colorante deberían corresponder a aquéllos menores concentraciones de antocianos totales ya que tienen una relación directamente proporcional. Esta correlación no se cumple en todos los ensayos realizados, aunque parece haber una relación entre la capacidad antioxidante aportada por las virutas menos tostadas y la menor pérdida de antocianos.

Tabla IV.2 - Valores medios y ANOVA de la Concentración de taninos e interacción entre taninos, de los vinos después de un mes del embotellado.

Tipo viruta	Taninos condensados	DMACH	PVPP	IPT
Testigo	1,58 ± 0,10bc	44,43 ± 2,62b	62,29 ± 2,37b	44,38 ± 1,16b
Natural	1,87 ± 0,22d	25,19 ± 3,76a	66,07 ± 3,78b	45,88 ± 2,26b
Cream	1,76 ± 0,24cd	33,92 ± 5,70b	60,04 ± 2,61b	43,37 ± 2,18a
Special fruit	1,30 ± 0,29a	38,84 ± 8,86b	62 ± 3,04b	43,06 ± 1,76a
Caramel	1,55 ± 0,08b	32,66 ± 2,56a	55,73 ± 5,54a	45,19 ± 3,36b
Toffee	1,28 ± 0,13a	33,15 ± 6,79ab	50,25 ± 5,38a	43,72 ± 2,18a
Dark chocolate	1,85 ± 0,22d	34,30 ± 4,24b	57,14 ± 4,66a	44,67 ± 1,05b

RESULTADOS

valor P	0,000	0,000	0,000	0,0183
F ratio	11,21	6,81	23,48	2,91

Valores con distinta letra indican que existen diferencias significativas (valor $P < 0.05$). Ausencia de letras o letras iguales indican que no existen diferencias significativas (valor $P > 0.05$). Las virutas están ordenadas de la menos tostada a la más tostada.

La concentración de taninos analizada se refiere a la fracción de taninos condensados y por lo tanto únicamente a los que proceden de la uva. La mayor pérdida de taninos por precipitación, se produce en el vino control y en los ensayos con dos tipos de virutas “Spacial Fruit” y “Toffee”, sin embargo se mantiene la concentración de taninos en las demás virutas ensayadas.

El índice de DMACH nos da el porcentaje de taninos de un alto grado de polimerización correspondiendo a valores más bajos aquellos taninos con mayor grado de polimerización. En los ensayos realizados, los porcentajes oscilan entre el 30-40%, esto indica que muy probablemente tendrá lugar una precipitación, ya que contienen algunos taninos de un grado de polimerización tan alto que son insolubles (Zamora, 2003). Los valores más bajos y que corresponde a muestras con los taninos más polimerizados se obtienen en la muestra que ha sido adicionada con viruta tipo “Natural”, ya que es la que más taninos aporta (viruta sin tostar) y que favorecerá las reacciones de polimerización. El grado de polimerización de taninos se incrementa cuando se aporta oxígeno a los vinos directamente o mediante la aparición de acetaldehído por oxidación del etanol indirectamente a través de los elagitaninos. Por otra parte, los valores más altos de Índice de DMACH, que indican que existen taninos menos polimerizados, corresponde a la muestra “Testigo”, la ausencia de virutas es el motivo por el que los taninos no polimerizan de igual manera que en su presencia.

El Índice de PVPP nos indica el porcentaje de antocianos que está combinado con los taninos. Esta unión mide indirectamente el grado de estabilidad del color. Los valores elevados del Índice de PVPP nos indican que se han visto favorecidas las reacciones de condensación y polimerización entre antocianos y taninos (Perez, 2004). Esta norma se

cumple en la muestra con el tipo de viruta “Natural”, por ejemplo, que tiene el valor más elevado del índice de PVPP y el más bajo en el índice de DMACH.

La muestra testigo posee valores intermedios para el Índice de PVPP entre las muestras con virutas más y menos tostadas, siendo las de tostado alto (tipo “Toffe”) las que dan lugar a los valores menores de Índice de PVPP, por el menor aporte de elagitaninos y por ello menor producción de acetaldehído. Las diferencias significativas en el porcentaje del índice PVPP pueden explicarse si las virutas tienen orígenes de diferentes especies de *Quercus*. Por ejemplo, el *Q. alba* dificulta la impregnación de la madera por el vino y, por ello, disminuye la penetración de oxígeno y con lo consiguiente las reacciones de polimerización. (Perez ,2004).

IV.1.2.2. EFECTO DE LA MICROOXIGENACIÓN SOBRE LA COMPOSICIÓN DEL VINO DESPUÉS DE 1 MES DEL EMBOTELLADO

En la tabla se muestra el efecto de la microoxigenación sobre la intensidad colorante y la concentración de antocianos, tanto totales como pormenorizados después de 1 mes del embotellado. Solo hemos tenido en cuenta la microoxigenación independientemente del tipo de viruta. Refleja si al microoxigenar una muestra afecta a la estabilidad y equilibrio de los vinos.

Tabla IV.3.-- Valores medios y ANOVA de la Intensidad Colorante, y concentración de antocianos de los vinos después de un mes del embotellado teniendo en cuenta el efecto de la microoxigenación.

Efecto	Intensidad Colorante	Antocianos Totales (mg/L)	Malvidina-3-Glu (mg/L)	Antocianos Glucosilados (mg/L)
Con microoxigenación	6,73 ± 0,21	210,8 ± 3,40	16,54 ± 0,86	19,87 ± 3,2
Sin microoxigenación	6,66 ± 0,18	210,89 ± 4,65	17,21 ± 0,60	22,1 ± 0,78
valor P	0,59	0,8896	0,0706	0,0684
F ratio	0,29	0,02	3,41	3,47

Valores con distinta letra indican que existen diferencias significativas (valor $P < 0.05$). Ausencia de letras o letras iguales indican que no existen diferencias significativas (valor $P > 0.05$).

Tal y como indica el ANOVA de la tabla IV.3, a partir de los valores P obtenidos en el ANOVA, no se observan diferencias significativas entre el efecto de la microoxigenación tanto en la Intensidad Colorante como en la concentración de antocianos. Como ya se ha comentado en la introducción, la finalidad de microoxigenar una muestra es llegar a un equilibrio y estabilidad en la composición del vino. En el presente estudio, la Intensidad Colorante es muy similar aparentemente entre las muestras microoxigenadas y las no microoxigenadas, aunque las primeras tienen valores ligeramente superiores debido a la estabilidad del color gracias a la microoxigenación.

Por otra parte, se aprecia una concentración de antocianos totales es muy similar, no sufriendo variaciones por efecto de la microoxigenación. La Intensidad Colorante y la concentración de antocianos totales tienen una relación directa, como hay poca variación entre las muestras en la Intensidad Colorante por ello se observan pocas diferencias en la concentración de antocianos totales.

El vino tras estar en contacto con las virutas necesita un tiempo de crianza en botella para acabar de llegar a un equilibrio. La analítica que se realizará de dichas muestras al cabo de los meses mostrará, seguramente, una mayor estabilidad y diferencia entre las muestras microoxigenadas y sin microoxigenar en la Intensidad Colorante y la concentración de antocianos.

En la siguiente tabla se muestra el análisis el efecto de la microoxigenación sobre la concentración e interacción entre los taninos. Se ha tenido en cuenta la condición de microoxigenar, independientemente del tipo de viruta. No se observan diferencias significativas entre el efecto de microoxigenar y no microoxigenar.

Tabla IV.4.- Valores medios y ANOVA de la Concentración de taninos e interacción entre taninos de los vinos después de un mes del embotellado teniendo en cuenta el efecto de la microoxigenación.

Efecto	Taninos condensados	DMACH	PVPP	IPT
Con microoxigenación	1,62 ± 0,25	34,84 ± 6,56	58,47 ± 6,3	44,47 ± 1,26
Sin microoxigenación	1,58 ± 0,27	34,45 ± 6,39	59,68 ± 4,44	44,33 ± 1,82
valor P	0,613	0,9567	0,2901	0,8165
F ratio	0,26	0,00	1,13	0,05

Valores con distinta letra indican que existen diferencias significativas (valor $P < 0.05$). Ausencia de letras o letras iguales indican que no existen diferencias significativas (valor $P > 0.05$).

Con respecto a los taninos condensados, se ha obtenido una menor pérdida en las muestras que han sido microoxigenadas, debido probablemente a pérdida por precipitación, aunque no se han encontrado diferencias significativas.

En lo que respecta al índice de DMACH y al índice de PVPP no se ve una tendencia clara. Los ensayos microoxigenados, teóricamente deberían tener una mayor estabilidad polifenólica por un incremento del grado de polimerización de taninos, y uniones antociano-tanino, que provocarían porcentajes superiores de estos Índices con respecto a las muestras que no microoxigenadas. En referencia al índice de PVPP, teóricamente, el oxígeno a través de la formación de acetaldehído y del puente de etilo, favorece también una unión polifenólica, concretamente entre antocianos y taninos y sin embargo, no se observa dicho efecto en las muestras.

En el estudio de Gonzalez (2007) sobre la utilización de viruta de madera y la microoxigenación en su ensayo a los 30 días de maceración no encontró diferencias significativas en el contenido fenólico total al igual que en el presente trabajo. Para ver una mayor estabilidad en los vinos que han sido microoxigenados, hay que esperar a

que el vino sufra una maduración en botella, permitiendo que se produzcan todas las reacciones que contribuyan a su estabilidad y que en el momento del análisis aún no se han producido.

IV.1.2.3. EFECTO DE LA DOSIS SOBRE LA COMPOSICIÓN DESPUÉS DE 1 MES DEL EMBOTELLADO

A continuación se muestran los resultados del efecto de la dosis de virutas añadidas, sobre la composición del vino después de 1 mes del embotellado. Este parámetro es importante ya que debemos saber la dosis óptima para obtener una buena extracción de los componentes de la madera.

En la siguiente tabla está representado el tratamiento estadístico ANOVA, obtenido al estudiar el efecto de la dosis en la Intensidad Colorante y la concentración de antocianos sin tener en cuenta el tipo de viruta. Las dosis añadidas fueron 2 y 3,5 g/L respectivamente.

Tabla IV.6.- Valores medios y ANOVA de la Intensidad Colorante, y concentración de antocianos de los vinos después de un mes del embotellado teniendo en cuenta el efecto de la dosis.

Efecto	Intensidad Colorante	Antocianos Totales (mg/L)	Malvidina-3-Glu (mg/L)	Antocianos Glucosilados (mg/L)
Dosis 0 g/L	6,96 ± 0,16b	210,24 ± 5,69	17,50 ± 0,58	22,44 ± 0,68
Dosis 2 g/L	6,66 ± 0,16a	210,95 ± 3,16	16,29 ± 1,63	21,5 ± 1,25
Dosis 3,5 g/L	6,66 ± 0,18a	210,38 ± 4	16 ± 1,83	19,68 ± 2,45
valor P	0,0048	0,0986	0,3443	0,333
F ratio	6,01	2,44	1,09	1,12

Valores con distinta letra indican que existen diferencias significativas (valor P<0.05). Ausencia de letras o letras iguales indican que no existen diferencias significativas (valor P>0.05).

Sólo se observa diferencias significativas en la Intensidad Colorante (Valor P = 0,0048). Esto quiere decir que la dosis aplicada en el ensayo causará un efecto en el color del vino. El ensayo realizado sin virutas, “Testigo”, es el que resulta tener un Intensidad Colorante significativamente más alta que el resto de ensayos, manteniendo mejor el color del vino inicial. El roble aportará al vino pigmentos que cambiarán el color del vino, como por ejemplo amarillo y eso se traduce en una disminución de la Intensidad Colorante, por ello los ensayos con virutas presentan Intensidad Colorante más baja con respecto al “Testigo”. Entre los ensayos realizados con dosis 2 g/L y 4 g/L no se aprecian diferencias, esto quiere decir que la dosis aplicada a los ensayos es indiferente de la cesión de pigmentos al vino y estabilización del color después de 1 mes del embotellado. Sin embargo, en la concentración de antocianos, no se observan diferencias significativas entre los ensayos.

En la siguiente tabla se reflejan los resultados del ANOVA y las medias en el estudio del efecto de la de dosis sobre la concentración e interacción entre taninos sin tener en cuenta el tipo de viruta.

Tabla IV.8.- Valores medios y ANOVA de la Concentración de taninos e interacción entre taninos de los vinos después de un mes del embotellado teniendo en cuenta la dosis.

Efecto	Taninos condensados	DMACH	PVPP	IPT
Dosis 0 g/L	1,58 ± 0,10	44,43 ± 2,62b	62,29 ± 2,37	44,38 ± 1,16
Dosis 2 g/L	1,62 ± 0,31	35,13 ± 5,88a	57,8 ± 6,23	44 ± 1
Dosis 3,5 g/L	1,57 ± 0,26	31 ± 5,3,4a	59,2 ± 4,7	44,8 ± 1,86
valor P	0,8814	0,0006	0,1463	0,1852
F ratio	0,13	8,74	1,96	1,75

Valores con distinta letra indican que existen diferencias significativas (valor $P < 0.05$). Ausencia de letras o letras iguales indican que no existen diferencias significativas (valor $P > 0.05$).

A tenor de los resultados obtenidos, sólo se observan diferencias significativas en el Índice de DMACH, es decir, en el grado de polimerización de taninos. El “Testigo”, es decir, el ensayo realizado en ausencia de virutas es el que ha resultado tener los taninos con menor grado de polimerización. Esto quiere decir que en ausencia de virutas obtenemos un elevado porcentaje de taninos con un bajo grado de polimerización. El aporte de elagitaninos, debido a la presencia de virutas dará lugar a la formación de acetaldehído que servirá de puente de etilo aumentando el grado de polimerización de los taninos Gonzalez (2007).

En el estudio presentado por *Davaux y Favarel (2011)* “sobre Técnica alternativa a la utilización de barricas de roble” se demuestra que después de 3 meses de crianza con virutas éstas dan un matiz muy discreto en los vinos indiferentemente de la dosis utilizada. Esto lo vemos reflejado en los resultados obtenidos, se muestra que la dosis aplicada es indiferente al efecto sobre la composición de los vinos.

V. CONCLUSIÓN

En los resultados obtenidos sobre la composición tánica de las virutas, se ha visto que hay una pérdida de compuestos tánicos conforme se incrementa el grado de tostado. Se ha visto que si se aumenta la dosis de virutas y se aplica agitación se favorece la extracción de compuestos fenólicos en una disolución acetona:agua (7:3). Dicha técnica es simple, sólo necesita de un espectrofotómetro y fácil de aplicar en bodega.

La Intensidad Colorante de los vinos, analizados al mes de su embotellado, disminuye ligeramente por la aplicación de virutas.

La presencia de virutas favorece la reacción entre polifenoles provocando un incremento del grado de polimerización de taninos y además las virutas no tostadas favorecen la estabilidad colorante en los vinos analizados al mes de su embotellado.

Las virutas más tostadas provocan una disminución de la Intensidad Colorante, debido al aporte de compuestos amarronados al vino.

La microoxigenación no provoca diferencias en las reacciones entre polifenoles de los vinos analizados al mes de su embotellado.

Emplear dosis de virutas de 2 y 4 g/L no ejercen diferencias significativas en la composición de los vinos analizados después de un mes del embotellado. Sin embargo la no adición de virutas permite preservar la Intensidad Colorante de los vinos al no aportar compuestos amarronados presentes en las virutas tostadas.

Hay que esperar a próximas analíticas para ver la evolución del vino en botella y estudiar si aparecen los efectos buscados, de mayor estabilidad polifenólica por el aporte de oxígeno y por la adición de distinta dosis de virutas.

VI. BIBLIOGRAFÍA

ARLEGUI, M (2014): Efecto de chips de roble sobre la actividad antioxidante y composición fenólica de un vino tempranillo. Universidad Pública de Navarra. 68pp

BLOUIN, J (1992): Techniques d'analyse des moûtes et des vins. Ed Dujardin-Salleron, Paris.

DARIAS MARTÍN, J; CARRILLO, M; DÍAZ, E; BOULTON, R.B. (2000): Enhancement of red wine color by pre-fermentation addition of copigments. Food Chem., 73, 217-220.

DAVAUX, F; FAVAREL, J.L. (2011): Técnica alternativa a la utilización de barricas de roble. ACE Revista de enología http://www.acenologia.com/ciencia51_1.htm

FERNÁNDEZ, B; CADAHÍA, E; CONDE, E; GARCÍA, M.C (1999): Evolution of phenolic compounds of spanish oak wood during natural seasoning. First results. J. Agric. Food Chem. 47, 1687-1694.

FERNANDEZ, J.I; CADAHÍA, E (1999): Características físicas y químicas de la madera de roble en la fabricación de barricas. La barrica de roble como factor de calidad en la crianza de los vinos tintos, Ed Consejería de Agricultura y Ganadería y Desarrollo Rural del Gobierno de la Rioja, Logroño, pp. 11-66

GONSALEZ, M.L.; S. Pérez-Magariño; , E. Cano-Mozo; , J.J. Rodríguez-Bencomo; P. Herrera; C. González (2007): Utilización de virutas de madera y microoxigenación en un vino de la variedad Mencía. Universidad de Burgos. 6pp

GLORIES, Y (1984): La couleur des vins rouges. 2èmes partie. Mesure, origine et interpretation. Conn. Vigne Vin, 18, 253-271

INCANTO CHIPS & MINISTAVES (2013): Selected oak alternatives. Esseco srl. Italy. <http://www.enartisvinquiry.com/download/MSDS/IncantoChipsRange.pdf>

INFORME TÉCNICO (2007): Crianza en barrica y otras alternativas. Ed Fundación para la cultura del vino. Madrid. 252.

MARCO, J; ARTAJONA, J; LARRECHI, M.S; RIUS, F.X. (1994): Relationship between geographical origin and chemical composition of Wood for oak barrels. Am. J. Enol. Vitic., 45, 192-200.

MASSON, G; PUERCH, J.L; MOUTOUNET, M. (1995b): Ellagitannin content of oak Wood as a function of species and of sampling position in the tree. Am. J. Enol. Vitic., 46, 262-268.

MOSEDALE, J.R; PUERCH, J.L; FEUILLAT, F. (1999): The influence on wine flavor of the oak species and natural variation of heartwood components. *Am. J. Enol. Vitic.*, 50, 503-512.

OTSUKA, K; SATO, K; YAMASHITA, T. (1980): Structure of a precursor of β -methyl- γ -octalactone, and aging flavor compound fo distilled liquors. *J. Ferm. Techonol.*, 58, 395-398.

RIBÉREAU,P; STONESTREET,E (1966): Dosage des tanins du vin rouge et determination de leur structure. *Chim. Anal*, 48,188-196

SALAGOITY, M.H; TRICARD, CH; SUDRAUD, P. (1987): Dosage simultané des aldéhydes aromatiques et des coumarines par chromatographie liquide haute performance. Application aux vins et eaux-de-vie vieillis en fût de chÊne. *J. Chromatogr.*, 392, 379-387

SARNECKIS,C .J; DAMBERGS, R.G; JONES, P; MERCURIO, M; HERMERICH,M.J; SMITH,P.A (2006): Quantidication of condensed tannins by precipitation with methyl cellulose: development and validation of an optimised tool for grapes and wine analys. The Australian Wine Research Institute. 39-49

SINGLETON, V.L (2000): A survey of wine aging reactions, especially with oxygen. Proceedings of the ASEV 50th Aniversary Annual Meeting, Seattle, Whashington, June19-23, 323-336.

VIRIOT, C; SCALBERT, A; HERVÉS, C.L.M; MOUTIUNET, M. (1994): Ellagitannins in Wood of sessile oak and sweet chestnut dimerization and hydrolisis during Wood ageing. *Phytochemistry*, 36, 1253-1260.

VIVAS, N (2005): Manual de la tonelería. Ed Mundi-Prensa. Madrid. 226.

VIVAS, N; GLORIES, Y; LAGUNE,L; SAUCIER,C; AUGUSTIN,M. (1994): Estimation du defré de polymérisation des procyanidines du raisin et du vin par la méthode au p-dimethylaminocinnamaldéhyde. *J. int.Sci. Vigne Vin*,28, 319-336

WATERHOUSE, A.L; TOWEY, J.P.(1994): Oak lactone isomer ration distinguished between wine fermented in american and french oak barrels. *J. Agric. Food Chem.*, 42, 1971-1974

ZAMORA, F (2003): Elaboración y crianza del vino tinto: aspectos científicos y prácticos. Ed AMV; Mundi-Prensa. Madrid. 2

