

UNIVERSIDAD DE CASTILLA LA MANCHA

Departamento de Química Analítica y Tecnología de los Alimentos

**NUEVAS TECNOLOGÍAS VITÍCOLAS Y ENOLÓGICAS PARA LA OBTENCIÓN
DE VINOS DE CALIDAD**

**NOVAS TECNOLOGÍAS VITÍCOLAS E ENOLÓGICAS PARA A OBTENÇÃO DE
VINHOS DE QUALIDADE**

RAFAEL L. SCHUMACHER

TESIS DOCTORAL INTERNACIONAL

Ciudad Real, 2014

UNIVERSIDAD DE CASTILLA LA MANCHA

FACULTAD DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS QUÍMICAS

Departamento de Química Analítica y Tecnología de los Alimentos



**NUEVAS TECNOLOGÍAS VITÍCOLAS Y ENOLÓGICAS PARA LA OBTENCIÓN
DE VINOS DE CALIDAD**

Memoria presentada por

RAFAEL L. SCHUMACHER

para optar al grado de Doctor en Ciencia y Tecnología de los Alimentos con Mención
Internacional

Ciudad Real, 2014

Dirigida por las Doctoras

D^a M^a SOLEDAD PÉREZ-COELLO

D^a M^a CONSUELO DÍAZ-MAROTO HIDALGO

D^a M^a ELENA ALAÑÓN PARDO

D^a. M^a Soledad Pérez-Coello, Dra. en Ciencias Químicas y Profesora Titular de la Facultad de Ciencias y Tecnologías Químicas de la Universidad de Castilla La Mancha, **D^a. M^a Consuelo Díaz-Maroto Hidalgo**, Dra. en Ciencia y Tecnología de los Alimentos y Profesora Titular del Instituto Regional de Investigación Científica Aplicada de la Universidad de Castilla La Mancha y **D^a. M^a Elena Alañón Pardo**, Dra. en Enología e Investigadora Post-doctoral en el Food and Nutrition Science Department of University of Reading.

AUTORIZAN:

La presentación de la memoria titulada ***“Nuevas tecnologías vitícolas y enológicas para la obtención de vinos de calidad”*** presentada por **D. Rafael L. Schumacher**, para optar al grado de Doctor en Enología con Mención Internacional por la Universidad de Castilla La Mancha, y certifican que ha sido realizado bajo su dirección en el Área de Ciencia y Tecnología de los Alimentos.

Visado en Ciudad Real, a xx de Abril de 2014

Fdo.: M^a SOLEDAD PÉREZ-COELLO

Fdo.: M^a CONSUELO DÍAZ-MAROTO

Fdo.: M^a ELENA ALAÑÓN PARDO

Fdo.: RAFAEL L. SCHUMACHER
Ingeniero Agrónomo

D^a JUANA RODRÍGUEZ FLORES, profesora Titular de Universidad y Secretaria del Departamento de Química Analítica y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de Castilla La Mancha,

CERTIFICA:

Que el presente trabajo de investigación titulado ***“Nuevas tecnologías vitícolas y enológicas para la obtención de vinos de calidad”*** constituye la Tesis Doctoral desarrollada por **D. Rafael L. Schumacher** la cual cumple con todos los requisitos necesarios para optar al grado de Doctor con Mención Internacional por la Universidad de Castilla La Mancha, y que ha sido realizada en el Departamento de Química Analítica y Tecnología de los Alimentos bajo la dirección de la **Dra. D^a. M^a Soledad Pérez-Coello**, de la **Dra. D^a. M^a Consuelo Díaz-Maroto Hidalgo** y de la **Dra. D^a. M^a Elena Alañón Pardo**.

Y para que así conste, expido y firmo el presente certificado en Ciudad Real a xx de abril de dos mil catorce.

Fdo.: ANA ISABEL BRIONES PÉREZ

Directora del Departamento

Fdo.: JUANA RODRÍGUEZ FLORES

Secretaria del Departamento

ÍNDICE

JUSTIFICACIÓN DEL TEMA	1
OBJETIVOS	6
RESUMO	7
1. Justificativa do tema	7
2. Objetivos.....	11
3. Resultados.....	12
3.1. Os subprodutos de xisto pirobituminoso como alternativa ao uso de fertilizantes tradicionais na adubação de vinhedos brasileiros. Estudo da composição polifenólica, aromática e nitrogenada dos vinhos.	12
3.2. Aproveitamento de subprodutos da vinificação para incrementar a qualidade dos vinhos brancos	14
3.3. Potencial enológico da madeira de castanha como alternativa à madeira de carvalho tradicional. Estudo da composição fenólica, volátil, e sensorial dos vinhos tintos.	19
4. Conclusões.....	22
CAPÍTULO I – LOS SUBPRODUCTOS DE ESQUISTO PIROBITUMINOSO COMO ALTERNATIVA AL USO DE FERTILIZANTES TRADICIONALES EN EL ABONADO DE VIÑEDOS BRASILEÑOS. ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN POLIFENÓLICA, AROMÁTICA Y NITROGENADA DE LOS VINOS.	26
1.1. INTRODUCCIÓN	27
1.1.1. Panorama económico del sector vitivinícola.....	27
1.1.2. Aspectos agronómicos generales	30
1.1.3. Características del terruño brasileño.....	39
1.1.4. Composición química del vino.....	47
1.1.4.1. Composición fenólica del vino	47
1.1.4.2. Composición nitrogenada del vino.....	50
1.1.4.3. Composición volátil y propiedades sensoriales del vino	54
1.2. MATERIAL Y MÉTODOS	60
1.2.1. Viñedos.....	60
1.2.2. Fuentes alternativas de abonados	62
1.2.3. Vinificaciones.....	65
1.2.4. Análisis convencionales de los vinos	65
1.2.5. Determinación del nitrógeno total.....	67
1.2.6. Análisis de los compuestos volátiles mayoritarios.....	67
1.2.7. Análisis de los compuestos volátiles minoritarios	68
1.2.8. Análisis de aminoácidos, aminas biógenas y del ion amonio	69
1.2.9. Análisis de los compuestos fenólicos	71

1.2.10. Análisis sensorial de los vinos.....	76
1.2.11. Tratamiento estadístico de los resultados	77
1.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	78
1.3.1. EFECTOS DE LA APLICACIÓN DE CALIZA DE ESQUISTO Y CALIZA CONVENCIONAL EN LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS VINOS CABERNET SAUVIGNON	78
1.3.1.1. Análisis convencionales	78
1.3.1.2. Efecto de los tratamientos de abonado con caliza de esquisto y caliza convencional en los compuestos fenólicos de los vinos	80
1.3.1.3. Efecto de la aplicación de caliza de esquisto y caliza convencional en la composición aminoacídica de los vinos.....	89
1.3.1.4. Efecto de la aplicación de caliza de esquisto y caliza convencional en los compuestos volátiles de los vinos.....	101
1.3.2. EFECTOS DE LA APLICACIÓN DE LAS MATRICES DE ESQUISTO MBR09 Y MBR13 EN LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS VINOS CABERNET SAUVIGNON	119
1.3.2.1. Análisis convencionales	119
1.3.2.2. Efecto de los tratamientos de abonado con las matrices MBR09 y MBR13 en los compuestos fenólicos de los vinos.	121
1.3.2.3. Efecto de la aplicación de las matrices MBR09 y MBR13 en la composición aminoacídica de los vinos.....	132
1.3.2.4. Efecto de la aplicación de las matrices MBR09 y MBR13 en los compuestos volátiles de los vinos	136
1.3.3. EFECTOS DE LA APLICACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS ALTERNATIVOS DEL ABONADO EN LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS VINOS CABERNET SAUVIGNON.....	152
1.3.3.1. Resultados obtenidos mediante el análisis factorial de Componentes Principales aplicado a los compuestos fenólicos.	152
1.3.3.2. Resultados obtenidos mediante el análisis factorial de Componentes Principales aplicado a los aminoácidos y aminos biógenas.....	157
1.3.3.3. Resultados obtenidos mediante el análisis factorial de Componentes Principales aplicado a los compuestos volátiles.	161
1.3.4. ANALISIS SENSORIAL	166
1.3.4.1. Efecto de la aplicación de caliza de esquisto y caliza convencional en las propiedades sensoriales de los vinos.	166
1.3.4.2. Efecto de la aplicación de matrices MBR09 y MBR13 en las propiedades sensoriales de los vinos.....	167
1.4. BIBLIOGRAFÍA	169
CAPÍTULO II – APROVECHAMIENTO DE SUBPRODUCTOS DE VINIFICACIÓN PARA INCREMENTAR LA CALIDAD DE VINOS BLANCOS OBTENIDOS DE VARIEDADES NEUTRAS.....	198
2.1. INTRODUCCIÓN	198

2.1.1. Residuos de la producción vitivinícola: problemas y soluciones.....	198
2.1.2. Proceso de Vinificación: Importancia de la etapa de maceración.....	200
2.1.3. Morfología de las uvas: La composición química de los hollejos.....	203
2.1.3.1. Composición química de los hollejos.....	205
2.1.4. Potencial de los hollejos como subproductos de la industria vitivinícola...	211
2.1.5. Métodos de deshidratación de productos alimentarios.....	215
2.1.5.1. Secado por estufa.....	216
2.1.5.2. Secado por liofilización.....	216
2.2. MATERIAL Y MÉTODOS.....	223
2.2.1. Muestras.....	223
2.2.1.1. Hollejos.....	223
2.2.1.2. Ensayos de vinificación.....	224
2.2.2. Análisis convencionales de los vinos.....	224
2.2.3. Análisis de los compuestos volátiles.....	225
2.2.4. Parámetros del color e índice de polifenoles totales.....	228
2.2.5. Análisis cromatográfico de los compuestos fenólicos.....	228
2.2.6. Análisis sensorial descriptivo.....	230
2.2.7. Análisis estadístico de los datos.....	231
2.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	232
2.3.1. Efecto del secado en la calidad del aroma de los hollejos Moscatel. Estudio preliminar.....	232
2.3.2. Efecto de la liofilización en los componentes volátiles de hollejos Moscatel obtenidos a partir de subproductos de la vinificación.....	234
2.3.3. Efecto de la liofilización en los componentes fenólicos de hollejos Moscatel obtenidos a partir de subproductos de la vinificación.....	238
2.3.4. Utilización de hollejos Moscatel liofilizados para incrementar la calidad de vinos blancos obtenidos de variedades de uva neutras.....	239
2.3.4.1. Compuestos volátiles.....	240
2.3.4.2. Compuestos fenólicos y parámetros del color.....	244
2.3.4.3. Análisis sensorial.....	247
2.4. BIBLIOGRAFÍA.....	250
CAPÍTULO III – POTENCIAL ENOLÓGICO DE LA MADERA DE CASTAÑO COMO ALTERNATIVA A LA MADERA DE ROBLE TRADICIONAL. ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN FENÓLICA, VOLÁTIL Y SENSORIAL DE LOS VINOS TINTOS. ...	
3.1. INTRODUCCIÓN.....	261
3.1.1. La variedad Tempranillo y su importancia en España.....	261
3.1.2. Importancia de la etapa de envejecimiento en la elaboración de vinos tintos.....	263
3.1.3. La hegemonía de la madera de roble en los procesos de crianza.....	266

3.1.3.1. Especies y orígenes de las maderas de roble más utilizadas en tonelería	267
3.1.3.2. Propiedades físicas de la madera de roble	269
3.1.3.3. Composición química de la madera de roble	271
3.1.3.4. El tostado de las maderas de roble	278
3.1.4. Efecto del envejecimiento en las características organolépticas de los vinos	280
3.1.5. El papel de la madera de castaño en enología	283
3.1.5.1. Composición físico-química de la madera de castaño	286
3.2. MATERIAL Y MÉTODOS	289
3.2.1. Vinificaciones	289
3.2.2. Análisis convencionales de los vinos	289
3.2.3. Análisis de los compuestos volátiles mayoritarios	290
3.2.4. Análisis de los compuestos volátiles minoritarios	291
3.2.5. Análisis sensorial descriptivo	292
3.2.6. Medidas espectrofotométricas de los compuestos fenólicos y características cromáticas de los vinos	293
3.2.7. Análisis cromatográfico de los compuestos fenólicos del vino	294
3.2.8. Análisis estadístico	301
PARTE I: COMPUESTOS VOLÁTILES Y CARACTERÍSTICAS SENSORIALES DE LOS VINOS	302
3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	302
3.3.1. Análisis convencionales	302
3.3.2. Efecto de los tratamientos de envejecimiento con madera de castaño en los compuestos volátiles del vino	303
3.3.3. Análisis sensorial descriptivo	324
PARTE II: COMPUESTOS FENÓLICOS Y CARACTERÍSTICAS CROMÁTICAS DE LOS VINOS	331
3.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	331
3.4.1. Efecto de los tratamientos de envejecimiento con madera de castaño en la composición fenólica y características cromáticas de los vinos	331
3.4.2. Efecto de los tratamientos de envejecimiento con maderas de castaño en los compuestos fenólicos no antocianicos	334
3.4.3. Efecto de los tratamientos de envejecimiento con castaño sobre la composición de antocianos y piranoantocianos del vino	340
3.5. BIBLIOGRAFÍA	350
CONCLUSIONES GENERALES	366

JUSTIFICACIÓN DEL TEMA

Uno de los principales problemas a los que se enfrentan las bodegas en la actualidad es la gran competencia existente en el mercado del vino. Los consumidores, cada vez más implicados y exigentes, se ven abrumados ante la gran oferta de vinos, bastante uniforme, que el mercado actual les ofrece. Afortunadamente, en la actualidad los vinos que salen al mercado tienden a priorizar la calidad, sin embargo la calidad por sí sola no basta ante un mercado tan competitivo y voraz. Por tanto, la necesidad de atraer la atención del consumidor resulta de vital importancia para cualquier empresa vinícola.

Ante este panorama, uno de los principales retos de las bodegas es buscar elementos diferenciadores como herramienta eficaz para diversificar sus productos y desmarcarse así de sus competidores de una forma clara y efectiva.

De un tiempo a esta parte, muchas han sido las innovaciones tecnológicas que se han ido introduciendo en la elaboración de los vinos con el fin de conseguir esta diferenciación. Así por ejemplo se han utilizado nuevas técnicas de vinificación, se han recuperado uvas de variedades autóctonas de la zona o variedades menos usuales, y además también se ha producido el reemplazo de cultivos iniciadores comerciales por levaduras indígenas específicas de cada región vitivinícola. Todo ello con el fin de obtener vinos distintos que sobresalgan del resto y aporten sensaciones diferentes a un consumidor cada vez más exigente y abierto a innovaciones sensoriales.

En este sentido, el planteamiento de la presente Tesis Doctoral fue la introducción de nuevas técnicas en distintas etapas de la elaboración del vino, desde la viña hasta la crianza, pasando por la propia vinificación, con el fin de obtener vinos de calidad y con caracteres diferenciadores.

Siguiendo el orden propio de cualquier vinificación, el cuál puede verse detallado a continuación en forma de esquema (Figura A), la Tesis se ha dividido en tres capítulos, el primero se centra en prácticas vitícolas, el segundo en el proceso de vinificación y, finalmente el tercero en la etapa de crianza.

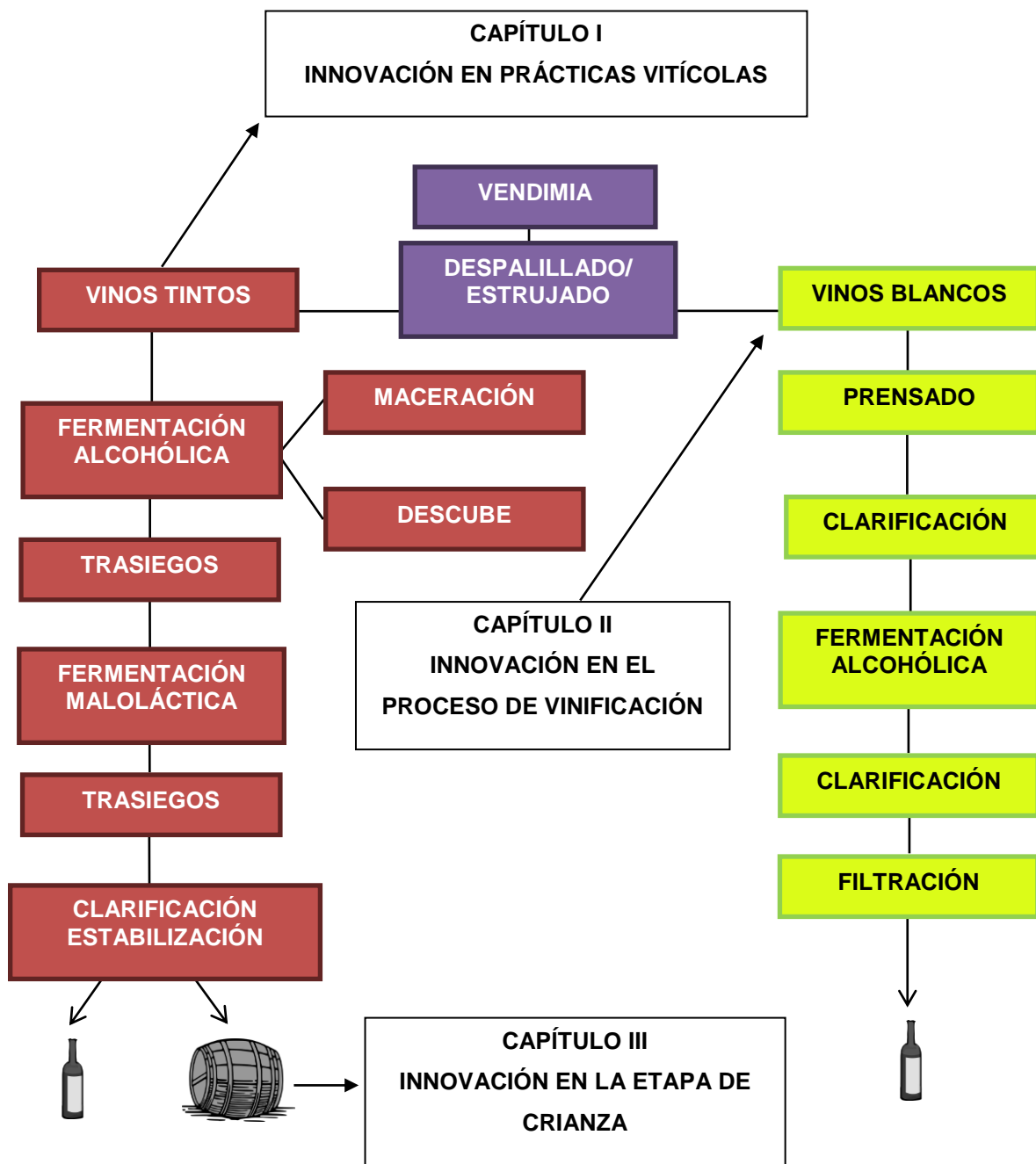


Figura A: Esquema de los procesos de vinificación

En el Capítulo I se utilizaron subproductos de esquisto pirobiterminoso como alternativa al uso de fertilizantes tradicionales en el abonado de viñedos brasileños. Este trabajo se desarrolló en Brasil, como parte de la formación del doctorando para acceder al Doctorado Internacional.

En Brasil, la acidez de los suelos y los bajos niveles de fósforo son algunas de las principales limitaciones edáficas en la producción de uvas de calidad, por lo que la técnica del encalado de los suelos es comunmente utilizada por los viticultores brasileños. El material más utilizado es la cal agrícola o calcita, compuesta principalmente por carbonato de calcio y, obtenida a partir de rocas de caliza.

En la actualidad el 69 % de los fertilizantes utilizados en Brasil provienen de importaciones, generando un mayor coste de producción. Esta situación nos lleva a investigar en el desarrollo de alternativas basadas en la utilización de productos nacionales, localizados más cercanos a las zonas de producción, lo que llevaría a una disminución del coste de producción y a una mayor estabilidad de la cadena productiva.

El uso de los subproductos del esquisto pirobituminoso, entre los que se encuentra la caliza de esquisto y los denominados “Finos de esquisto”, han demostrado su eficacia en agricultura para la corrección de la acidez de los suelos y el aporte de algunos nutrientes para las plantas, lo que nos hizo plantearnos su utilización en los viñedos. Así, el principal objetivo del Capítulo I fue el empleo de los subproductos de esquisto como alternativa a la fertilización tradicional con caliza en los viñedos brasileños, centrándonos en la influencia de dichos subproductos en la calidad de los vinos obtenidos, concretamente en su composición volátil, polifenólica y nitrogenada.

Siguiendo con el orden lógico de elaboración del vino, en el Capítulo II se decidió intentar incrementar la calidad de vinos blancos obtenidos de variedades de uva neutras, mediante maceración prefermentativa con hollejos blancos liofilizados. Estos hollejos blancos liofilizados se obtuvieron de subproductos de vinificación en blanco, es decir, de los orujos generados por la bodegas.

La gestión de los residuos generados por las bodegas es uno de los principales problemas de la industria enológica, principalmente en países como España. Según la Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV, 2011), España ocupa el primer

lugar en superficie de viñedos plantados, con aproximadamente 1,01 millones de hectáreas y el cuarto lugar en producción de uvas, con cerca de 6,11 millones de toneladas. De entre las regiones productoras, merece especial mención la región de Castilla La-Mancha por poseer más del 50 % del total de viñedos españoles. Alrededor del 80 % de la producción nacional es procesada por la industria vinícola para la obtención de vinos o bien por la industria de bebidas no alcohólicas para la producción de zumos, generando por tanto, una cantidad de residuos nada despreciable.

El orujo de uva es un producto altamente perecedero y debido a los enormes volúmenes de residuos generados durante la temporada de vendimia, la utilización de los orujos de uva fresca es inviable, por lo que requiere un método adecuado de conservación o uso apropiado.

Una de las opciones de mayor valor es la recuperación de los componentes bioactivos, que podrían ser utilizados en otras industrias, como la farmacéutica o la alimentaria. En particular, los residuos de la bodega son una fuente importante de polifenoles, sin embargo, el potencial aromático de las uvas, concentrado principalmente en los hollejos, no puede ser olvidado. Concretamente, en la vinificación en blanco, este potencial, en muchos casos, no es suficientemente explotado, ya que los hollejos se descartan en las primeras etapas del proceso de elaboración del vino, pasando a formar parte de los orujos.

Aunque los polifenoles son altamente reactivos, debido a su carácter no volátil, su recuperación en forma de extractos a partir de los orujos es relativamente sencilla. Sin embargo, la obtención de extractos ricos en compuestos volátiles está muy condicionada a la técnica de extracción empleada, la cual puede modificar profundamente el perfil volátil de los mismos. Por este motivo, el secado se plantea como una alternativa para el aprovechamiento del potencial, tanto volátil como polifenólico, presente en los orujos.

Finalmente, en el Capítulo III se aborda la problemática de la etapa de crianza., ya que a pesar de las diversas innovaciones tecnológicas introducidas por las bodegas

durante la elaboración del vino, hay determinadas etapas donde dichas innovaciones no han sido tan notables. Un ejemplo de ello, es la etapa de crianza la cual se sigue llevando a cabo, única y exclusivamente, mediante el contacto del vino con madera de roble, bien con la utilización de barricas o mediante el uso de virutas.

El proceso de crianza es esencial a la hora de obtener vinos de calidad. Esta etapa, aparentemente sencilla, entraña una gran complejidad ya que muchos son los cambios producidos en las características organolépticas de los vinos de crianza, los cuales pueden mejorar su calidad o por el contrario pueden suponer su deterioro. Por tanto, el conocimiento y control de todos estos cambios se hace imprescindible para la obtención de vinos de crianza de calidad.

El excesivo y único uso de la madera de roble en procesos de crianza está ocasionando un agotamiento importante en las principales zonas productoras de robles aptos para usos enológicos al mismo tiempo que provoca una homogeneidad en la oferta vinícola actual. Por lo que llegados a este punto, la búsqueda de nuevas alternativas a la madera de roble cobra especial interés.

A la hora de elegir una madera para llevar a cabo la crianza de un vino, es necesario tener en cuenta diversos aspectos, entre los que destacan su composición química, tanto en compuestos volátiles como en polifenoles, y sus propiedades mecánicas, que permitirán su transformación en barricas. En este sentido, la madera de castaño se presenta como una buena alternativa a la crianza en madera de roble, por lo que en el Capítulo III se estudiaron las aptitudes enológicas de la madera de castaño para la crianza de vinos tintos de la variedad Tempranillo.

OBJETIVOS

El objetivo principal de este trabajo de investigación ha sido el de aportar a la comunidad enológica nuevas tecnologías para la obtención de vinos de calidad. Con este propósito, fueron desarrollados los siguientes objetivos específicos:

- ✓ Evaluar la composición volátil, polifenólica y nitrogenada de los vinos de la variedad Cabernet Sauvignon provenientes de viñedos brasileños tratados con subproductos del esquisto pirobituminoso.
- ✓ Verificar la influencia de la maceración prefermentativa con hollejos deshidratados de uvas blancas en la composición química y sensorial de los vinos blancos obtenidos a partir de variedades neutras.
- ✓ Demostrar el potencial enológico de la madera de castaño en la crianza de los vinos tintos de la variedad Tempranillo.

RESUMO

1. Justificativa do tema

Um dos principais problemas que as vinícolas enfrentam na atualidade é a grande concorrência existente no mercado do vinho. Os consumidores, cada vez mais implicados e exigentes, ficam abrumados diante da grande oferta de vinhos, bastante uniforme, que o mercado atual oferece. Afortunadamente, os vinhos que saem para o mercado tendem a privar pela qualidade, no entanto, a necessidade de atrair a atenção do consumidor resulta de vital importância para qualquer empresa vinícola.

Diante desse panorama, uma das principais metas das vinícolas é de buscar elementos diferenciadores como ferramenta eficaz para diversificar seus produtos e assim diferenciar-se de seus competidores de uma forma clara e efetiva.

Nos últimos anos, muitas inovações tecnológicas foram introduzidas na elaboração de vinhos com a finalidade de conseguir esta diferenciação. Deste modo, por exemplo, novas técnicas de vinificação tem sido utilizadas, houve uma recuperação das variedades autóctones de cada zona ou de variedades menos usuais, e além disso também tem sido produzida uma substituição dos cultivos iniciadores comerciais por leveduras indígenas específicas de cada região vitivinícola. Tudo isso com a finalidade de obter vinhos distintos que se sobressaiam aos demais e aportem sensações deferentes a um consumidor cada vez mais exigente e aberto as inovações sensoriais.

Nesse sentido, o enfoque da presente Tese de Doutorado foi a introdução de novas técnicas em distintas etapas da elaboração dos vinhos, desde a videira até o envelhecimento, passando pela própria vinificação, com a finalidade de obter vinhos de qualidade e com características diferenciadoras.

Seguindo a ordem própria de qualquer vinificação, a qual pode ver-se detalhada a continuação, em forma de esquema (Figura B), a Tese foi dividida em três capítulos, sendo que o primeiro está centrado nas práticas vitícolas, o segundo no processo de vinificação e finalmente o terceiro na etapa de envelhecimento.

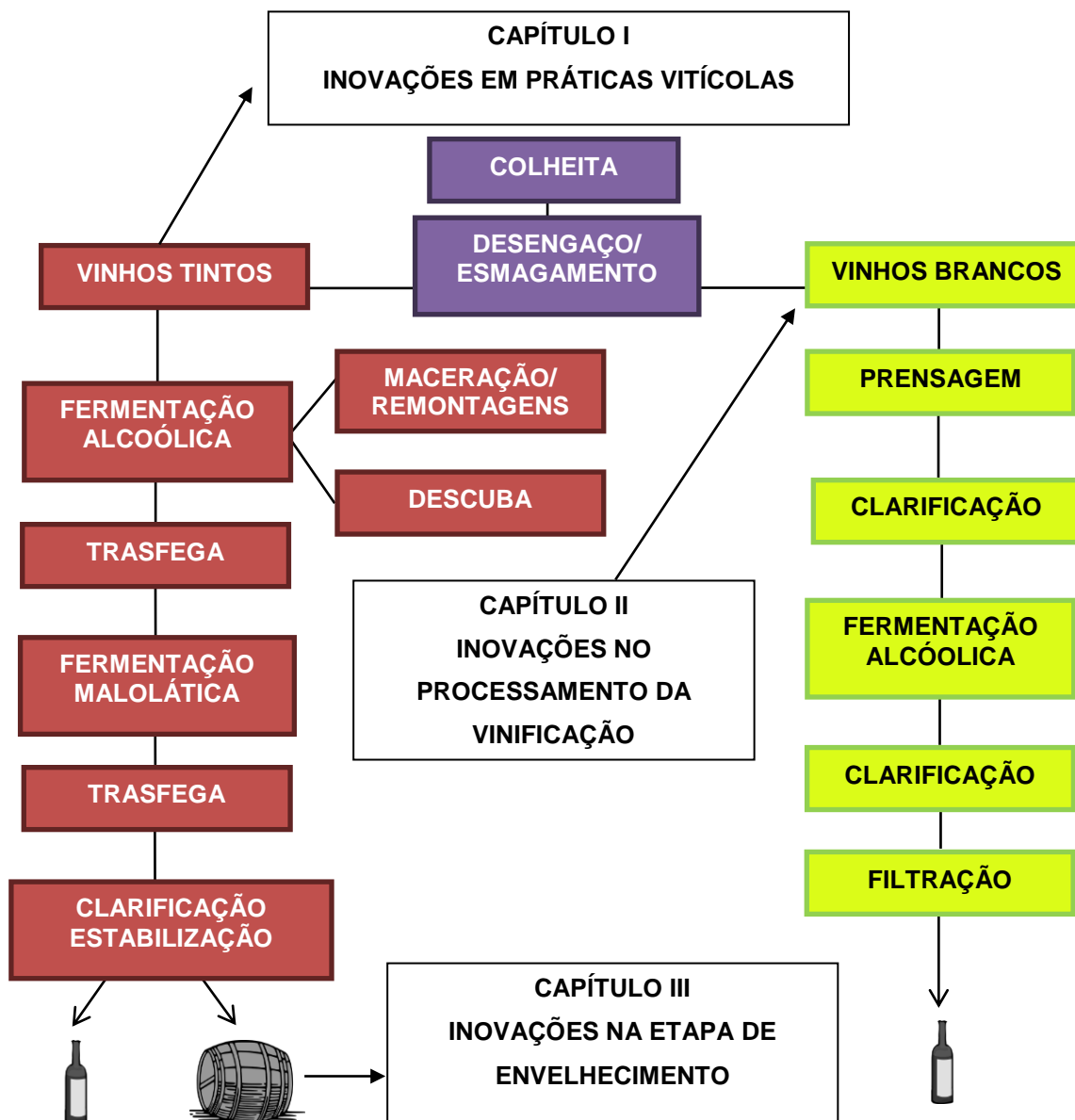


Figura B: esquema simples de vinificações

No Capítulo I foram utilizados subprodutos do xisto pirobituminoso como alternativa ao uso de fertilizantes tradicionais na adubação de vinhedos brasileiros. Este trabalho, foi desenvolvido no Brasil, como parte da formação do doutorando para obter o título de Doutorado Internacional.

No Brasil, a acidez dos solos e os baixos níveis de fósforo são algumas das principais limitações edáficas na produção de uvas de qualidade, pelo que a técnica de calagem dos solos é normalmente utilizada pelos viticultores brasileiros. O material

mais utilizado é a cal agrícola, o calcita, composta principalmente por carbonato de cálcio y obtida a partir de rochas calcárias.

Na atualidade, 69% dos fertilizantes utilizados no Brasil provem de importações, gerando um maior custo de produção. Esta situação nos leva a investigar o desenvolvimento de alternativas baseadas na utilização de produtos nacionais, localizados mais próximos das zonas de produção, o que levaria a uma diminuição do custo de produção e a uma maior estabilidade da cadeia produtiva.

O uso de subprodutos do xisto pirobituminoso, entre os quais encontra-se o calcário de xisto e os denominados finos de xisto, tem demonstrado sua eficiência na agricultura para a correção da acidez e o incremento da fertilidade dos solos, o que nos fez pleitear sua utilização nos vinhedos. Assim, o principal objetivo do Capítulo I foi o emprego de subprodutos de xisto como alternativa a fertilização e a calagem tradicional dos vinhedos brasileiros, centrando-nos na eficiência de ditos subprodutos na qualidade dos vinhos obtidos, mais concretamente na sua composição volátil, polifenólica e nitrogenada.

Seguindo a ordem lógica da elaboração do vinho, no Capítulo II foi decido tentar incrementar a qualidade dos vinhos brancos elaborados a partir de variedades de uvas neutras, mediante a maceração prefermentativa com cascas liofilizadas de uvas brancas. Estas cascas de uvas brancas liofilizadas foram obtidas de subprodutos da vinificação dos vinhos brancos, ou seja, dos bagaços gerados pelas vinícolas.

A gestão dos resíduos gerados pelas vinícolas é um dos principais problemas da indústria enológica, principalmente em países como a Espanha. Segundo a Organização Internacional da Uva e do Vinho (OIV, 2011), a Espanha ocupa o primeiro lugar em superfície de vinhedos plantados, com aproximadamente 1,01 milhões de hectares e o quarto lugar em produção de uvas, com cerca de 6,11 milhões de toneladas. Entre as regiões produtoras, merece destaque especial a região de Castilla La-Mancha por possuir mais de 50 % do total de vinhedos espanholes. Entorno de 80 % da produção nacional é processada pela indústria vinícola para

obtenção de vinhos ou então pela indústria de bebidas não alcoólicas para a produção de sucos, gerando portanto, uma quantidade de resíduos nada desprezível.

O bagaço das uvas é um produto altamente perecível e devido aos enormes volumes de resíduos gerados durante a temporada de colheita, a utilização de bagaço de uvas frescas é praticamente inviável, pelo que requer um método adequado de conservação ou uso apropriado.

Uma das opções de maior valor é a recuperação dos componentes bioativos, que poderiam ser utilizados em outras indústrias, como a farmacêutica ou a indústria alimentar. Em particular, os resíduos das vinícolas são uma fonte importante de polifenóis, sendo que o potencial aromático das uvas, concentrado principalmente nas cascas, não pode ser esquecido. Concretamente, na vinificação de vinhos brancos, este potencial, em muitos casos, não é suficientemente explorado, já que as cascas são descartadas nas primeiras etapas do processo de elaboração dos vinhos, passando a formar parte do bagaço.

Ainda que os polifenóis sejam altamente reativos, devido ao seu caráter não volátil, sua recuperação na forma de extratos a partir do bagaço é relativamente simples. No entanto, a obtenção de extratos ricos em compostos voláteis está muito condicionada a técnica de extração empregada, a qual pode modificar profundamente o perfil volátil dos mesmos. Por este motivo, a secagem coloca-se como uma alternativa para o aproveitamento do potencial, tanto volátil como polifenólico, presente nas cascas.

Finalmente, no Capítulo III aborda-se a problemática da etapa de envelhecimento, já que apesar das diversas inovações tecnológicas introduzidas pelas vinícolas durante a elaboração dos vinhos, existem determinadas etapas onde ditas inovações não tem sido tão notáveis. Um exemplo disso é a etapa de envelhecimento, a qual segue sendo desenvolvida única e exclusivamente mediante o contato do vinho com a madeira de carvalho, tanto pela utilização de barricas ou mediante o uso de chips.

O processo de envelhecimento é essencial para obtenção vinhos de qualidade. Esta etapa, aparentemente simples, aporta uma grande complexidade já que muitas são as mudanças produzidas nas características organolépticas dos vinhos envelhecidos, as quais podem melhorar sua qualidade ou pelo contrário, podem levar a sua deterioração. Portanto, o conhecimento e controle de todas essas mudanças se faz imprescindível para a obtenção de vinhos envelhecidos com qualidade.

O uso único e excessivo da madeira de carvalho nos processos de envelhecimento está ocasionando um esgotamento importante nas principais zonas produtoras de carvalhos aptos para fins enológicos, ao mesmo tempo que provoca uma homogeneidade na oferta atual de vinhos. Chegado a este ponto, a busca por novas alternativas a madeira de carvalho cobra um especial interesse.

Na hora de escolher uma madeira para levar a cabo o envelhecimento de um vinho, é necessário ter em mente diversos aspectos, entre os que destacam sua composição química, tanto em compostos voláteis como em polifenóis, e suas propriedades mecânicas, que permitirão sua transformação em barricas. Nesse sentido, a madeira de castanha apresenta-se como uma boa alternativa ao envelhecimento em madeira de carvalho, pelo que no Capítulo III foram estudadas as aptidões enológicas da madeira de castanha para o envelhecimento de vinhos tintos da variedade Tempranillo.

2. Objetivos

O objetivo principal deste trabalho de investigação foi de aportar a comunidade vitivinícola novas tecnologias para a obtenção de vinhos de qualidade. Com este propósito, foram desenvolvidos os seguintes objetivos específicos:

- ✓ Analisar a composição volátil, polifenólica e nitrogenada dos vinhos da variedade Cabernet Sauvignon provenientes de vinhedos tratados com subprodutos do xisto pirotuminoso.

- ✓ Verificar a influência da maceração prefermentativa com cascas desidratadas de uvas brancas na composição química e sensorial de vinhos brancos obtidos de variedades neutras.
- ✓ Avaliar o potencial enológico da madeira de castanha no envelhecimento de vinhos tintos da variedade Tempranillo.

3. Resultados

3.1. Os subprodutos de xisto pirobiterroso como alternativa ao uso de fertilizantes tradicionais na adubação de vinhedos brasileiros. Estudo da composição polifenólica, aromática e nitrogenada dos vinhos.

O setor vitivinícola brasileiro durante muito tempo esteve centrado na produção de vinhos de mesa, originados a partir de uvas de cultivares americanas ou híbridas. No entanto, nos últimos anos houve uma reestruturação do setor motivado por um mercado interno com potencial para o consumo de vinhos de qualidade, com padrão internacional e de maior valor agregado. Os investimentos na implantação de novos vinhedos, compostos por cultivares europeias (*Vitis vinifera*) e novas e modernas vinícolas, mais tecnificadas e que atendessem os padrões internacionais de produção, foram os primeiros passos do setor rumo a elaboração de vinhos de qualidade.

No entanto, a vitivinicultura brasileira ainda encontra-se em um grau de desenvolvimento inferior ao de muitos países mais participativos no mercado mundial de vinhos. Atualmente são cultivados no Brasil aproximadamente 83 mil hectares de vinhedos, com uma produção de 1,3 milhões de toneladas de uvas e cerca de 3,5 milhões de hectolitros de vinhos (IBGE, 2010).

A alta acidez e os baixos níveis de fósforo são algumas das limitações impostas pelos solos brasileiros ao cultivo da videira. Deste modo, é comum por parte dos viticultores a utilização da técnica de calagem. Esta técnica está baseada na aplicação de formulados básicos ao solo, ricos em carbonato de cálcio, que neutralizam a acidez e melhoram as características físico-químicas dos mesmos,

possibilitando um melhor desenvolvimento das plantas. Por outro lado, grande parte dos fertilizantes utilizados na agricultura brasileira provem de importações. Essa dependência pelos insumos internacionais para suprir a demanda interna gera maiores custos de produção e riscos de instabilidade do setor. Nesse sentido, o uso dos subprodutos do xisto pirobituminoso pode ser uma alternativa para a agricultura brasileira, em parcial substituição dos fertilizantes tradicionais.

O xisto pirobituminoso é uma rocha oleífera que apresenta grandes quantidades de hidrocarbonetos disseminados em seu meio mineral y que formam um complexo orgânico denominado querogênio, que se decompõem termicamente produzindo óleo semelhante ao petróleo. Durante os processos de extração e beneficiamento do xisto pirobituminoso são gerado inúmeros subprodutos, dentre os quais, o calcário de xisto e os finos de xisto são de grande importância. O calcário de xisto é considerado como uma rocha estéril desde o ponto de vista da produção de óleo, por isso, durante a mineração do xisto pirobituminoso é realizada uma lavra seletiva, separando as camadas de calcário de xisto das lentes de xisto pirobituminoso ricas em querogênio e que serão utilizadas no processamento. Já durante o processamento, uma parcela de xisto pirobituminoso é perdida através do deslocamento no interior do parque industrial, que formam os denominados finos de xisto.

Pela grande quantidade de subprodutos gerados durante a industrialização do xisto, a PETROBRAS, detentora dos direitos de exploração do xisto pirobituminoso no Brasil, implantou em parceria com a EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) e o IAPAR (Instituto Agrônômico do Paraná) o Projeto Xisto Agrícola, com o objetivo central de identificar, desenvolver e avaliar novos insumos para o uso na agricultura brasileira, com ênfase aos sistemas de produção integrada e aos formatos agroecológicos, que apresentem eficácia agrônômica, segurança ambiental e qualidade e segurança alimentar, por meio da utilização dos subprodutos do processamento do xisto como matéria prima na elaboração de novos insumos.

Nesse sentido decidimos avaliar a utilização dos subprodutos de xisto pirobituminoso na adubação de vinhedos brasileiros compostos pela cultivar Cabernet Sauvignon e seu efeito nas características químicas e sensoriais dos vinhos, durante as safras de 2010 e 2011. Por um lado, testamos em um vinhedo diversas concentrações de calcário de xisto, na forma simples ou em conjunto com o calcário convencional. Por outro lado, testamos em outro vinhedo, composto pela mesma variedade, o que chamamos de matrizes MBR. Essas matrizes são formulações que possuem em sua constituição diferentes doses de calcário de xisto e finos de xisto.

Os resultados obtidos em ambos os experimentos mostram que não houve diferenças significativas na fração de compostos aromáticos, polifenólicos e nitrogenados dos vinhos provenientes de uvas tratadas com alguma fonte de adubação alternativa quando estes são comparados com os vinhos provenientes da testemunha (sem a adição de adubação). Com estes dados, podemos concluir que a utilização de subprodutos de xisto pirobituminoso pode ser uma alternativa a adubação tradicional dos vinhedos brasileiros, pois em nosso caso, não modificaram sua composição química. No entanto, estudo mais detalhados, com a avaliação de um maior número de safras e em mais de uma região produtora, faz-se necessário principalmente para diminuir o efeito do ambiente na composição química dos vinhos.

3.2. Aproveitamento de subprodutos da vinificação para incrementar a qualidade dos vinhos brancos.

A otimização do processo de produção de alimentos baseada na redução ou reutilização de resíduos tem se convertido em uma prática obrigatória nos países mais desenvolvidos. Nesse sentido, um dos maiores desafios para as regiões vitivinícolas é a criação de alternativas para processar e aproveitar a grande quantidade de resíduos, principalmente naqueles países com grande expressão no setor, como é o caso da Espanha.

O bagaço de uva é o principal resíduo produzido pela indústria vitivinícola. É composto em grande parte por cascas, sementes e engaços, que em conjunto equivalem a aproximadamente 13% do total de uvas processadas. Segundo algumas estimativas, são produzidos na Espanha entorno de 530 mil toneladas de bagaço de uva todos os anos. Já em todo continente europeu, essa produção pode chegar próxima das 14,5 milhões de toneladas, o que tem se convertido em um grande problema para a indústria do vinho.

Se não é tratado com eficiência, o bagaço da uva pode iniciar uma série de perigos ambientais com efeito prejudicial sobre a fauna e a flora. As soluções de taninos e outros compostos dos bagaços da uva que são lixiviados causam a contaminação dos solos e das águas subterrâneas. Por outro lado, estes níveis relativamente altos de compostos fenólicos nos bagaços das uvas podem ser responsáveis pela inibição da germinação das sementes. Além disso, grandes quantidades de bagaços de uva expostos ao ar livre causam mau cheiro e atraem insetos e pragas que facilmente podem causar doenças. Por tudo isso, o bagaço da uva não pode simplesmente ser descartado em qualquer lugar e muito menos sem um tratamento prévio, o que se converteu não apenas a um importante problema econômico para os vinicultores, senão também em um significativo problema ambiental.

A pesar do caráter contaminante descrito anteriormente, o alto conteúdo de compostos fenólicos e outros compostos bioativos presentes no bagaço das uvas tem despertado o interesse da comunidade científica devido aos efeitos favoráveis destas substancias para a saúde humana. Apesar das diferentes operações de processamento das uvas com o objetivo de extrair a maior quantidade de substancias aromáticas e de cor, as cascas que compõem o bagaço das uvas não estão totalmente esgotadas. De fato, estas cascas ainda contém uma quantidade considerável de substâncias bioativas, tais como antioxidantes, pigmentos, vitaminas e compostos aromáticos. Desta forma, o bagaço da uva apresenta uma grande

capacidade de reutilização e uma rica fonte de diversos compostos com alto valor agregado, que podem ser utilizados na indústria agroalimentar para a fabricação de suplementos dietéticos, na agricultura, para a fabricação de fertilizantes e biocombustíveis, na indústria farmacêutica, para a fabricação de fitoquímicos, entre outros. Recentemente, alguns estudos avaliaram a utilização das cascas procedentes dos resíduos da elaboração de vinhos e mostos na melhoria das características químicas e sensoriais dos vinhos, sendo que os resultados indicam o potencial de liberação de compostos de cor e aromas, o que aponta esta técnica inovadora e sustentável como uma ferramenta eficaz para melhorar os parâmetros de qualidade dos vinhos.

No entanto, é necessário ter em mente dois aspectos. Por um lado o bagaço é um produto altamente perecível e devido aos enormes volumes de resíduos gerados durante a temporada de safra, sua utilização fresca é praticamente inviável, pelo que requer um método adequado de conservação. Por outro lado, ainda que a extração de compostos fenólicos seja facilmente obtida, a volatilidade dos compostos de aroma faz com que sua obtenção na forma de extratos seja muito mais custosa e complexa, além de que as condições de extração poderiam modificar profundamente sua composição. Nesse sentido, a secagem apresenta-se como uma alternativa para o aproveitamento do potencial aromático e de cor dos resíduos da vinificação, concentrados principalmente nas cascas das uvas. Além disso, possibilita a utilização destes resíduos desidratados nos períodos de entre safra, rompendo assim a sazonalidade de sua utilização.

Com a finalidade de selecionar um método de secagem adequado para a desidratação das cascas frescas de uvas brancas, foi realizado um estudo preliminar sobre o efeito de diferentes métodos de secagem na qualidade do aroma das cascas de uvas da variedade Moscatel. Concretamente os tratamentos utilizados foram três: secagem em estufa a 30 °C, secagem em estufa a 45 °C e liofilização. Para a realização desse estudo preliminar, foram selecionados 10 compostos voláteis

pertencentes a três famílias químicas diferentes (álcoois e aldeídos C₆, terpenos e compostos furânicos). Os compostos C₆ e os terpenos foram eleitos pelo seu caráter varietal, enquanto que os compostos furânicos foram selecionados devido a sua relação com os processos de desidratação, já que sua formação estará condicionada principalmente pela temperatura aplicada.

Os resultados mostram que a quantidade de compostos voláteis nas cascas de uvas frescas diminuiu consideravelmente durante a secagem em estufa a 45°C e 30°C, com perdas de 35,9% e 38,9%, respectivamente. No entanto, nas amostras liofilizadas as perdas foram muito menores, entorno de 4,7%. Além disso, as amostras secadas em estufas apresentaram maiores concentrações de compostos furânicos que as liofilizadas. Este importante incremento de compostos furânicos durante a secagem em estufa, juntamente com a diminuição dos terpenos e álcoois e aldeídos de 6 átomos de carbono, põem em evidencia o grande potencial da liofilização para a desidratação das cascas de uvas brancas.

Posteriormente, com o objetivo de conhecer o real potencial da liofilização para a obtenção de cascas de uvas secas com qualidade, foi decidido realizar um estudo mais amplo sobre o efeito desta técnica de secagem nos compostos voláteis e fenólicos das cascas de uvas brancas da variedade Moscatel. Igualmente ao estudo preliminar, a quantidade total de compostos aromáticos nas cascas frescas diminuíram levemente durante a liofilização, com perdas de 5,5% e incrementaram ligeiramente a quantidade de compostos furânicos. Já com relação aos compostos fenólicos, não foram identificadas diferenças nas suas concentrações entre as cascas de uvas frescas e as liofilizadas, o que demonstra as vantagens dessa técnica para obter um produto desidratado com qualidade similar ao original.

Finalmente, as cascas liofilizadas da uva Moscatel, obtidas de subprodutos da vinificação, foram utilizadas para incrementar a qualidade dos vinhos brancos elaborados a partir de uvas *Vitis vinifera* da variedade Airén, uma uva branca considerada neutra. Para isso, os vinhos foram obtidos mediante a maceração

prefermentativa de mosto Airén com cascas de uvas Moscatel frescas e liofilizadas, utilizando como testemunha o vinho obtido da fermentação do mosto Airén sem maceração.

A avaliação dos compostos aromáticos feita nesses vinhos mostrou um alto conteúdo de compostos terpénicos tanto nos vinhos macerados com cascas frescas como liofilizadas. Os terpenos são compostos característicos da variedade Moscatel e como era de se esperar, no vinho controle, somente apareceram alguns desses compostos em quantidades traças. Outro fato importante observado nos vinhos fermentados com a maceração de cascas frescas e liofilizadas foi um incremento de alguns ésteres etílicos, como o butirato de etilo e o hexanoato de etilo. Ambos compostos jogam um papel importante no aroma dos vinhos e são considerados especialmente importantes no aroma dos vinhos brancos elaborados com variedades neutras, devido a sua influência nas notas aromáticas afrutadas, muito apreciadas em nesses vinhos.

A análise dos compostos fenólicos e os parâmetros de cor dos vinhos não demonstraram diferenças significativas entre os tratamentos com maceração de cascas frescas e liofilizadas frente ao vinho testemunha. Estes resultados comprovam que a maceração prefermentativa com cascas não supõem uma variação na coloração dos vinhos brancos.

Enquanto a análise sensorial, o contato com as cascas de uva Moscatel, tanto frescas como liofilizadas, produziram um moderado incremento nas notas afrutadas (damasco, pêssego) e no aroma fresco, observando-se uma maior contribuição ao aroma floral e as notas cítricas. Estes atributos são principalmente atribuídos aos compostos terpénicos e aos ésteres etílicos. Na comparação entre os vinhos macerados com cascas frescas e liofilizadas, não foram encontradas diferenças, o que comprova o potencial da liofilização como técnica de desidratação das cascas das uvas. Os vinhos macerados com cascas liofilizadas foram melhor classificados que os vinhos macerados com cascas frescas, sendo que ambos obtiveram pontuações

superiores na impressão global e qualidade do retrogosto, com relação ao vinho controle.

3.3. Potencial enológico da madeira de castanha como alternativa à madeira de carvalho tradicional. Estudo da composição fenólica, volátil, e sensorial dos vinhos tintos.

O envelhecimento de um vinho é um processo longo e delicado, destinado a conferir características distintas a um vinho já elaborado, ao que oferece a possibilidade de ver melhoradas as suas características organolépticas. Esta é uma prática tradicionalmente empregada nas zonas produtoras de vinhos de qualidade e que na atualidade estenderam-se para quase todas as regiões vitivinícolas mundiais.

A madeira, concretamente a madeira de carvalho, tem sido o material mais utilizado para o envelhecimento dos vinhos, visto que incidem sobre ela uma série de características físico-químicas particulares que melhoram a qualidade dos vinhos. As modificações na coloração, no aroma e nas sensações táteis dos vinhos envelhecidos acontecem principalmente devido a difusão lenta e contínua do oxigênio através dos poros da madeira e pela passagem ao vinho de compostos próprios da madeira de carvalho, os quais, são diretamente influenciados pela origem geográfica e pelas espécies de carvalho utilizadas, pelos processos de secagem e tostado que a madeira sofreu, bem como pelo tempo de contato do vinho com a barrica, o tamanho das barricas e pelo número de vezes que estas têm sido usadas.

No entanto, o excessivo e exclusivo uso das madeiras de carvalho nos processos de envelhecimento dos vinhos está gerando um esgotamento considerável dos bosques nas principais zonas produtoras de carvalho com potencial enológico, ao mesmo tempo que provoca uma homogeneidade na oferta atual de vinhos. Por tanto, a busca de novas alternativas a madeira de carvalho cobra especial interesse.

Nesse sentido, outros tipos de madeira, distintos a madeira de carvalho, como por exemplo a castanha, a cereja, o freixo e a amora, tem sido consideradas

ultimamente como possíveis fontes alternativas a madeira de carvalho para o uso nas tonelarias, com a finalidade de aportar características particulares aos vinhos envelhecidos. Contudo, até o momento somente o uso das barricas de madeira de castanha está aprovado pelo Código Internacional de Práticas Enológicas da Organização Internacional da Uva e do Vinho (OENO 4/2005).

No passado, os tonéis de madeira de castanha eram amplamente utilizados nas regiões mediterrâneas, principalmente com a finalidade de transporte e armazenamento, devido a sua ampla disponibilidade e baixo custo. Mais tarde, devido a seu grande conteúdo de ácido gálico e taninos hidrolisáveis, a madeira de castanha foi amplamente utilizada na indústria enológica como fonte de taninos comerciais, com a finalidade de proteger os mostos das oxidações não desejadas, contribuir a estrutura do vinho e ajudar na melhoria da coloração e adstringência dos mesmo.

Os primeiros trabalhos que investigaram o potencial da madeira de castanha no envelhecimento de bebidas foram feitos utilizando conhaques e destilados sintéticos, sendo que os resultados mostraram a possibilidade do uso dessa madeira, devido principalmente as interessantes propriedades sensoriais que essas bebidas adquiriram, muito similares às obtidas em envelhecimento com madeira de carvalho.

No entanto, até agora, poucos estudos centraram-se nas implicações e interações que são produzidas entre os compostos dos vinhos e a madeira de castanha durante o período de envelhecimento. Alguns estudos encontrados na literatura indicam que os vinhos envelhecidos em madeira de castanha são mais ricos em compostos fenólicos, mais tânicos e com melhor intensidade colorante que aqueles envelhecidos em madeiras de carvalho. Por outro lado, com relação às características sensoriais, outros autores demonstraram o potencial enológico da madeira de castanha para o envelhecimento dos vinhos, devido principalmente ao caráter afrutado mais acentuado nestes vinhos, em comparação com aqueles envelhecidos em madeira de carvalho.

Contudo, estes poucos trabalhos realizados referem-se ao comportamento das barricas de castanha e a utilização de variedades de uvas minoritárias, procedentes de regiões muito pontuais e concretas. Parâmetros cruciais no envelhecimento dos vinhos, tais como o efeito do tostado, o tempo de envelhecimento ou o efeito que o uso de chips de madeira de castanha pode ter na composição do vinho não ainda foram estudados com profundidade.

Portanto, o principal objetivo do nosso estudo foi o de avaliar as aptidões enológicas da madeira de castanha para o envelhecimento dos vinhos tintos de uma variedade muito mais internacional, como é o caso da Tempranillo. O contato do vinho com a madeira foi desenvolvido mediante o uso de barricas e mediante o uso de chips, procedentes da própria barrica. Deste modo, buscamos a melhor combinação entre a madeira, a variedade de uva utilizada e o tempo de envelhecimento, com a finalidade de obter vinhos de qualidade semelhantes aos obtidos no envelhecimento com madeiras de carvalho, mas com características distintas.

Os vinhos da variedade Tempranillo foram envelhecidos em barricas de madeira de castanha tostadas e não tostadas e as avaliações foram feitas inicialmente após três meses, e posteriormente após seis meses de contato com a madeira. Em contrapartida, também foram avaliados os vinhos em contato com os chips de madeira de castanha, originados a partir da própria barrica. Para a testemunha, foi utilizado um vinho Tempranillo sem o contato com a madeira.

Com base na análise química dos compostos voláteis e na análise sensorial, a madeira de castanha mostrou ser uma madeira com excelentes propriedades aromatizantes para o desenvolvimento dos processos de envelhecimento. O tratamento com chips de castanha foi o menos avaliado pelo painel de degustadores, enquanto que os vinhos envelhecidos em barricas de castanha tostadas, principalmente durante seis meses, foram os mais apreciados. No entanto, é importante levar em conta que um período mais longo de envelhecimento poderia

provocar a presença de sabores estranhos e problemas de oxidação devido a maior porosidade da madeira de castanha quando comparada com a madeira de carvalho.

Com relação aos compostos fenólicos e as características cromáticas dos vinhos, os resultados indicam que o efeito do tostado da madeira não teve maior relevância. Não obstante, o efeito do tempo foi um parâmetro crucial na composição fenólica dos vinhos envelhecidos em barricas de madeira de castanha. Este feito pode ser atribuído não somente a evolução e/ou transformação lenta dos compostos fenólicos do vinho, porém também ao processo lento e contínuo de micro-oxigenação sofrido através dos poros da madeira de castanha durante o período de envelhecimento.

De uma maneira geral, com base nos resultados obtidos através da composição fenólica e aromáticas dos vinhos, podemos afirmar que a madeira de castanha possui aptidões enológicas para ser utilizada como uma ferramenta diferenciadora no envelhecimento de vinhos de qualidade.

4. Conclusões

Os subprodutos de xisto pirobituminoso como alternativa ao uso de fertilizantes tradicionais na adubação de vinhedos brasileiros. Estudo da composição polifenólica, aromática e nitrogenada dos vinhos.

- Em ambos experimentos de adubação (com calcário de xisto e calcário convencional e com as distintas matrizes MBR) foram encontradas poucas diferenças estatisticamente significativas entre as amostras com distintos tratamentos, considerando os dados globais de composição química. Ainda que algumas amostras apresentaram pontualmente valores superiores aos do vinho testemunha, estes resultados não se repetiram nas duas safras.
- Nos dois experimentos com adubação observou-se um efeito importante do ano de produção, constatando que as condições climáticas condicionam fortemente a composição química das uvas e dos mostos, e por tanto, do vinho

resultante. No ano de 2010, caracterizado por mais chuvas e conseqüentemente menor insolação, foram observados os efeitos de uma menor maturação da uva, representada pelos menores conteúdos de compostos fenólicos e compostos voláteis (com exceção dos compostos de seis átomos de carbono).

- A influência dos fatores ligados ao solo e às práticas culturais (manejo, poda e condução, p.ex.) também foram evidenciados através das diferenças encontradas entre os vinhos dos experimentos de adubação com calcário de xisto y com as matrizes MBR. Tais experimentos foram realizados em vinhedos distintos, com sistemas de condução das videiras diferentes, constatando que os vinhos procedentes dos tratamentos com MBR tiveram maiores concentrações de antocianos, voláteis maioritários e aminoácidos que os dos experimentos com calcário de xisto.
- Podemos concluir que os tratamentos de adubação com as novas formulações utilizando os subprodutos do xisto pirotuminoso pode ser utilizadas como alternativa à adubação tradicional sem modificar negativamente a composição química dos vinhos procedentes das uvas tratadas.

Aproveitamento de subprodutos da vinificação para incrementar a qualidade dos vinhos brancos obtidos de variedades de uvas neutras.

- Os subprodutos gerados pela indústria enológica (bagaços), concretamente os da vinificação em branco, são uma importante fonte de aromas e compostos fenólicos.
- O importante incremento de compostos furânicos produzido durante a secagem em estufa dos subprodutos da vinificação, junto com a diminuição de terpenos e álcoois e aldeídos de 6 átomos de carbono, põe em evidência o grande potencial da liofilização para a secagem de ditos subprodutos.

- A liofilização não produziu nenhuma modificação nas concentrações de compostos fenólicos das cascas provenientes dos bagaços de uva, o que corrobora as vantagens desta técnica na obtenção de um produto desidratado de qualidade similar ao original. Isso é de especial interesse no caso dos bagaços procedentes de uvas tintas, devido a seu alto conteúdo em compostos fenólicos.
- A utilização das cascas de uva brancas liofilizadas para levar a cabo a maceração prefermentativa numa vinificação em branco, permite incrementar a qualidade dos vinhos obtidos, não encontrando-se diferenças com os vinhos macerados com cascas frescas.

Potencial enológico da madeira de castanha como alternativa à madeira de carvalho tradicional. Estudo da composição fenólica, volátil, e sensorial dos vinhos tintos.

- A madeira de castanha resultou ser uma excelente madeira para executar os processos de envelhecimento não somente devido a suas boas propriedades aromatizantes, senão também a adequada composição fenólica.
- A micro-oxigenação sofrida através dos poros da madeira de castanha é maior que no caso da madeira de carvalho, o que parece estimular o crescimento microbiológico e portanto uma maior produção de 4-etilguaiacol e 4-etil fenol. Deste modo, é aconselhado o emprego de madeira de castanha para períodos de envelhecimento não muito longos.
- Os vinhos envelhecidos em barricas de castanha tostada, principalmente durante seis meses, foram os mais apreciados pelo painel de degustadores.
- Contrariamente, os vinhos envelhecidos mediante o uso de chips de castanha foram os menos avaliados devido à grande acidez e a notas descritas como serragem que esses vinhos apresentaram. Além disso, a variabilidade

encontrada na composição volátil dois vinhos envelhecidos pelo uso de chips evidenciou a desvantagem do uso deste métodos na obtenção de um produto homogêneo.

- O processo de tostado da madeira de castanha não mostrou ser um parâmetro crucial na composição fenólica dos vinhos, contrariamente ao tempo de envelhecimento devido a evolução e transformação lenta dos compostos fenólicos.

Capítulo I – Los subproductos de esquisto
pirobituminoso como alternativa al uso de fertilizantes
tradicionales en el abonado de viñedos brasileños. Estudio
de la composición polifenólica, aromática y nitrogenada
de los vinos.

1.1. INTRODUCCIÓN

1.1.1. Panorama económico del sector vitivinícola

1.1.1.1. Importancia económica mundial del sector vitivinícola

La superficie total de viñedos cultivados en todo el mundo fue, en el año 2010, de aproximadamente 7,2 millones de hectáreas, según datos de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura (FAO, 2012). Estos viñedos están planteados en el mundo con criterios muy variables, que responden, por una parte, a las condiciones naturales, pero también han jugado un importante papel los factores históricos, culturales, industriales, comerciales y principalmente humanos, potencializando algunas regiones en detrimento de otras.

Actualmente, todos los continentes abrigan áreas significativas con cultivo de la vid. Según la Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV, 2010), Europa tiene la mayor área implantada, con aproximadamente 57,8 % del total global, seguida de Asia 21,3 %, América 13,0 %, África 5,2 % y Oceanía 2,7 %.

En la Tabla 1.1 se muestra el panorama vitícola mundial, teniendo en cuenta los países más importantes en la producción de uvas y vinos. De este modo, los principales países vitícolas son España, Francia e Italia, en el continente europeo, China en Asia, y Estados Unidos, Argentina y Chile, en el continente americano.

La producción total de uvas es muy variable de unos años a otros como consecuencia de la influencia de las condiciones climáticas de cultivo. En 2010, fueron producidas mundialmente cerca de 68,3 millones de toneladas, siendo China el principal productor, seguida por Italia, Estados Unidos, España y Francia (FAO, 2012) (Tabla 1.1).

La importancia económica del sector vitícola está bastante relacionada con la producción de vino. En 2010, se produjeron mundialmente 262,17 millones de hectolitros, donde el continente europeo tuvo el 57,6 % del total, principalmente por la producción de países como Italia, Francia y España (FAO, 2012). En América, los principales países productores de vinos son Estados Unidos con 18,7 millones de

hectolitros, Argentina con 15,5 millones de hectolitros y Chile con 10,6 millones de hectolitros (FAO, 2012) (Tabla 1.1).

Tabla 1.1. Panorama vitivinícola mundial de acuerdo con el área cosechada (hectáreas) y la cantidad de uva (toneladas) y de vino (hectolitros) producidos en el año de 2010.

Países	millones de		
	hectáreas	toneladas de uva	hectolitros de vino
España	1,01	6,11	36,10
Francia	0,84	5,84	45,42
Italia	0,82	7,79	45,80
Turquía	0,50	4,25	0,28
China	0,47	8,65	16,57
Estados Unidos	0,40	6,22	22,11
Argentina	0,22	2,62	16,25
Chile	0,19	2,75	9,15

Fuente: FAO – Unesco, 2010.

En general, cada región vitícola mundial posee sus propias características y técnicas enológicas para la elaboración de determinados productos que más representen el terruño local. Según Ruiz (2011), la región occidental de Europa está especializada en la producción exclusiva de vinos, mientras que Asia y algunos países musulmanes de África, tienen la producción claramente dirigida para uvas de mesas y pasas. En Australia y países sajones de África, ocurre como en América, que posee un desarrollo tecnológico muy notable, y aunque el vino es la producción principal, se alcanzan importantes logros en la producción de uvas de mesa.

1.1.1.2. Importancia económica del sector vitivinícola brasileño

Los primeros registros del cultivo de la vid en Brasil datan del inicio del siglo XVI, cuando los colonizadores portugueses introdujeron las primeras cepas en el estado de São Paulo (IBRAVIN, 2011). Sin embargo, solo a mediados del siglo XX se tornó una actividad comercial, en las manos de los inmigrantes italianos, que

difundieron su cultivo principalmente en la región sur del país (CAMARGO et al., 2011).

El sector fue estructurado con base en la producción de vinos de mesa, originados a partir de uvas de variedades americanas o híbridas. Sin embargo, a partir de los años 80 empezaron los cambios en la vitivinicultura brasileña, motivados por un mercado interno con potencial para el consumo de vinos de calidad, con patrón internacional y de mayor valor añadido (IBRAVIN, 2011). Las inversiones en la implantación de nuevos viñedos, compuestos por variedades europeos (*Vitis vinifera*) y de nuevas y modernas bodegas, más tecnificadas y que atendiesen los patrones internacionales de producción, fueron los primeros pasos del sector rumbo a la elaboración de vinos de calidad (PROTAS, 2003).

No obstante, la vitivinicultura brasileña aún se encuentra en un grado de desarrollo inferior al de muchos países más participativos en el mercado mundial de vinos. Eso se debe principalmente al bajo consumo de vinos por la población brasileña – cerca de 1,79 litros per cápita/año (WINE INSTITUTE, 2010) –, que puede ser explicado por el bajo poder adquisitivo de la población, y también por la falta de tradición vinícola en Brasil. Además, los vinos nacionales de calidad superior, son relativamente caros en relación a los vinos importados (ROSA et al., 2006).

Actualmente, son cultivados en Brasil aproximadamente 83 mil hectáreas con viñedos (IBGE, 2010), establecidos desde el extremo sur del país, hasta regiones del extremo norte, situadas muy próximas de la línea del ecuador (CAMARGO et al., 2011). La producción de uvas fue alrededor de 1,3 millones de toneladas en la vendimia 2010, y la de vino de aproximadamente 3,5 millones de hectolitros en el mismo año (FAO, 2012). En virtud de la diversidad ambiental, existen polos con viticultura característica de regiones templadas, subtropicales y tropicales, donde son producidas uvas con distintas finalidades (consumo *in natura*, zumos, vinos, etc.) y de diversos cultivares (viníferas, americanas e híbridas) además de diferentes sistemas de producción (conducción, poda, manejo, etc.) (IBRAVIN, 2010).

La producción nacional de derivados de uva, principalmente zumos y vinos es dependiente de la producción del estado de Rio Grande do Sul, el mayor productor nacional. Según Mello (2010), Rio Grande do Sul produjo aproximadamente 2,2 millones de hectolitros de vino en el año de 2010, lo que corresponde alrededor de 62% del total de la producción brasileña (FAO, 2012). Sin embargo, solo el 11 % del total son vinos elaborados con uvas *Vitis vinifera*, los demás, son vinos de mesa, elaborados con uvas híbridas o americanas.

Otro estado que destaca en la producción de vinos en Brasil es el estado de Santa Catarina. Aunque la producción sea pequeña, comparada a nivel nacional, el Estado ha evolucionado en la producción de vinos de calidad, elaborados con uvas originarias de viñedos cultivados en regiones de altitud (por encima de los 900 metros), que dan una característica especial a los vinos, muy apreciada por los consumidores (FALCÃO et al., 2007 y 2008). Según datos del IBGE (2010), el área cultivada con viñedos en el estado fue de aproximadamente 5,05 mil hectáreas, con una producción de 66,21 mil toneladas de uvas y 0,13 millones de hectolitros de vino (MELO, 2010).

1.1.2. Aspectos agronómicos generales

1.1.2.1. Características de la planta de la vid: Importancia del proceso de fertilización y abonado

La vid pertenece a la familia de las *Vitáceas* la cual comprende diez géneros, siendo el más importante el género *Vitis*, que abarca cerca de 50 especies, (POMMER, 2003). Entre las especies, *Vitis vinifera*, originaria de Asia Occidental, es la más difundida mundialmente y de mayor importancia económica, con aproximadamente diez mil variedades (DOMÍNGUEZ, 2011).

La vid es una planta de gran rusticidad, con amplia adaptabilidad a la mayor parte de los terrenos de uso agrícola. La cantidad de nutrientes que requiere es relativamente baja, cuando la comparamos con otros cultivos. Algunos de estos

nutrientes son suministrados por las reservas almacenadas en las estructuras permanentes de la vid (tallos y raíces), a través de removilización, en el inicio del desborre (BATES et al., 2002). Sin embargo, la mayoría de los nutrientes necesarios para toda la temporada de crecimiento de la vid, debe ser absorbido por las raíces en forma de iones disueltos en el suelo (KELLER, 2010).

La fertilización de los suelos es una de las técnicas vitícolas con un gran efecto en el rendimiento del viñedo y en la calidad del mosto y del vino. El uso de fertilizantes por lo general se traduce en aumentos de la producción, pero la aplicación excesiva o desequilibrada puede tener efectos negativos sobre la calidad de las uvas (DELGADO et al., 2004).

Para garantizar la nutrición de los viñedos y asegurar sus rendimientos en cantidad y calidad se suelen emplear fertilizantes minerales. Las exigencias de sostenibilidad económica y de producción con mínimos impactos ambientales que actualmente condicionan la actividad vitivinícola, obligan a que la aplicación de fertilizantes minerales se calcule y se aplique con el máximo rigor científico y técnico. Además, el estado de los nutrientes minerales de la baya es motivo de preocupación no sólo para el viticultor, sino también para el enólogo, porque hay un impacto directo de la nutrición de la baya en la composición del mosto y del vino.

1.1.2.2. Efectos de los principales nutrientes en el desarrollo y producción de la vid

Entre los elementos considerados esenciales para el crecimiento y desarrollo de la vid están los macronutrientes nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca), magnesio (Mg) y azufre (S), además de los micronutrientes molibdeno (Mo), cobre (Cu), manganeso (Mn), boro (B), zinc (Zn), hierro (Fe), cloro (Cl) y níquel (Ni) (CHRISTENSEN, 1984).

Dependiendo de la variedad, del portainjerto, y de las condiciones climáticas, las cantidades de macronutrientes retiradas de un viñedo por toneladas de uvas

cosechadas en una vendimia están en el intervalo de 1,0 – 3,0 kg de nitrógeno, 0,2 – 0,4 kg de fósforo, 1,5 – 4,0 kg de potasio, 0,2 – 1,0 kg de calcio, y 0,05 – 0,2 kg de magnesio (CONRADIE, 1981; CURRLE et al., 1983; MULLINS et al., 1992; SCHREINER et al., 2006).

Efecto del nitrógeno

El nitrógeno es uno de los principales nutrientes de las plantas, actuando principalmente en el estímulo del crecimiento y en la obtención de suficiente área foliar. Los suministros moderados de nitrógeno antes de la floración favorecen la síntesis de polifenoles de la uva (KELLER & HRAZDINA, 1998). Sin embargo, el aumento de la capacidad productiva de la planta a menudo se asocia con el aumento del tamaño de las bayas, por lo que un aumento de la relación pulpa/piel provoca una disminución del contenido de antocianinas y polifenoles en el mosto (SPAYD et al., 1994).

El efecto estimulante del nitrógeno puede compactar las hojas de las viñas, lo que disminuye la exposición de los racimos a la luz influyendo en los parámetros del color de las uvas (KELLER & HRAZDINA, 1998). Además, los niveles excesivos de nitrógeno en el suelo retrasan la maduración, lo que influye negativamente en la coloración de las bayas (KLIEWER, 1977; SPAYD et al., 1994; KELLER et al., 1999).

El exceso de nitrógeno también provoca un crecimiento más vegetativo, que compite con la translocación de azúcar y acumulo de sólidos solubles totales en los frutos. También interfiere con las rutas metabólicas que conducen a la síntesis de compuestos responsables del aroma en las uvas (BRAVDO & HEPNER, 1987).

Por otro lado, el abonado con nitrógeno en el viñedo aumenta el contenido de compuestos nitrogenados en la uva, principalmente aminoácidos, y por consecuencia, puede aumentar las concentraciones de aminas biógenas en los vinos (BERTRAND et al., 1991; BAUZA et al., 1995).

Efecto del potasio

El potasio es un elemento esencial para todos los organismos vivos y es de lejos el catión más abundante en las uvas (MPELASOKA, et al., 2003). Las funciones importantes del potasio en las plantas se pueden agrupar en cuatro funciones fisiológicas-bioquímicas, tales como, activación enzimática (WALKER et al., 1998); procesos celulares de transporte de membrana y la translocación de asimilados (PATRICK et al., 2001); neutralización de aniones, que es esencial en el mantenimiento del potencial de membrana (LEIGH, 2001); y regulación osmótica potencial, que es uno de los mecanismos importantes en el control de las relaciones hídricas de la planta, del mantenimiento de la turgencia y del crecimiento (DAVIES & ZHANG, 1991).

La nutrición adecuada de potasio ayuda a aumentar tanto el color como el contenido polifenólico de las uvas (MOHAMMED et al., 1993; DELGADO et al., 2004). El potasio estimula la actividad fotosintética y favorece la traslocación de los azúcares de la fruta. Esto beneficia indirectamente la síntesis de compuestos fenólicos durante la maduración, que está estrechamente relacionada con la presencia de carbohidratos en la uva (PIRIE & MULLINS, 1977).

Sin embargo, los niveles excesivos de potasio en las uvas puede tener un impacto negativo en la calidad del vino, sobre todo porque disminuye el ácido tartárico libre, que resulta en un aumento del pH del jugo de la uva, y por consecuencia, del mosto y del vino (MPELASOKA et al., 2003). Mostos y vinos con pH altos, a menudo son más susceptibles al deterioro oxidativo y biológico, además de poseer baja acidez y sabores insípidos, lo que se refleja negativamente en el análisis organoléptico (SOMERS, 1977). Además, el grado de ionización de las antocianinas, que es el porcentaje de antocianinas totales presentes en las formas coloreadas, disminuye a medida que el pH aumenta (SOMERS, 1975).

Más allá de disminuir los niveles de ácidos libres, el potasio también se combina con el ácido tartárico para formar bitartrato de potasio, que es una sal en gran medida insoluble. Esta sal precipita durante la vinificación y almacenamiento, lo que también ayuda al aumento del pH del vino, potenciando los efectos negativos en el color, sabor y estabilidad microbiológica del vino (DAVIES et al., 2006). Por otro lado, las deficiencias de potasio pueden ser responsables por un aumento de los niveles de aminas biógenas en las uvas, como es el caso de la putrescina (LANDETE et al., 2005).

Efecto del fósforo

En lo que se refiere al papel del fósforo en las plantas, el anión fosfato (H_2PO_4) es un sustrato importante en el metabolismo energético y en la síntesis de ácidos nucleicos (ADN y ARN) y es constituyente de los fosfolípidos de la membrana celular. También desempeña un papel importante en la fotosíntesis (a través de la fotofosforilación), en la respiración celular y en la regulación de una serie de enzimas (MAUREL et al., 2008). En la vid, el fósforo participa de la síntesis y composición de sustancias orgánicas como nucleoproteínas y fosfoproteínas, favorece la floración, fijación y calidad de los frutos, contribuyendo en el almacenamiento de sustancias de reserva en los tejidos (GIOVANNINI & MANFROI, 2009).

En los suelos, el fósforo es el menos disponible de todos los nutrientes esenciales para el desarrollo de la vid, ya que es extremadamente insoluble, y por lo tanto, inmóvil, debido a su afinidad con cationes, tales como calcio, magnesio y aluminio (KELLER, 2010). Especialmente en suelos ácidos, el fósforo se encuentra en la forma de H_3PO_4 siendo el nutriente más limitante (KOCHIAN et al., 2004). Esta es una de las razones por las cuales dichos suelos son a menudo mejorados a través de las técnicas de encalado, o sea, la aplicación de CaCO_3 durante la implantación del viñedo. Esta técnica será discutida posteriormente.

Un descenso en el número y tamaño de las hojas es uno de los primeros síntomas de deficiencia de fósforo. Los bajos suministros de fósforo limitan la división celular, restringen la iniciación foliar en los meristemos de los brotes apicales, y la expansión y desarrollo de nuevas hojas (CHIERA et al., 2002). Esta reducción en la diferenciación celular, también puede ser responsable de la inhibición de la iniciación de los racimos y de la diferenciación y crecimiento de los brotes laterales en las viñas (GÄRTEL, 1993; GRANT & MATTHEWS, 1996).

El fósforo también interfiere en el potencial hídrico de la planta, de modo que el suministro de agua a los órganos crecientes restringe la expansión celular, lo que a la vez, limita fuertemente el desarrollo de las hojas (CLARCKSON et al., 2000). Las deficiencias de fósforo reducen la actividad fotosintética y fraccionamiento de los asimilados de las hojas más viejas, por un lado, porque no hay fósforo suficiente para la síntesis de ATP, y por otro, porque no hay activación completa (PAUL & FOYER, 2001). Además, deficiencias severas de fósforo pueden hacer que las hojas se queden con color rojo, debido a la producción de antocianinas (LILLO et al., 2008). Esta pigmentación, probablemente es una reacción fotoprotectora, resultante de estrés oxidativo, que se da por el exceso de energía durante el decline de la fotosíntesis (FEILD et al., 2001; HOCH et al., 2003).

Efecto del magnesio

El magnesio juega dos papeles importantes en el crecimiento y desarrollo de la vid. En primer lugar, es uno de los componentes esenciales de la molécula de clorofila, siendo vital para la fotosíntesis, y en segundo lugar, también activa las enzimas necesarias para el crecimiento vegetal (MULLINS et al., 1992).

La deficiencia de magnesio es una situación muy común de las vides que se desarrollan en suelos arenosos o muy ácidos, donde las altas concentraciones de iones de aluminio, amonio e hidrógeno tienden también a inhibir su absorción (GÄRTEL, 1993). Por otro lado, altas disponibilidades de calcio y de potasio también

pueden frenar la absorción de magnesio e inducir su deficiencia, debido a la competencia entre estos cationes en la absorción de las raíces (DELAS & POUGET, 1984).

Al ser un nutriente móvil en los tejidos de las plantas y estar involucrado en la fotosíntesis, los primeros síntomas de deficiencia de magnesio se dan por clorosis intervenal en las hojas más viejas (CHRISTENSEN & PEACOCK, 2000). Sin embargo, incluso antes de que los síntomas se hagan visibles, los efectos inhibitorios de la falta de magnesio conducen a la acumulación de sacarosa y almidón en las hojas, mientras que reduce la exportación de sacarosa y aminoácidos (HERMANS et al., 2006; CAKMAK & KIRKBY, 2008). La relación entre el estatus de magnesio y la exportación de sacarosa puede también ser la razón de la correlación negativa observada entre el contenido de magnesio en el peciolo y el azúcar de la bayas (VAN LEEUWEN et al., 2004).

Del mismo modo que la deficiencia de fósforo, la de magnesio también genera el estrés oxidativo, donde el azúcar excedente es utilizado para la producción de antocianinas que actúan como fotoprotectores, para inhibir el exceso de absorción de luz, lo que origina el típico síntoma de necrosis en las regiones intervenales de las hojas de las viñas (CURRLE et al., 1983).

Además de los perjuicios en el rendimiento y maduración de las uvas debido a la disminución de la exportación floema/hojas, la disponibilidad insuficiente de magnesio también ha sido implicada en el desarrollo de un disturbio fisiológico denominado “desecamiento de raquis”, (KELLER & KOBLET, 1995). La lesión probablemente se refleja en la oxidación de compuestos fenólicos y rápidamente se extiende a lo largo y alrededor del tallo. El proceso puede anillar el floema, que efectivamente interrumpe la importación de asimilados en las bayas distales y ocasiona necrosis. El efecto del anillado detiene la acumulación de azúcares en las bayas, mientras que la degradación del malato continua, lo que puede conducir a mala calidad de la fruta y la disminución del tamaño de las bayas (JACKSON & COOMBE,

1988; KELLER et al., 2001). Cultivares como Cabernet Sauvignon, Riesling y Gewürztraminer son particularmente susceptibles al desecamiento de raquis, mientras que todas las Pinot y Chardonnay son relativamente tolerantes (CURRLE et al., 1983). Por otro lado, los tejidos de las raquis afectados son más vulnerables a la infección de hongos saprofitos patogénicos como *Botritis cinerea*, (KELLER, 2010), lo que puede disminuir la calidad de las uvas y aumentar los costes de producción del viñedo, por la mayor aplicación de fungicidas.

Efecto del calcio

El calcio es el único macronutriente que se encuentra en una alta proporción en las paredes celulares de las plantas, donde sirve como un agente de refuerzo (FERGUSON, 1984). Está implicado en la producción de electrones, protones y oxígeno durante la fotosíntesis. Además, actúa como señalizador intracelular en respuesta a estrés osmótico, que surge debido a muchos factores ambientales (PLIETH, 2005). Influencia en la formación del tubo de polen (DUTTA & ROBINSON, 2004), es importante para el crecimiento apical y también ayuda en la translocación de los carbohidratos, favoreciendo la síntesis de azúcares y sustancias aromáticas (GIOVANNINI & MANFROI, 2009) y de antocianinas (VITRAC et al., 2000).

La concentración de calcio en las hojas de la vid es similar o mayor que la de nitrógeno (GÄRTEL, 1993). Debido a que el calcio es prácticamente inmóvil en el floema, los síntomas de deficiencia aparecen principalmente en las hojas jóvenes en expansión (KELLER, 2010). La deficiencia promueve la desintegración de la pared y de la membrana celular, lo que provoca la muerte de las células y puede llevar al colapso de los tejidos afectados (HIRSCHI, 2004). Esto, puede dar lugar a la necrosis de las hojas jóvenes y a la deshidratación de los frutos de los racimos (GÄRTEL, 1993). Además de tener importancia en el crecimiento del tubo polínico, las deficiencias de calcio también pueden ser perjudiciales para la fecundación y fructificación (KELLER, 2010). Por otro lado, el exceso en el suministro de calcio

puede retardar la velocidad de maduración de las uvas, posiblemente por evitar la degradación de la pared celular (FERGUSON, 1984).

Naturalmente, la deficiencia de calcio es muy rara y ocurre principalmente en suelos ácidos ($\text{pH} < 5$), debido a que el aluminio altamente tóxico se hace muy soluble en estas condiciones, bloqueando la absorción del calcio (HIRSCHI, 2004; PLIETH, 2005). Suelos con exceso de potasio y/o magnesio también pueden inducir a la deficiencia de calcio (DELAS & POUGET, 1984).

Efecto del azufre

El azufre es un constituyente esencial de los aminoácidos (cisteína y metionina), de los lípidos, de metabolitos intermediarios, de compuestos relacionados con la generación de energía y transporte de electrones, y de las moléculas involucradas en la protección de los tejidos contra el estrés oxidativo (KOPRIVA, 2006). Los compuestos que contienen azufre son utilizados por las células para neutralizar las especies reactivas de oxígeno provocadas por factores de estrés ambientales tales como sequía, frío, calor, alta incidencia de luz y el ataque de hongos (NOCTOR & FOYER, 1998). Además, el azufre regula la producción y movilización de almidón en respuesta a la luz y al suministro de azúcar (KELLER, 2010).

El crecimiento de las plantas depende de la absorción de azufre del suelo, que en general es absorbido en forma de sulfato (SO_4) (GROSSMAN & TAKAHASHI, 2001). Los síntomas de su deficiencia incluyen necrosis de las hojas jóvenes y retraso en el crecimiento (SCHACHTMAN & SHIN, 2007). Además, por estar involucrado en los mecanismos de defensa de la vida, las deficiencias de azufre elemental pueden generar mayor susceptibilidad al ataque de hongos y bacterias patógenas (COOPER & WILLIAMS, 2004). La aplicación de fungicidas a base de azufre, puede tener el beneficio adicional de mejorar la defensa de la vida y al mismo tiempo mejorar la deficiencia de azufre (KELLER, 2010).

1.1.3. Características del terruño brasileño

1.1.3.1. Problemática y limitaciones de los suelos brasileños. Necesidad de la técnica del encalado

En Brasil, la acidez de los suelos y los bajos niveles de fósforo son algunas de las principales limitaciones edáficas en la producción de uvas de calidad (MELO, 2006). Los suelos ácidos, en general, se manifiestan con toxicidad de aluminio y manganeso, además de deficiencias en la absorción de calcio y magnesio, lo que afecta en el desarrollo de las raíces y la productividad de las plantas (SILVA et al., 2010).

De este modo, el encalado de los suelos es una técnica comúnmente utilizada por los viticultores brasileños. Esta técnica consiste en la aplicación de formulados básicos al suelo, tales como enmiendas calcáreas, para neutralizar la acidez y mejorar las características químico-físicas del suelo (BERNIER & ALFARO, 2006). En general, los materiales utilizados son principalmente carbonatos, óxidos, hidróxidos y silicatos de calcio y/o magnesio (DOSS et al., 1979). La cal agrícola o calcita, es el material más utilizado, que contiene preferentemente carbonato de calcio (CaCO_3) y que es obtenida a partir de rocas de caliza dispuestas en la naturaleza (CAMPILLO & SADSAWKA, 1999).

Según Bernier & Alfaro (2006), los efectos beneficiosos del encalado, son:

- ❖ Inhibición de la toxicidad del aluminio y del manganeso por la reducción de la solubilidad de ambos, que son muy tóxicos para casi todos los cultivos.
- ❖ Disponibilidad de fósforo: la aplicación de cal no produce la liberación del fósforo retenido o fijado en el suelo, o de formas insolubles. Sin embargo, favorece la disponibilidad del fósforo aplicado después del encalado. La cal bloquea algunos sitios reactivos del complejo coloidal, impidiendo que éstos atraigan los iones fosfatos que están en el suelo y los retengan o fijen. De este modo, queda más fósforo disponible para ser absorbido por las plantas.

- ❖ Fijación del nitrógeno: por general, la acidez restringe la actividad de la mayoría de los microorganismos del suelo. El encalado mejora las condiciones para un adecuado desarrollo de la actividad microbiana. La fijación biológica de N es uno de los factores que se ve beneficiado por el encalado. Por otro lado, y de forma paralela, al mejorar la acidez del suelo se favorece toda la actividad bacteriana responsable por la mineralización de la materia orgánica, favoreciendo la nitrificación del N orgánico y la mineralización de formas orgánicas de azufre, a formas minerales capaces de ser absorbidas por las raíces de las plantas.
- ❖ Propiedades físicas del suelo: el encalado también tiene un efecto beneficioso sobre algunas propiedades físicas del suelo, en especial la estructura, debido al efecto floculante de la cal y de los hidróxidos y óxidos de hierro y aluminio. Por otro lado, el encalado favorece la población, tamaño y actividad de las lombrices del suelo, afectando indirectamente la estructura del mismo por el aumento de los macroporos.

La importancia de conocer con exactitud el abonado que va a ser suministrado a la vid, cuantificando con precisión el contenido total de nutrientes que estarán disponibles en el suelo y consecuentemente para la vid, además de las funciones desempeñadas por estos nutrientes en la planta, permite entender mejor las consecuencias del abonado sobre los aspectos fisiológicos de la viña, tales como reacciones a enfermedades, desarrollo, productividad, calidad de los racimos y de las uvas y, por consiguiente, calidad de los vinos.

De ese modo, el viticultor necesita informaciones correctas para que la toma de decisiones sobre su viñedo esté basada en criterios técnicos dirigidos a optimizar los beneficios económicos y reducir las pérdidas ambientales.

1.1.3.2. Subproductos naturales como alternativa a los fertilizantes convencionales: Composición e importancia del esquisto pirobituminoso

Con el 6 % del volumen mundial, Brasil es hoy el cuarto mayor consumidor de fertilizantes en el mundo, quedando por detrás apenas de países como China, India y Estados Unidos (IFA, 2012). En los últimos años, hubo un incremento del 20,8 % en el mercado interno de fertilizantes, llegando a las 28,33 millones de toneladas en el año 2011. Por otro lado, la producción nacional no siguió el mismo ritmo, incrementando su producción en apenas un 10 %, pasando de 8,88 millones de toneladas en 2008, a 9,86 millones de toneladas en 2011 (ANDA, 2010). Eso indica que el 69 % de los fertilizantes utilizados actualmente en la agricultura brasileña provienen de importaciones, lo que conlleva a una gran dependencia de las mismas para suplir la demanda interna, generando un mayor coste de producción y el riesgo de la inestabilidad del sector.

De esta manera corresponde a la comunidad científica, con el aporte de la investigación, desarrollar metodologías y técnicas basadas en la recomendación de productos nacionales, que se encuentran más cercanos a las zonas de producción. Lo que llevaría a una disminución del coste de producción, mayor estabilidad de la cadena productiva y la sustentabilidad del sector. Además, existe una demanda en la agricultura actual por productos alternativos, direccionados a un modelo de producción agroecológico.

El uso de los subproductos del esquisto pirobituminoso puede ser una alternativa para la agricultura brasileña, como sustituto parcial de los abonados tradicionales, con un enfoque volcado a la producción integrada y a los formatos agroecológicos, que presenten eficiencia agronómica, seguridad ambiental, calidad y seguridad alimentaria.

El esquisto pirobituminoso es una roca originada por un conjunto de sedimentos paleozoicos formados bajo la influencia del clima seco y caliente, característico del final del Pérmico (HACHIRRO, 1997). En Brasil, está ubicado bajo la

formación geológica Irati que pertenece a la *Bacia Sedimentar do Paraná* (Figura 1.1) (HACHIRRO et al., 1993). Son rocas oleíferas que presentan grandes cantidades de hidrocarburos diseminadas en su medio mineral (FONSECA et al., 1989). Los agentes de descomposición transformaron a lo largo de los tiempos la materia orgánica en un complejo orgánico denominado querógeno, que se descompone térmicamente produciendo un aceite semejante al petróleo (FONSECA, 1983).

Solo Brasil, Australia, China y Estonia son capaces de aprovechar comercialmente los recursos del esquisto para la obtención de aceite. En Brasil, el subgrupo Irati, representa una reserva de aproximadamente 700 millones de barriles de aceite, nueve millones de gas licuado, 25 mil millones de metros cúbicos de gas de esquisto y 18 millones de toneladas de azufre (PETROBRAS, 2009).

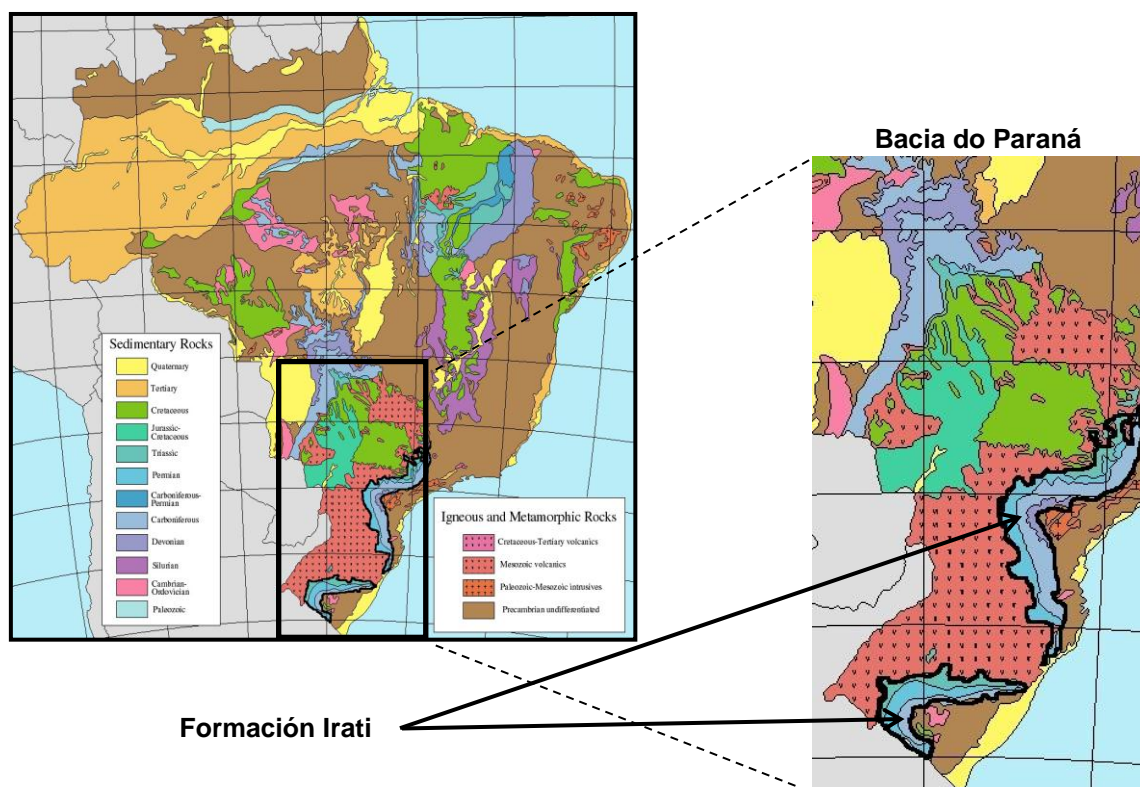


Figura 1.1. Localización de la formación Irati, en la *Bacia do Paraná*.

Brasil se destaca en este medio por poseer la más alta tecnología para la explotación de este recurso. El *Petrosix*[®] (Figura 1.2), bajo la tutela de la Petrobras, en

la “*Industrialização do Xisto*” (SIX), ubicada en el municipio de São Mateus do Sul, en el estado de Paraná, Brasil, extrae diariamente aproximadamente 7,80 mil toneladas de esquisto (COSTA et al., 1996).

Los principales productos derivados del esquisto son: aceites combustibles, gas combustible, gas licuado, nafta y azufre, que corresponden a los mismos derivados del petróleo extraído de los pozos tradicionales (PETROSIX, 2008). Pero también son generados una infinidad de subproductos y desechos que pueden ser aprovechados por los más diversos segmentos industriales y agrícolas. Algunos de estos desechos económicamente aprovechables tras la minería del esquisto son: la caliza de esquisto (CE), que ya tiene comprobada su aplicación en la agricultura para corrección de la acidez del suelo; cenizas de esquisto, como materia prima para producción de cemento; retorta oleosa, como combustible sólido alternativo al carbón mineral; finos de esquisto (FE), como abonado alternativo en la agricultura; y el agua de esquisto (AE), para la producción de abonado y defensivos agrícolas. (PETROBRAS, 2009).

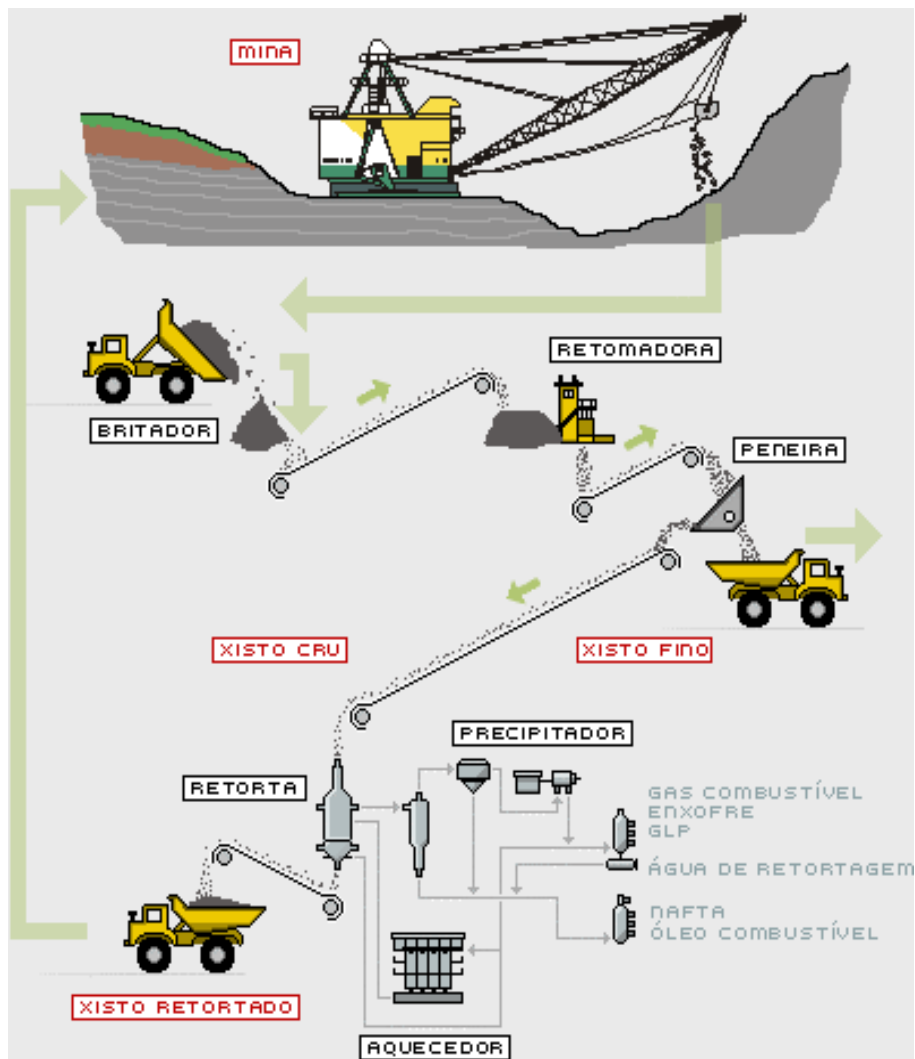


Figura 1.2. Esquema sencillo del procesamiento del Esquisto, PETROSIX®. Elaboración: Petrobras, 2010.

Durante el proceso de retirada del esquisto de la mina, la capa de suelo (suelo, arcilla, roca) es retirada, dejando en exposición la camada superior de esquisto de seis metros de espesor, la cual es explorada. Abajo, hay una camada de rocas de nueve metros de espesor (caliza de esquisto, lulita y limolita) y más abajo se encuentra una camada exploratoria inferior de esquisto que presenta espesor de hasta tres metros.

En el proceso de origen de la materia prima “Caliza de Esquisto” (CE), las lentes 2ª, 3ª y 4ª, con espesor en el orden de 15 a 20 cm, son rocas carbonatadas, originadas de material precipitado por agentes químicos y se sitúan, según la columna estratigráfica de esta formación, inmediatamente debajo de la 1ª camada de esquisto.

Estas lentes, en la cadena de producción de la minería del esquisto, son consideradas como estériles, pues no presentan cantidades adecuadas de aceites. Para la extracción de estas lentes es realizada una labra selectiva, con el máximo de un metro de profundidad. Después, la roca es triturada de acuerdo con el tamaño de los fragmentos, inicialmente en molino concéntrico, para tamaños entre 5 y 10 cm, y finalmente en molino a martillo, para tamaños menores que 2 cm. Por último, los fragmentos son pasados por tamices, para adecuarse su naturaleza a la legislación.

El esquisto retirado de las camadas superiores e inferiores es llevado hasta la unidad de procesamiento donde es sometido a una trituración. Durante este procedimiento una parte del esquisto se pierde por desplazarse en el interior del parque industrial, estos son los denominados “Finos de Esquisto” (FE). En el siguiente paso, el material beneficiado es sometido al proceso de “retorta”, un proceso registrado por la Petrosix[®], que es producido por la pirolisis a 500 °C del querógeno presente en el esquisto, liberando gas y materia orgánica que será la materia prima para obtención del aceite de esquisto. Por fin, el proceso de pirolisis descarta el “Esquisto Retortado” (ER), residuo sólido que representa de 80 % a 90 % de la materia prima utilizada en el proceso de transformación térmica del esquisto oleífero (COSTA et al., 1996). Además, otro constituyente del procesamiento del esquisto es el “Agua de Esquisto” (AE), donde son producidos al día aproximadamente 300 m³, los cuales permanecen en el sistema cerrado de la unidad de retorta. La diversidad y concentración de compuestos orgánicos e inorgánicos en su matriz, oriundos de la vaporización de los compuestos orgánicos y del agua estructural presente en el esquisto pirobituminoso, presupone un potencial uso de este subproducto líquido como materia prima para la producción de fertilizantes foliares.

Considerando el potencial de uso de los subproductos del esquisto en la agricultura, debido a que ellos contienen casi todos los macro y micro nutrientes esenciales para el desarrollo de las plantas, numerosas investigaciones han sido llevadas a cabo, con el objetivo de fomentar el avance en la seguridad alimentaria y

evaluar los impactos ambientales proporcionados por la utilización de estos subproductos.

En estudios recientes, Messias (2011), informó que el agua de esquisto (AE) posee potencial para utilización como abonado foliar en los cultivos agrícolas. Este autor, utilizó la aplicación foliar de diferentes dosis de AE en los cultivos de lechuga y maíz y verificó un incremento en la producción, además de una mejora considerable en la calidad de ambos productos. Del mismo modo, Pereira & Mello (2002), apuntan que las aplicaciones foliares de AE aumentaron la producción de frutos de pimiento, así como los contenidos de magnesio y azufre de las hojas. Los mismos autores, informan también, que las aplicaciones foliares de AE aumentan la productividad del tomatero en un rango del 60,5 % al 93,8 %, dependiendo de la dosis utilizadas.

Por otro lado, el Esquisto Retortado (ER) tiene en su composición un considerable nivel de materia orgánica (15 %) y un elevado nivel de silicio (52 %), entre otros elementos, como fósforo, calcio, magnesio y azufre. Por ello, presenta potencial para ser aplicado en la agricultura (CHAVES & VASCONCELOS, 2006). Pereira & Vitti (2004), demuestran que la aplicación de ER aumentó significativamente los niveles de azufre y silicio en los suelos y en las hojas del tomatero, pero no verificaron alteraciones en los valores del pH del suelo y tampoco en los niveles de cationes intercambiables. Sin embargo, observaron un aumento en la disponibilidad de fósforo. Resultados semejantes a estos fueron encontrados por Chaves & Vasconcelos (2006), que apuntan que las aplicaciones de ER no modificaron el pH del suelo, pero incrementaron los niveles de silicio y azufre.

Con la utilización de una mezcla de subproductos de esquisto (50 % ER; 25 % FE y 25 % CE), denominada MBR, en el abonado de la vid, Malagi (2011), verificó una mayor disponibilidad de fósforo en los suelos de estos viñedos, posiblemente por la actuación del silicio en la desorción del fósforo ya existente en suelo. Por otro lado, el mismo autor informa que la matriz MBR puede representar beneficios en el desarrollo de la vid, por el aumento de la actividad microbiana, actuando en el control de

organismos fitopatogénicos y en la mayor disponibilidad de nutrientes por la mineralización de la fracción orgánica.

1.1.4. Composición química del vino

1.1.4.1. Composición fenólica del vino

Influencia del abonado en la composición fenólica de los vinos

Los compuestos fenólicos son componentes importantes de las uvas blancas y, en especial, de las uvas tintas. Estos compuestos desarrollan un papel importante en las propiedades sensoriales de los vinos, incluyendo el color, el sabor y la sensación táctil en boca, además de funcionar como agentes antioxidantes y, por lo tanto, asociados a beneficios para la salud humana (KINSELLA et al. 1993).

El color de la uva, obtenido principalmente por las antocianinas presentes en los hollejos, es una parte importante de su calidad, lo que se refleja directamente en la calidad de los vinos. En general, es aceptado el hecho de que un aumento del color de la uva coincide con una mejoría en la estructura fenólica, y suele corresponderse con mayor intensidad del aroma y una mejora en la calidad del vino (MARAIAS, 2005). El rendimiento del color durante la fermentación y la calidad sensorial de los vinos resultantes son esencialmente dependientes de la composición fenólica de la uva en el momento de la vendimia (KELLER et al., 1999).

La síntesis de antocianinas en las uvas es estimulada por la luz UV-vis, así como por la disponibilidad de nutrientes y por las bajas temperaturas (HOPKINS, 1995). La concentración de los compuestos fenólicos (principalmente catequinas y epicatequinas) en las uvas están claramente afectados por algunos factores agroecológicos, tales como la variedad de uva; el grado de madurez de los racimos; el año de producción, es decir, las condiciones climáticas año tras año; el lugar de producción relacionado con el origen geográfico de las uvas, la composición química y fertilidad de los suelos y el terruño (REVILLA et al., 1997). Esas características son controladas por la gestión del cultivo, como es el control de plagas y enfermedades, el

manejo del dosel, la limitación de la producción por planta, el riego y el manejo del abonado. Estas prácticas son consideradas obras de rutina en la producción de uvas de calidad, siendo las que tienen el efecto más inmediato, capaz de influir en la calidad del vino: la producción por planta y el abonado, principalmente de nitrógeno (BOONTERM et al., 2010).

La fertilización de los suelos es una de las técnicas vitícolas con gran efecto en el rendimiento del viñedo y en la calidad de las uvas, mostos y vinos. Los niveles excesivos de nitrógeno en los suelos generalmente se asocian con el mayor vigor de las viñas y con el sombreamiento de los racimos, lo que retarda la maduración de los frutos y da como resultado bayas menos coloreadas (DELGADO et al., 2004). El crecimiento más vegetativo, provocado por el exceso de nitrógeno también compite con la translocación de azúcar y la acumulación de pigmentos en las uvas (SPAYD et al., 1994). Además, un aumento en la capacidad productiva de la planta a menudo se asocia con un aumento del tamaño de las bayas, por lo que un aumento de la relación pulpa/piel provoca la dilución de los antocianos y taninos en el mosto (SPAYD et al., 1994).

Según Keller et al., (1999), el aumento del suministro de nitrógeno en viñas de la variedad Pinot Noir disminuye la concentración de antocianos en los mostos y vinos resultantes, además de aumentar el pH y reducir la estabilidad del color. Delas et al., (1991) reportan una reducción en las concentraciones de antocianos y taninos y una disminución del color de los vinos de la variedad Merlot tras la aplicación en el viñedo de 100 kg de nitrógeno por hectárea. Hilbert et al., (2003) concluyen que el alto suministro de nitrógeno a la viñas afecta la vía metabólica de antocianinas, por un lado, retrasando la biosíntesis cualitativa y cuantitativa, y por otro, aumentando la degradación de estos pigmentos durante las etapas finales de maduración de la baya.

Por otro lado, algunos estudios dan cuenta de que los niveles adecuados de nitrógeno podrían mejorar la densidad del color de los mostos por intervenir directamente en la síntesis de antocianos y de otros fenoles que pueden influir en el

color a través de los fenómenos de copigmentación (BOULTON, 2001). Niveles moderados de nitrógeno favorecen la formación de flavonoides (KELLER & HRAZDINA, 1998) y estimulan la actividad de la fenilalanina amonio liasa (PAL), que está estrechamente implicada en la síntesis de antocianinas (KATAOKA et al., 1983). Además, algunos autores han informado que las aplicaciones de nitrógeno aumentan el contenido de compuestos nitrogenados en los mostos (SPAYD et al., 2000; ÁLVAREZ et al., 2001). Estas sustancias pueden formar complejos de copigmentación con las antocianinas, incrementando el color de los mostos y vinos resultantes (KATAOKA et al., 1983).

No obstante, parece que el impacto del nitrógeno en el color del vino puede ser dependiente, por lo menos en parte, del estado inicial de nutrientes de la vid. Es de suponer que el color del vino podría beneficiarse de la aplicación de nitrógeno si el estado inicial del mismo en la vid es bajo, tendiendo a una inversión de este efecto si el estado inicial de nitrógeno en la vid es mediano a alto. Sin embargo, aunque ha habido muchos avances en el estudio de la composición fenólica del vino, no se sabe con certeza si la aplicación de nitrógeno en la viña tiene un impacto en la formación de taninos en los vinos y en el desarrollo de compuestos que contribuyen para la estabilidad del color a lo largo de los procesos de crianza (BELL & HENCHKE, 2005).

La nutrición adecuada de potasio ayuda a aumentar tanto el color como el contenido de polifenoles en la uva. El potasio estimula la actividad fotosintética y favorece la translocación de los azúcares de la fruta. Esto beneficia indirectamente la síntesis de compuestos fenólicos durante la maduración de las uvas (PIRIE et al., 1977; MOHAMMED et al., 1993).

Según Delgado et al., (2004) hay una fuerte interacción entre la disponibilidad de nitrógeno y potasio, de forma que un equilibrio entre ambos nutrientes en los viñedos puede mejorar las características fenológicas de las bayas de la uva. Además, el grado de polimerización de taninos condensados disminuye cuando la relación N:K es equilibrada y las cantidades de ambos nutrientes son altas. Estos hallazgos están

de acuerdo con los resultados encontrados por Boonterm et al., (2010), que relacionan los tratamientos con altas tasas de nitrógeno y potasio en viñedos de la variedad Cabernet Sauvignon con los más altos niveles de compuestos polifenólicos en las uvas. Sin embargo, estos mismos autores no encontraron aumentos significativos en las concentraciones de antocianos en las bayas. Champagnol, (1984) indica que el potasio, aunque aumenta la síntesis de azúcares, ésta no va acompañada de la síntesis de antocianos, lo que resulta en vendimias desequilibradas.

Por otro lado, la captación excesiva de potasio por la vid puede afectar la calidad del vino tinto negativamente por aumentar el pH del mosto y disminuir la acidez del vino. Altos niveles de pH y baja acidez afectan el equilibrio de antocianinas en solución así como la intensidad del color del mosto (DELGADO et al., 2004). En este sentido, Morris et al., (1983) informaron que los valores altos del pH en el mosto producido por niveles excesivos de potasio no afectó el contenido total de antocianinas en el hollejo, pero ocasionó una reducción en las coordenadas triestímulo que definen el color del mosto.

1.1.4.2. Composición nitrogenada del vino

Influencia del abonado en la composición de aminoácidos de los vinos

Los aminoácidos están entre los compuestos nitrogenados más conocidos y estudiados del vino y componen, junto con las proteínas y péptidos, del 30 % al 40 % del nitrógeno total (SOUFLEROS et al, 2003). Estos compuestos sirven como nutrientes para las levaduras durante la fermentación alcohólica y participan del metabolismo de las bacterias lácticas durante la fermentación maloláctica.

Existe una gran variabilidad en el origen de los aminoácidos libres presentes en los vinos. Además de los que están presentes en la propia uva y que pueden ser total o parcialmente metabolizados por las levaduras durante la fermentación alcohólica, están los que son liberados por las levaduras vivas al final de la fermentación, o

proceden de la autólisis de las levaduras muertas o de la degradación enzimática de las proteínas de la uva (BIDAN et al., 1986; SOUFLEROS et al., 2003).

En las uvas, la importación y transporte de compuestos nitrogenados en las bayas ocurre, en su mayor parte, después del envero, y la acumulación puede continuar a lo largo de la maduración (RODRIGUEZ-LOVELLE & GAUDILLÈRE, 2002). La glutamina es el principal compuesto nitrogenado transportado. Las enzimas, llamadas aminotransferasas, convierten la glutamina de las bayas en otros aminoácidos, como la arginina y la prolina, que en conjunto, representan del 60 al 70 % del total de aminoácidos de las uvas maduras (BELL & HENSCHKER, 2005; GOES da SILVA et al., 2005).

Las concentraciones de aminoácidos libres y su perfil en las uvas pueden variar dependiendo del cultivar, del portainjerto, de la gestión de nutrientes en la vid, del origen geográfico del viñedo y de la vendimia (RODRÍGUEZ-LOVELLE & GAUDILLERE, 2002; BELL & HENSCHKE, 2005). Las prácticas vitícolas como la cantidad y la fecha de aplicación de fertilizantes nitrogenados en los viñedos son importantes factores que determinan la concentración y composición en aminoácidos de las uvas (SPAYD et al., 1994; RODRÍGUEZ-LOVELLE & GAUDILLERE, 2002).

Muchos investigadores han puesto de manifiesto aumentos en la concentración de varios compuestos nitrogenados en las uvas y en los mostos con la aplicación de fertilizantes nitrogenados en los viñedos. En este sentido, Bell & Henschke (2005) apuntan un efecto consistente de la aplicación de nitrógeno en las viñas con un aumento de la concentración de aminoácidos totales en las bayas, básicamente representados por los niveles de prolina y arginina. Resultados semejantes ya habían sido encontrados por Spayd et al., (1994), que relacionaron el aumento de la fertilización nitrogenada con un incremento en las concentraciones de prolina y arginina en los mostos de las uvas. Rodríguez-Lovelle & Gaudillere (2002) indican que la fertilización nitrogenada de viñas de la variedad Cabernet Sauvignon proporcionó

diferencias significativas en los niveles de arginina, glutamina, alanina e histidina en las uvas.

Influencia del abonado en la composición de aminas biógenas de los vinos

Las aminas biógenas son bases orgánicas de bajo peso molecular que juegan un papel importante como reguladores de diversos procesos fisiológicos en el organismo humano. Pueden estar presentes en los productos alimenticios en concentraciones variables, en general, como resultado de la existencia de procesos fermentativos o debido a contaminaciones bacterianas (GARCIA-MARINO, 2010). De esta manera, productos fermentados como la cerveza, el vino y el queso son buenos ejemplos de alimentos que presentan ciertas cantidades de aminas biógenas.

La evolución y presencia, tanto cuantitativa como cualitativa, de las aminas biógenas en los vinos todavía no está bien definida y, a veces, los resultados publicados son contradictorios (DEL PRETE et al., 2009). En la actualidad, la tendencia es aceptar la existencia de la fermentación maloláctica como uno de los factores más importantes que determinan la presencia de estas aminas en los vinos (GARCÍA-MARINO et al., 2010).

En general, las aminas biógenas son formadas a través de la descarboxilación de sus aminoácidos precursores. Esta descarboxilación es enzimática y se debe a la presencia de enzimas descarboxilasas, que están asociadas a la acción de las levaduras y bacterias fermentativas, o a la acción de microorganismos contaminantes (LONVAUD-FUNEL, 2001). Sin embargo, la presencia del gen que codifica para la formación de las descarboxilasas, no garantiza que la enzima vaya a ser funcional y que habrá formación de aminas biógenas. Es necesario también, que el ambiente sea propicio para dicha actividad enzimática. Siendo así, los parámetros enológicos como el pH, grado alcohólico, anhídrido sulfuroso libre y temperatura son los que más influyen directamente en esta actividad (SMIT et al., 2008).

Además, algunos autores afirman que las aminas biógenas pueden originarse en los vinos por otras vías que no son la descarboxilación de los aminoácidos. Del Prete et al., (2009), apuntan que la formación de algunas aminas puede estar relacionada con la hidrólisis de amidas derivadas de los ácidos hidroxicinámicos procedentes de las uvas, como resultado de la acción de las levaduras y de las bacterias lácticas. Estas amidas de ácidos hidroxicinámicos pueden acumularse en las plantas en respuesta a algún estímulo fisiológico. Sin embargo, no hay estudios específicos sobre la acumulación de estas amidas en las uvas (JIN et al., 2003).

La presencia de aminas biógenas en los vinos ha sido estudiada ampliamente desde hace 30 años y, en particular, en los últimos años como consecuencia de la creciente atención a la protección de la salud de los consumidores (DEL PRETE et al., 2009). En bajas concentraciones, estos compuestos son esenciales para el metabolismo normal y funciones fisiológicas de los animales, plantas y microorganismos. Sin embargo, estas aminas pueden tener efectos adversos en concentraciones elevadas y representan un riesgo para la salud humana, en especial, para aquellas personas más sensibles (MORENO-ARRIBAS & POLO, 2009).

Las concentraciones de aminas biógenas pueden estar afectadas por factores vitícolas, tales como, el portainjerto, la vendimia y el abonado de las viñas. Los efectos de la fertilización nitrogenada en los viñedos en las concentraciones de aminas biógenas en los vinos han sido estudiados por varios autores. Según Bertrand et al., (1991), los niveles de histamina en los vinos procedentes de viñas de la variedad Merlot, tratadas con dosis excesivas de nitrógeno, presentaran el doble de la concentración de histamina que los vinos procedentes de viñas no tratadas. Estos resultados son explicados por un aumento de hasta 3,8 veces en las concentraciones de histidina, el aminoácido precursor de la amina biógena histamina, en el vino originado de las viñas que habían sido sometidas a aplicaciones excesivas de nitrógeno. El nitrógeno tenía el mismo efecto sobre la concentración de otras aminas tales como metilamina, etilamina, tiramina, fenilamina, putrescina y cadaverina.

Sin embargo, Stockley, (2004) sugiere que los altos niveles de deterioro microbiano en el vino podrían dar lugar a mayores concentraciones de aminas biógenas. Bertrand et al., (1991) también presenta el mismo argumento y correlaciona los altos niveles de aminas con los altos valores de pH de los vinos. Hemos visto anteriormente que el potasio está directamente involucrado en la reducción del pH del vino, lo que conlleva a una inestabilidad microbiana (MPELASOAKA et al., 2003). Es por lo tanto posible que, niveles más altos de fertilización de las viñas con potasio, conlleve indirectamente a una mayor producción de aminas biógenas en los vinos. Por otro lado, Douglas et al., (1990), revelaron que existe una similitud entre los trastornos generados por la deficiencia de potasio en las viñas con un acumulo mayor de putrescina en las hojas. Sin embargo, este efecto en las bayas de uva aún no ha sido comprobado.

No hemos encontrado ningún trabajo que haga referencia a las otras formas de fertilización de la vid que no sea la fertilización nitrogenada y, en menor medida, la fertilización con potasio. Eso nos indica que en este campo de investigación se necesitan más estudios para que en el futuro podamos comprender mejor los efectos del abonado de los viñedos en la composición aminoacídica de las uvas, mostos y vinos.

1.1.4.3. Composición volátil y propiedades sensoriales del vino

Influencia del abonado en la composición volátil y en las características sensoriales de los vinos

El perfil de los compuestos aromáticos en el vino es el resultado de un gran número de factores relacionados con las características de los viñedos y con los tratamientos efectuados durante la producción de las uvas, así como de la forma en que se lleva a cabo las vinificaciones y las crianzas de los vinos en las bodegas.

Podemos considerar que el aroma de los vinos proviene de cuatro fuentes principales: (a) compuestos primarios derivados de la uva formados en las células de

la planta; (b) compuestos secundarios derivados de la uva modificados por el procesamiento; (c) compuestos de fermentación formados por las levaduras durante la fermentación alcohólica y; (d) compuestos relacionados con el envejecimiento que se forman durante la maduración del vino (RAPP & VERSINI, 1991).

La fermentación representa el principal proceso en el desarrollo de los compuestos activos del aroma, ya que, en comparación con el vino, el aroma de las uvas y mostos es relativamente bajo (LAMBRECHTS & PRETORIUS, 2000). La modificación de los distintos parámetros que intervienen en la fermentación, como la cepa de levadura, la temperatura y la disponibilidad de nutrientes (en especial, compuestos nitrogenados) para la levadura, pueden tener un impacto importante en la concentración de compuestos volátiles en los vinos (REYNOLDS et al., 2001). Es posible identificar tres rutas principales del desarrollo del aroma durante la fermentación, algunos compuestos derivados de la uva permanecen intactos químicamente, otros son metabolizados para formar metabolitos activos del aroma, y los demás se someten a reacciones hidrolíticas y biotransformaciones intra o extracelulares, las cuales modifican sus atributos olfativos u odorantes (BELL & HENSCHKE, 2005).

La mayoría de estos compuestos volátiles presentes en los vinos son originados a partir de los azúcares y aminoácidos presentes en el mosto (SWIEGERS et al., 2005). Durante la fase de crecimiento de la levadura, el metabolismo de los azúcares conduce a la formación de una variedad de compuestos volátiles, incluyendo alcoholes superiores, ácidos grasos, ésteres, compuestos carbonílicos, compuestos azufrados y varios ácidos orgánicos, muchos de los cuales contribuyen fuertemente al perfil sensorial de los vinos (GUTH & SIES, 2002; FRANCIS & NEWTON, 2005; HOWELL et al., 2005; SMYTH et al., 2005; SWIEGERS & PRETORIUS, 2005). Los compuestos nitrogenados también contribuyen a la formación de algunos de estos compuestos, especialmente alcoholes superiores y ésteres, además de regular la formación de otros compuestos volátiles, tales como, sulfuro de hidrógeno, tioles,

mercaptanos y monoterpenos (HENSCHKE & JIRANEK, 1993; RAPP & VERSINI, 1996; ALBERS et al., 1998).

Además de la producción de metabolitos primarios, la levadura interactúa con los precursores del aroma, compuestos no volátiles y por lo tanto inodoros, de la uva que tienen una considerable importancia sensorial. Entre estos compuestos se encuentran los glicoconjugados y los conjugados de cisteína, que tras la hidrólisis por las enzimas de la levadura, liberan las agliconas que pueden contribuir fuertemente al carácter varietal de los vinos (FRANCIS & NEWTON, 2005; SWIEGERS et al., 2005). Ejemplos de estos precursores del aroma derivados de la uva incluyen los alcoholes y aldehídos de seis átomos de carbono (1-hexanol, hexanal, cis 3- hexen-1-ol,...), que provocan aromas herbáceos, y algunos monoterpenos (α -terpineol, linanol, geraniol), norisoprenoides (β -damascenona) y tioles (ETIEVANT, 1991; COLE & NOBE, 2003; SWIEGERS & PRETORIUS, 2005).

Por lo tanto, la producción, liberación y modificación de los compuestos del aroma derivados de las uvas por las levaduras durante la fermentación, juega un papel importante en la definición del perfil aromático del vino (COLE & NOBLE, 2003; SMYTH et al., 2005). Siendo así, conocer los factores que regulan la calidad de las uvas durante la vendimia (clima, tipo de suelo, fuentes de abonado, manejo del dosel, etc.), juntamente con los constituyentes que influyen en el metabolismo y desarrollo de las levaduras durante la fermentación son de extrema importancia en la elaboración de vinos de calidad (BELL & HENSCHKE, 2005).

Algunos estudios han demostrado que existe un vínculo entre la concentración de monoterpenos total en las uvas y los factores de microclima del dosel, tales como temperatura y luminosidad (REYNOLDS & WARDLE, 1997; MARAIS et al., 1999; HUNTER et al., 2004). La aplicación de nitrógeno en el viñedo aumenta el crecimiento vegetativo y por lo tanto la densidad del dosel en comparación con las viñas no tratadas, lo que conlleva a una menor intensidad de luz (BELL & ROBSON 1999; MARAIS et al., 2001). Según Marais et al., (1999) una mayor concentración de

monoterpenos en las bayas de la uva coincidió con un aumento de la intensidad de luz en el interior del dosel. Por lo tanto, es concebible que los cambios inducidos por la adicción de nitrógeno en el dosel de las viñas puede afectar la concentración de monoterpenos en las bayas de las uvas y en los vinos resultantes (BELL & HENSCHKE, 2005).

Hasta el momento, pocos datos acerca de la influencia de las condiciones de abonado de los viñedos en los compuestos del aroma y sus precursores están disponibles, y las informaciones sobre el efecto del estado nutricional de la vid en el aroma varietal de los vinos es muy variable (CHONÉ et al., 2006; ANCÍN-AZPILICUETA et al., 2012).

La mejora del perfil aromático de los vinos se ha intentado mediante el uso de la fertilización nitrogenada del suelo. En este sentido, Linsenmeier et al., (2005) apuntan que la formación de los compuestos del aroma difícilmente se ve afectada por la fertilización nitrogenada del suelo y su aumento no mejora automáticamente la calidad del vino, aunque encontraron cambios en los niveles de 2-feniletanol y metil butanol. Según Ough & Bel (1980), el estado nutricional de nitrógeno en la vid puede tener un efecto en la determinación de la concentración de alcoholes superiores, tales como n-propanol, 2-metil propanol y 3-metil-1-butanol en los vinos. Los niveles más bajos de fertilización aumentaron la producción de 2-metil propanol y 3-metil-1-butanol, y disminuyeron la producción de n-propanol. Aplicaciones nitrogenadas por encima de los 112 Kg ha⁻¹ no representan cambios significativos en la concentración de alcoholes superiores en los vinos. Resultados semejantes fueron encontrados por Webster et al., (1993), donde las concentraciones de 3-metil-1-butanol y 2-feniletanol disminuyeron con el aumento de la fertilización nitrogenada, mientras que las concentraciones de 2-metil propanol no presentaron cambios. Giorgessi et al., (2001) han encontrado que la aplicación de nitrógeno a través del suelo condujo a un aumento en la concentración de alcoholes superiores totales, mientras que Ancín-Azpilicueta et al., (2012) apuntan una disminución sustancial en la concentración de alcoholes superiores en los vinos

originado de uvas tratadas con aplicación foliar de urea, en comparación con los vinos provenientes de uvas no tratadas. Estos mismos autores apuntan que la variabilidad de los resultados se debe a que la mayoría de los alcoholes superiores se sintetizan a partir de los azúcares en vez de los compuestos nitrogenados, puesto que se ha observado que la producción de alcoholes superiores suele ocurrir después de un alto consumo de aminoácidos durante la fermentación.

Las concentraciones de ésteres en los vinos también pueden sufrir modificaciones de acuerdo con las cantidades de suministro de nitrógeno a las viñas. Ough & Lee (1981) encontraron que las concentraciones de hexanoato de etilo, octanoato de etilo y decanoato de etilo se incrementaron con la aplicación de hasta 224 Kg ha⁻¹ de nitrógeno en los viñedos de la variedad Thompson Seedless. Estos resultados también fueron encontrados por Webster et al., (1993) utilizando dosis similares de nitrógeno en el abonado de viñedos de la variedad blanca Riesling. Estudios recientes hechos por Ancín-Azpilicueta et al., (2012) corroboran estos hallazgos, pero con la utilización de dosis mucho menores de nitrógeno en el suelo (21 Kg ha⁻¹) y en combinación con la aplicación de urea foliar en viñedos de la variedad tinta española Tempranillo. De una manera general, la concentración de ésteres en los vinos aumenta con un aumento de la disponibilidad de nitrógeno en los viñedos, pero hay que tener en cuenta el efecto producido por la variedad de la vid, el tipo de suelo, las condiciones climáticas, el manejo del viñedo y las prácticas culturales, entre otros. (ANCÍN-AZPILICUETA et al., 2012).

La aplicación de nitrógeno en las viñas también tiene diferentes efectos en las características sensoriales de los vinos. En un estudio con 30 vinos elaborados a partir de la variedad Zinfandel sometidas a diferentes tratamientos de cultivo, Sinton et al., (1978) observaron una fuerte correlación positiva entre la intensidad del aroma del vino y el contenido de nitrógeno de los mostos. Del mismo modo, Bell et al., (1979) encontraron una mayor intensidad de aroma y una mejor calidad global de los vinos provenientes de uvas Thompson Seedless que habían sido tratadas con nitrógeno, en

comparación con los vinos de uvas no tratadas. Goldspink & Frayne (1997) llevaron a cabo un análisis sensorial descriptivo de vinos de la variedad Sauvignon Blanc que no habían recibido suministros de nitrógeno, en comparación con aquellas que recibieron 150 Kg ha⁻¹ de nitrógeno. Los resultados apuntaron calificaciones más bajas, con notas de “ácido oxidado”, “fino”, “dulce”, “acuoso” y “verde”, para aquellos vinos provenientes de uvas que no recibieron aplicaciones de nitrógeno. En contrapartida, los vinos provenientes de las uvas tratadas con nitrógeno recibieron las puntuaciones más altas y se describieron como “herbácea”, “limpio”, “floral”, y “aromáticos”.

Sin embargo, la aplicación de nitrógeno en el viñedo no siempre tuvo un efecto positivo sobre las características sensoriales de los vinos. Treby et al., (2000) evaluando los vinos de la variedad Syrah, en dos portainjertos y con dos aplicaciones de nitrógeno al año, obtuvieron una reducción en la densidad del color y en la concentración de glicoconjugados, lo que se refleja en una menor calidad global de los vinos.

En resumen, la aplicación de nitrógeno en las viñas, desde una perspectiva sensorial, puede tener un impacto en la calidad del vino en algunas situaciones. Sin embargo, no es sorprendente que la tendencia común es difícil de establecer, ya que el estado de nitrógeno en las viñas y en los mostos de las uvas varía en cada estudio y hay diferencias en las técnicas de vinificación empleadas, sobre todo entre los vinos tintos y blancos. Por lo tanto, la aplicación de nitrógeno en la viña provoca una gran variabilidad de efectos que pueden interactuar, dando lugar a diferencias sensoriales entre los vinos de las viñas tratadas y los de las viñas no tratadas con nitrógeno. Por otra parte, la elección de la ubicación del viñedo, sobre todo en lo que se refiere al tipo de suelo y el nivel de abonado, la cantidad y el patrón de agua disponible, entre otros, son susceptibles de producir resultados variables.

1.2. MATERIAL Y MÉTODOS

1.2.1. Viñedos

Los viñedos utilizados en nuestro estudio son compuestos por la variedad Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.), con ocho años de edad, injertadas en portainjerto Paulsen 1113 (*Vitis berlandieri* x *Vitis rupestris*), y ubicados en la estación experimental de la “*Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural do Estado de Santa Catarina*” – EPAGRI, en el municipio de Videira – Santa Catarina, Brasil, bajo las coordenadas 27° 02' 04" latitud sur y 51° 08' 05" longitud oeste (Figura 1.3).



Figura 1.3. Ubicación de los viñedos en el campo experimental de la EPAGRI, donde fueron instalados los experimentos.

El clima, según la clasificación de Köppen-Geiger es del tipo Cfb – Clima Templado/Mesotermal con verano suave. Las temperaturas medianas se sitúan entre 16 y 18 °C y la precipitación pluvial media anual alrededor de los 1800 mm (Figura 1.4), según datos de la estación meteorológica del propio centro de investigación.

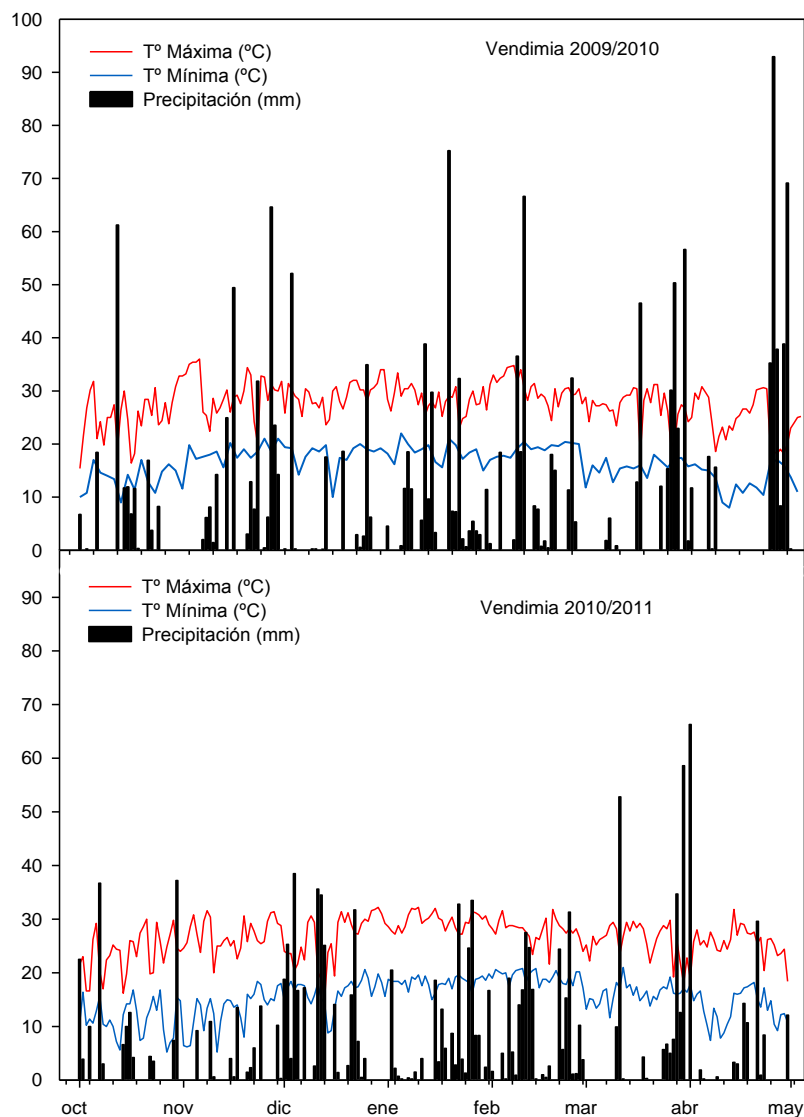


Figura 1.4. Temperaturas máximas y mínimas y la precipitación pluvial durante el ciclo productivo de las viñas en las vendimias de 2009/2010 y 2010/2011.

El suelo fue clasificado como *Nitossolo Vermelho Distrófico*, por el sistema brasileño de clasificación de suelos (EMBRAPA, 1999). Esta taxonomía equivale, en la clasificación internacional a los suelos tipo *Rhodic Paleudult* y *Humic Kandiodox* por la Soil Taxonomy (USA, 1996), o como *Rhodic Nitosol* y *Haplic Lixisol* por la FAO/Unesco.

Los experimentos fueron instalados en dos viñedos que se distinguen exclusivamente por la forma de conducción de las plantas, aquí descritos como viñedo

I y viñedo II. El **viñedo I** está dispuesto en un sistema de conducción tipo Pérgola (Figura 1.5). Las plantas están dispuestas en espaciamento de 1,5 x 3,0 metros, entre plantas y entre líneas, respectivamente, totalizando 2.222 plantas por hectárea, donde fueron implantados los experimentos con Caliza de Esquisto (CE) y Caliza Convencional (CC).

El **viñedo II** esta conducido bajo el sistema de conducción denominado “*Manjedoura*” (en forma de “Y”) y bajo cobertura plástica, con el mismo espaciamento y números de plantas que el viñedo anterior (Figura 1.5). Este sistema de conducción es muy parecido con el sistema tradicional conocido como Lira, pero fue modificado y adaptado para la implantación de la cobertura plástica. La cobertura plástica es fundamental para la obtención de racimos de mejor calidad en estas regiones de cultivo, debido a las malas condiciones climáticas, como por ejemplo, la alta incidencia de lluvias durante la maduración de las uvas. En este viñedo fueron instalados los experimentos con Finos de Esquisto (FE) y Caliza de Esquisto (CE).

1.2.2. Fuentes alternativas de abonados

Los Finos de Esquisto (FE) constituyen uno de los subproductos de la industrialización del esquisto pirobiterminoso, por el medio del proceso Petrosix® (Figura 1.2), desarrollado por la Petrobras en el municipio de *São Mateus do Sul, Paraná*, Brasil. El licenciamiento ambiental de los Finos de Esquisto constituye una etapa importante para el uso ambientalmente seguro de estos materiales en las áreas experimentales y para el proceso de registro de formulaciones de fertilizantes junto al “*Ministério Brasileiro da Agricultura, Pecuaria e Abastecimento*” (MAPA). Aunque, la riqueza en la diversidad de la composición química de estos materiales sea un diferencial positivo en comparación con otras materias-primas utilizadas en las formulaciones de fertilizantes convencionales, especialmente por la presencia de gran número de micronutrientes de interés para la nutrición de plantas, su baja concentración en macronutrientes presupone, en primer lugar, cuestiones técnicas de

formulaciones, y en segundo lugar, por exigencias legales del *MAPA*, la adición de algunos macronutrientes, llevando en cuenta las exigencias de las culturas utilizadas, bien como de la fertilidad de los suelos.



Figura 1.5. Viñedos utilizados para los tratamientos con distintos tipos de abonado.

Viñedo I: Pérgola; Viñedo II: Manjedoura.

En este sentido, han sido estudiadas distintas formulaciones con los diversos subproductos de la minería del esquisto. La Caliza de Esquisto (CE), aunque no sufra

cualquier tipo de procesamiento físico en el proceso Petrosix® (Figura 1.2), constituye uno de los subproductos asociados a la industrialización del esquisto. Por su diversidad y cantidad de algunos elementos químicos presentes en su composición y por sus características físico-químicas, puede ser una potencial fuente de nutrientes para las plantas, además de constituir la materia prima para la formulación de abonados sólidos para el uso en sistemas de producción convencional y/o de base agroecológica. Adicionalmente, la caliza de esquisto posee potencial para la corrección de la acidez del suelo, debido principalmente a la presencia de óxidos de calcio y magnesio.

En nuestro experimento implantado en el **viñedo I**, fue evaluado el potencial de la Caliza de Esquisto (CE) como neutralizador de la acidez del suelo, utilizado solo, o en combinaciones con las Calizas Convencionales (CC). Las dosis utilizadas fueron establecidas llevando en cuenta la recomendación de encalado, basada en los análisis previos de las muestras de suelos de los viñedos. El diseño experimental fue completamente al azar, con seis tratamientos, compuestos por las distintas dosis de caliza de esquisto y caliza convencional, conforme descritos a seguir: T1 – 0 + 0 Kg ha⁻¹ de CE + CC; T2 – 1000 + 3000 Kg ha⁻¹ de CE + CC; T3 – 2000 + 2000 Kg ha⁻¹ de CE + CC; T4 – 3000 + 1000 Kg ha⁻¹ de CE + CC; T5 – 4000 + 0 Kg ha⁻¹ de CE + CC; T6 – 0 + 4000 Kg ha⁻¹ de CE + CC.

Otros tipos de formulaciones son llamadas de Matrices MBR. En uno de nuestros experimentos, implantado en el **viñedo II**, fueron evaluados diferentes dosis de Finos de Esquisto (FE) en combinación con diferentes dosis de Caliza de Esquisto (CE). El diseño experimental fue completamente al azar, con seis tratamientos, conforme descritos a continuación: T1 – 0 + 0 Kg ha⁻¹ de FE + CE; T2 – 120 + 120 Kg ha⁻¹ de FE + CE; T3 – 1680 + 120 Kg ha⁻¹ de FE + CE; T4 – 120 + 1680 Kg ha⁻¹ de FE + CE; T5 – 1680 + 1680 Kg ha⁻¹ de FE + CE; T6 – 900 + 900 Kg ha⁻¹ de FE + CE.

Para cada tratamiento, de los dos experimentos descritos anteriormente, fueron utilizadas 15 plantas, totalizando un área de 45 m² por parcela.

1.2.3. Vinificaciones

Los vinos fueron elaborados en las vendimias 2010 y 2011, en la bodega experimental del centro de investigación – EPAGRI. Las vinificaciones fueron llevadas a cabo en depósitos de polipropileno con capacidad para 50 L y con control de temperatura. La vendimia fue despalillada, estrujada y adicionada de SO₂ a razón de 100 mg Kg⁻¹ en forma de K₂S₂O₇ (50 % de rendimiento en SO₂).

El inóculo utilizado para llevar a cabo la fermentación alcohólica fue una cepa de levadura seleccionada *Saccharomyces cerevisiae*. La fermentación se realizó a temperatura controlada de 22 °C. Los mostos fueron chaptalizados con adición de sacarosa para corrección del grado alcohólico a la razón de 15 g L⁻¹. Los remontados se realizaron diariamente mediante la técnica del *delestage*. El seguimiento de la fermentación se realizó por medidas diarias de densidad de los mostos.

Terminada la fermentación alcohólica, los vinos fueron inoculados con bacterias lácticas *Oenococcus oeni* para inducir la fermentación maloláctica. El rendimiento de la fermentación fue controlado a través del análisis de cromatografía en papel. Tras completar la fermentación maloláctica los vinos fueron trasegados y llevados a cámara fría con temperatura de 4 °C para la estabilización física y clarificación, donde permanecieron alrededor de 30 días. Después de la estabilización/clarificación, los vinos fueron trasegados otra vez, corregidos los niveles de SO₂ libre, embotellados y almacenados en ambiente con temperatura y luminosidad controladas, donde quedaron hasta que se efectuaron los análisis.

1.2.4. Análisis convencionales de los vinos

Se estudiaron los siguientes parámetros enológicos convencionales en los vinos: pH, acidez total, acidez volátil, SO₂ libre, SO₂ total y grado alcohólico. Las determinaciones se basaron en los métodos oficiales de la Oficina Internacional de la Viña y el Vino (OIV), que básicamente han sido adoptados por el Ministerio Español de Agricultura, Pesca y Alimentación y por la Unión Europea.

La medida de pH en los vinos fue obtenida con un pH-metro *Crisol modelo 2001*, previamente calibrado con soluciones tampón de pH 7,02 y 4,00, respectivamente.

La acidez total es la medida de la concentración de protones del medio mediante volumetría de neutralización con NaOH 0,1 N hasta pH=7, monitorizando el punto de equivalencia con un pH-metro *Crisol modelo 2001*. Los resultados se expresan en g de ácido tartárico por L de muestra.

La determinación de la acidez volátil se realizó mediante la separación de los ácidos volátiles por arrastre de vapor de agua, evitando la presencia de gas carbónico en el destilado, y posterior valoración del destilado con Na OH 0,1 N, empleando fenolftaleína como indicador. La acidez de los anhídridos sulfurosos libres y combinados arrastrados con el destilado debe ser restada para lo cual se siguió la norma de *JAULMES*, en la que se considera como completa la influencia del sulfuroso libre y sólo la mitad del combinado.

El grado alcohólico se analizó según el método aerométrico de medida de la densidad del destilado hidroalcohólico procedente de alícuotas de 200 mL de vino previamente neutralizado. El grado alcohólico se expresa como % de etanol (v/v).

Para el análisis del SO₂ libre y total se utilizó el aparato *ENO 20*, el cual mide ambos parámetros de forma automática. Para el análisis del sulfuroso libre se introdujeron en un matraz 20 mL de vino al cual se le añadieron 2 mL de H₂SO₄ a 1/3 (la valoración debe realizarse en medio ácido) y se accionó el aparato. Para el análisis de sulfuroso total se adicionaron 2 mL de sosa 5 N (este reactivo libera el sulfuroso ligado) a 20 mL de vino y se esperaron 5 minutos para posteriormente añadir 4 mL de H₂SO₄ a 1/3 (para neutralizar y dejar el medio ácido para la valoración) y realizar su medida en el aparato.

1.2.5. Determinación del nitrógeno total

El nitrógeno total se determinó por el método Kjeldhal. La digestión de la muestra se realizó en un digestor *Büchi 426* con ácido sulfúrico concentrado, y pastillas de sulfato de potasio y sulfato de cobre como catalizador, para transformar todo el nitrógeno presente en las muestras en amonio (NH_4^+). La muestra digerida se puso en medio alcalino y se destiló en un aparato destilador *Büchi 316*, recogiendo sobre HCl 0,1 N el amoniaco desprendido, y valorando posteriormente el exceso de HCl con Na OH 0,1 N hasta viraje del indicador rojo de metilo. El resultado se expresa como mg de nitrógeno por litro de muestra.

1.2.6. Análisis de los compuestos volátiles mayoritarios

El análisis de los compuestos volátiles mayoritarios fue realizado por inyección directa de 1,5 mL de vino adicionado de 0,90 μL de 2-pentanol (1 g L^{-1} en etanol absoluto) como patrón interno. Los compuestos fueron analizados en un cromatógrafo de gases *Hewlett-Packard modelo 5890N* equipado con un detector de ionización de llama y una columna capilar CP-Wax 57 (50 m \times 0,25 mm d.i. \times 0,25 μm de espesor de fase estacionaria). Las temperaturas del inyector y del detector fueron 250 y 280 $^\circ\text{C}$, respectivamente. El volumen de inyección fue de 1 μL y el gas portador fue He a un flujo de 0,7 mL min^{-1} .

La temperatura del horno fue programada de la siguiente forma: 40 $^\circ\text{C}$ (5 min)- 4 $^\circ\text{C min}^{-1}$ – 120 $^\circ\text{C}$ (10 min). La cuantificación de los compuestos fue realizada utilizando rectas de calibrado calculadas a partir de distintas diluciones de una disolución madre de vino sintético según las Tablas 1.2 y 1.3.

Tabla 1.2. Concentración de los compuestos de la disolución madre utilizada para calcular las rectas de calibrado de los compuestos volátiles mayoritarios de los vinos.

Compuesto	Concentración (g L ⁻¹)
Acetaldehído	3,09
Acetato de etilo	4,50
Metanol	2,37
1-Propanol	2,40
Isobutanol	2,40
2-metil-1-butanol	2,46
3-metil-1-butanol	8,10

Tabla 1.3. Rectas de calibrado calculadas a partir de diluciones de la disolución madre patrón de compuestos volátiles mayoritarios.

Compuesto	Ecuación de la recta	r ²
Acetaldehído	y=0,50x	0,993
Acetato de etilo	y=0,72x	0,998
Metanol	y=0,62x	0,999
1-propanol	y=1,10x	0,997
Isobutanol	y=1,29x	0,998
2-metil-1-butanol	y=1,17x	0,999
3-metil-1-butanol	y=1,27x	0,999

1.2.7. Análisis de los compuestos volátiles minoritarios

Los compuestos volátiles minoritarios fueron aislados mediante la técnica de extracción en fase sólida (SPE). Un alícuota de 100 mL de vino junto con 40 µL de 4-nonanol de concentración 1 g L⁻¹ en etanol absoluto, utilizado como patrón interno, fueron fraccionados en cartuchos de estireno divinilbenceno *Licrolut EN Merck* de 0,5 g de fase, previamente acondicionados con 10 mL de una mezcla de agua/etanol (10 % v/v).

La elución de las muestras a través de los cartuchos se realizó a un flujo de 2 mL min⁻¹. Tras la adición de las muestras se pasaron 50 mL de agua Milli-Q para eliminar los compuestos hidrofílicos. Finalmente, los compuestos volátiles fueron eluidos con 10 mL de diclorometano. Los extractos orgánicos fueron concentrados bajo flujo de nitrógeno hasta un volumen final de 200 µL.

Para el análisis cromatográfico se utilizó un cromatógrafo de gases modelo 6890N acoplado a un detector de masas modelo 5973 *inert*, ambos de la marca *Agilent Technologies* y equipado con una columna capilar BP-21 (60 m × 0,25 mm d.i.; 0,25 µm de espesor de fase estacionaria). La inyección de los compuestos fue de 1 µL y se realizó en modo splitless (0,5 min). Las temperaturas del inyector y de la línea de transferencia fueron 250 y 280 °C, respectivamente. El programa de temperaturas del horno fue: 70 °C (5 min) - 1 °C min⁻¹ - 95 °C (10 min) – 2 °C min⁻¹ – 200 °C (40 min). Como gas portador se utilizó He a un flujo de 1 mL min⁻¹.

La ionización de los compuestos se realizó en modo de impacto electrónico (IE) a 70 eV. La temperatura de la fuente fue de 178 °C, la velocidad de barrido fue de 1 scan seg⁻¹ y el rango de adquisición de masas fue de 40 a 450 amu.

La identificación se basó en la comparación de los tiempos de retención y el espectro de masas con las previstas en los patrones auténticos y por las librerías NBS75 K y Wiley A. Los factores de respuesta de cada compuesto volátil se calcularon mediante la inyección de un patrón comercial. Para los compuestos de los cuales no se disponía de patrones comerciales, se utilizaron los factores de respuesta de compuestos con estructuras químicas similares.

1.2.8. Análisis de aminoácidos, amins biógenas y del ion amonio

El análisis de los aminoácidos y amins biógenas fue llevada a cabo según la metodología descrita por Gómez-Alonso et al., (2007), que está basada en la separación por HPLC en columna de fase reversa y detección por UV-vis de las

aminoenonas formadas por la reacción entre las aminas biógenas, aminoácidos y el ion amonio con el agente derivatizante etoximetilenmalonato de dietilo (EMMDE).

Las muestras de vinos fueron previamente derivatizadas utilizando un tubo de ensayo de tapón roscado, donde se mezclaron 700 μL de tampón borato 1 M ($\text{pH} = 9$), 750 μL de metanol, 400 μL de muestra sin ningún tratamiento previo, 30 μL de patrón interno (ácido L-2-aminoadípico, 1 g L^{-1}) y 12 μL de EMMDE. La reacción de derivatización se desarrolló durante 30 minutos en baño de ultrasonidos. Posteriormente, las muestras fueron calentadas durante dos horas a $80 \text{ }^\circ\text{C}$ para la completa degradación del exceso de EMMDE y sus productos secundarios de reacción. Finalmente, las muestras fueron filtradas con filtros de nylon de $0,45 \mu\text{m}$ de tamaño de poro e inyectadas en el cromatógrafo.

Los análisis se llevaron a cabo en un cromatógrafo HPLC, marca *Agilent modelo 1200*, equipado con una bomba binaria (G1312A), un detector de fotiododo alineados - DAD (G1315D), un inyector automático (G1329A) y un horno de columna (G1316A), y acoplado a una estación de procesamiento de datos *Agilent ChemStation* (versión B.04.01). La separación cromatográfica se desarrolló en una columna ACE 5 C18-HL (250 mm x 4,6 mm; $5,0 \mu\text{m}$) termostaticada a $16 \text{ }^\circ\text{C}$, utilizando el gradiente binario que se muestra en la Tabla 1.4. Como fase móvil se utilizaron los siguientes eluyentes; Eluyente A: tampón borato 25 mM $\text{pH} = 5,8$ con 0,02 % de azida de sodio; Eluyente B: mezcla 80:20 de acetonitrilo/metanol, a un flujo de $0,9 \text{ mL min}^{-1}$. El detector DAD barrió el intervalo de longitudes de ondas comprendido entre 240 y 400 nm. La cuantificación se realizó a tres longitudes de onda diferentes: 269 nm (ion amonio), 300 nm (asparagina, serina y hidroxiprolina) y 280 nm (resto de aminoácidos y aminas biógenas).

Los compuestos de interés se identificaron por comparación de los tiempos de retención y las características espectrales de los picos con la de las sustancias patrones correspondientes. Para la cuantificación, fue utilizado el método del patrón

interno, tras haber preparado rectas de calibrado de cada uno de los compuestos frente al patrón interno.

Tabla 1.4. Gradiente de fase móvil durante el análisis de derivados aminoenonas.

Tempo (min)	0,0	20,0	30,5	33,5	65,0	73,0	78,0	82,0	85,0
Eluyente A (%)	90	90	83	83	60	28	18	0	0
Eluyente B (%)	10	10	17	17	40	72	82	100	100

1.2.9. Análisis de los compuestos fenólicos

1.2.9.1. Preparación de las muestras de vino para el análisis de los compuestos fenólicos no antociánicos

Los pigmentos antociánicos presentes en las muestras de vinos suelen causar interferencias en la separación cromatográfica y en la identificación de compuestos fenólicos no antociánicos. La eliminación casi completa de los pigmentos antociánicos se llevó a cabo por medio de extracción en fase sólida (SPE), mediante la utilización de cartuchos *Oasis*[®] *MCX* de 6 cm³ de capacidad y rellenos con 500 mg de material absorbente de fase inversa e intercambio catiónico. Estos cartuchos permiten así la elución de los flavonoles, ácidos hidroxicinámicos y estilbenos, mientras que los antocianos quedan retenidos.

El procedimiento de preparación de la muestra fue adaptado a partir del método desarrollado por Castillo-Muñoz et al., (2007), que permite la reutilización de los cartuchos *MCX Oasis*, y consta de los siguientes pasos:

a) Acondicionamiento de los cartuchos: una alícuota de 5 mL de metanol fue pasada a través del cartucho con el fin de arrastrar los compuestos de polaridad intermedia que pudieran estar contaminando el relleno. Posteriormente, se lavó con 5 mL de agua Milli-Q.

b) Carga de la muestra: una muestra de 3 mL de vino fue diluida con 3 mL de HCl 0,1 N. En condiciones ácidas las antocianinas están presentes como iones flavilio, por lo que pueden ser retenidas por intercambio iónico cuando pasan a través de los cartuchos. En este paso, el flujo es controlado, lento y constante, para garantizar la retención de todos los compuestos fenólicos, que tienen polaridad intermedia. Los antocianos quedaron retenidos además por intercambio iónico debido a las propiedades del material de los cartuchos. Posteriormente, se llevó a cabo un lavado con 5 mL de HCl 0,1 N y 5 mL de agua Milli-Q.

c) Extracción: la fracción de los flavonoles fue eluída de los cartuchos con 3 x 5 mL de metanol. Esta fracción también contiene otros polifenoles neutros o ácidos (flavan-3-ol o taninos y derivados de ácidos hidroxicinámicos, respectivamente). El eluato se secó en rotavapor a 40 °C y fue redisolto en 3 mL de metanol al 25 % para su inyección en el sistema de HPLC.

d) Regeneración de los cartuchos: los antocianos fijados en la membrana fueron removidos utilizando 3 x 5 mL de amoniaco al 2 % en metanol al 55 %, seguido por 5 mL de amoniaco al 2 % en metanol al 80 %, y el material catiónico fue regenerado con 3 x 5 mL de HCl al 2 % en metanol al 80 %.

1.2.9.2. Determinación de la composición fenólica de los vinos por HPLC-DAD-ESI-MSⁿ

La identificación, separación y cuantificación de los compuestos fenólicos se logró mediante el análisis por cromatografía líquida de alta resolución utilizando un cromatógrafo HPLC modelo *Agilent 1100*, equipado con un detector de fotodiodos alineados - DAD (G1315B) y acoplado a un espectrómetro de masas con trampa iónica (G2445C) VL con sistema de ionización por electroespray (ESI-MSⁿ). Los datos de los espectros fueron procesados a través del software *Agilent ChemStation* (B.01.03) y el programa del *Tap Agilent LC/MS* versión 5.3.

Para la fase estacionaria se utilizó una columna cromatográfica de fase inversa *Agilent Zorbax Eclipse XDB-C18*, de 250 mm de longitud x 4,6 mm de diámetro interno, con 5 µm de tamaño de partícula. Para el análisis de los antocianos y piranoantocianos en la vendimia 2010/2011, fue utilizada una columna *Rapid Resolution Agilent Zorbax Eclipse XDB-C18*, de 150 mm de longitud x 2,6 mm de diámetro interno, con 3,5 µm de tamaño de partícula. Ambas columnas fueron termostatazadas a 40 °C.

Las condiciones cromatográficas para el análisis de los antocianos y piranoantocianos fueron adaptadas del método de la OIV para el análisis de antocianos. Las muestras de vino fueron filtradas a través de filtros de membrana de poliéster con tamaño de poro de 0,20 µm e inyectadas por duplicado, directamente en el cromatógrafo.

En la fase móvil, fueron utilizados los eluyentes descritos a continuación, con gradiente conforme se muestra en la Tabla 1.5:

Eluyente A: 3 % de acetonitrilo + 87 % de agua Milli-Q + 10 % de ácido fórmico.

Eluyente B: 50 % de acetonitrilo + 40 % de agua Milli-Q + 10 % de ácido fórmico.

Cada eluyente se desgasificó por ultrasonidos durante 5 minutos, con el fin de eliminar posibles burbujas que pudieran interferir en el proceso cromatográfico. No obstante, el equipo de HPLC dispone de una cámara de desgasificación previa a la bomba de flujo.

El volumen de inyección fue de 50 µL (10 µL en el caso de usar la columna *Rapid Resolution*) y el rango de longitudes de onda para la detección fue de 200-600 nm.

La cuantificación de los antocianos se realizó usando los cromatogramas obtenidos por el detector DAD a 520 nm de longitud de onda y empleando la recta de calibrado de la malvidina-3-glucósido. En el caso de los piranoantocianos, la cuantificación se realizó usando los cromatogramas obtenidos a 510 nm de longitud de

onda y empleando las rectas de calibrado de la Vitisina A y el 10-dihidroxifenilpiranomalvidin-3-glucósido o Pinotina A.

Tabla 1.5. Gradiente de elución utilizado en el método de análisis de antocianos y piranoantocianos.

Tiempo (min)	% Eluyente A	% Eluyente B	Flujo (mL/min)*
0	94,0	6,0	0,63
15,00	70,0	30,0	0,63
30,00	50,0	50,0	0,63
35,00	40,0	60,0	0,63
38,00	40,0	60,0	0,63
46,00	94,0	6,0	0,63

* Flujo de $0,19 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ en el caso de la columna *Rapid Resolution*.

En algunos casos, para la identificación se utilizó el detector de espectrometría de masas con ionización por electroespray en modo positivo y con analizador de masas multidimensional de trampa iónica (ESI-MSⁿ). El nitrógeno fue utilizado como gas nebulizador y de secado. La adquisición de datos se realizó con el modo SCAN, entre 100 y 1200 *m/z*, con los siguientes parámetros: flujo de N₂ = 11 mL min⁻¹; T^a de secado = 350 °C; presión del nebulizador = 65 psi; voltaje del capilar = - 2500 V; voltaje a la salida del capilar = 70 V; Skimmer 1 = 20 V; Skimmer 2 = 6 V.

Para el análisis de los compuestos fenólicos no antociánicos, se usó la misma columna cromatográfica empleada en el caso de los compuestos antociánicos, pero en este caso fueron utilizados los eluyentes siguientes, con gradiente de elución conforme la Tabla 1.6.

Eluyente A: 3 % de acetonitrilo + 88,5 % de agua Milli-Q + 8,5 % de ácido fórmico;

Eluyente B: 50 % de acetonitrilo + 41,5 % de agua Milli-Q + 8,5 % de ácido fórmico;

Eluyente C: 90 % de metanol + 1,5 % de agua Milli-Q + 8,5 % de ácido fórmico.

Tabla 1.6. Gradiente de elución utilizado en el método de análisis de polifenoles no antocianicos.

Tiempo (min)	% Eluyente A	% Eluyente B	% Eluyente C	Flujo (mL/min)
0	96,0	4,0	0	0,63
7,00	96,0	4,0	0	0,63
38,00	70,0	17,0	13,0	0,63
52,00	50,0	30,0	20,0	0,63
52,50	30,0	40,0	30,0	0,63
57,00	0	50,0	50,0	0,63
58,00	0	50,0	50,0	0,63
65,00	96,0	4,0	0	0,63

El volumen de inyección fue de 50 μ L y el rango de longitudes de ondas para la detección fue de 200 – 600 nm.

Las sustancias fenólicas patrón utilizadas para la identificación de los picos cromatográficos fueron: Flavonoles = 3-glucósidos de quercetina, isorhamnetina, miricetina, siringetina, miricetina y quercetina 3-glucurónido; Ácidos hidroxicinámicos = ácido cafeico y ácido *p*-cumárico; Estilbenos = *trans*-piceido y *trans*-resveratrol. Los isómeros *cis* de ambos los compuestos se obtuvieron mediante irradiación UV (366 nm durante 5 minutos en viales de cuarzo) en disoluciones al 25 % en metanol de los isómeros *trans*.

Para el análisis cuantitativo se utilizaron diferentes rectas de calibrado de las sustancias patrón, que fueron obtenidas a partir de disoluciones con concentraciones crecientes de los diferentes patrones.

La cuantificación de los flavonoles se realizó usando los cromatogramas obtenidos por el detector DAD a 360 nm de longitud de onda y empleando la recta de calibrado de los patrones. Aquellos flavonoles para los que no existe patrón de referencia comercial, fueron cuantificados como el flavonol más similar (por ejemplo, miricetina 3-glucurónido y laricitrina 3-glucósido fueron cuantificados como miricetina

3-glucósido). En el caso de los derivados de ácidos hidroxicinámicos y estilbenos, la cuantificación se realizó usando los cromatogramas obtenidos a 320 nm de longitud de onda.

Al igual que en el caso de los antocianos, en algunos casos, para la identificación fue utilizado el detector de espectrometría de masas con ionización por electroespray en modo positivo y negativo, con analizador de masas multidimensional de trampa iónica (ESI-MSⁿ). El nitrógeno fue utilizado como gas nebulizador y de secado. La adquisición de datos se realizó con el modo SCAN, entre 50 y 1200 *m/z*, con los mismos parámetros del detector de espectrometría de masas utilizado para los antocianos.

La identificación final de los diferentes compuestos se basó en la comparación con las diferentes sustancias patrón, así como de los tiempos de retención, las características espectroscópicas en el UV – Vis y en algunos casos en los espectros de masas registrados.

1.2.10. Análisis sensorial de los vinos

Debido al grande número de muestras y también por no saber si existía o no diferencia entre las muestras de vino, o cual eran estas diferencias, se optó por hacer un análisis sensorial más sencillo, que pudiese diferenciar una muestra de otra. Para ello, fue utilizado el análisis de la Prueba Triangular, que nos permitió identificar las muestras que eran sensorialmente diferentes.

Este análisis consiste en una prueba de diferenciación ó discriminatoria en la que se presentan simultáneamente tres muestras, dos de las cuales son iguales, con el fin de que la persona consultada identifique cual es la muestra desaparejada. Después de la prueba, se recogen las respuestas escritas por los jueces y se interpretan las contestaciones obtenidas de acuerdo a una tabla de probabilidades (Tabla 1.7).

Las muestras de vino fueron preparadas de acuerdo con las posibilidades presentadas a seguir: ABB; AAB; ABA; BAA; BBA; BAB. La respuesta de los catadores

fue basada en el “juicio forzado”, el cual obliga a indicar cuál de las tres muestras es diferente de las otras dos.

Tabla 1.7. Probabilidad de las respuestas correctas para la prueba triangular de acuerdo con el número de respuestas*.

número de respuestas	número mínimo de respuestas correctas para una diferenciación significativa a un nivel de probabilidad de:		
	P _{95%}	P _{99%}	P _{99,9%}
5	4	5	-
6	5	6	-
7	5	6	7
8	6	7	8
9	6	7	8
10	7	8	9

* El número de respuesta puede estar en el rango de 5 hasta 100.

Para la expresión de los resultados se suman las respuestas correctas y el resultado se compara con el de la Tabla de probabilidades (Tabla 1.7), la cual permite concluir si hay diferencias significativas entre las muestras.

1.2.11. Tratamiento estadístico de los resultados

Los resultados obtenidos en los tratamientos con caliza de esquisto (CE) y caliza convencional (CC) fueron sometidos a análisis de varianza y las medias comparadas por el test de Tukey al 5 % de probabilidad de error. Los resultados obtenidos en los tratamientos con los finos de esquisto y caliza de esquistos (matrices MBR09 y MBR13) fueron sometidas a análisis de varianza y como las repeticiones son diferentes entre los tratamientos, las medias fueron comparadas a través de intervalos de confianza, realizadas con el programa *R Development Core Team (2011)*.

1.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1.3.1. EFECTOS DE LA APLICACIÓN DE CALIZA DE ESQUISTO Y CALIZA CONVENCIONAL EN LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS VINOS CABERNET SAUVIGNON

1.3.1.1. Análisis convencionales

Los parámetros enológicos convencionales, tales como, grado alcohólico, acidez volátil, acidez total, pH, SO₂ libre y SO₂ total de los vinos tintos de la variedad Cabernet Sauvignon fueron analizados de acuerdo a los métodos oficiales de la O.I.V descritos anteriormente. La composición general de los vinos sometidos a los tratamientos con caliza de esquisto (CE) y caliza convencional (CC) para las vendimias 2010 y 2011, se muestran en la Tabla 1.8. Todos los resultados se encuentran dentro del intervalo de valores legales para vinos jóvenes de uvas tintas viníferas cultivadas en Brasil.

Tabla 1.8. Análisis convencional de los vinos provenientes de uvas Cabernet Sauvignon sometidas a los diferentes tratamientos con Caliza de Esquisto (CE) y Caliza Convencional (CC) en las vendimias de 2010 y 2011.

	Vino 1		Vino 2		Vino 3		Vino 4		Vino 5		Vino 6	
	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC
	0*	0*	1000*	3000*	2000*	2000*	3000*	1000*	4000*	0*	0*	4000*
Vendimia 2010												
Grado alcohólico ^a	10,5		10,8		10,0		10,3		10,6		10,2	
Acidez volátil ^b	0,57		0,58		0,57		0,54		0,61		0,59	
Acidez total ^c	4,13		4,12		4,05		4,12		4,20		4,12	
pH	3,90		3,90		3,90		3,90		3,90		3,90	
SO ₂ libre ^d	9,00		8,00		7,00		8,00		11,0		9,00	
SO ₂ total ^d	14,0		12,0		15,0		12,0		14,0		14,0	
Vendimia 2011												
Grado alcohólico ^a	11,6		12,1		12,7		11,8		13,7		11,8	
Acidez volátil ^b	0,87		0,64		0,81		0,67		0,89		0,66	
Acidez total ^c	4,75		5,15		4,50		5,25		4,95		5,45	
pH	3,47		3,47		3,49		3,58		3,46		3,51	
SO ₂ libre ^d	16,5		16,0		17,5		19,5		18,0		16,0	
SO ₂ total ^d	19,5		19,0		21,5		23,5		23,4		21,4	

* Kilogramos por hectárea; ^a % volumen; ^b g L⁻¹ ácido acético; ^c g L⁻¹ ácido tartárico; ^d mg L⁻¹

Los resultados muestran que no hubo grandes variaciones en la concentración de los parámetros convencionales con los distintos tratamientos de abonado aplicados. Los pequeños cambios encontrados parecen estar más influenciados por las vendimias o por las vinificaciones que por los tratamientos de abonado.

El etanol es el producto mayoritario de la fermentación alcohólica y sus concentraciones en los vinos están directamente relacionadas con la cantidad de azúcar producida por la uva, y ésta, a su vez, depende principalmente del grado de maduración de la misma en el momento de la vendimia. Durante el ciclo reproductivo de la viña, que comprende aproximadamente los meses de octubre a marzo, hemos identificado una mayor precipitación pluvial en la añada de 2010 que en 2011 (ver Figura 1.4. en Material y métodos), lo que representa una menor maduración de las uvas que podría explicar el menor grado alcohólico de los vinos en la vendimia 2010.

La acidez volátil hace referencia a un grupo de ácidos volátiles de cadena corta, en que el ácido acético es el principal constituyente, correspondiendo a un 90 % del total de ácidos volátiles presentes en el vino. Sus concentraciones en los vinos se encuentran generalmente entre $0,5 - 1,0 \text{ g L}^{-1}$, lo que representa del 10 % al 15 % de la acidez total (FLANZY, 2000). La Legislación de los países vinícolas especifica las concentraciones máximas de ácido acético permitido en los vinos. En Brasil, así como en la Unión Europea, el límite legal de la acidez volátil en los vinos tintos de mesa es de $1,2 \text{ g L}^{-1}$ de ácido acético. Todos nuestros vinos están dentro de la Legislación vigente, aunque algunas muestras presentan valores relativamente elevados, principalmente en la vendimia 2011, lo que puede representar una evaluación negativa por parte de los consumidores. El umbral de aroma para el ácido acético varía de acuerdo con el tipo de vino y la sensibilidad del consumidor, está en el rango de $0,6$ a $0,9 \text{ g L}^{-1}$ y presenta un aroma fuertemente avinagrado (FALCÃO et al., 2007).

El pH es uno de los parámetros más importantes para los vinos tintos, pues además de intervenir en el color, ejerce un efecto pronunciado sobre el gusto, siendo los vinos con pH elevados más susceptibles a las alteraciones oxidativas y biológicas.

No hemos encontrado ninguna influencia de los tratamientos en los valores del pH de los vinos. Sin embargo, todas las muestras de vino presentan valores relativamente elevados, estando algunas de ellas por encima de los considerados óptimos, que van de 3,0 a 3,6 según Amerine & Ough (1972).

En cuanto al sulfuroso, este se añade a los vinos debido a sus acciones antioxidantes, antisépticas, floculantes y de selección del medio fermentativo, entre otras. Sus contenidos son legislados y no pueden exceder determinados valores en los vinos finales. De este modo, en el caso del vino tinto, los límites legales establecidos por para el sulfuroso libre y para el sulfuroso total son de 30 mg L⁻¹ y 160 mg L⁻¹, respectivamente, valores que no son superados en ningún caso por nuestros vinos.

1.3.1.2. Efecto de los tratamientos de abonado con caliza de esquisto y caliza convencional en los compuestos fenólicos de los vinos

Compuestos fenólicos no antociánicos

Los ácidos hidroxicinámicos, los estilbenos y los flavonoles forman parte de la fracción de los compuestos fenólicos no antociánicos que fueron encontrados en las muestras de vinos analizadas (Tabla 1.9 y 1.10). Estos compuestos son de gran importancia para la calidad general de los vinos, estando directamente relacionados con la variedad de uva, el nivel de maduración y las prácticas enológicas relacionadas con su extracción del hollejo (GÓMEZ-ALONZO et al., 2007).

Los **ácidos hidroxicinámicos** encontrados en nuestros vinos fueron el ácido cafeico y el ácido *p*-cumárico en forma libre, seguida de sus formas esterificadas con el ácido tartárico, *trans*-ácido caftárico y *cis* y *trans*-ácido cutárico, y esterificadas con etanol, cafeoato de etilo y cumarato de etilo. Estos compuestos forman la principal clase de compuestos fenólicos no antociánicos presentes en los vinos estudiados. Se han encontrado algunas variaciones en la concentración individual de los ácidos hidroxicinámicos en la vendimia 2010 según el tipo de tratamiento, siendo el vino 1 (control) semejante al vino 6 (tratado con caliza convencional) los que más

concentración presentaron de estos compuestos (Tabla 1.9). Sin embargo, estas variaciones no fueron identificadas en la vendimia 2011, en las que las cantidades de estos ácidos fueron superiores a la vendimia anterior, especialmente en el vino 6 (Tabla 1.10). El ácido cafeico y el ácido *p*-cumárico fueron los compuestos mayoritarios en todas las muestras de las dos vendimias. Estos ácidos aparecen en el vino como consecuencia de la hidrólisis de sus respectivos ácidos hidroxicinamoiltartáricos (ácido caftárico y ácido cutárico) presentes en las uvas (HERMOSÍN-GUTIÉRREZ et al., 2005). Este proceso de hidrólisis ha sido descrito como un proceso lento que se produce durante las etapas de envejecimiento del vino (KARAGIANNIS et al., 2000). Sin embargo, hemos encontrado que la hidrólisis de los ácidos hidroxicinamoiltartáricos en nuestros vinos era casi completa, principalmente en la vendimia 2010. Herмосín-Gutiérrez et al., (2005) observaron resultados semejantes en vinos de las variedades Cabernet Sauvignon, Cencibel y Syrah, donde la hidrólisis de estos ácidos fue casi completa al final de tres meses de envejecimiento. Estos mismos autores indican que una posible explicación para la aceleración de este proceso de hidrólisis podría ser las temperaturas de almacenamiento del vino relativamente altas, alrededor de 16 °C a 18 °C.

Los **estilbenos** forman el grupo minoritario de compuestos fenólicos no antociánicos en los vinos analizados. Como en el caso de los ácidos hidroxicinámicos, se han encontrado diferencias significativas entre las muestras procedentes de distintos tratamientos de la vendimia 2010 (Tabla 1.9), sin que estas diferencias sean identificadas en las muestras de la vendimia 2011 (Tabla 1.10). Siendo así, no podemos establecer una influencia de los diferentes tipos de abonados en las concentraciones de estos compuestos. También hemos encontrado una mayor concentración total de estilbenos en la añada de 2011 frente a la de 2010. Este hecho puede ser atribuible a la calidad de la uva en el momento de la vendimia. Además de la variedad de uva utilizada, hay otros factores que pueden influenciar en las diferentes concentraciones de estilbenos en los vinos, tales como los procedimientos de

vinificación, las condiciones climáticas en los viñedos y el ataque de hongos en las uvas (FANZONE et al., 2012). Como hemos visto anteriormente, hubo un mayor acumulo de lluvias en los períodos de maduración de las uvas en la vendimia de 2010, y por consecuencia, estas uvas tenían un grado de maduración inferior a las uvas de la vendimia 2011, lo que podría explicar las diferencias en las concentraciones totales de estilbenos entre las vendimias. El *cis*-resveratrol fue el compuesto mayoritario encontrado en ambas vendimias, seguido por el *trans*-resveratrol. Estos resultados van en contra a los encontrados en la bibliografía, donde el *trans*-resveratrol es encontrado en mayores cantidades que el *cis*-resveratrol, aunque en nuestras muestras, las concentraciones de ambos compuestos son más altas (LÓPEZ et al., 2009; LI et al., 2011; BAI et al., 2013). De una manera general, las concentraciones elevadas de resveratrol en los vinos analizados son de gran importancia por los ya comprobados beneficios de estos compuestos en la salud humana debido a su efecto cardioprotector (FERNÁNDEZ-MAR et al., 2012).

En cuanto a los **flavonoles**, su importancia en los vinos tintos radica en sus propiedades beneficiosas para la salud y a su contribución a la estabilidad del color por participar en los fenómenos de copigmentación con antocianinas (GÓMEZ-ALONSO et al., 2007). Un total de once flavonoles en la vendimia 2010 y doce en la vendimia 2011 fueron cuantificados en los vinos (Tablas 1.9 y 1.10). El vino 2, tratado con caliza de esquisto y caliza convencional fue la muestra que presentó mayores concentraciones de flavonoles en la vendimia 2010, aunque este resultado no fue el mismo en la vendimia 2011, en la que esta muestra obtuvo una menor cantidad de estos compuestos. Independientemente de esto, aunque hay diferencias estadísticamente significativas en alguna muestra de ambas vendimias, las concentraciones individuales de cada flavonol no han cambiado mucho. La miricetina fue el flavonol mayoritario encontrado en todas las muestras de vino, seguido por la quercetina y la quercetina glucurónido. Estos resultados están de acuerdo con los encontrados en la bibliografía. Según Bai et al., (2013), la quercetina y sus derivados

fueron los flavonoles dominantes en los vinos Cabernet Sauvignon sometidos a diferentes métodos de fermentación, seguidos de cerca por la miricetina y sus derivados. Fanzone et al., (2012) apuntan que la quercetina y la miricetina corresponden a casi el 60 % del total de flavonoles presentes en vinos Cabernet Sauvignon producidos en Argentina. Li et al., (2011) encontraron una dominancia de la quercetina y sus derivados en vinos Cabernet Sauvignon producidos en diferentes regiones de China y Hermosín-Gutiérrez et al., (2005) apuntan a la quercetina glucurónido y la quercetina-3-glucósido como los flavonoles dominantes en los vinos Cabernet Sauvignon producidos en España. También hemos verificado la formación de miricetina-3-galactósido solo en las muestras de vinos de la vendimia 2011, no siendo identificada en las muestras de la vendimia 2010. Otro hecho importante verificado en los vinos fue las diferencias encontradas en las concentraciones de siringetina y siringetina-3-glucósido. En las muestras de la vendimia 2010 (Tabla 1.9), la concentración de siringetina es bastante elevada, mientras que la concentración de siringetina-3-glucósido es relativamente baja. Sin embargo, estos resultados se invierten en la vendimia 2011 (Tabla 1.10), donde existe una mayor concentración de siringetina-3-glucósido en comparación con la siringetina individual. Este hecho puede ser atribuible al mayor grado de hidrólisis de estos compuestos en los vinos de la vendimia 2010.

Tabla 1.9. Concentración media y diferencia significativa honesta (DSH) de los compuestos fenólicos no antocianicos: derivados de ácidos hidroxicinámicos (equivalente mg L⁻¹ de ácido cafeico** y equivalente mg L⁻¹ de ácido cumárico***), estilbenos (µmoles L⁻¹) y flavonoles (µmoles L⁻¹) en los vinos tratados con caliza de esquisto y caliza convencional en la vendimia 2010.

	Vino 1		Vino 2		Vino 3		Vino 4		Vino 5		Vino 6		DSH
	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	
	0*	0*	1000*	3000*	2000*	2000*	3000*	1000*	4000*	0*	0*	4000*	
Ácidos hidroxicinámicos													
<i>trans</i> -ácido caftárico**	4,67 C		6,36 B		4,50 C		6,38 B		7,23 A		7,54 A		0,32
<i>trans</i> -ácido cutárico***	1,88 C		2,20 ABC		2,35 AB		2,39 A		2,05 BC		2,29 AB		0,32
<i>cis</i> -ácido cutárico***	2,13 A		1,82 C		2,02 AB		1,90 BC		1,86 BC		1,95 BC		0,16
ácido cafeico**	28,97 A		20,48 C		17,74 E		19,09 D		20,39 C		24,86 B		0,48
<i>p</i> -ácido cumárico***	17,38 A		6,80 C		15,21 B		15,11 B		16,72 A		16,92 A		1,36
cafeoato de etilo**	3,40 AB		3,12 B		3,10 B		3,37 AB		3,53 A		3,32 AB		0,36
cumarato de etilo***	3,39 C		3,09 D		3,26 C		3,72 AB		3,85 A		3,67 B		0,16
<i>Total</i>	61,85 A		43,89 E		48,21 D		51,98 C		55,63 B		60,56 A		1,52
Estilbenos													
<i>trans</i> -piceido	1,36 A		1,10 B		1,29 AB		1,25 AB		1,19 AB		1,21 AB		0,21
<i>trans</i> -resveratrol	3,55 B		4,62 A		2,55 C		2,42 C		2,44 C		2,49 C		0,70
<i>cis</i> -resveratrol	11,33 AB		10,42 B		10,79 AB		10,42 B		10,65 AB		12,55 A		2,02
<i>Total</i>	16,24 A		16,15 A		14,62 AB		14,09 B		14,28 AB		16,26 A		2,01
Flavonoles													
miricetina-3-glucuronido	1,18 B		1,84 A		1,15 B		1,14 B		1,10 B		1,20 B		0,16
miricetina-3-glucósido	0,00 C		2,13 A		0,00 C		0,00 C		0,00 C		1,09 B		0,12
quercetina glucurónido	6,69 B		11,72 A		6,20 C		6,32 C		5,47 D		6,92 B		0,34
quercetina glucósido	0,00 C		1,49 A		0,58 B		0,64 B		0,63 B		0,52 B		0,21
miricetina	11,69 CD		23,10 A		14,94 B		15,94 B		11,12 D		14,48 BC		3,18
isorhamnetina glucósido	0,00 D		1,61 A		0,62 BC		0,62 BC		0,50 C		0,74 B		0,21
siringetina glucósido	0,00 E		4,70 A		2,46 C		2,30 C		0,91 D		3,89 B		0,67
quercetina	6,49 C		22,31 A		10,44 B		10,56 B		4,69 C		4,03 C		3,27
laricitrina	2,23 B		3,56 A		2,98 AB		3,27 AB		2,03 B		2,48 AB		1,26
isorhamnetina	1,39 B		4,00 A		2,31 AB		2,25 AB		1,13 B		1,36 B		1,96
siringetina	4,47		4,54		5,92		6,53		5,38		3,77		5,90
<i>Total</i>	34,16 C		81,00 A		47,64 BC		49,58 B		32,98 C		40,52 BC		15,25

Letras diferentes en la línea difieren al nivel de 5% de probabilidad de error, por el teste de Tukey.

* Kilogramos por hectárea

Tabla 1.10. Concentración media y diferencia significativa honesta (DSH) de los compuestos fenólicos no antociánicos: derivados de ácidos hidroxicinámicos (equivalente mg L⁻¹ de ácido cafeico** y equivalente mg L⁻¹ de ácido cumárico***), estilbenos (µmoles L⁻¹) y flavonoles (µmoles L⁻¹) en los vinos tratados con caliza de esquistos y caliza convencional en la vendimia 2011.

	Vino 1		Vino 2		Vino 3		Vino 4		Vino 5		Vino 6		DSH
	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	
	0*	0*	1000*	3000*	2000*	2000*	3000*	1000*	4000*	0*	0*	4000*	
Ácidos hidroxicinámicos													
<i>trans</i> -ácido caftárico**	10,72		11,27		13,21		16,64		20,32		11,92		15,50
<i>trans</i> -ácido cutárico***	6,21		5,32		6,09		8,57		11,41		5,56		8,93
<i>cis</i> -ácido cutárico***	2,75		2,61		2,52		2,56		2,51		2,67		0,44
ácido cafeico**	52,98		49,89		57,74		40,23		35,75		71,18		38,58
<i>p</i> -ácido cumárico***	28,27		30,75		31,35		26,30		24,04		35,76		16,08
cafeoato de etilo**	5,47 B		5,78 B		6,09 B		5,89 B		5,84 B		7,07 A		0,96
cumarato de etilo***	5,95 B		6,61 AB		6,83 AB		6,65 AB		5,60 AB		7,24 A		1,17
<i>Total</i>	112,40		112,20		123,80		107,10		106,50		141,40		70,09
Estilbenos													
<i>trans</i> -piceido	2,66		3,22		2,74		2,53		2,72		3,58		1,40
<i>trans</i> -resveratrol	12,86		10,49		10,34		10,29		14,31		13,38		8,44
<i>cis</i> -resveratrol	22,88		22,89		23,81		23,25		22,67		22,94		3,59
<i>Total</i>	38,40		36,61		36,90		36,08		39,70		39,91		10,60
Flavonoles													
miricetina-3-glucuronido	1,03 AB		0,87 AB		0,88 AB		1,15 A		1,01 AB		0,77 B		0,29
miricetina-3-galactósido	1,00		0,93		0,93		0,81		0,73		0,93		0,39
miricetina-3-glucósido	4,14		5,01		4,66		4,75		4,47		3,33		1,90
quercetina glucurónido	7,84 A		6,19 B		6,08 B		6,74 B		6,52 B		6,29 B		0,72
quercetina glucósido	0,85 AB		0,93 AB		1,03 A		0,82 AB		0,90 AB		0,69 B		0,27
miricetina	11,77 BC		9,85 C		10,87 C		14,15 A		12,93 AB		10,10 C		2,02
isorhamnetina glucósido	1,20 A		1,25 A		1,16 AB		0,99 AB		1,00 AB		0,91 B		0,28
siringetina glucósido	5,06		4,82		4,89		5,26		4,98		4,54		0,74
quercetina	5,94 C		6,13 BC		6,99 BC		7,36 AB		8,62 A		5,69 C		1,39
laricitrina	1,10		0,84		0,92		1,03		0,97		0,81		0,37
isorhamnetina	1,04 ABC		0,86 C		1,06 AB		1,08 AB		1,11 A		0,87 BC		0,19
siringetina	1,06		0,88		0,98		0,91		0,94		0,88		0,24
<i>Total</i>	42,04 AB		38,59 BC		40,47 ABC		45,06 A		44,20 AB		35,84 C		5,95

Letras diferentes en la línea difieren al nivel de 5% de probabilidad de error, por el teste de Tukey.

* Kilogramos por hectárea

En la Figura 1.6 se representan las concentraciones totales de compuestos fenólicos no antocianicos en los vinos de las dos vendimias. La concentración de estos compuestos fue mayor en los vinos de la vendimia 2011, siendo muy semejantes las cantidades globales en todas las muestras. En la vendimia 2010 destaca el vino 2 con una mayor concentración y el vino 5 en el que las concentraciones fueron menores.

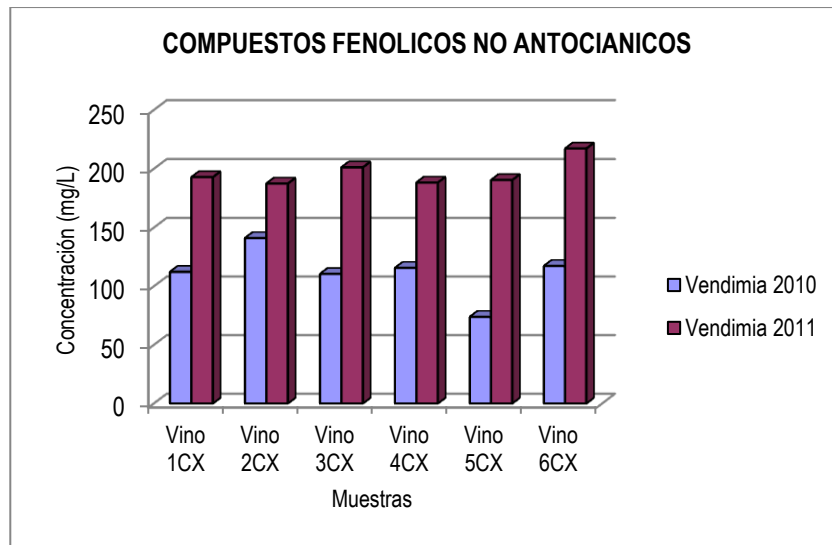


Figura 1.6. Compuestos fenólicos no antocianicos de los vinos tratados con caliza de esquisto y caliza convencional en las vendimias 2010 y 2011.

Efecto de los tratamientos de abonado con caliza de esquisto y caliza convencional sobre la composición de antocianos y piranoantocianos del vino

Los antocianos son los principales pigmentos responsables del color de las uvas tintas. Estos pigmentos se encuentran en las capas celulares superiores de la hipodermis, en forma libre en las vacuolas o en estructuras llamadas antocianoplastos (GONZÁLEZ-NEVEZ et al., 2007). Las formas monómeras de los antocianos son responsables de la mayor parte del color rojo de los vinos tintos jóvenes y contribuyen al desarrollo de pigmentos poliméricos rojos durante el envejecimiento de los vinos (REVILLA et al., 2005; MONAGAS et al., 2006; LÓPEZ et al., 2009). Los piranoantocianos son derivados antocianicos más complejos de particular interés en enología, ya que presentan una gran estabilidad durante los períodos de crianza, son

más resistentes que los antocianos a valores de pH elevados y al blanqueo producido por el bisulfito, además de expresar más color que otros pigmentos al pH típico de los vinos (MONAGAS et al., 2003).

Un total de doce **antocianos** han sido encontrados en las muestras de vinos analizadas y son mostrados en las Tablas 1.11 y 1.12. De estos, cinco fueron los antocianos monómeros glucosilados (delfinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina), otros cinco representan sus formas acetiladas y solo dos antocianos cumaorilados, peonidina 3-(6"-cumaroil)-glucósido y malvidina 3-(6"-cumaroil)-glucósido, fueron encontrados, de forma que ningún antociano acilado con el ácido cafeico fue identificado en los vinos. Entre las formas no aciladas, la malvidina 3-glucósido fue el antociano más abundante encontrado en todas las muestras de vinos de ambas las vendimias, mientras que la cianidina 3-glucósido fue la encontrada en menores proporciones. Este hecho confirma el comportamiento observado por estos dos compuestos en vinos de la variedad Cabernet Sauvignon en estudios anteriores (HERMOSÍN-GUTIÉRREZ et al., 2005; GONZÁLEZ-NEVEZ et al., 2007; FANZONE et al., 2012). Entre las formas acetiladas, la malvidina 3-(6"-acetil)-glucósido fue el antociano predominante, resultado que está de acuerdo con los encontrados por López et al., (2009). También se ha identificado una mayor concentración total de antocianos en la vendimia de 2011, con relación a la vendimia 2010. Es bien sabido que la concentración inicial de antocianos en los vinos proviene en gran parte de la concentración de antocianos en sus respectivas uvas. El contenido de antocianos en las uvas depende de la variedad y del grado de maduración de las mismas (GONZÁLEZ-NEVEZ et al., 2007), que a su vez, están influenciados por los factores ambientales tales como luz UV-Vis, temperatura, lluvias, etc., y de gestión vitícola tales como la nutrición de la viña, poda, el riego, etc. (HUNTER et al., 1995; MAZZA, 1995; CARMO-VASCONCELOS & CASTAGNOLI, 2000). Hemos relatado anteriormente que las condiciones climáticas en la vendimia 2011 fueron mejores que en la vendimia 2010, hecho que puede explicar la variación en la concentración de antocianos entre

ambas vendimias. Sin embargo, los diferentes tipos de abonados parecen no influenciar en la concentración de los antocianos en los vinos, ya que los cambios encontrados no son los mismos entre una vendimia y otra para una misma muestra.

Los **piranoantocianos** son aductos de colores rojo anaranjados, resultantes de reacciones de condensación sobre los antocianos, los cuales se modifican para dar lugar a oligómeros más estables a partir de sustituciones en la posición C-4. No están presentes en las uvas, sino que se forman en el curso de la fermentación alcohólica y en las etapas subsiguientes de elaboración (BAKKER et al., 1997; ROMERO & BAKKER, 2000). Todos los piranoantocianos encontrados en nuestros vinos son derivados del principal antociano monómero (malvidina 3-glucósido) y de sus formas acetiladas, de forma que algunas formas cumaroiladas solo fueron identificadas en la vendimia 2010 (Tabla 1.12). No hemos identificado ninguna influencia de los tratamientos de abonado en las concentraciones de piranoantocianos en los vinos, aunque pequeñas diferencias fueron encontradas entre las muestras de la vendimia 2011.

La concentración de **vitisinas** en los vinos se muestra en las Tablas 1.11 y 1.12. La vitisina A se forma por cicloadición de una molécula de ácido pirúvico sobre una molécula de antociano y fue uno de los primeros pigmentos del tipo oligomérico identificado en los vinos. Su formación es rápida, siendo predominante en los vinos jóvenes (BAKKER et al., 1997; JONES et al., 2003). La vitisina A fue la mayoritaria encontrada en las muestras de vino estudiadas. La vitisina B se forma por la cicloadición de una molécula de acetaldehído sobre una molécula de antociano. El acetaldehído reacciona preferentemente con el antociano acetilado y en menor medida, con el cumaroilado (ALCALDE-EÓN et al., 2005). La vitisina B fue identificada solo en las muestras de la vendimia 2011, contribuyendo de forma directa a la mayor concentración total de vitisinas en las muestras de vino de esta vendimia.

Tabla 1.11. Concentración media (mg L⁻¹) y diferencia significativa honesta (DSH) de las antocianinas y piranoantocianos identificadas por HPLC-MSⁿ en los vinos tratados con caliza de esquisto y caliza convencional en la vendimia 2010.

	Vino 1		Vino 2		Vino 3		Vino 4		Vino 5		Vino 6		DSH
	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	
	0*	0*	1000*	3000*	2000*	2000*	3000*	1000*	4000*	0*	0*	4000*	
delfinidina 3-glucósido	1,76 D		3,45 A		2,12 C		2,11 C		2,08 C		2,21 B		0,08
cianidina 3-glucósido	0,92 BC		1,18 A		0,85 D		0,91 C		0,96 B		0,84 D		0,04
petunidina 3-glucósido	3,49 C		5,12 A		3,40 D		3,67 B		3,66 B		3,65 B		0,06
peonidina 3-glucósido	4,65 D		5,76 A		4,39 E		4,74 C		4,80 B		4,42 E		0,06
malvidina 3-glucósido	49,55 E		56,97 A		49,87 D		53,34 B		53,12 B		52,72 C		0,29
delfinidina 3-(6"-acetil)-glucósido	2,34 D		3,22 A		2,44 C		2,46 BC		2,47 BC		2,54 B		0,09
cianidina 3-(6"-acetil)-glucósido	1,53 B		1,83 A		1,41 C		1,43 C		1,55 B		1,56 B		0,09
petunidina 3-(6"-acetil)-glucósido	2,35 C		2,89 A		2,43 BC		2,22 D		2,38 C		2,49 B		0,10
peonidina 3-(6"-acetil)-glucósido	4,18 E		4,44 C		4,29 D		4,26 D		4,71 B		5,02 A		0,06
malvidina 3-(6"-acetil)-glucósido	21,43 D		25,20 A		21,23 E		22,34 C		22,98 B		25,26 A		0,13
peonidina 3-(6"-cumaroil)-glucósido	0,91 D		1,46 A		1,16 C		1,21 BC		1,26 B		1,20 C		0,05
malvidina 3-(6"-cumaroil)-glucósido	2,98 BCD		3,86 A		3,05 B		2,91 D		2,99 BC		2,96 CD		0,07
<i>Total</i>	<i>96,13 E</i>		<i>115,40 A</i>		<i>96,66 E</i>		<i>101,60 D</i>		<i>103,00 C</i>		<i>104,90 B</i>		<i>0,62</i>
10-catequil-piranomalvidin-3-glucósido	1,27 B		1,28 B		1,43 A		1,29 AB		1,07 C		1,35 AB		0,14
10-catequil-piranomalvidin-3-(6"-acetil)-glucósido	0,79 AB		0,83 A		0,84 A		0,76 AB		0,68 B		0,78 AB		0,14
10-hidroxi-piranomalvidin-3-glucósido	0,79		0,77		0,74		0,76		0,76		0,78		0,13
10-catequil-piranomalvidin-3-(6"-cumaroil)-glucósido	0,25		0,27		0,25		0,28		0,23		0,28		0,06
10-hidroxi-piranomalvidin-3-(6"-acetil)-glucósido	0,50		0,50		0,47		0,46		0,48		0,47		0,16
10-hidroxi-piranomalvidin-3-(6"-cumaroil)-glucósido	0,09		0,10		0,08		0,09		0,10		0,09		0,05
<i>Total</i>	<i>3,71</i>		<i>3,77</i>		<i>3,82</i>		<i>3,65</i>		<i>3,33</i>		<i>3,75</i>		<i>0,65</i>
vitisina A	5,71 CD		6,46 A		5,91 BC		5,62 DE		6,01 B		5,44 E		0,22
acetil vitisina A	6,07 A		6,23 A		5,50 BC		5,35 C		5,61 B		5,51 BC		0,17
<i>Total</i>	<i>11,78 B</i>		<i>12,69 A</i>		<i>11,42 C</i>		<i>10,98 D</i>		<i>11,63 BC</i>		<i>10,96 D</i>		<i>0,31</i>

Letras diferentes en la línea difieren al nivel de 5% de probabilidad de error, por el teste de Tukey.

* Kilogramos por hectárea

Tabla 1.12. Concentración media (mg L⁻¹) y diferencia significativa honesta (DSH) de las antocianinas y piranoantocianos identificadas por HPLC-MSⁿ en los vinos tratados con caliza de esquisto y caliza convencional en la vendimia 2011.

	<i>Vino 1</i>		<i>Vino 2</i>		<i>Vino 3</i>		<i>Vino 4</i>		<i>Vino 5</i>		<i>Vino 6</i>		<i>DSH</i>
	<i>CE</i>	<i>CC</i>	<i>CE</i>	<i>CC</i>	<i>CE</i>	<i>CC</i>	<i>CE</i>	<i>CC</i>	<i>CE</i>	<i>CC</i>	<i>CE</i>	<i>CC</i>	
	<i>0*</i>	<i>0*</i>	<i>1000*</i>	<i>3000*</i>	<i>2000*</i>	<i>2000*</i>	<i>3000*</i>	<i>1000*</i>	<i>4000*</i>	<i>0*</i>	<i>0*</i>	<i>4000*</i>	
delfinidina 3-glucósido	4,25 B		4,70 B		4,87 B		6,79 A		5,35 AB		4,49		1,78
cianidina 3-glucósido	0,57 B		0,55 B		0,65 B		0,86 A		0,62 B		0,60 B		0,16
petunidina 3-glucósido	5,58 B		6,12 B		6,64 AB		8,61 A		6,85 AB		6,00 B		2,33
peonidina 3-glucósido	7,04 B		6,81 B		7,22 B		8,81 A		6,99 B		6,91 B		1,36
malvidina 3-glucósido	78,78 BC		75,68 BC		80,57 B		93,31 A		77,50 BC		68,36 C		12,01
delfinidina 3-(6"-acetil)-glucósido	4,60		5,14		4,94		5,07		5,48		4,20		1,72
cianidina 3-(6"-acetil)-glucósido	3,62		3,55		3,70		3,51		3,51		2,99		0,88
petunidina 3-(6"-acetil)-glucósido	4,28		4,60		4,88		4,77		5,21		3,90		1,67
peonidina 3-(6"-acetil)-glucósido	9,74		9,20		9,11		8,64		9,12		8,40		2,30
malvidina 3-(6"-acetil)-glucósido	48,69		46,33		45,54		46,16		45,11		36,98		13,38
peonidina 3-(6"-cumaroil)-glucósido	1,19 AB		1,36 AB		1,43 AB		1,50 A		1,40 AB		1,13 B		0,34
malvidina 3-(6"-cumaroil)-glucósido	4,07 AB		4,33 AB		4,52 AB		4,84 A		4,62 A		3,51 B		1,09
<i>Total</i>	<i>172,40 AB</i>		<i>168,40 AB</i>		<i>174,10 AB</i>		<i>192,90 A</i>		<i>171,80 AB</i>		<i>147,50 B</i>		<i>36,87</i>
10-catequil-piranomalvidin-3-glucósido	0,80 C		1,50 AB		1,67 AB		1,60 AB		1,29 B		1,82 A		0,46
10-catequil-piranomalvidin-3-(6"-acetil)-glucósido	0,84		0,85		0,94		0,87		0,77		1,08		0,34
10-hidroxi-piranomalvidin-3-glucósido	0,97		0,98		1,09		1,18		1,18		1,09		0,27
10-hidroxi-piranomalvidin-3-(6"-acetil)-glucósido	0,63 B		0,63 B		0,76 AB		0,81 A		0,80 A		0,71 AB		0,14
<i>Total</i>	<i>3,24 C</i>		<i>3,95 BC</i>		<i>4,46 AB</i>		<i>4,46 AB</i>		<i>4,04 AB</i>		<i>4,71 A</i>		<i>0,72</i>
vitisina A	7,09		7,47		7,97		8,05		7,99		7,06		1,17
vitisina B	5,69 AB		5,47 B		6,42 AB		6,52 A		6,01 AB		6,15 AB		0,96
acetil vitisina A	7,03 B		6,73 B		7,47 AB		8,24 A		6,96 B		6,81 B		1,16
<i>Total</i>	<i>19,81 B</i>		<i>19,68 B</i>		<i>21,86 AB</i>		<i>22,82 A</i>		<i>20,96 AB</i>		<i>20,02 B</i>		<i>2,65</i>

Letras diferentes en la línea difieren al nivel de 5% de probabilidad de error, por el teste de Tukey.

* Kilogramos por hectárea

En la figura 1.7 se representa el sumatorio de concentraciones de todos los compuestos antociánicos y de los piranoantocianos de las muestras en ambas vendimias. Se observan pocas diferencias entre las muestras, siendo el vino 2 el que presentó más concentración en la vendimia 2010 y el vino 4 en la vendimia 2011, en la que como se ha comentado anteriormente se observaron mayores cantidades totales de compuestos fenólicos.

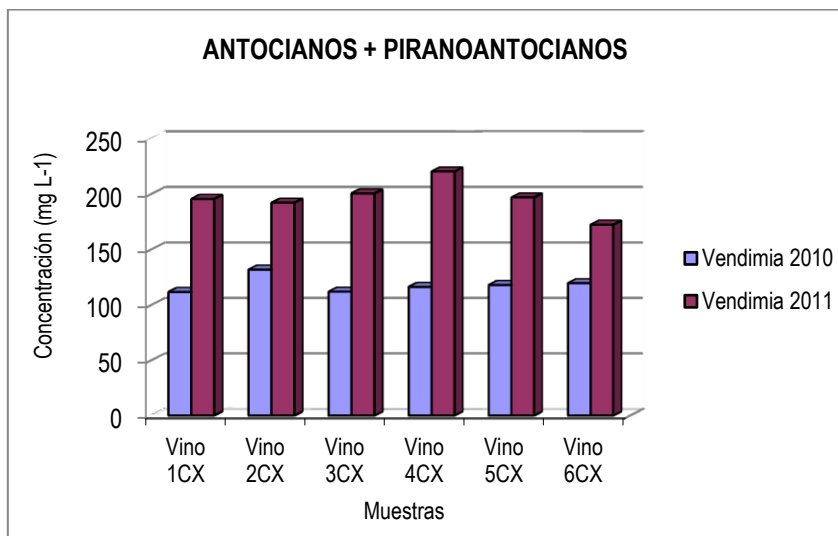


Figura 1.7. Sumatorio de los compuestos fenólicos antociánicos de los vinos tratados con caliza de esquisto y caliza convencional en las vendimias 2010 y 2011.

1.3.1.3. Efecto de la aplicación de caliza de esquisto y caliza convencional en la composición aminoacídica de los vinos

Aminoácidos

Los aminoácidos corresponden aproximadamente al 40 % del nitrógeno total presente en los vinos tintos (SOUFLEROS et al, 2003). Son utilizados como nutrientes por las levaduras durante la fermentación alcohólica, además de participar en el metabolismo de las bacterias lácticas durante la fermentación maloláctica.

En general, el contenido total de aminoácidos presente en los vinos depende de varios factores, en especial, de la variedad, del portainjerto, de la fertilización de la viña, de las condiciones climáticas, de la localización geográfica del viñedo, del año de

vendimia y de las prácticas vitícolas empleadas, además de factores enológicos asociados al proceso de vinificación como el tiempo de maceración, el tipo de fermentación, el almacenamiento, la crianza, etc. (SOUFLEROS et al., 1998; SOUFLEROS et al., 2003; HERNÁNDEZ-ORTE et al., 2005; BAUZA, et al., 2007; PEREIRA et al., 2008; BARRADO et al., 2009; GARDE-CERDÁN et al., 2009).

Las Tablas 1.13 y 1.14 muestran las concentraciones de los aminoácidos presentes en las muestras de vino tinto joven Cabernet Sauvignon sometidas a los diferentes tratamientos de abonado. Un total de 24 aminoácidos han sido identificados en ambas vendimias. La prolina fue el aminoácido mayoritario encontrado en todas las muestras de vino. Según Robert-Peillard et al., (2014), la prolina es el aminoácido más abundante encontrado en los vinos y juega un papel importante en el proceso de maduración de la uva y en las características del vino. Los tratamientos de abonado parecen afectar en parte los niveles de prolina en los vinos. En este sentido, evaluando la vendimia 2010, cabe señalar las diferencias significativas encontradas en la concentración de prolina en la muestra identificada como vino 4 (786,30 mg L⁻¹) frente la concentración de prolina de la muestra identificada como vino 5 (463,70 mg L⁻¹) (Tabla 1.13). Este mismo comportamiento se repite en la vendimia 2011, en que niveles más altos de prolina son encontrados en la muestra de vino 4 (697,60 mg L⁻¹) y los más bajos en las muestras de vino 5 (477,90 mg L⁻¹) (Tabla 1.14). La gran variación en el contenido de prolina en estas dos muestras probablemente proviene de los niveles de prolina en la uva y en el mosto resultante, que pueden estar influenciados por la fertilización nitrogenada de las viñas. Una de las características que nuestras fuentes de abonado posee, se refiere a la regulación del pH del suelo. En pH óptimos, hay una mayor disponibilidad de nutrientes para las plantas. Según Rosolem et al., (2003), la técnica de encalado aumenta la mineralización y nitrificación del nitrógeno en los suelos, aumentando su disponibilidad en las plantas, independiente de la forma de aplicación de las calizas. Parece que las fuentes de abonado utilizadas en la muestra de vino 4 (3000 Kg ha⁻¹ de CE + 1000 Kg ha⁻¹ de CC) han proporcionado una

mayor disponibilidad de nutrientes para las viñas, en especial, de nitrógeno, que las fuentes de abonado utilizadas en la muestra de vino 5 (4000 Kg ha⁻¹ de CE + 0,00 Kg ha⁻¹ de CC). La mayor disponibilidad de nitrógeno en las viñas incrementa los niveles de algunos aminoácidos en las uvas y en los vinos resultantes. En este sentido, Spayd et al., (1994) apuntan un incremento en las concentraciones de prolina con la adición de 56 Kg ha⁻¹ de nitrógeno en los viñedos de la variedad blanca Riesling. Bertrand et al., (1991), también observaron que la adición de 100 Kg ha⁻¹ de nitrógeno en viñedos de la variedad tinta Merlot, ubicados en Burdeos (Francia), en comparación con las viñas sin aplicación de nitrógeno, aumentó significativamente las concentraciones de prolina y arginina. Bath et al., (1991) observaron una tendencia linealmente positiva entre los niveles de nitrógeno aplicado a las viñas y la concentración de arginina en los mostos de uva de la variedad Sauvignon Blanc.

Los niveles de prolina en estas muestras condicionan las diferencias encontradas en la concentración total de aminoácidos. El vino 4 posee la mayor concentración total de aminoácidos, siendo 900,0 mg L⁻¹ para la vendimia 2010 y 857,6 mg L⁻¹ para la vendimia 2011. Mientras que el vino 5 posee la menor concentración de aminoácidos totales, 562,5 mg L⁻¹ y 627,0 mg L⁻¹, para las vendimias 2010 y 2011, respectivamente (Figura 1.8). Sin embargo, las diferencias significativas entre ambas muestras solo se presentan en la vendimia 2010. En este sentido, Bell & Henschke (2005) apuntan un efecto consistente de la mayor disponibilidad de nitrógeno para las viñas con un aumento de la concentración de aminoácidos totales en las uvas, básicamente representados por los niveles de prolina y arginina. Gouthu et al., (2012) también observaron que las condiciones de baja disponibilidad de nitrógeno para la vid alteran los niveles y la composición total de aminoácidos en las uvas maduras de la variedad Pinot Noir.

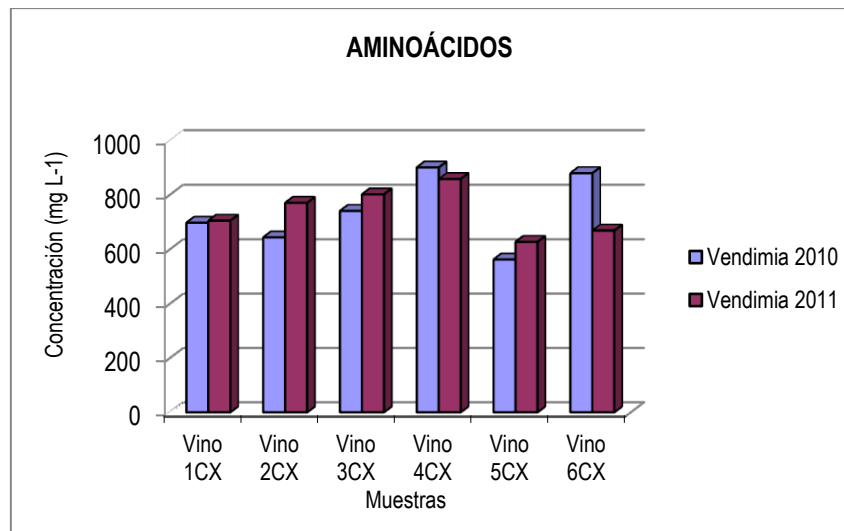


Figura 1.8. Sumatorio de los aminoácidos de los vinos tratados con caliza de esquisto y caliza convencional en las vendimias 2010 y 2011.

Además de la prolina, otros aminoácidos, tales como el ácido- γ -aminobutírico, la α - y β -alanina, la lisina y la hidroxiprolina constituyen la fracción más importante de los aminoácidos presentes en los vinos. Estos resultados están de acuerdo con los encontrados en la bibliografía. En un estudio realizado por Dizy & Polo (1996), la mayoría de los aminoácidos encontrados en los mostos de la variedad de uva Malvar fueron glutamina, arginina, prolina y ácido- γ -aminobutírico. Soufleros et al., (2003) analizando vinos blancos griegos de diferentes variedades en distintas regiones y en tres cosechas, indican la arginina y el ácido- γ -aminobutírico como aminoácidos más abundantes, seguidos por la lisina, alanina, glutamina, asparagina, leucina y fenilalanina. Según Cejudo-Bastante et al., (2010), la arginina, la glutamina y el ácido- γ -aminobutírico, juntamente con la prolina, representan el 78 % del contenido total de aminoácidos del mosto, seguidos por el ion amonio, el ácido glutámico, alanina y serina, con una suma de 15% del total. De acuerdo con Garden-Cerdán et al., (2007), estos aminoácidos constituyen las principales fuentes de nitrógeno en los mostos. En estudios más recientes, Kato et al., (2011) encontraron la alanina, el ácido glutámico y la lisina en el perfil de aminoácidos de vinos tintos y blancos de las variedades Merlot y Chardonnay.

Tabla 1.13. Concentración media (mg L⁻¹) y diferencia significativa honesta (DSH) de los aminoácidos en los vinos tratados con caliza de esquistos e caliza convencional en la vendimia 2010.

	Vino 1		Vino 2		Vino 3		Vino 4		Vino 5		Vino 6		DSH
	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	
	0*	0*	1000*	3000*	2000*	2000*	3000*	1000*	4000*	0*	0*	4000*	
Aminoácidos													
ácido aspártico	6,11 B		5,46 B		6,75 AB		1,29 C		6,77 AB		8,63 A		2,40
ácido glutámico	2,76		2,38		2,64		2,82		2,14		2,38		0,94
asparagina	1,62		0,64		2,58		2,08		1,33		1,89		3,20
serina	3,60		1,73		1,52		4,24		3,86		4,89		5,50
hidroxiprolina	5,28 B		4,50 B		2,11 B		8,67 AB		8,16 AB		13,88 A		8,09
glutamina	3,53		3,92		3,12		1,73		3,21		3,61		2,29
histidina	1,39		1,41		1,58		1,23		1,32		1,09		2,03
glicina	6,61 AB		5,29 B		1,42 C		8,60 A		6,59 AB		8,69 A		2,85
treonina	4,00 BC		4,20 AB		2,15 C		4,89 AB		4,34 AB		6,07 A		1,89
β -alanina	9,38 AB		6,85 BC		4,40 C		7,93 AB		7,71 AB		9,99 A		2,78
arginina	7,22 B		5,21 B		15,72 A		5,48 B		5,35 B		5,67 B		4,75
α -alanina	13,50		11,17		14,44		14,12		11,82		15,54		4,37
ácido- γ -aminobutírico	11,74		5,90		11,52		11,56		9,94		13,95		11,54
prolina	586,70 AB		555,20 AB		629,90 AB		786,30 A		463,70 B		747,909 AB		316,51
tirosina	1,95		3,29		4,56		4,06		2,38		3,26		6,85
valina	5,80 AB		4,94 B		6,72 AB		6,33 AB		5,55 AB		7,54 A		2,12
metionina	1,75 B		1,48 B		2,55 AB		3,95 A		1,89 B		2,10 B		1,80
cisteína	1,14		0,99		3,46		2,28		2,54		2,84		2,76
isoleucina	3,06		2,47		3,35		2,89		2,86		3,73		1,31
triptófano	1,53		1,11		1,64		1,49		1,44		1,86		1,35
leucina	5,18 AB		4,20 B		5,27 AB		5,10 AB		4,74 B		6,86 A		1,85
fenilalanina	4,75		4,04		4,79		4,61		4,35		5,81		1,89
ornitina	0,49		0,29		0,41		0,38		0,32		0,57		0,33
lisina	7,97 A		6,47 B		7,91 A		7,89 A		0,16 C		0,24 C		0,63
<i>Total</i>	<i>697,10 AB</i>		<i>643,30 AB</i>		<i>740,60 AB</i>		<i>900,00 A</i>		<i>562,50 B</i>		<i>879,00 A</i>		<i>315,91</i>

Letras diferentes en la línea difieren al nivel de 5% de probabilidad de error, por el teste de Tukey. * Kilogramos por hectárea

Tabla 1.14. Concentración media (mg L⁻¹) y diferencia significativa honesta (DSH) de los aminoácidos en los vinos tratados con caliza de esquisto y caliza convencional en la vendimia 2011.

	Vino 1		Vino 2		Vino 3		Vino 4		Vino 5		Vino 6		DSH
	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	
	0*	0*	1000*	3000*	2000*	2000*	3000*	1000*	4000*	0*	0*	4000*	
Aminoácidos													
ácido aspártico	7,80		11,23		10,67		9,52		8,68		7,54		6,02
ácido glutámico	14,44		18,63		16,91		16,74		15,89		13,83		8,32
asparagina	1,47 ABC		1,77 A		1,70 AB		1,15 BC		1,40 ABC		1,09 C		0,59
serina	3,20		4,97		3,85		3,64		3,48		2,63		2,77
hidroxiprolina	10,04		10,29		10,12		11,66		9,78		9,69		8,35
glutamina	2,66		2,72		2,94		2,75		2,64		2,99		1,51
histidina	3,33 B		1,93 C		4,26 AB		4,31 AB		4,72 A		3,39 AB		1,34
glicina	6,86		9,28		7,92		7,17		7,09		5,98		4,12
treonina	5,49		7,55		6,17		5,92		5,93		4,96		3,31
β-alanina	5,94 AB		8,21 A		6,82 AB		6,68 AB		6,76 AB		5,31 B		2,68
arginina	6,91		7,64		7,02		7,92		7,25		7,14		2,62
α-alanina	12,61 AB		16,14 A		12,49 AB		11,88 AB		11,83 AB		9,97 B		6,11
ácido-γ-aminobutírico	14,26 AB		17,96 A		17,30 AB		16,42 AB		14,72 AB		12,03 B		5,49
prolina	568,30		579,60		639,30		697,60		477,90		546,30		719,94
tirosina	6,29 AB		8,29 A		4,29 BC		5,41 BC		5,17 BC		3,37 C		2,35
valina	4,14		6,68		5,64		4,93		4,83		3,85		3,56
metionina	2,33		2,88		2,52		2,21		2,27		1,70		1,55
cisteína	7,72		10,62		8,84		10,44		7,09		6,45		4,17
isoleucina	2,75		4,70		3,72		3,25		3,11		2,48		2,62
triptófano	1,91 AB		2,78 A		2,27 AB		2,13 AB		1,60 B		1,79 B		0,92
leucina	4,89 AB		9,40 A		6,66 AB		6,63 AB		6,42 AB		4,22 B		5,10
fenilalanina	3,82 AB		6,42 A		4,92 AB		4,88 AB		4,62 AB		3,33 B		2,95
ornitina	0,87 C		7,92 A		6,23 AB		5,56 AB		5,35 ABC		3,01 BC		4,61
lisina	6,59 AB		12,26 A		8,56 AB		8,94 AB		8,43 AB		5,54 B		6,05
<i>Total</i>	<i>704,70</i>		<i>770,10</i>		<i>801,20</i>		<i>857,60</i>		<i>627,00</i>		<i>668,60</i>		<i>765,34</i>

Letras diferentes en la línea difieren al nivel de 5% de probabilidad de error, por el teste de Tukey.* Kilogramos por hectárea

Aminas biógenas

Las aminas biógenas son bases orgánicas dotadas de actividad biológica que se encuentran con frecuencia en bebidas y alimentos fermentados, y se producen principalmente como consecuencia de la descarboxilación de sus aminoácidos correspondientes (LANDETE et al., 2007). Las altas concentraciones de aminas biógenas pueden causar efectos fisiológicos indeseables en seres humanos, sobre todo en aquellos individuos más sensibles o cuando el alcohol y el acetaldehído estén presentes (BAUZA et al., 1995). En los vinos, además de los efectos toxicológicos, algunas aminas pueden afectar negativamente las características sensoriales y disminuir la calidad del producto frente a los consumidores (PINEDA et al., 2012). En los últimos años, las nuevas tendencias en la seguridad alimentaria junto con la búsqueda de productos más sanos y de mejor calidad, han alentado una mayor investigación sobre estos compuestos, a fin de evitar o disminuir al máximo su formación (MARCOBAL et al., 2005).

Fueron identificadas seis aminas biógenas en las muestras de vino estudiadas y sus concentraciones se muestran en las Tablas 1.15 y 1.16. La putrescina fue la amina biógena mayoritaria en los dos años de producción y en todas las muestras de vino, seguida por la histamina y la cadaverina. Estos resultados están de acuerdo con los encontrados en la bibliografía. Mayores concentraciones de putrescina en los vinos Cabernet Sauvignon también fueron obtenidas por Pineda et al., (2012), en una evaluación de vinos tintos jóvenes de diferentes variedades producidos en Chile y por Souza et al., (2005) analizando vinos tintos de diferentes variedades producidos en Brasil. Otros estudios también han constatado que la putrescina está entre las aminas más abundantes de los vinos tintos de diferentes variedades y de diferentes zonas de producción (BAUZA et al., 2007; SOUFLEROS et al., 2007; MARQUES et al., 2008).

Parte de los niveles de putrescina presente en los vinos pueden ser provenientes de las uvas. Broquedis et al., (1989) apuntan que la putrescina puede encontrarse en el pericarpio de las bayas de uvas Cabernet Sauvignon, siendo la

amina cuantitativamente más importante en esta variedad. Varios autores citan que la putrescina puede ser encontrada en abundancia en las uvas (BELL & HENSCHKE 2005; SOUZA et al., 2005; MARCOBAL et al., 2006) y sus concentraciones pueden llegar a los 20 mg Kg⁻¹ de uva fresca (BOUTEAU et al., 1984; BAUCOM et al., 1996), dependiendo de los factores vitícolas (SOUFLEROS et al., 1998; LOUVAUD-FUNEL, 2001; DEL PRETE et al., 2009). Sin embargo, las concentraciones de putrescina en las uvas son relativamente bajas comparadas con las de los vinos. Las mayores concentraciones de putrescina en los vinos pueden explicarse por el hecho de que durante los procesos de vinificación, este compuesto se forma o por la descarboxilación microbiana de la ornitina, o de otros aminoácidos tales como la arginina, a través de la formación intermediaria de agmatina (ARENA & MANCA DE NADRA, 2001; BAUZA et al., 2007).

La segunda amina biógena cuantitativamente más importante encontrada en las muestras de vino analizadas fue la histamina. Este compuesto se encuentra en cantidades variables en las uvas y mostos (BROQUEDIS et al., 1989; VIDAL-CAROU et al., 1990; MARCOBAL et al., 2005; GARCIA-MARINO et al., 2010), es formado principalmente por la descarboxilación de su respectivo aminoácido durante la fermentación maloláctica (SOUFLEROS et al., 1998). Las bacterias lácticas producen enzimas capaces de descarboxilar el aminoácido histidina y formar histamina (TENBRINK et al., 1990). En la bibliografía, existe una amplia gama de trabajos que citan la histamina como unas de las aminas biógenas más importantes de los vinos (LONVAUD-FUNEL, 2001; ZHIJUN et al., 2007; GARCIA-MARINO et al., 2010; PINEDA et al., 2012).

Tabla 1.15. Concentración media (mg L⁻¹) y diferencia significativa honesta (DSH) de las aminas biógenas en los vinos tratados con caliza de esquisto y caliza convencional en la vendimia 2010.

	Vino 1		Vino 2		Vino 3		Vino 4		Vino 5		Vino 6		DSH
	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	
	0*	0*	1000*	3000*	2000*	2000*	3000*	1000*	4000*	0*	0*	4000*	
Aminas biógenas													
histamina	1,74		1,27		1,79		1,48		1,45		1,65		1,12
tiramina	5,34 C		2,49 D		0,00 E		6,88 B		0,00 E		8,80 A		1,29
putrescina	16,99		16,86		17,88		19,08		19,49		23,88		12,28
triptamina	0,18		0,20		0,17		0,13		0,19		0,13		0,15
cadaverina	2,15		2,17		1,52		2,24		2,52		2,86		1,87
feniletilamina	0,06		0,05		0,10		0,06		0,06		0,08		0,09
<i>Total</i>	26,48 AB		23,06 AB		21,45 B		29,88 AB		23,72 AB		37,42 A		15,07
Amonio	4,28 B		3,85 B		5,81 A		4,27 B		4,14 B		5,09 AB		1,46
Nitrógeno	266,00 A		238,00 B		247,70 B		242,70 B		200,70 C		233,30 B		18,58

Letras diferentes en la línea difieren al nivel de 5% de probabilidad de error, por el teste de Tukey.* Kilogramos por hectárea

Tabla 1.16. Concentración media (mg L⁻¹) y diferencia significativa honesta (DSH) de las aminas biógenas en los vinos tratados con caliza de esquisto e caliza convencional en la vendimia 2011

	Vino 1		Vino 2		Vino 3		Vino 4		Vino 5		Vino 6		DSH
	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	
	0*	0*	1000*	3000*	2000*	2000*	3000*	1000*	4000*	0*	0*	4000*	
Aminas biógenas													
histamina	2,21		2,44		1,97		1,78		2,14		1,94		0,94
tiramina	0,00		0,00		2,37		0,00		0,00		0,00		2,56
putrescina	7,91 A		4,55 B		4,05 B		4,15 B		4,02 B		5,09 B		2,18
triptamina	0,29		0,32		0,32		0,24		0,30		0,28		0,16
cadaverina	0,97		0,95		0,87		0,88		0,88		0,95		0,43
feniletilamina	0,10 AB		0,10 AB		0,10 AB		0,08 B		0,09 B		0,15 A		0,06
<i>Total</i>	11,49 A		8,37 AB		9,70 AB		7,14 B		7,44 B		8,43 AB		3,99
Amonio	5,35		7,09		5,87		5,74		5,53		4,85		3,01
Nitrógeno	277,70 A		238,00 B		245,00 B		247,30 B		219,30 C		238,00 B		11,59

Letras diferentes en la línea difieren al nivel de 5% de probabilidad de error, por el teste de Tukey.* Kilogramos por hectárea

En los últimos años, se han realizado numerosos trabajos sobre la presencia de histamina en los vinos, dado sus efectos tóxicos para los consumidores. Los síntomas comúnmente indicados incluyen intensos dolores de cabeza, presión arterial baja, palpitaciones del corazón, edema, erupciones, enrojecimiento facial, sed, dolor de garganta, picazón, hinchazón, náuseas, diarrea y vómito (SILLA-SANTOS, 1996; SOUZA et al., 2005). Sin embargo, no existe ninguna legislación vigente en Brasil ni a nivel europeo que reglamente los niveles máximos de histamina presentes en los vinos. No obstante, algunos países poseen sus propias legislaciones y establecen límites legales para la histamina. Estos límites son de 2 mg L⁻¹ en Alemania, 3 mg L⁻¹ en Holanda, de 5 a 6 mg L⁻¹ en Bélgica, 8 mg L⁻¹ en Francia y 10 mg L⁻¹ en Suiza (BUSTO et al., 1995; LANDETE et al., 2007; ANCÍN-AZPILICUETA et al., 2008). Teniendo en cuenta los límites anteriores, el 25 % de todas nuestras muestras de vino presentan niveles de histamina superiores a 2 mg L⁻¹, todas ellas de la vendimia 2010. Aunque estos niveles podrían llevar a perjuicios financieros por los embargos comerciales de los países reglamentados (Alemania), ellos están muy lejos de los valores de 8 mg L⁻¹ propuestos por Leitão et al., (2005), como límite tóxico de histamina que representa un riesgo para la salud de los consumidores.

La cadaverina fue otra amina biógena encontrada en las muestras de vino en concentraciones interesantes. Así como la histamina, la cadaverina también está presente en los mostos y en las uvas en cantidades variables (LONVAUD-FUNEL et al., 2001; LANDETE et al., 2007; GARCIA-MARINO et al., 2010), pero sus niveles aumentan en los vinos tras la fermentación maloláctica, debido a la acción de las bacterias lácticas productoras de enzimas que descarboxilan su aminoácido precursor, la lisina (TENBRINK et al., 1990; MARCOBAL et al., 2006; PINEDA et al., 2012).

La cadaverina juntamente con la putrescina no posee efectos toxicológicos para la salud humana. Sin embargo, estas aminas pueden potencializar los efectos nocivos de la histamina por inhibir las enzimas que metabolizan este compuesto (SILLA-SANTOS et al., 1996; CINQUINA et al., 2004; GLORIA & VIEIRA 2007;

SOUFLEROS et al., 2007). Además, la putrescina y la cadaverina pueden reaccionar con los nitritos para formar nitrosaminas heterocíclicas, que tienen efecto cancerígeno (HOTCHKISS, 1989). Por otro lado, se ha observado que la cadaverina y la putrescina están involucradas con las malas condiciones sanitarias de las uvas o con la falta de higiene durante los procesos de vinificación (LEITÃO et al., 2005; MARCOBAL et al., 2006). Esos dos compuestos también afectan negativamente las características sensoriales de los vinos al producir malos sabores, casi siempre asociados a notas de “rancio” y “sucio” (GARCÍA-VILLAR et al., 2007; ANCÍN-AZPILICUETA et al., 2008).

La tiramina tuvo un comportamiento distinto de las otras aminas biógenas en nuestras muestras de vino. Este compuesto solo fue identificado, en bajas concentraciones, en apenas una muestra de vino de la vendimia 2010. En la vendimia 2011, cuatro muestras presentan niveles un poco superiores de tiramina, mientras que en las otras dos, no fue posible su cuantificación. Según Souza et al., (2005), los factores que afectan a la formación de tiramina en los vinos pueden estar relacionados con los niveles de tirosina en los mostos y también con la presencia de azúcares, principalmente la glucosa. En general, en nuestras muestras de vino, las concentraciones más altas de tirosina coinciden con las concentraciones más bajas de tiramina (Tabla 1.13 y 1.14). Una explicación para este hecho sería de que la tirosina haya sido metabolizada a niveles diferentes durante los procesos de vinificación, de forma que cuanto menor fue el grado de metabolización mayores cantidades de tirosina y menores de tiramina estuvieron presentes en los vinos, y viceversa. Varios autores informan de la presencia de tiramina en las uvas y mostos (VIDAL-CAROU et al., 1990; SOUZA et al., 2005; GARCÍA-VILLAR et al., 2007), siempre en menores cantidades que aquellas encontradas en los vinos, donde la fermentación maloláctica es el proceso de formación principal (SOUFLEROS et al., 1998; MARCOBAL et al., 2006). Así como la histamina, la tiramina puede causar disturbios fisiológicos en los seres humanos y sus efectos están asociados a migrañas y a hipertensión (SILLA-SANTOS, 1996). Los niveles tóxicos de tiramina están en el rango de 10 a 80 mg L⁻¹

(SOUFLEROS et al., 1998). En ningún caso, en nuestras muestras de vino, los niveles de tiramina superan los niveles tóxicos.

Por último, se ha constatado una mayor concentración total de aminas biógenas en la muestras de vino de la vendimia 2010, siendo más del doble del contenido total de aminas biógenas de la vendimia 2011, fundamentalmente debido a la mayor concentración de putrescina, cadaverina e histamina que fueron las aminas más abundantes. El vino 6 fue el que presentó mayores concentraciones de aminas en la vendimia 2010, sin embargo esta muestra no presentó diferencias significativas con el control (vino 1) en el año 2011 (Figura 1.9).

Las diferencias en las concentraciones de aminas biógenas observadas en la bibliografía, en vinos de diferentes vendimias, pueden estar relacionadas con la diversidad de los microorganismos del vino, que son naturalmente seleccionados cada año, así como a las condiciones climáticas y a las consiguientes prácticas vitícolas y enológicas (MARQUES et al., 2008). Diferencias en las concentraciones de aminas biógenas en los vinos de una vendimia a otra también fueron observadas por Del Prete et al., (2009), que asocian estos resultados a las diferentes condiciones climáticas. Hemos comentado anteriormente una mayor precipitación durante la temporada de maduración de las uvas en la vendimia 2010. Este hecho puede explicar las concentraciones más altas de aminas biógenas en esta vendimia debido a una menor calidad microbiológica de las uvas ocasionada por el exceso de lluvias.

En todos los casos, los diferentes tratamientos con abonado parecen no tener ninguna influencia en las variaciones de concentración de las aminas biógenas presentes en los vinos.

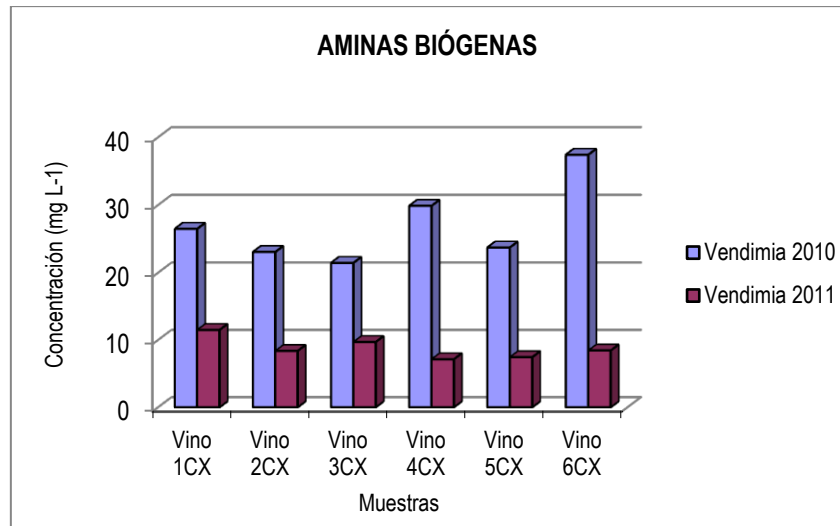


Figura 1.9. Aminas biógenas totales de los vinos tratados con caliza de esquisto y caliza convencional en las vendimias 2010 y 2011.

1.3.1.4. Efecto de la aplicación de caliza de esquisto y caliza convencional en los compuestos volátiles de los vinos

La tipología aromática de un vino es uno de los principales factores que determinan su naturaleza y calidad, además de influenciar particularmente en sus características organolépticas, y por lo tanto, desempeña un papel importante en la preferencia del consumidor (JIANG et al., 2013). El aroma de un vino presenta un patrón químico extremadamente complejo, tanto en términos cualitativos como cuantitativos, ya que más de 1.000 compuestos volátiles han sido identificados en sus diferentes familias químicas, con un amplio rango de concentraciones, que van desde de cientos de mg L⁻¹ hasta niveles de algunos µg L⁻¹ y ng L⁻¹ (XI et al., 2011).

Un total de 77 compuestos volátiles, entre ellos, alcoholes, ésteres, ácidos, alcoholes C₆, compuestos de tipo furano, terpenos, compuestos bencénicos, entre otros, han sido identificados y cuantificados en las muestras de vino analizadas (Tablas 1.17 y 1.18).

Los **ésteres** han sido considerados como importantes contribuyentes al aroma del vino debido a su ocurrencia como uno de los principales grupos de compuestos volátiles y debido a que presentan olores frutales similares a los que a menudo se

utilizan para describir los vinos (ETIEVANT, 1991). Son clasificados en ésteres acéticos y ésteres etílicos, de acuerdo con sus rutas de formación. Los primeros son producidos a partir de la reacción de la Acetil-CoA con alcoholes superiores que se forman a partir de la degradación de aminoácidos o hidratos de carbono. Los segundos se producen enzimáticamente durante la fermentación de la levadura y de etanolisis de Acetil-CoA que se forma durante la síntesis o degradación de los ácidos grasos (PERESTRELO et al., 2006). Un total de 18 ésteres etílicos y acéticos fueron encontrados en las muestras de vinos de ambas vendimias.

El acetato de etilo, acetato de isoamilo, acetato de 2-feniletilo y acetato de hexilo, fueron los ésteres de acetato detectados en nuestros vinos. El acetato de etilo y el acetato de isoamilo fueron los compuestos más abundantes entre los ésteres del ácido acético encontrados en los vinos analizadas en ambas vendimias. Estos compuestos son considerados como factores que contribuyen a la calidad de los vinos jóvenes si sus concentraciones superan el umbral de percepción olfativa (FERREIRA et al., 2000). El acetato de etilo (aroma afrutado y dulce) y el acetato de isoamilo (aroma fresco y a plátano) fueron cuantificados con niveles por encima de sus umbrales de percepción olfativa, $7500 \mu\text{g L}^{-1}$ y $30 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente (GUTH, 1997), en todas las muestras de vino analizadas, lo que indica que estos compuestos pueden ser considerados como odorantes de impacto en nuestros vinos. Por otro lado, las concentraciones medias de acetato de 2-feniletilo están entre $195 \mu\text{g L}^{-1}$ para la añada 2010 y $245 \mu\text{g L}^{-1}$ para la añada 2011. Estos valores se quedan por debajo de los indicados por Moreno-Pérez et al., (2013), $393 \mu\text{g L}^{-1}$, Xi et al., (2011), $467 \mu\text{g L}^{-1}$, y por Zhang et al., (2007) $301 \mu\text{g L}^{-1}$, pero son más altos que los reportados por Jiang et al., (2013), $108 \mu\text{g L}^{-1}$. El acetato de 2-feniletilo contribuye al aroma del vino con notas florales, de rosas, y su umbral olfativo es de $250 \mu\text{g L}^{-1}$ (GUTH, 1997), valores que son superados por solo tres de nuestras muestras de vino. Algunas variaciones estadísticamente significativas ocurren en estos compuestos dentro de la vendimia 2011, pero no se repiten en la vendimia 2010, por lo que no podemos relacionar estos

datos con alguna influencia de los distintos tratamientos con abonados. Por ejemplo, el vino 6 (tratado con caliza convencional) presentó cantidades significativamente inferiores de la mayoría de los ésteres en la vendimia 2010, mientras que en el vino 3 se observaron cantidades superiores de algunos de ellos.

Varios ésteres etílicos se han identificado en nuestras muestras de vino, y dentro de ellos, los cuantitativamente más importantes fueron monosuccinato de etilo, succinato de dietilo, 4-hidroxibutirato de etilo, caproato de etilo y caprilato de etilo. El monosuccinato de etilo y el succinato de dietilo son compuestos originados a partir del ciclo de los ácidos tricarbónicos por la esterificación del ácido succínico durante la fermentación alcohólica y no interfieren en el aroma de los vinos debido a que sus umbrales de percepción olfativa son bastante elevados (ETIEVANT, 1991). Las concentraciones de caproato de etilo van desde $224,5 \mu\text{g L}^{-1}$ hasta $402,5 \mu\text{g L}^{-1}$ en las muestras analizadas. Hemos encontrado en la bibliografía una amplia variación en el contenido de este compuesto en los vinos Cabernet Sauvignon. En este sentido, Jiang et al., (2013) presenta valores que van desde unos $300 \mu\text{g L}^{-1}$ hasta más de $12000 \mu\text{g L}^{-1}$. Nuestros resultados están de acuerdo con los presentados por Moreno-Pérez et al., (2013) y Tao et al., (2008), pero por debajo de los indicados por Bidon et al., (2013). En todos los casos, la concentración de caproato de etilo supera su umbral de percepción olfativa, que es de $14 \mu\text{g L}^{-1}$ y posee aromas descritos como afrutado y anís (FERREIRA et al., 2000).

El caprilato de etilo se encuentra en un intervalo que va desde $169 \mu\text{g L}^{-1}$ hasta $501,2 \mu\text{g L}^{-1}$ en nuestras muestras de vino, que están de acuerdo con los resultados encontrados en la literatura (TAO et al., 2008; MORENO-PÉREZ et al., 2013; TAO & ZHANG et al., 2013). El caprilato de etilo posee un bajo umbral de percepción olfativa, entre $2 \mu\text{g L}^{-1}$ y $5 \mu\text{g L}^{-1}$, y sus notas aromáticas son descritas como piña, pera y floral (GUTH, 1997; FERREIRA et al., 2000). De una manera general, no hemos identificado diferencias significativas en los niveles de ésteres en las muestras de vino analizadas

y por lo tanto, ninguna influencia de los tratamientos de abonado fue encontrada (Figura 1.10).

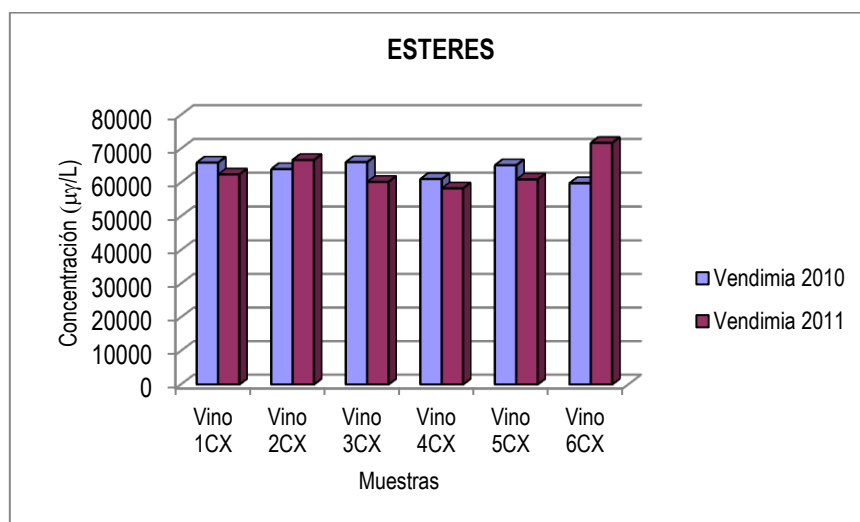


Figura 1.10. Esteres totales de los vinos tratados con caliza de esquisto y caliza convencional en las vendimias 2010 y 2011.

Los **alcoholes** forman la familia química de compuestos aromáticos más abundantes encontrados en nuestros vinos. Son compuestos liberados al medio como productos secundarios del metabolismo de la levadura y pueden ser sintetizados a través de dos mecanismos: vía anabólica a partir de la glucosa, o por una ruta catabólica a partir de sus aminoácidos correspondientes (LI, 2006; PERESTRELO et al., 2006). Estos compuestos son reconocidos por su fuerte aroma y sabor picante que los relacionan con notas herbáceas (GÓMEZ-CARPINTERO et al., 2011). Un total de 17 alcoholes fueron encontrados en nuestras muestras de vinos y sus concentraciones están descritas en las Tablas 1.17 y 1.18.

El alcohol superior encontrado en mayores cantidades en todas las muestras de vino fue el 3-metil butanol, con concentraciones en general, por encima de los 400 mg L⁻¹. Este compuesto parece ser un importante odorante de los vinos Cabernet Sauvignon, pues fue descrito por inúmeros autores como el alcohol superior más abundante (ZHANG et al., 2007; TAO et al., 2008; XI et al., 2011; JIANG et al., 2013).

Su umbral de percepción olfativa es de 300 mg L⁻¹ y posee notas aromáticas descritas como queso (GUTH, 1997; FERREIRA, et al., 2000). El isobutanol fue el segundo alcohol cuantitativamente más importante en los vinos. En general, sus concentraciones están por encima de 100 mg L⁻¹. Otros autores también se refieren al isobutanol como el alcohol más abundante de los vinos, después del 3-metil butanol (TAO et al., 2008; XI et al., 2011; JIANG et al., 2013). Este compuesto posee notas aromáticas descritas como fusel, y alcohol, y su umbral de percepción puede variar en un rango de 40 mg L⁻¹ hasta 80 mg L⁻¹ (GUTH, 1997; LI, 2006).

Una concentración de alcoholes superiores totales por debajo de los 300 mg L⁻¹ contribuyen a la complejidad aromática deseable en los vinos, pero cuando sus concentraciones exceden los 400 mg L⁻¹, estos compuestos son considerados como un factor negativo en la calidad general de los vinos (ÁLVAREZ et al., 2000; MATEO et al., 2001). Eso puede ser un problema para nuestros vinos, dado que la concentración total de alcoholes superiores siempre fue superior a estos valores.

Se ha constatado en la bibliografía el efecto de la fertilización del suelo en la concentración de alcoholes superiores de los vinos, pero los resultados parecen contradictorios (ANCÍ-AZPILICUETA et al., 2013). En este sentido, Giorgessi et al., (2001) encontraron que la aplicación de nitrógeno a las viñas a través del suelo condujo a un aumento en la concentración de alcoholes superiores totales, mientras que en la mayoría de los estudios se encontró el efecto contrario (BELL & HENSCHKE, 2005). Nuestros resultados apuntan a que los tratamientos efectuados en las viñas con caliza de esquistos y caliza convencional no afectaron significativamente al contenido de alcoholes de los vinos.

Los **compuestos C₆** se forman a partir de sus precursores, los ácidos linoleico y linolénico, por la acción de las lipooxigenasas y alcohol deshidrogenasa, sea in situ durante la maduración de la uva, o bajo las condiciones oxidativas cuando se aplastan las bayas en los momentos previos a la fermentación (KALUA & BOSS, 2009; DENNIS et al., 2012). Sus concentraciones varían con la madurez de la uva, con el tiempo e

intensidad de las operaciones unitarias que tienen lugar desde la recepción de la uva en bodega hasta el comienzo de la fermentación, así como con las tecnologías de vinificación empleadas (CORDONNIER & BAYONOVE, 1982; MONTEODORO & BERTUCCIOLI, 1982). Un total de cinco compuestos C₆ fueron identificados en los vinos. El 1-hexanol fue el compuesto más abundante, con concentraciones que varían de 893,8 µg L⁻¹ hasta 1358 µg L⁻¹ y aporta a los vinos aromas descritos como verdes y herbáceos, al igual que el resto de compuestos C₆ identificados (RIBÉREAU-GAYON et al., 2000). No hubo diferencias significativas en las cantidades totales de estos compuestos entre las muestras, presentando concentraciones algo superiores en la vendimia 2011 (Figura 1.11)

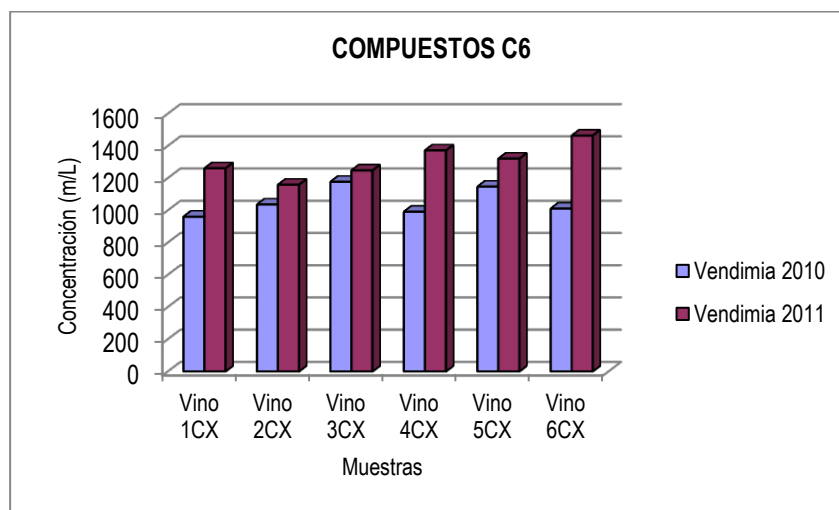


Figura 1.11. Compuestos de seis átomos de carbono de los vinos tratados con caliza de esquisto y caliza convencional en las vendimias 2010 y 2011.

Tabla 1.17. Concentración media ($\mu\text{g L}^{-1}$) y diferencia significativa honesta (DSH) de los compuestos volátiles minoritarios en los vinos de la vendimia 2010.

	Vino 1		Vino 2		Vino 3		Vino 4		Vino 5		Vino 6		DSH
	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	
	0*	0*	1000*	3000*	2000*	2000*	3000*	1000*	4000*	0*	0*	4000*	
<i>Esteres</i>													
acetato de etilo	49069,31		43859,86		47467,53		41900,01		44251,80		40347,72		19883,41
butanoato de etilo	187,10		170,60		198,60		148,90		164,70		132,70		75,88
isovalerato de etilo	24,94		25,02		36,01		23,42		22,99		16,23		24,59
acetato de isoamilo	767,30 A		710,00 A		991,80 A		700,00 A		863,80 A		140,90 B		329,45
caproato de etilo	341,70		367,30		402,50		342,20		394,60		308,30		132,73
acetato de hexilo	6,32 BC		9,02 BC		12,40 AB		7,18 BC		15,65 A		5,27 C		6,19
lactato de etilo	84,07		90,76		110,80		99,62		93,20		70,83		40,00
butanoic acid, 2-hydroxi-3methyl, etil ester	29,91 AB		27,14 AB		34,06 A		26,56 AB		32,16 A		21,06 B		8,94
caprilato de etilo	412,00		441,70		443,20		396,30		501,20		401,70		135,23
3-hidroxibutirato de etilo	117,20		129,60		132,70		122,10		139,70		120,90		33,45
2-hidroxí-4-metil-pentanoato de etilo	103,00 AB		104,30 AB		104,80 AB		83,38 BC		113,50 A		76,70 C		24,89
malonato de dietilo	170,90		167,70		189,60		169,20		190,20		157,40		57,97
succinato de etil metilo	32,54		55,49		38,22		51,78		60,19		61,26		40,85
caprato de etilo	52,47		52,20		65,37		48,91		78,50		55,71		30,30
succinato de dietilo	3170,00 B		4285,00 AB		4587,00 AB		5509,00 AB		5678,00 A		5322,00 A		1963,08
4-hidroxibutirato de etilo	490,60		482,30		476,80		419,70		515,80		401,70		174,16
acetato de 2-feniletilo	228,00 A		215,70 A		235,30 A		180,90 A		252,70 A		60,40 B		92,18
monosuccinato de etilo	10590,00		12790,00		10500,00		10780,00		11750,00		12090,00		9139,94
<i>Total</i>	<i>65881,61</i>		<i>63987,64</i>		<i>66029,71</i>		<i>61008,33</i>		<i>65114,89</i>		<i>59788,08</i>		<i>21186,45</i>
<i>Alcoholes</i>													
metanol	62528,11		64729,32		63692,78		61636,96		66508,90		61601,25		21631,65
1-propanol	51352,21		46409,33		48605,60		47567,27		49678,02		47113,12		6451,86
isobutanol	93557,07		126533,49		132597,13		129159,23		134343,28		117420,18		44304,77

Tabla 1. 17. Continuación

	Vino 1		Vino 2		Vino 3		Vino 4		Vino 5		Vino 6		DSH
	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	
	0*	0*	1000*	3000*	2000*	2000*	3000*	1000*	4000*	0*	0*	4000*	
2-metil butanol	110087,70		118446,84		109087,83		112393,68		115113,71		116120,92		13088,04
3-metil butanol	422251,19		433634,07		410830,23		418788,46		421800,68		423968,57		70621,43
butanol	11,66 AB		9,96 AB		16,15 A		11,49 AB		15,86 A		7,69 B		7,01
pentanol	17,14		20,58		25,20		25,16		17,43		19,02		10,31
4-metil pentanol	23,51		32,68		20,98		17,96		22,21		27,14		34,07
2-heptanol	2,94 B		4,26 AB		5,28 A		4,08 AB		5,59 AB		4,63 AB		2,16
3-metil pentanol	48,84		60,80		53,66		49,88		59,60		48,20		19,76
3-etoxi-1-propanol	4,80		5,14		6,61		5,43		6,17		5,10		2,22
3-octen-1-ol	2,37		2,72		3,01		2,45		2,57		2,44		0,65
heptanol	23,39		22,66		25,18		17,19		20,98		21,03		8,66
2-propanol	19,74		20,48		22,26		21,56		22,37		18,09		5,36
2-etil-1-hexanol	5,33		4,42		5,19		4,08		5,18		3,26		2,37
octanol	26,24		23,94		25,72		22,60		29,88		24,22		7,53
nonanol	6,53		6,63		6,33		5,90		6,89		6,31		4,08
<i>Total</i>	<i>738868,79</i>		<i>789977,22</i>		<i>765029,07</i>		<i>769733,38</i>		<i>787657,73</i>		<i>766412,14</i>		<i>95270,41</i>
<i>Compuestos C₆</i>													
1-hexanol	893,80		953,90		1082,00		914,10		1061,00		937,90		438,42
(E)-3-hexen-1-ol	30,25		31,99		36,01		29,72		36,68		31,36		11,69
(Z)-3-hexen-1-ol	29,14 AB		31,31 AB		36,69 A		29,74 AB		31,42 AB		26,08 B		10,31
(E)-2-hexen-1-ol	8,50 B		8,86 B		12,08 A		9,62 AB		8,63 B		7,19 B		2,64
(Z)-2-hexen-1-ol	8,00		9,54		9,65		8,66		10,14		8,65		3,39
<i>Total</i>	<i>960,70</i>		<i>1036,00</i>		<i>1177,00</i>		<i>991,80</i>		<i>1147,00</i>		<i>1011,00</i>		<i>465,58</i>
<i>Ácidos</i>													
ácido acético	9,44 AB		9,40 AB		13,06 A		6,31 B		9,00 AB		5,23 B		5,87
ácido propanoico	2,49		1,43		1,84		0,92		2,40		1,28		3,21

Tabla 1.17. Continuación

	Vino 1		Vino 2		Vino 3		Vino 4		Vino 5		Vino 6		DSH
	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	
	0*	0*	1000*	3000*	2000*	2000*	3000*	1000*	4000*	0*	0*	4000*	
ácido isobutírico	7,69		8,13		8,31		8,62		8,55		7,61		2,91
ácido butanoico	13,24	AB	10,36	B	13,14	AB	13,07	AB	16,62	A	11,14	B	4,60
ácido 3-metilpentanoico	310,30		324,10		334,10		293,70		328,50		279,00		94,31
ácido hexanoico	626,60		583,90		674,20		561,30		702,50		583,70		228,19
ácido octanoico	870,00		855,40		923,30		781,50		1039,00		926,00		506,82
ácido decanoico	192,70		198,50		214,20		196,00		260,70		282,00		198,70
<i>Total</i>	<i>2032,00</i>		<i>1991,00</i>		<i>2182,00</i>		<i>1861,00</i>		<i>2368,00</i>		<i>2096,00</i>		<i>978,29</i>
<i>Compuestos bencénicos</i>													
benzaldehído	2,26		2,68		6,56		3,69		4,83		4,25		5,44
guaiacol	174,90		206,50		248,30		174,50		220,00		316,60		187,14
alcohol bencílico	974,10	AB	516,20	C	1213,00	A	1015,00	AB	641,80	BC	513,30	C	432,49
2-feniletanol	29110,00		30160,00		32270,00		25850,00		30100,00		25060,00		17983,44
fenol	43,96		40,71		47,10		38,56		48,71		54,02		26,18
4-etil guaiacol	23,67		18,43		23,38		19,20		30,65		28,43		23,58
4-metil fenol	16,00		15,54		18,27		11,98		14,80		15,55		10,81
4-etil fenol	40,08	A	22,30	AB	0,00	B	22,34	AB	32,59	A	23,89	AB	25,82
4-vinil guaiacol	57,46	A	0,00	B	80,43	A	58,56	A	58,04	A	65,24	A	47,09
siringol	742,60	AB	525,80	B	860,40	A	596,40	AB	619,10	AB	872,30	A	302,03
ácido benzoico	26,14	B	62,03	B	163,90	A	48,57	B	44,90	B	63,84	B	46,22
ácido fenilacético	140,90	AB	116,00	AB	98,68	B	182,20	A	139,10	AB	108,20	B	68,28
vainillina	73,69		66,45		83,30		74,73		91,34		116,38		49,34
metil vainillato	90,36		46,33		90,76		87,97		80,40		69,69		70,12
etil vainillato	264,80	BC	220,50	C	375,30	A	392,20	A	365,60	AB	356,60	AB	107,63
acetovainillona	133,50		134,20		172,40		179,80		131,40		175,20		59,84
<i>Total</i>	<i>31913,69</i>		<i>32146,45</i>		<i>35753,30</i>		<i>28754,73</i>		<i>32621,34</i>		<i>27846,38</i>		<i>18391,10</i>

Tabla 1.17. Continuación

	Vino 1		Vino 2		Vino 3		Vino 4		Vino 5		Vino 6		DSH
	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	
	0*	0*	1000*	3000*	2000*	2000*	3000*	1000*	4000*	0*	0*	4000*	
<i>Terpenos</i>													
linalol	3,87		4,96		3,95		4,14		4,13		3,80		1,40
α -terpineol	8,00		10,14		9,18		6,56		6,60		7,32		8,08
β -citroneol	10,77		11,34		11,80		10,31		15,20		11,58		6,15
β -damascenona	7,43 B		10,31 AB		9,08 AB		7,12 B		6,55 B		13,64 A		5,45
<i>trans</i> -geraniol	15,72		11,22		17,51		14,12		13,44		11,41		9,96
3-hidroxi- β -damascona	212,80		172,70		193,70		230,70		176,90		170,10		137,46
<i>Total</i>	258,60		220,90		245,20		273,00		222,90		217,90		142,62
<i>Furanonas</i>													
γ -butirolactona	0,14		0,52		0,33		0,27		0,43		0,60		0,88
γ -etoxibutirolactona	8,54		9,19		10,20		7,30		11,86		11,10		5,91
<i>Total</i>	8,69		9,71		10,52		7,57		12,29		11,70		6,58
<i>Miscelania</i>													
acetaldehído	1627,76		1727,63		1302,61		1622,03		1491,37		1328,59		1826,58
ciclohexanona	2,75 B		2,83 B		0,00 C		0,00 C		0,00 C		3,45 A		0,52
2-metiltetrahidrotiofen-3-ona	15,11		18,76		17,26		16,12		19,58		15,26		5,31
n-(3-metilbutil)-acetamida	62,66		57,74		79,44		60,78		68,90		85,09		34,02
3-(metiltio) propanol	194,30		215,10		244,70		228,60		239,20		250,70		76,54

Letras diferentes en la línea difieren al nivel de 5% de probabilidad de error, por el teste de Tukey.

* Killogramos por hectárea

Tabla 1.18. Concentración media ($\mu\text{g L}^{-1}$) y diferencia significativa honesta (DSH) de los compuestos volátiles minoritarios en los vinos de la vendimia 2011.

	<i>Vino 1</i>		<i>Vino 2</i>		<i>Vino 3</i>		<i>Vino 4</i>		<i>Vino 5</i>		<i>Vino 6</i>		<i>DSH</i>
	<i>CE</i>	<i>CC</i>	<i>CE</i>	<i>CC</i>	<i>CE</i>	<i>CC</i>	<i>CE</i>	<i>CC</i>	<i>CE</i>	<i>CC</i>	<i>CE</i>	<i>CC</i>	
	<i>0*</i>	<i>0*</i>	<i>1000*</i>	<i>3000*</i>	<i>2000*</i>	<i>2000*</i>	<i>3000*</i>	<i>1000*</i>	<i>4000*</i>	<i>0*</i>	<i>0*</i>	<i>4000*</i>	
<i>Esteres</i>													
acetato de etilo	40341,22	AB	42567,19	A	35845,99	B	38469,31	AB	38256,46	AB	44558,88	A	6534,27
butanoato de etilo	86,15	AB	70,62	BC	44,23	C	101,30	AB	87,05	AB	117,30	A	32,13
isovalerato de etilo	6,19	C	7,14	C	7,58	BC	14,34	AB	14,43	A	12,29	ABC	6,80
acetato de isoamilo	262,00	AB	262,50	AB	224,50	B	335,10	A	314,00	AB	318,30	AB	101,97
caproato de etilo	191,80		173,40		208,00		238,90		224,90		251,20		94,37
acetato de hexilo	14,90		15,29		12,09		13,38		18,62		19,60		10,55
lactato de etilo	84,09		83,06		97,03		94,39		98,40		109,80		32,88
butanoic acid, 2-hydroxi-3methyl, etil ester	37,90		37,90		43,52		45,21		41,31		37,76		20,63
caprilato de etilo	169,00		207,40		209,80		217,00		191,50		174,10		54,64
3-hidroxibutirato de etilo	59,28		66,27		75,38		79,66		72,69		66,98		23,22
2-hidroxí-4-metil-pentanoato de etilo	119,60		136,80		136,10		136,90		125,70		131,00		41,99
malonato de dietilo	166,20		209,80		208,40		197,40		195,30		199,50		67,62
succinato de etil metilo	46,44	B	53,84	AB	54,46	AB	49,62	AB	67,09	A	45,50	B	18,52
caprato de etilo	40,86	A	39,19	A	32,60	AB	32,37	AB	29,34	B	25,60	B	9,26
succinato de dietilo	4435,00		5303,00		5208,00		4361,00		5681,00		4160,00		2301,94
4-hidroxibutirato de etilo	882,60		927,40		823,20		817,40		775,40		790,70		201,23
acetato de 2-feniletilo	243,50	BC	281,30	AB	313,70	A	212,20	C	236,80	BC	203,30	C	64,23
monosuccinato de etilo	15200,00		16220,00		16660,00		12870,00		14480,00		12330,00		7528,18
<i>Total</i>	<i>62383,96</i>		<i>66665,76</i>		<i>60201,15</i>		<i>58283,65</i>		<i>60910,16</i>		<i>71725,29</i>		<i>19704,71</i>
<i>Alcoholes</i>													
metanol	67905,96		66816,25		67343,24		66621,43		63551,57		67536,73		11512,36
propanol	46083,71	AB	48497,32	AB	44390,15	B	44623,09	B	44546,99	B	52218,88	A	6451,05
isobutanol	159974,79	A	141014,57	B	144246,64	AB	146480,52	AB	146044,43	AB	152036,91	A	16366,76

Tabla 1.18. Continuación

	<i>Vino 1</i>		<i>Vino 2</i>		<i>Vino 3</i>		<i>Vino 4</i>		<i>Vino 5</i>		<i>Vino 6</i>		<i>DSH</i>
	<i>CE</i>	<i>CC</i>	<i>CE</i>	<i>CC</i>	<i>CE</i>	<i>CC</i>	<i>CE</i>	<i>CC</i>	<i>CE</i>	<i>CC</i>	<i>CE</i>	<i>CC</i>	
	<i>0*</i>	<i>0*</i>	<i>1000*</i>	<i>3000*</i>	<i>2000*</i>	<i>2000*</i>	<i>3000*</i>	<i>1000*</i>	<i>4000*</i>	<i>0*</i>	<i>0*</i>	<i>4000*</i>	
2-metil butanol	113596,78	AB	109463,61	B	118987,12	A	118821,73	A	105585,22	BC	100123,80	C	9112,23
3-metil butanol	401196,03	ABC	393625,68	BC	423428,71	AB	430141,25	A	391875,64	BC	376966,49	C	33368,48
butanol	5,43		4,97		5,42		7,12		7,64		8,13		3,74
pentanol	20,21		16,73		22,88		21,33		21,56		24,22		10,36
4-metil pentanol	21,24		22,64		20,58		24,66		25,40		23,60		12,28
2-heptanol	3,52		3,72		3,60		3,73		3,00		4,10		1,96
3-metil pentanol	23,92		24,14		25,65		28,45		26,06		29,87		7,87
3-etoxi-1-propanol	12,18	A	11,95	AB	9,16	B	9,61	AB	12,29	A	12,33	A	2,92
3-octen-1-ol	6,02		6,11		5,45		5,71		6,40		6,69		2,01
heptanol	20,07		21,04		19,43		19,63		21,85		21,54		3,28
2-propanol	32,52		31,10		29,91		30,44		35,58		28,26		10,13
2-etil-1-hexanol	2,00		2,22		1,92		1,84		2,21		2,50		0,77
octanol	14,55		15,70		14,18		13,87		13,67		14,35		3,76
nonanol	10,68		11,03		9,69		9,55		12,29		8,81		4,37
<i>Total</i>	<i>675446,50</i>		<i>650234,69</i>		<i>679795,62</i>		<i>688150,13</i>		<i>646312,21</i>		<i>649043,63</i>		<i>59796,47</i>
<i>Compuestos C₆</i>													
1-hexanol	1161,00		1070,00		1149,00		1260,00		1219,00		1358,00		301,56
(E)-3-hexen-1-ol	46,28		39,12		43,37		49,74		46,07		49,48		14,91
(Z)-3-hexen-1-ol	34,78		29,52		32,04		39,18		34,60		36,26		11,01
(E)-2-hexen-1-ol	4,41		6,57		7,08		6,79		7,24		4,99		3,33
(Z)-2-hexen-1-ol	14,58		13,19		14,64		16,08		14,37		15,38		3,37
<i>Total</i>	<i>1261,00</i>		<i>1159,00</i>		<i>1248,00</i>		<i>1372,00</i>		<i>1321,00</i>		<i>1464,00</i>		<i>329,87</i>
<i>Ácidos</i>													
ácido acético	4,03		4,64		4,69		5,31		4,61		3,13		3,78
ácido propanoico	2,60	A	2,56	A	2,49	AB	2,61	A	1,81	AB	1,48	B	1,06

Tabla 1.18. Continuación

	Vino 1		Vino 2		Vino 3		Vino 4		Vino 5		Vino 6		DSH
	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	
	0*	0*	1000*	3000*	2000*	2000*	3000*	1000*	4000*	0*	0*	4000*	
ácido isobutírico	8,34		7,69		8,49		9,20		7,97		8,48		2,71
ácido butanoico	7,34		7,27		7,26		8,10		7,40		7,74		2,87
ácido 3-metilpentanoico	257,90		247,00		289,00		298,60		254,70		203,60		125,71
ácido hexanoico	388,50		429,70		446,90		440,80		427,10		388,13		96,08
ácido octanoico	427,10		527,70		546,80		513,60		473,70		448,80		136,44
ácido decanoico	234,20		328,20		271,10		282,50		289,50		243,30		110,83
<i>Total</i>	<i>1330,00 AB</i>		<i>1555,00 AB</i>		<i>1575,00 A</i>		<i>1561,00 AB</i>		<i>1467,00 AB</i>		<i>1305,00 B</i>		<i>262,49</i>
<i>Compuestos bencénicos</i>													
benzaldehído	5,06 C		4,66 C		4,71 C		7,55 AB		8,11 A		6,06 BC		2,01
guaiacol	79,73 A		70,32 AB		66,97 AB		50,72 AB		37,13 B		50,24 A		35,17
alcohol bencílico	479,40		432,40		512,90		482,50		495,80		524,90		144,49
2-feniletanol	27070,00		29,780,00		29280,00		26650,00		25010,00		27230,00		5709,73
fenol	33,75		39,85		41,44		38,58		30,10		35,36		12,36
4-etil guaiacol	45,27 B		89,50 A		59,20 AB		46,37 B		44,29 B		50,36 B		34,94
4-metil fenol	17,22 AB		27,08 A		26,28 A		23,41 AB		14,21 B		19,36 AB		10,21
4-etil fenol	40,87		44,99		40,87		27,13		15,45		36,34		29,57
4-vinil guaiacol	170,40 AB		192,20 A		147,00 ABC		78,62 BCD		43,82 D		56,06 CD		4,49
siringol	445,01 A		425,10 AB		407,80 AB		238,90 AB		198,40 B		231,10 AB		240,01
ácido benzoico	110,50 AB		170,00 A		126,40 AB		74,53 B		66,04 B		88,24 B		69,43
ácido fenilacético	375,70		431,10		376,20		282,50		388,40		295,30		190,23
vainillina	34,96		39,02		50,50		44,84		32,32		34,67		18,78
metil vainillato	357,80		343,70		243,50		250,50		256,10		298,20		388,63
etil vainillato	242,00 B		367,60 A		402,30 A		250,50 B		239,80 B		240,80 B		74,41
acetovainillona	62,74 AB		108,60 A		69,73 AB		62,93 AB		58,02 B		64,49 AB		48,51
<i>Total</i>	<i>29570,00</i>		<i>32570,00</i>		<i>31850,00</i>		<i>28610,00</i>		<i>26940,00</i>		<i>29260,00</i>		<i>6199,96</i>

Tabla 1.18. Continuación

	Vino 1		Vino 2		Vino 3		Vino 4		Vino 5		Vino 6		DSH
	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	CE	CC	
	0*	0*	1000*	3000*	2000*	2000*	3000*	1000*	4000*	0*	0*	4000*	
<i>Terpenos</i>													
linalol	3,81		4,26		3,73		3,75		4,59		3,59		1,45
α -terpineol	5,59 B		13,09 A		4,63 B		4,25 B		4,57 B		4,62 B		2,54
β -citronelol	20,89		19,53		20,56		15,71		20,98		19,22		7,40
β -damascenona	12,16		10,56		13,94		9,93		10,30		9,41		6,84
<i>trans</i> -geraniol	12,86 AB		15,34 A		14,40 AB		11,43 AB		10,63 B		10,57 B		4,25
3-hidroxi- β -damascona	47,21 B		112,00 A		73,89 B		50,68 B		40,30 B		46,23 B		34,46
<i>Total</i>	<i>102,50 B</i>		<i>174,80 A</i>		<i>131,20 B</i>		<i>95,76 B</i>		<i>91,39 B</i>		<i>93,64 B</i>		<i>40,01</i>
<i>Furanos</i>													
γ -butirolactona	0,30		0,63		0,55		0,39		0,67		0,33		0,66
γ -etoxibutirolactona	13,51 C		10,61 C		19,28 AB		14,52 BC		24,31 A		13,49 C		5,10
<i>Total</i>	<i>13,81 C</i>		<i>11,25 C</i>		<i>19,84 AB</i>		<i>14,91 BC</i>		<i>24,98 A</i>		<i>13,82 C</i>		<i>5,27</i>
<i>Miscelania</i>													
acetaldehído	1737,72		1823,98		1307,45		1885,93		1698,28		936,26		1267,22
ciclohexanona	6,25		5,84		5,97		6,01		6,31		6,03		1,45
2-metiltetrahidrotiofen-3-ona	16,37		10,04		13,28		17,71		15,58		16,42		9,09
n-(3-metilbutil)-acetamida	131,30		139,50		162,50		146,70		96,12		155,40		70,55
3-(metiltio) propanol	314,80		290,90		321,10		296,70		273,50		307,80		79,91

Letras iguales en la línea no difieren al nivel de 5% de probabilidad de error, por el teste de Tukey.

* Kilogramos por hectárea

Entre los **ácidos**, un total de ocho compuestos fueron encontrados en las muestras de vino analizadas. Su formación depende de la composición del mosto y de las condiciones de fermentación (SCHREIRER, 1979). El ácido octanoico y el ácido hexanoico han sido los cuantitativamente más importantes. De una manera general, individualmente estos ácidos no están involucrados con la calidad del vino, pero agrupados, desempeña un papel importante en la complejidad aromática. En niveles totales de 4 mg L⁻¹ a 10 mg L⁻¹ contribuyen al aroma suave y agradable de los vinos, pero en concentraciones superiores a 20 mg L⁻¹, tienen un impacto negativo sobre la calidad del vino (SHINOHARA, 1985). Todas las concentraciones totales de los ácidos encontrados en nuestros vinos están por debajo de los 4 mg L⁻¹, lo que puede representar un efecto positivo sobre el aroma global de los vinos.

Un grupo importante de compuestos volátiles desde el punto de vista sensorial son los **compuestos bencénicos**. El 2-feniletanol fue el principal compuesto bencénico encontrado en nuestras muestras de vino (Tabla 1.17 y 1.18). Sus concentraciones superan el umbral de percepción olfativa, que es de 14 mg L⁻¹ (GUTH, 1997), en todos los vinos analizados, pudiendo contribuir de forma significativa en el aroma global del vino con sus propiedades florales y notas de rosas. Este compuesto ha sido identificado como un importante componente de las propiedades sensoriales características de los vinos Cabernet (KOTSERIDIS & BAUMES, 2000; GURBURZ et al., 2006) y se forma principalmente por el metabolismo de las levaduras durante la fermentación alcohólica (ETIEVANT, 1991).

Algunos fenoles volátiles, tales como guaiacol, fenol y siringol también fueron encontrados en nuestros vinos. El siringol fue el compuesto mayoritario en todas las muestra de vino analizadas. Las concentraciones de guaiacol superan su umbral de percepción olfativa (75 µg L⁻¹) en todas las muestras de vino de la vendimia 2010. Eso es importante si tenemos en cuenta que el guaiacol se asocia a sabores medicinales que pueden ser desagradables a los consumidores (BOIDRON et al., 1988). Por otro lado, la presencia de los etilfenoles, 4-etil guaiacol y 4-etil fenol, debe ser destacada.

Estos compuestos son producidos principalmente por el metabolismo de levaduras, tales como *Brettanomyces/Dekkera* a partir de reacciones de reducción de sus respectivos vinilfenoles. Los atributos sensoriales de estos compuestos se describen como aroma a fenol, animal y a cuadra, malos olores que pueden tener una influencia negativa en el aroma del vino. Sus umbrales de percepción en el vino tinto son de 140 $\mu\text{g L}^{-1}$ para el 4-etil guaiacol y 620 $\mu\text{g L}^{-1}$ para el 4-etil fenol (CHATONNET et al., 1992). Todas las muestras estuvieron muy por debajo de estos valores, presentando los vinos de la vendimia 2011 los valores más altos para el 4-etil guaiacol (89,50 $\mu\text{g L}^{-1}$ en el vino 2).

Otros compuestos como el alcohol bencílico o la vainillina y sus derivados pueden tener un papel relevante en el aroma de los vinos. Las concentraciones del primero fueron superiores en los vinos de la vendimia 2010, siendo significativamente mayores en los vinos 1 y 3. Las concentraciones totales de este grupo de compuestos no presentaron variaciones significativas entre las muestras en ambas vendimias, presentando cantidades ligeramente superiores en los vinos de la vendimia 2011.

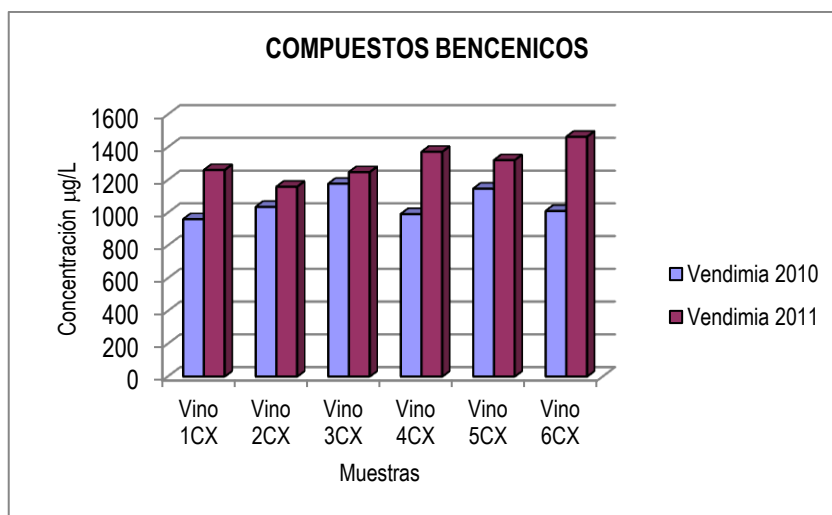


Figura 1.12. Compuestos bencénicos totales de los vinos tratados con caliza de esquisto y caliza convencional en las vendimias 2010 y 2011.

Los **terpenos y norisoprenoides** pueden ser utilizados para la caracterización varietal de los vinos. Estos compuestos pertenecen a los componentes secundarios de las plantas, cuya biosíntesis empieza con la acetil-coenzima A, y sus concentraciones prácticamente no son modificadas por la acción de las levaduras durante los procesos de vinificación (MATEO & JIMÉNEZ, 2000). La variedad Cabernet Sauvignon es considerada como una variedad neutra desde el punto de vista sensorial, lo que implica que los terpenos contribuyen muy poco en el aroma global de los vinos elaborados a partir de esa uva (KALUA & BOSS, 2009). Un total de cuatro terpenos y dos norisoprenoides fueron encontrados en nuestras muestras de vino (Tabla 1.17 y 1.18). Un compuesto importante, que merece atención es la β -damascenona, debido a su bajo umbral de percepción ($0,05 \mu\text{g L}^{-1}$, según GUTH, 1997). Algunos autores informan que este compuesto es un componente importante de las propiedades sensoriales características de los vinos Cabernet (KOTSERIDIS & BAUMES, 2000; GURBURZ et al., 2006). En todas nuestras muestras de vino las concentraciones de β -damascenona superan su umbral de percepción olfativa, lo que nos lleva a apuntar ese compuesto como uno de los odorantes de mayor impacto en nuestros vinos. Concentraciones muy parecidas de β -damascenona también son reportados por Falcão et al., (2007), para los vinos Cabernet Sauvignon de la misma región de Brasil.

Las cantidades totales de terpenos y norisoprenoides fueron mayores en la vendimia 2010 que en la 2011 (Figura 1.13), mostrando en la vendimia 2011 cantidades significativamente mayores en el vino 2, mientras que en la vendimia 2011 no se observaron diferencias significativas.

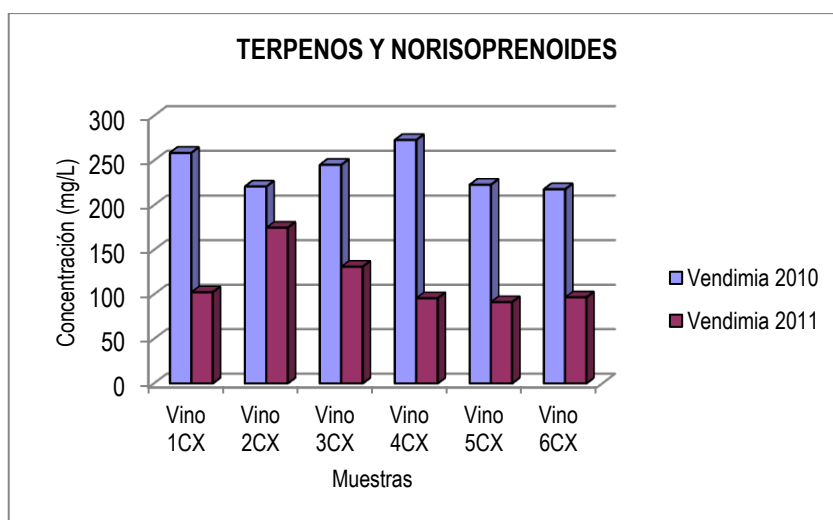


Figura 1.13. Terpenos y norisoprenoides totales de los vinos tratados con caliza de esquisto y caliza convencional en las vendimias 2010 y 2011.

1.3.2. EFECTOS DE LA APLICACIÓN DE LAS MATRICES DE ESQUISTO MBR09 Y MBR13 EN LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS VINOS CABERNET SAUVIGNON

1.3.2.1. Análisis convencionales

La composición general de los vinos sometidos a los distintos tratamientos con matrices de esquisto MBR09 y MBR13 para las vendimias de 2010 y 2011 se muestra en la Tabla 1.19. Los parámetros enológicos convencionales tales como, grado alcohólico, acidez volátil, acidez total, pH, SO₂ libre y SO₂ total de los vinos tintos Cabernet Sauvignon fueron analizados de acuerdo a los métodos oficiales de la O.I.V descritos anteriormente. Todos los resultados se encuentran dentro de los valores legales para los vinos jóvenes de uvas tintas viníferas cultivadas en Brasil.

El grado alcohólico del vino está estrictamente relacionado con la cantidad de azúcar acumulada por la uva durante su periodo de maduración, por lo que los factores climáticos tienen una gran influencia. Las uvas de la vendimia 2011 fueron recogidas en mejor estado de madurez que las uvas de la vendimia 2010, debido principalmente a las más altas precipitaciones pluviométricas en esta última vendimia, que ya reportamos anteriormente. La graduación alcohólica de los vinos en la vendimia 2011 fue siempre mayor que en la vendimia 2010. Este hecho también fue verificado en los vinos con tratamientos de caliza de esquisto e caliza convencional (Ver Apartado 3.1.), lo que presupone los mejores grados de maduración en la vendimia 2011 frente a la vendimia 2010 estrechamente relacionados con las condiciones climáticas.

Tabla 1.19. Análisis de los parámetros convencionales en los vinos provenientes de uvas Cabernet Sauvignon sometidas a los diferentes tratamientos con las matrices de Finos de Esquisto (FE) MBR09 y MBR13 en las vendimias de 2010 y 2011.

	<i>Vino 1</i>		<i>Vino 2</i>		<i>Vino 3</i>		<i>Vino 4</i>		<i>Vino 5</i>		<i>Vino 6</i>	
	<i>MRB09</i>	<i>MBR13</i>	<i>MRB09</i>	<i>MBR13</i>	<i>MRB09</i>	<i>MBR13</i>	<i>MRB09</i>	<i>MBR13</i>	<i>MRB09</i>	<i>MBR13</i>	<i>MRB09</i>	<i>MBR13</i>
	<i>0*</i>	<i>0*</i>	<i>120*</i>	<i>120*</i>	<i>1680*</i>	<i>120*</i>	<i>120*</i>	<i>1680*</i>	<i>1680*</i>	<i>1680*</i>	<i>900*</i>	<i>900*</i>
<i>Vendimia 2010</i>												
Grado alcohólico ^a	10,5		10,3		10,2		10,6		10,5		10,7	
Acidez volátil ^b	0,51		0,60		0,60		0,59		0,56		0,58	
Acidez total ^c	4,19		3,90		4,35		4,21		3,84		4,38	
pH	3,80		3,93		3,75		3,88		3,84		3,77	
SO ₂ libre ^d	12,3		8,20		7,10		8,10		10,2		12,2	
SO ₂ total ^d	14,0		15,0		19,1		16,7		18,1		18,3	
<i>Vendimia 2011</i>												
Grado alcohólico ^a	12,0		11,5		12,7		11,5		13,6		12,1	
Acidez volátil ^b	0,97		0,72		0,82		0,70		0,92		0,83	
Acidez total ^c	5,25		5,25		5,12		4,80		5,1		5,01	
pH	3,46		3,50		3,48		3,57		3,49		3,40	
SO ₂ libre ^d	13,5		15,5		16,5		20,0		16,0		14,16	
SO ₂ total ^d	16,5		19,1		25,0		27,0		22,5		19,83	

* Kilogramos por hectárea;

^a % volumen;

^b g L⁻¹ ácido acético;

^c g L⁻¹ ácido tartárico;

^d mg L⁻¹

El ácido acético es el principal constituyente de la acidez volátil de los vinos y sus concentraciones se encuentran generalmente entre 0,5 – 1,0 g L⁻¹ (FLANZY, 2000). La legislación de los países vinícolas también especifica las concentraciones máximas de ácido acético en los vinos, que en Brasil, así como en la Unión Europea es de 1,2 g L⁻¹. Todos nuestros vinos analizados están dentro de la legislación vigente, aunque algunas muestras presentan valores relativamente elevados y que podrían afectar negativamente la calidad de estos vinos, principalmente en la vendimia 2011, dado que el umbral de percepción olfativa del ácido acético está en un rango de 0,6 a 0,9 g L⁻¹ y presenta un olor fuertemente avinagrado (FALCÃO et al., 2007).

El pH es un factor importante en los vinos tintos por estar involucrado en los parámetros de coloración y en las características organolépticas, además de servir como un soporte contra las alteraciones oxidativas y biológicas. Hemos identificado valores más altos del pH en todos los vinos de la vendimia 2010 con relación a los vinos de la vendimia 2011. Estos valores son relativamente elevados comparados con los valores considerados como óptimos para los vinos tintos (3,0 a 3,6), ya que estos vinos pueden ser más susceptibles a las alteraciones oxidativas y biológicas.

En cuanto al sulfuroso, en ningún caso, las concentraciones de sulfuroso libre y sulfuroso total, exceden los límites legales, que son de 30 mg L⁻¹ para el sulfuroso libre y de 160 mg L⁻¹ para el sulfuroso total.

1.3.2.2. Efecto de los tratamientos de abonado con las matrices MBR09 y MBR13 en los compuestos fenólicos de los vinos.

Efectos en los compuestos fenólicos no antociánicos del vino

Los compuestos fenólicos no antociánicos encontrados en nuestros vinos fueron los ácidos hidroxicinámicos, los estilbenos y los flavonoles, y sus concentraciones se muestran en las Tablas 1.20 y 1.21.

Los principales **ácidos hidroxicinámicos** encontrados fueron el ácido cafeico y el ácido *p*-cumárico, que se detectaron tanto en las formas libres como en sus

formas esterificadas con ácido tartárico (ácido caftárico y ácido cutárico) o con otros componentes del vino, tales como el etanol (cafeato de etilo y cumarato de etilo). Un hecho importante se refiere a las concentraciones totales de ácidos hidroxicinámicos más bajas encontradas en el vino control (vino 1, proveniente de viñas sin adicción de abonado) frente a los demás vinos, en ambas las vendimias. Algunos autores han puesto de manifiesto el efecto de las técnicas de abonado de los viñedos en las concentraciones de polifenoles en las uvas y vinos. Sin embargo, estos estudios están centrados principalmente en el abonado de nitrógeno y potasio, y sus efectos en las concentraciones de antocianinas y taninos en los vinos (TOPALLOVI et al., 2011; BOONTERM et al., 2010; BELL & HENSCHKE, 2005; DELGADO et al., 2004; CHONÉ et al., 2003; HILBERT et al., 2003; KELLER, et al., 1998; SPAYD et al., 1994). No hemos encontrado ningún trabajo que haga referencia a la influencia del abonado de las viñas en la composición de ácidos hidroxicinámicos de los vinos. Pero parece que, al menos en parte, las dosis de abonado utilizadas en nuestro estudio influenciaran en las concentraciones de los ácidos hidroxicinámicos de los vinos resultantes. Este hecho es importante pues puede afectar al color del vino a largo plazo, dado que, los ácidos hidroxicinámicos pueden reaccionar con las antocianinas del vino y producir compuestos tipo piranoantocianos, que son más estables frente a los cambios del pH y a la adición de bisulfitos (ZAMORA, 2003). En el vino control (vino 1), también identificamos la hidrólisis completa del ácido cutárico, en sus formas *cis* y *trans*, en ambas vendimias. Esta hidrólisis ya fue descrita anteriormente y es típica en los vinos de crianza, aunque podría estar influenciada por las temperaturas de almacenamiento en los vinos jóvenes (HERMOZÍN-GUTIÉRREZ et al., 2005).

Tabla 1.20. Concentración media e intervalo de confianza (IC) de los compuestos fenólicos no antocianicos de diferentes familias: derivados de ácidos hidroxicinámicos (equivalente mg/L de ácido cafeico** y equivalente mg/L de ácido cumárico***), estilbenos (µmoles/L) y flavonoles (µmoles/L) identificados por HPLC-MS en los vinos de la vendimia 2010.

	Vino 1		Vino 2		Vino 3		Vino 4		Vino 5		Vino 6		IC
	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	
	0*	0*	120*	120*	1680*	120*	120*	1680*	1680*	1680*	900*	900*	
Ácidos hidroxicinámicos													
<i>trans</i> -ácido caftárico**	5,00 ± 15,94		13,06 ± 15,94		6,74 ± 15,94		8,53 ± 15,94		20,83 ± 15,94		19,48 ± 9,20		n.s
<i>trans</i> -ácido cutárico***	n.d		5,52 ± 6,54		2,24 ± 6,54		3,38 ± 6,54		9,72 ± 6,54		9,54 ± 3,73		**
<i>cis</i> -ácido cutárico***	n.d		3,47 ± 0,88		4,09 ± 0,88		4,49 ± 0,88		3,82 ± 0,88		3,43 ± 0,47		**
ácido cafeico**	6,92 ± 55,94		61,77 ± 55,94		22,62 ± 55,94		41,73 ± 55,94		83,33 ± 55,94		70,50 ± 32,30		n.s
<i>p</i> -ácido cumárico***	7,00 ± 25,78		32,98 ± 25,78		8,96 ± 25,78		26,51 ± 25,78		39,85 ± 25,78		36,55 ± 14,89		n.s
cafeato de etilo**	6,12 ± 1,04		7,14 ± 1,04		8,52 ± 1,04		7,29 ± 1,04		7,73 ± 1,04		7,11 ± 0,60		**
cumarato de etilo***	4,78 ± 0,92		7,06 ± 0,92		7,53 ± 0,92		7,36 ± 0,92		7,93 ± 0,92		7,02 ± 0,53		**
<i>Total</i>	29,82 ± 95,68		130,50 ± 95,68		60,71 ± 95,68		99,28 ± 95,68		173,10 ± 95,68		153,64 ± 95,68		n.s
Estilbenos													
<i>trans</i> -piceido	3,19 ± 0,67		2,66 ± 0,67		3,32 ± 0,67		4,18 ± 0,67		4,52 ± 0,67		4,41 ± 0,39		**
<i>trans</i> -resveratrol	5,78 ± 0,59		3,42 ± 0,59		4,59 ± 0,59		5,24 ± 0,59		5,69 ± 0,59		5,40 ± 0,33		**
<i>cis</i> -resveratrol	38,50 ± 4,87		27,94 ± 4,87		26,59 ± 4,87		28,40 ± 4,87		27,77 ± 4,87		30,12 ± 2,81		**
<i>Total</i>	47,47 ± 4,37		34,02 ± 4,37		34,50 ± 4,37		37,82 ± 4,37		37,98 ± 4,37		39,94 ± 4,37		**
Flavonoles													
miricetina-3-glucurónido	2,22 ± 0,53		1,87 ± 0,53		2,33 ± 0,53		2,16 ± 0,53		2,19 ± 0,53		2,45 ± 0,30		n.s
miricetina-3-galactósido	n.d		1,25 ± 0,62		1,20 ± 0,62		0,99 ± 0,62		1,42 ± 0,62		1,32 ± 0,36		**
miricetina-3-glucósido	2,99 ± 3,27		6,69 ± 3,27		4,41 ± 3,27		5,30 ± 3,27		9,22 ± 3,27		7,28 ± 1,89		n.s
quercetina glucurónido	11,08 ± 1,93		8,10 ± 1,93		10,20 ± 1,93		10,31 ± 1,93		11,30 ± 1,93		11,41 ± 1,11		**
quercetina glucósido	2,73 ± 0,70		1,78 ± 0,70		1,55 ± 0,70		2,40 ± 0,70		2,86 ± 0,70		2,75 ± 0,40		**
miricetina	17,03 ± 12,01		15,24 ± 12,01		22,68 ± 12,01		19,86 ± 12,01		12,86 ± 12,01		26,43 ± 6,93		n.s
laricitrina glucósido	n.d		3,65 ± 0,13		n.d		n.d		n.d		n.d		**
isorhamnetin glucósido	2,24 ± 0,39		1,39 ± 0,39		1,51 ± 0,39		1,91 ± 0,39		2,28 ± 0,39		2,25 ± 0,22		**
siringetin glucósido	n.d		7,69 ± 1,10		7,54 ± 1,10		8,16 ± 1,10		10,16 ± 1,10		8,53 ± 0,63		**
quercetina	20,14 ± 14,84		4,67 ± 14,84		6,14 ± 14,84		n.d		n.d		n.d		**
laricitrina	4,72 ± 2,39		1,91 ± 2,39		2,76 ± 2,39		2,13 ± 2,39		0,75 ± 2,39		3,11 ± 1,38		n.s
isorhamnetina	3,95 ± 3,61		1,36 ± 3,61		1,59 ± 3,61		0,57 ± 3,61		0,77 ± 3,61		n.d		**

Tabla 1.20. Continuación

	<i>Vino 1</i>		<i>Vino 2</i>		<i>Vino 3</i>		<i>Vino 4</i>		<i>Vino 5</i>		<i>Vino 6</i>		<i>IC</i>
	<i>Mbr09</i>	<i>Mbr13</i>	<i>Mbr09</i>	<i>Mbr13</i>	<i>Mbr09</i>	<i>Mbr13</i>	<i>Mbr09</i>	<i>Mbr13</i>	<i>Mbr09</i>	<i>Mbr13</i>	<i>Mbr09</i>	<i>Mbr13</i>	
	<i>0*</i>	<i>0*</i>	<i>120*</i>	<i>120*</i>	<i>1680*</i>	<i>120*</i>	<i>120*</i>	<i>1680*</i>	<i>1680*</i>	<i>1680*</i>	<i>900*</i>	<i>900*</i>	
siringetina	3,91 ± 4,17		1,53 ± 4,17		3,79 ± 4,17		3,26 ± 4,17		1,04 ± 4,17		4,41 ± 2,41		n.s
<i>Total</i>	<i>71,01 ± 31,71</i>		<i>57,10 ± 31,71</i>		<i>65,68 ± 31,71</i>		<i>57,02 ± 31,71</i>		<i>54,84 ± 31,71</i>		<i>80,60 ± 18,29</i>		<i>n.s</i>

* Kilogramos por hectárea; ** diferencias significativas; n.s = no significativo. n.d = no detectado.

Tabla 1.21. Concentración media e intervalo de confianza (IC) de los compuestos fenólicos no antocianícos de diferentes familias: derivados de ácidos hidroxicinámicos (equivalente mg/L de ácido cafeico** y equivalente mg/L de ácido cumárico***), estilbenos (µmoles/L) y flavonoles (µmoles/L) en los vinos de la vendimia 2011.

	Vino 1		Vino 2		Vino 3		Vino 4		Vino 5		Vino 6		IC
	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	
	0*	0*	120*	120*	1680*	120*	120*	1680*	1680*	1680*	900*	900*	
Ácidos hidroxicinámicos													
<i>trans</i> -ácido caftárico**	5,54 ± 6,22		7,88 ± 6,22		18,07 ± 6,22		22,92 ± 6,22		10,11 ± 6,22		10,32 ± 3,60		**
<i>trans</i> -ácido cutárico***	n.d		2,88 ± 2,53		6,46 ± 2,53		8,62 ± 2,53		3,71 ± 2,53		3,97 ± 1,46		**
<i>cis</i> -ácido cutárico***	n.d		2,64 ± 0,30		2,09 ± 0,30		2,02 ± 0,30		2,54 ± 0,30		2,56 ± 0,17		**
ácido cafeico**	7,17 ± 8,92		12,93 ± 8,92		14,15 ± 8,92		37,14 ± 8,92		8,68 ± 8,92		14,41 ± 5,15		**
<i>p</i> -ácido cumárico***	7,13 ± 2,81		9,83 ± 2,81		8,80 ± 2,81		16,95 ± 2,81		6,84 ± 2,81		9,06 ± 2,81		**
cafeoato de etilo**	7,13 ± 0,69		6,62 ± 0,69		7,72 ± 0,69		7,34 ± 0,69		7,70 ± 0,69		7,30 ± 0,40		n.s
cumarato de etilo***	5,73 ± 1,21		6,62 ± 1,21		6,53 ± 1,21		5,96 ± 1,21		6,14 ± 1,21		6,27 ± 0,70		n.s
Total	32,69 ± 14,71		49,42 ± 14,71		63,81 ± 14,71		100,91 ± 14,71		45,73 ± 14,71		53,87 ± 8,49		**
Estilbenos													
<i>trans</i> -piceido	3,59 ± 0,80		3,62 ± 0,80		2,12 ± 0,80		2,99 ± 0,80		3,35 ± 0,80		2,95 ± 0,46		n.s
<i>trans</i> -resveratrol	n.d		13,16 ± 3,17		8,43 ± 3,17		6,15 ± 3,17		8,23 ± 3,17		7,46 ± 1,83		**
<i>cis</i> -resveratrol	41,72 ± 4,63		33,94 ± 4,63		28,36 ± 4,63		36,49 ± 4,63		36,26 ± 4,63		37,56 ± 2,67		**
Total	45,31 ± 6,12		50,73 ± 6,12		38,91 ± 6,12		45,64 ± 6,12		47,84 ± 6,12		47,98 ± 3,53		n.s
Flavonoles													
miricetina-3-glucurónido	2,47 ± 0,42		1,70 ± 0,42		2,95 ± 0,42		1,43 ± 0,42		2,79 ± 0,42		2,51 ± 0,24		**
miricetina-3-galactósido	0,78 ± 0,23		0,60 ± 0,23		0,81 ± 0,23		0,43 ± 0,23		1,01 ± 0,23		0,87 ± 0,12		**
miricetina-3-glucósido	16,43 ± 2,18		16,17 ± 2,18		18,93 ± 2,18		10,78 ± 2,18		17,79 ± 2,18		18,65 ± 1,26		**
quercetina 3-glucurónido	9,51 ± 2,43		5,59 ± 2,43		13,78 ± 2,43		5,28 ± 2,43		11,55 ± 2,43		9,83 ± 1,41		**
quercetina 3-glucósido	6,69 ± 1,88		4,54 ± 1,88		9,14 ± 1,88		3,25 ± 1,88		6,94 ± 1,88		7,47 ± 1,08		**
miricetina	3,78 ± 1,11		3,71 ± 1,11		4,24 ± 1,11		3,47 ± 1,11		2,06 ± 1,11		3,09 ± 0,65		n.s
laricitrina 3-glucósido	3,53 ± 1,00		4,72 ± 1,00		6,49 ± 1,00		4,88 ± 1,00		3,48 ± 1,00		5,14 ± 0,58		**
isorhamnetin 3-glucósido	2,38 ± 0,53		1,57 ± 0,53		2,96 ± 0,53		1,12 ± 0,53		2,34 ± 0,53		2,48 ± 0,30		**
siringetin 3-glucósido	6,88 ± 0,50		6,20 ± 0,50		7,26 ± 0,50		5,67 ± 0,50		6,69 ± 0,50		7,07 ± 0,28		**
quercetina	n.d		n.d		2,89 ± 0,47		1,07 ± 0,47		n.d		n.d		**
laricitrina	0,59 ± 0,16		0,77 ± 0,16		0,83 ± 0,16		0,62 ± 0,16		0,52 ± 0,16		0,52 ± 0,09		**
isorhamnetina	n.d		0,27 ± 0,05		0,89 ± 0,05		0,69 ± 0,05		n.d		0,61 ± 0,03		**

Tabla 1.21. Continuación

	<i>Vino 1</i>		<i>Vino 2</i>		<i>Vino 3</i>		<i>Vino 4</i>		<i>Vino 5</i>		<i>Vino 6</i>		<i>IC</i>
	<i>Mbr09</i>	<i>Mbr13</i>	<i>Mbr09</i>	<i>Mbr13</i>	<i>Mbr09</i>	<i>Mbr13</i>	<i>Mbr09</i>	<i>Mbr13</i>	<i>Mbr09</i>	<i>Mbr13</i>	<i>Mbr09</i>	<i>Mbr13</i>	
	<i>0*</i>	<i>0*</i>	<i>120*</i>	<i>120*</i>	<i>1680*</i>	<i>120*</i>	<i>120*</i>	<i>1680*</i>	<i>1680*</i>	<i>1680*</i>	<i>900*</i>	<i>900*</i>	
siringetina	n.d		1,08 ± 0,55		1,50 ± 0,55		1,55 ± 0,55		n.d		0,66 ± 0,34		**
<i>Total</i>	53,04 ± 7,36		46,95 ± 7,36		72,68 ± 7,36		40,26 ± 7,36		55,18 ± 7,36		58,92 ± 4,26		**

* Kilogramos por hectárea; ** diferencias significativas; n.s = no significativo; n.d = no detectado.

En cuanto al contenido de **estilbenos**, todos los compuestos de la vendimia 2010 y el resveratrol en la vendimia 2011 presentan diferencias significativas. Este compuesto parece estar influenciado de forma negativa por los tratamientos de abonado, dado que sus concentraciones son mayores en el vino control (vino 1). El *cis*-resveratrol fue el compuesto mayoritario en todos los vinos de ambas vendimias, a diferencia de los resultados encontrados en la literatura, donde el isómero *trans* es mayoritario al isómero *cis* (LÓPEZ et al., 2009). Sin embargo, las diferencias encontradas en los demás compuestos no siguen un patrón idéntico en una vendimia y otra, por lo que no podemos relacionarlas con las formas de fertilización de los viñedos. Las concentraciones totales de estilbenos están por encima de las reportadas por otros autores en vinos jóvenes Cabernet Sauvignon (BAI et al., 2013; LI et al., 2011).

Un total de trece **flavonoles** han sido identificados en los vinos, presentando muchos de ellos diferencias significativas entre las muestras. En la vendimia 2010, la miricetina fue el compuesto mayoritario encontrado en todas las muestras de vino, apareciendo sus derivados, miricetina 3-glucurónido, miricetina 3-galactósido y miricetina 3-glucósido, en bajas concentraciones. En la vendimia 2011, el compuesto mayoritario encontrado en todas las muestras de vino fue la miricetina 3-glucósido. Estos resultados indican diferentes grados de hidrólisis de la miricetina en las dos vendimias, siendo una hidrólisis casi total en la vendimia 2010 y un grado de hidrólisis muy bajo en la vendimia 2011. Otro flavonol cuantitativamente importante en todas las muestras de vino de ambas vendimias fue la quercetina 3-glucurónido. Este compuesto ha sido identificado por otros autores como uno de los flavonoles más importantes de los vinos Cabernet Sauvignon (BAI et al., 2013; HERMOZÍN-GUTIÉRREZ et al., 2005).

En la Figura 1.13 se representa el contenido en compuestos fenólicos no antocianínicos de las muestras tratadas con matrices MBR09 y MBR13 en ambas vendimias. Puede observarse como los controles fueron los que mostraron menor

cantidad de estos compuestos en las dos vendimias, siendo las muestras 5 y 6 las que obtuvieron mayores concentraciones de fenoles no antocianicos en la vendimia 2010, mientras que en la vendimia 2011 fueron las muestras 3 y 4.

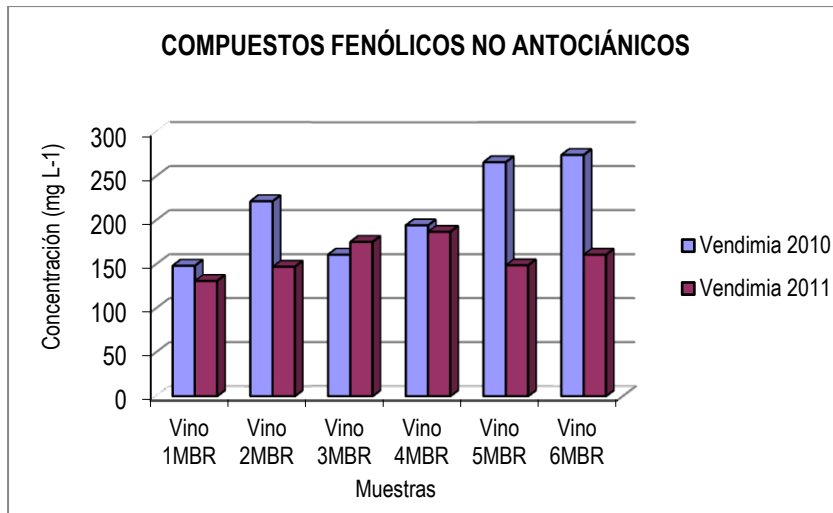


Figura 1.13. Sumatorio de los compuestos fenólicos no antocianicos de los vinos tratados con matrices MBR09 y MBR13 en las vendimias 2010 y 2011.

Efecto sobre la composición de antocianos y piranoantocianos del vino

La cuantificación e identificación de los **antocianos** encontrados en los vinos se muestran en las Tablas 1.22 y 1.23. Un total de doce antocianos fueron cuantificados en las muestras de vino, siendo la malvidina 3-glucósido el compuesto mayoritario en todas ellas. Las concentraciones de este compuesto están por encima de las encontradas en los vinos argentinos provenientes de la misma variedad (FANZONE et al., 2012), pero por debajo de los resultados reportados por López et al., (2009) y Hermosín-Gutiérrez et al., (2005) en los vinos Cabernet Sauvignon españoles. La malvidina 3-(6"-acetil)-glucósido fue el compuesto acetilado más abundante en todas las muestras de vino de ambas vendimias. Otros autores también reportan este compuesto como el más abundante en las formas acetiladas presentes en los vinos (LÓPEZ et al., 2009). Por otro lado, la cianidina 3-glucósido fue el antociano monómero encontrado en menores cantidades en los vinos, resultados que

también están de acuerdo con los encontrados en la literatura (GONZÁLEZ-NEVEZ et al., 2007). Por último, hemos encontrado solo dos formas cumaroiladas de antocianos, siendo ellas la peonidina-3-(6"-cumaroil)-glucósido y la malvidina-3-(6"-cumaroil)-glucósido.

Todos los **piranoantocianos** encontrados en nuestros vinos son derivados de la malvidina 3-glucósido y sus formas acetiladas. Algunas formas cumaroiladas fueron identificadas solo en las muestras de vino de la vendimia 2010.

Entre las **vitisinas**, la vitisina A fue el compuesto encontrado en mayores cantidades en los vinos de ambas vendimias. La vitisina B, solo fue identificada en los de la vendimia 2011, contribuyendo a una mayor concentración total de dichos compuestos en esta vendimia.

Al igual que ocurría en la experiencia anterior los vinos de la vendimia 2011 presentaron mayores cantidades de antocianos y piranoantocianos que los de la vendimia 2010. Siendo además los vinos controles, procedentes de vides sin tratamiento los que tuvieron menores cantidades. Sin embargo este efecto no se notó en los vinos de la vendimia 2010, a pesar de que algunos compuestos presentaron diferencias significativas entre las muestras.

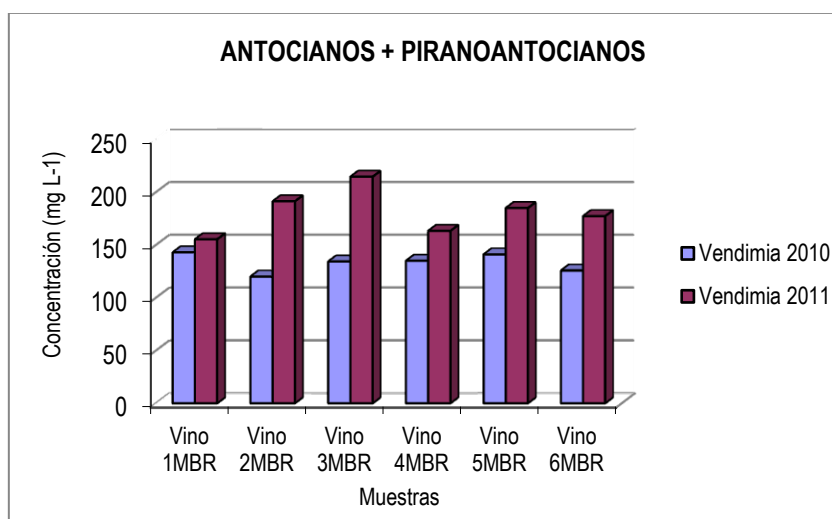


Figura 1.15. Sumatorio de los compuestos fenólicos antociánicos y piranoantocianos de los vinos tratados con matrices MBR09 y MBR13 en las vendimias 2010 y 2011.

Tabla 1.22. Concentración media (mg/L) e intervalo de confianza (IC) de las antocianinas y piranoantocianinas identificadas por HPLC-MS¹ en los vinos de la vendimia 2010.

	Vino 1		Vino 2		Vino 3		Vino 4		Vino 5		Vino 6		IC
	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	
	0*	0*	120*	120*	1680*	120*	120*	1680*	1680*	1680*	900*	900*	
delfinidina 3-glucósido	6,45 ± 0,89		4,29 ± 0,89		6,74 ± 0,89		5,72 ± 0,89		5,82 ± 0,89		5,92 ± 0,52		**
cianidina 3-glucósido	1,58 ± 0,20		1,36 ± 0,20		1,83 ± 0,20		1,72 ± 0,20		1,59 ± 0,20		1,57 ± 0,12		**
petunidina 3-glucósido	7,69 ± 0,75		5,83 ± 0,75		7,91 ± 0,75		6,85 ± 0,75		7,61 ± 0,75		7,06 ± 0,43		**
peonidina 3-glucósido	6,16 ± 0,52		5,05 ± 0,52		6,23 ± 0,52		5,57 ± 0,52		6,45 ± 0,52		5,49 ± 0,30		**
malvidina 3-glucósido	71,27 ± 8,72		64,68 ± 8,72		68,94 ± 8,72		67,18 ± 8,72		76,36 ± 8,72		59,53 ± 5,04		**
delfinidina 3-(6"-acetil)-glucósido	2,85 ± 0,25		2,13 ± 0,25		2,61 ± 0,25		2,84 ± 0,25		2,48 ± 0,25		2,81 ± 0,15		**
cianidina 3-(6"-acetil)-glucósido	1,53 ± 0,15		1,17 ± 0,15		1,37 ± 0,15		1,58 ± 0,15		1,46 ± 0,15		1,56 ± 0,08		**
petunidina 3-(6"-acetil)-glucósido	2,38 ± 0,48		1,98 ± 0,48		1,99 ± 0,48		2,40 ± 0,48		2,01 ± 0,48		2,54 ± 0,28		n.s
peonidina 3-(6"-acetil)-glucósido	3,83 ± 0,41		1,55 ± 0,41		1,79 ± 0,41		2,34 ± 0,41		1,82 ± 0,41		2,20 ± 0,24		**
malvidina 3-(6"-acetil)-glucósido	16,46 ± 3,52		10,55 ± 3,52		10,13 ± 3,52		15,06 ± 3,52		9,98 ± 3,52		13,01 ± 2,03		n.s
peonidina 3-(6"-cumaroil)-glucósido	1,52 ± 0,30		1,36 ± 0,30		1,48 ± 0,30		1,60 ± 0,30		1,67 ± 0,30		1,19 ± 0,17		n.s
malvidina 3-(6"-cumaroil)-glucósido	4,71 ± 0,59		4,27 ± 0,59		4,41 ± 0,59		4,85 ± 0,59		4,67 ± 0,59		4,21 ± 0,34		n.s
<i>Total</i>	<i>126,50 ± 14,08</i>		<i>104,20 ± 14,08</i>		<i>115,40 ± 14,08</i>		<i>117,70 ± 14,08</i>		<i>121,90 ± 14,08</i>		<i>107,09 ± 8,14</i>		<i>n.s</i>
10-catequil-piranomalvidin-3-glucósido	1,75 ± 0,61		2,74 ± 0,61		3,01 ± 0,61		1,79 ± 0,61		2,44 ± 0,61		2,14 ± 0,35		**
10-catequil-piranomalvidin-3-(6"-acetil)-glucósido	0,83 ± 0,21		0,86 ± 0,21		0,98 ± 0,21		0,77 ± 0,21		0,86 ± 0,21		0,93 ± 0,12		n.s
10-hidroxi-piranomalvidin-3-glucósido	1,60 ± 0,12		1,43 ± 0,12		1,58 ± 0,12		1,49 ± 0,12		1,93 ± 0,12		1,42 ± 0,07		**
10-catequil-piranomalvidin-3-(6"-cumaroil)-glucósido	0,42 ± 0,07		0,45 ± 0,07		0,58 ± 0,07		0,45 ± 0,07		0,62 ± 0,07		0,49 ± 0,04		**
10-hidroxi-piranomalvidin-3-(6"-acetil)-glucósido	0,66 ± 0,05		0,61 ± 0,05		0,65 ± 0,05		0,66 ± 0,05		0,76 ± 0,05		0,63 ± 0,03		**
10-hidroxi-piranomalvidin-3-(6"-cumaroil)-glucósido	0,28 ± 0,07		0,32 ± 0,07		0,32 ± 0,07		0,24 ± 0,07		0,35 ± 0,07		0,30 ± 0,03		n.s
<i>Total</i>	<i>5,53 ± 0,95</i>		<i>6,41 ± 0,95</i>		<i>7,13 ± 0,95</i>		<i>5,40 ± 0,95</i>		<i>6,96 ± 0,95</i>		<i>5,91 ± 0,55</i>		<i>n.s</i>
vitisina A	5,54 ± 0,65		4,87 ± 0,65		6,03 ± 0,65		5,56 ± 0,65		6,20 ± 0,65		6,36 ± 0,38		**
acetil vitisina A	5,25 ± 0,74		4,45 ± 0,74		5,61 ± 0,74		6,18 ± 0,74		5,87 ± 0,74		6,31 ± 0,42		**
<i>Total</i>	<i>10,79 ± 1,34</i>		<i>9,31 ± 1,34</i>		<i>11,63 ± 1,34</i>		<i>11,73 ± 1,34</i>		<i>12,07 ± 1,34</i>		<i>12,67 ± 0,77</i>		<i>**</i>

* Kilogramos por hectárea; ** diferencias significativas; n.s = no significativo

Tabla 1.23. Concentración media (mg/L) e intervalo de confianza (IC) de las antocianinas y piranoantocianinas identificadas por HPLC-MS¹ en los vinos de la vendimia 2011.

	Vino 1		Vino 2		Vino 3		Vino 4		Vino 5		Vino 6		IC
	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	
	0*	0*	120*	120*	1680*	120*	120*	1680*	1680*	1680*	900*	900*	
delfinidina 3-glucósido	7,66 ± 1,22		9,19 ± 1,22		11,71 ± 1,22		6,53 ± 1,22		9,58 ± 1,22		7,95 ± 0,7		**
cianidina 3-glucósido	0,70 ± 0,17		0,80 ± 0,17		1,25 ± 0,17		0,62 ± 0,17		0,98 ± 0,17		0,78 ± 0,10		**
petunidina 3-glucósido	8,81 ± 1,38		10,79 ± 1,38		12,78 ± 1,38		8,31 ± 1,38		10,76 ± 1,38		9,65 ± 0,80		**
peonidina 3-glucósido	7,55 ± 0,96		7,92 ± 0,96		10,59 ± 0,96		5,89 ± 0,96		9,27 ± 0,96		8,16 ± 0,55		**
malvidina 3-glucósido	72,06 ± 10,04		98,01 ± 10,04		97,07 ± 10,04		84,94 ± 10,04		89,98 ± 10,04		85,92 ± 5,80		**
delfinidina 3-(6"-acetil)-glucósido	3,28 ± 0,78		3,89 ± 0,78		5,26 ± 0,78		3,14 ± 0,78		3,73 ± 0,78		3,81 ± 0,46		**
cianidina 3-(6"-acetil)-glucósido	2,21 ± 0,31		2,19 ± 0,31		3,54 ± 0,31		1,86 ± 0,31		2,39 ± 0,31		2,53 ± 0,18		**
petunidina 3-(6"-acetil)-glucósido	2,78 ± 0,73		3,19 ± 0,73		4,72 ± 0,73		2,86 ± 0,73		3,04 ± 0,73		3,23 ± 0,41		**
peonidina 3-(6"-acetil)-glucósido	2,84 ± 0,75		3,39 ± 0,75		4,28 ± 0,75		2,53 ± 0,75		2,87 ± 0,75		3,38 ± 0,43		**
malvidina 3-(6"-acetil)-glucósido	12,97 ± 5,76		18,01 ± 5,76		19,84 ± 5,76		15,78 ± 5,76		14,28 ± 5,76		16,08 ± 3,32		n.s
peonidina 3-(6"-cumaroil)-glucósido	1,02 ± 0,13		1,23 ± 0,13		1,51 ± 0,13		0,83 ± 0,13		1,27 ± 0,13		1,13 ± 0,08		**
malvidina 3-(6"-cumaroil)-glucósido	3,46 ± 0,73		4,93 ± 0,73		5,17 ± 0,73		3,37 ± 0,73		4,39 ± 0,73		3,99 ± 0,42		**
<i>Total</i>	<i>125,36 ± 17,59</i>		<i>163,56 ± 17,59</i>		<i>177,77 ± 17,59</i>		<i>136,70 ± 17,59</i>		<i>152,58 ± 17,59</i>		<i>146,64 ± 10,15</i>		**
10-catequil-piranomalvidin-3-glucósido	1,64 ± 0,37		1,53 ± 0,37		2,16 ± 0,37		2,08 ± 0,37		2,03 ± 0,37		1,64 ± 0,21		**
10-catequil-piranomalvidin-3-(6"-acetil)-glucósido	0,62 ± 0,18		0,72 ± 0,18		0,91 ± 0,18		0,72 ± 0,18		1,06 ± 0,18		0,64 ± 0,10		**
10-hidroxi-piranomalvidin-3-glucósido	1,40 ± 0,51		1,30 ± 0,51		1,91 ± 0,51		2,10 ± 0,51		1,40 ± 0,51		1,29 ± 0,29		**
10-hidroxi-piranomalvidin-3-(6"-acetil)-glucósido	0,44 ± 0,19		0,47 ± 0,19		0,61 ± 0,19		0,65 ± 0,19		0,45 ± 0,19		0,31 ± 0,11		**
<i>Total</i>	<i>4,10 ± 1,10</i>		<i>4,02 ± 1,10</i>		<i>5,59 ± 1,10</i>		<i>5,56 ± 1,10</i>		<i>4,94 ± 1,10</i>		<i>3,89 ± 0,65</i>		n.s
vitisina A	9,78 ± 1,00		8,49 ± 1,00		12,19 ± 1,00		8,24 ± 1,00		10,83 ± 1,00		10,09 ± 0,58		**
vitisina B	8,78 ± 0,67		8,04 ± 0,67		9,30 ± 0,67		7,32 ± 0,67		8,46 ± 0,67		8,80 ± 0,38		**
acetil vitisina A	7,18 ± 0,73		7,06 ± 0,73		9,59 ± 0,73		5,33 ± 0,73		7,99 ± 0,73		7,70 ± 0,43		**
<i>Total</i>	<i>25,74 ± 2,15</i>		<i>23,59 ± 2,15</i>		<i>31,09 ± 2,15</i>		<i>20,90 ± 2,15</i>		<i>27,28 ± 2,15</i>		<i>26,59 ± 1,24</i>		**

* Kilogramos por hectárea; ** diferencias significativas; n.s = no significativo.

1.3.2.3. Efecto de la aplicación de las matrices MBR09 y MBR13 en la composición aminoacídica de los vinos

Aminoácidos

La composición cuantitativa y cualitativa de los aminoácidos presentes en los vinos de esta experiencia se muestra en las Tablas 1.24 y 1.25. Un total de 24 aminoácidos han sido identificados en los vinos de ambas vendimias. Como era de esperar, la prolina fue el aminoácido mayoritario en todas las muestras de vino analizadas. Sus concentraciones han cambiado mucho de una vendimia a otra, principalmente en la muestra de vino identificada como vino 3 (1680 MBR09 + 120 MBR13) en la vendimia 2011 ($954,47 \text{ mg L}^{-1}$), que muestra valores muy por debajo de los obtenidos en la vendimia 2010 ($2188,17 \text{ mg L}^{-1}$). Con excepción de la muestra de vino 4, todas las otras presentan mayores concentraciones de prolina en la vendimia 2010, frente a la de 2011. La concentración de prolina siempre se ha relacionado con el estado de madurez de las uvas, que ya se ha comentado que en esta vendimia fue inferior.

Otros aminoácidos, tales como el ácido glutámico, α - y β -alanina, arginina, hidroxiprolina y ácido- γ -aminobutírico forman la fracción más importante de los aminoácidos presentes en el vino. De una manera general, la composición individual de aminoácidos de los vinos presenta algunas diferencias significativas entre las muestras. Sin embargo, es difícil asociarlos con los diferentes tipos de abonado utilizados en los viñedos, debido al distinto comportamiento observado en las dos vendimias (Figura 1.16). Por ejemplo, el vino 4 fue el que tuvo menor cantidad de aminoácidos totales en la vendimia 2010 y la mayor en la 2011, mientras que en el vino 3 ocurre lo contrario.

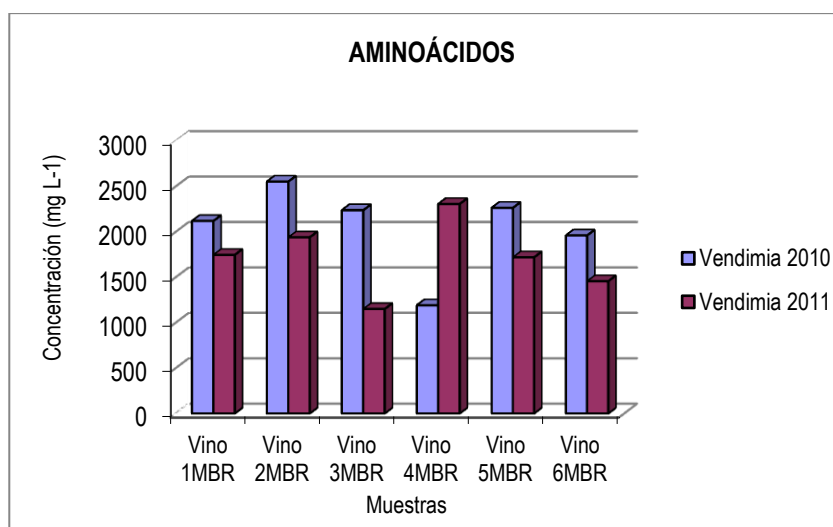


Figura 1.16. Aminoácidos totales de los vinos tratados con matrices MBR09 y MBR13 en las vendimias 2010 y 2011.

Tabla 1.24. Concentración media (mg L⁻¹) e intervalo de confianza (IC) de los aminoácidos en los vinos de la vendimia 2010.

	Vino 1		Vino 2		Vino 3		Vino 4		Vino 5		Vino 6		IC
	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	
	0*	0*	120*	120*	1680*	120*	120*	1680*	1680*	1680*	900*	900*	
Aminoácidos													
ácido aspártico	1,14 ± 0,21		0,77 ± 0,21		0,56 ± 0,21		0,57 ± 0,21		0,51 ± 0,21		0,56 ± 0,12		**
ácido glutámico	2,79 ± 0,76		2,49 ± 0,76		2,08 ± 0,76		0,99 ± 0,76		1,54 ± 0,76		1,94 ± 0,44		**
asparagina	0,28 ± 0,20		0,02 ± 0,20		0,02 ± 0,20		0,13 ± 0,20		0,17 ± 0,20		0,21 ± 0,12		n.s
serina	0,65 ± 0,20		0,06 ± 0,20		0,06 ± 0,20		0,48 ± 0,20		0,63 ± 0,20		0,65 ± 0,11		**
hidroxiprolina	19,32 ± 4,53		22,89 ± 4,53		21,50 ± 4,53		13,60 ± 4,53		19,47 ± 4,53		19,00 ± 2,62		**
glutamina	3,07 ± 1,89		2,34 ± 1,89		2,51 ± 1,89		1,12 ± 1,89		3,43 ± 1,89		2,46 ± 1,10		n.s
histidina	0,89 ± 1,29		0,81 ± 1,29		0,45 ± 1,29		2,20 ± 1,29		0,47 ± 1,29		1,13 ± 0,72		n.s
glicina	2,56 ± 0,68		2,12 ± 0,68		1,94 ± 0,68		1,52 ± 0,68		1,86 ± 0,68		2,02 ± 0,43		n.s
treonina	2,17 ± 1,10		1,51 ± 1,10		1,68 ± 1,10		1,16 ± 1,10		1,44 ± 1,10		1,45 ± 0,64		n.s
β-alanina	3,71 ± 0,90		5,62 ± 0,90		3,68 ± 0,90		2,83 ± 0,90		4,18 ± 0,90		3,42 ± 0,52		**
arginina	5,36 ± 2,02		4,77 ± 2,02		4,71 ± 2,02		4,35 ± 2,02		7,87 ± 2,02		5,24 ± 1,16		n.s
α-alanina	3,29 ± 1,40		3,19 ± 1,40		3,39 ± 1,40		2,67 ± 1,40		2,62 ± 1,40		3,71 ± 0,81		n.s
ácido-γ-aminobutírico	1,89 ± 0,93		1,82 ± 0,93		1,91 ± 0,93		2,51 ± 0,93		2,71 ± 0,93		2,30 ± 0,24		n.s
prolina	2062,35 ± 518,79		2499,13 ± 518,79		2188,17 ± 518,79		1150,23 ± 518,79		2211,59 ± 518,79		1907,79 ± 518,79		**
tirosina	0,91 ± 1,10		0,36 ± 1,10		0,36 ± 1,10		0,44 ± 1,10		0,66 ± 1,10		1,42 ± 0,68		n.s
valina	0,65 ± 0,47		0,48 ± 0,47		0,39 ± 0,47		0,40 ± 0,47		0,44 ± 0,47		0,81 ± 0,27		n.s
metionina	0,35 ± 0,34		0,23 ± 0,34		0,24 ± 0,34		0,39 ± 0,34		0,18 ± 0,34		0,47 ± 0,20		n.s
cisteína	1,15 ± 1,65		0,69 ± 1,65		0,87 ± 1,65		0,46 ± 1,65		0,70 ± 1,65		1,23 ± 0,95		n.s
isoleucina	0,78 ± 0,15		0,29 ± 0,15		0,29 ± 0,15		0,18 ± 0,15		0,39 ± 0,15		0,37 ± 0,08		**
triptófano	0,79 ± 0,48		0,21 ± 0,48		0,23 ± 0,48		0,32 ± 0,48		0,35 ± 0,48		0,61 ± 0,28		n.s
leucina	0,64 ± 0,19		0,27 ± 0,19		0,24 ± 0,19		0,38 ± 0,19		0,29 ± 0,19		0,38 ± 0,11		**
fenilalanina	1,31 ± 0,92		0,48 ± 0,92		0,54 ± 0,92		1,51 ± 0,92		0,96 ± 0,92		0,66 ± 0,53		n.s
ornitina	0,46 ± 0,18		0,37 ± 0,18		0,26 ± 0,18		0,42 ± 0,18		0,41 ± 0,18		0,39 ± 0,18		n.s
lisina	0,69 ± 0,21		0,40 ± 0,21		0,43 ± 0,21		0,82 ± 0,21		0,44 ± 0,21		0,41 ± 0,13		**
Total	2117,27 ± 518,61		2551,34 ± 518,61		2236,57 ± 518,61		1189,71 ± 518,61		2262,37 ± 518,61		1958,64 ± 299,42		**

* Kilogramos por hectárea; ** diferencias significativas; n.s = no significativo.

Tabla 1.25. Concentración media (mg L⁻¹) y diferencia significativa honesta (DSH) de los aminoácidos en los vinos de la vendimia 2011.

	Vino 1		Vino 2		Vino 3		Vino 4		Vino 5		Vino 6		DSH
	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	
	0*	0*	120*	120*	1680*	120*	120*	1680*	1680*	1680*	900*	900*	
Aminoácidos													
ácido aspártico	9,29 ± 2,73		14,07 ± 2,73		7,36 ± 2,73		20,84 ± 2,73		9,92 ± 2,73		10,66 ± 1,57		**
ácido glutámico	17,72 ± 3,33		20,95 ± 3,33		15,93 ± 3,33		30,44 ± 3,33		18,48 ± 3,33		18,58 ± 1,92		**
asparagina	4,31 ± 1,66		3,26 ± 1,66		3,76 ± 1,66		5,37 ± 1,66		5,79 ± 1,66		3,62 ± 0,76		n.s
serina	4,96 ± 1,77		6,85 ± 1,77		3,81 ± 1,77		11,21 ± 1,77		5,99 ± 1,77		5,91 ± 1,11		**
hidroxiprolina	15,09 ± 4,57		16,48 ± 4,57		13,13 ± 4,57		17,95 ± 4,57		15,64 ± 4,57		15,07 ± 2,64		n.s
glutamina	3,23 ± 0,45		3,24 ± 0,45		3,12 ± 0,45		3,67 ± 0,45		4,32 ± 0,45		3,29 ± 0,22		**
histidina	3,55 ± 2,88		6,39 ± 2,88		5,69 ± 2,88		7,45 ± 2,88		7,08 ± 2,88		5,15 ± 1,67		n.s
glicina	8,78 ± 1,74		10,43 ± 1,74		7,48 ± 1,74		13,93 ± 1,74		9,21 ± 1,74		8,98 ± 1,01		**
treonina	8,01 ± 1,70		8,80 ± 1,70		6,43 ± 1,70		12,33 ± 1,70		7,99 ± 1,70		8,39 ± 0,98		**
β-alanina	8,20 ± 1,28		11,54 ± 1,28		8,96 ± 1,28		15,53 ± 1,28		10,16 ± 1,28		8,66 ± 0,74		**
arginina	9,46 ± 2,08		9,36 ± 2,08		8,21 ± 2,08		9,35 ± 2,08		10,67 ± 2,08		9,19 ± 1,20		n.s
α-alanina	16,38 ± 3,74		19,14 ± 3,74		14,05 ± 3,74		27,40 ± 3,74		18,03 ± 3,74		17,84 ± 3,74		**
ácido-γ-aminobutírico	20,55 ± 1,54		23,22 ± 1,54		20,63 ± 1,54		26,28 ± 1,54		24,27 ± 1,54		21,11 ± 0,90		**
prolina	1533,17 ± 634,69		1690,09 ± 634,69		954,47 ± 634,69		1953,13 ± 634,69		1473,18 ± 634,69		1239,27 ± 366,44		n.s
tirosina	7,59 ± 2,98		6,10 ± 2,98		7,01 ± 2,98		12,38 ± 2,98		9,45 ± 2,98		7,98 ± 1,72		**
valina	8,66 ± 2,63		9,22 ± 2,63		6,68 ± 2,63		14,21 ± 2,63		8,29 ± 2,63		9,03 ± 1,52		**
metionina	3,13 ± 0,90		3,55 ± 0,90		3,66 ± 0,90		4,62 ± 0,90		3,91 ± 0,90		2,79 ± 0,52		**
cisteína	22,38 ± 4,54		18,25 ± 4,54		25,11 ± 4,54		30,54 ± 4,54		28,68 ± 4,54		16,86 ± 2,62		**
isoleucina	5,81 ± 1,71		6,23 ± 1,71		4,55 ± 1,71		9,73 ± 1,71		6,01 ± 1,71		5,91 ± 0,99		**
triptófano	4,04 ± 1,64		4,04 ± 1,64		5,67 ± 1,64		6,21 ± 1,64		4,47 ± 1,64		3,73 ± 0,95		n.s
leucina	9,82 ± 3,70		13,60 ± 3,70		6,92 ± 3,70		22,79 ± 3,70		11,45 ± 3,70		10,77 ± 2,14		**
fenilalanina	7,92 ± 2,05		9,43 ± 3,70		5,58 ± 3,70		14,85 ± 3,70		9,11 ± 3,70		8,01 ± 1,19		**
ornitina	1,31 ± 5,05		6,74 ± 5,05		0,92 ± 5,05		7,58 ± 5,05		1,16 ± 5,05		1,22 ± 2,92		**
lisina	11,51 ± 3,74		16,71 ± 3,74		9,64 ± 3,74		27,87 ± 3,74		14,61 ± 3,74		12,68 ± 2,15		**
<i>Total</i>	<i>1744,91 ± 654,25</i>		<i>1937,75 ± 654,25</i>		<i>1148,82 ± 654,25</i>		<i>2304,72 ± 654,25</i>		<i>1717,91 ± 654,25</i>		<i>1454,92 ± 377,73</i>		<i>n.s</i>

* Kilogramos por hectárea; ** diferencias significativas; n.s no significativo.

Aminas biógenas

Las aminas biógenas son bases orgánicas de bajo peso molecular que juegan un papel importante como reguladores de diversos procesos fisiológicos en el organismo humano. Pueden estar presentes en los productos alimenticios en concentraciones variables, en general, como resultado de la existencia de procesos fermentativos o debido a contaminaciones bacterianas (GARCIA-MARINO, 2010). De esta manera, productos fermentados como la cerveza, el vino y el queso son buenos ejemplos de sustancias que presentan ciertas cantidades de aminas biógenas.

Las aminas biógenas identificadas y cuantificadas en nuestras muestras de vinos son presentadas en las Tablas 1.26 y 1.27. Un total de seis aminas biógenas fueron identificadas en la vendimia 2011 y cinco en la vendimia 2010. En este sentido, la tiramina tuvo un comportamiento diferente de las otras aminas. Esta amina no fue cuantificada en las muestras de vino de la vendimia 2010 y solo aparece en tres muestras de vinos de la vendimia 2011. Los factores que afectan la formación de tiramina en los vinos pueden estar relacionados con los niveles del aminoácido tirosina en los mostos y también con la presencia de azúcares, principalmente la glucosa (SOUZA et al., 2005). Una menor concentración del aminoácido tirosina fue encontrada en los vinos de la vendimia 2010 frente a la vendimia 2011 (ver Tablas 1.24 y 1.25). Una explicación para este hecho sería que los bajos niveles de tirosina en la vendimia 2010 no fueron suficientes para su metabolización y producción de tiramina en los vinos de esta vendimia. La tiramina puede causar efectos fisiológicos adversos en los seres humanos y sus síntomas están asociados a migrañas y a hipertensión (SILLAS SANTOS, 1996). Sin embargo, en ningún caso, en nuestros vinos, los niveles de tiramina superan los límites tóxicos, que van de 10 a 80 mg L⁻¹ (SOUFLEROS et al., 1998).

Tabla 1.26. Concentración media (mg L⁻¹) e intervalo de confianza (IC) de las aminas biógenas en los vinos de la vendimia 2010.

Tabla 1.26. Concentración media (mg L⁻¹) e intervalo de confianza (IC) de las aminas biógenas en los vinos de la vendimia 2010.

	Vino 1		Vino 2		Vino 3		Vino 4		Vino 5		Vino 6		IC
	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	
	0*	0*	120*	120*	1680*	120*	120*	1680*	1680*	1680*	900*	900*	
Aminas biógenas													
histamina	0,48 ± 0,47		0,17 ± 0,47		0,21 ± 0,47		0,14 ± 0,47		0,31 ± 0,47		0,70 ± 0,27		n.s.
putrescina	4,92 ± 2,42		6,16 ± 2,42		3,31 ± 2,42		3,49 ± 2,42		3,84 ± 2,42		3,70 ± 1,43		n.s.
triptamina	0,14 ± 0,10		0,09 ± 0,10		0,08 ± 0,10		0,12 ± 0,10		0,14 ± 0,10		0,17 ± 0,06		n.s.
cadaverina	1,51 ± 0,48		1,86 ± 0,48		1,19 ± 0,48		1,36 ± 0,48		1,42 ± 0,48		1,20 ± 0,28		n.s.
feniletilamina	0,06 ± 0,03		0,03 ± 0,03		0,05 ± 0,03		0,04 ± 0,03		0,05 ± 0,03		0,06 ± 0,01		n.s.
Total	7,11 ± 2,96		8,31 ± 2,96		4,84 ± 2,96		5,15 ± 2,96		5,76 ± 2,96		5,84 ± 1,71		n.s.
Amonio	71,69 ± 44,52		62,72 ± 44,52		59,19 ± 44,52		60,51 ± 44,52		65,94 ± 44,52		82,36 ± 25,7		n.s.
Nitrógeno	359,30 ± 9,86		266,00 ± 9,86		280,00 ± 9,86		345,30 ± 9,86		336,00 ± 9,86		247,33 ± 5,69		**

* Kilogramos por hectárea; ** diferencias significativas; n.s. = no significativo; n.d = no detectado.

Tabla 1.27. Concentración media (mg L⁻¹) e intervalo de confianza (IC) de las aminas biógenas en los vinos de la vendimia 2011.

	Vino 1		Vino 2		Vino 3		Vino 4		Vino 5		Vino 6		IC
	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	
	0*	0*	120*	120*	1680*	120*	120*	1680*	1680*	1680*	900*	900*	
Aminas biógenas													
histamina	4,57 ± 2,75		2,71 ± 2,75		3,43 ± 2,75		5,36 ± 2,75		3,30 ± 2,75		3,54 ± 1,59		n.s.
tiramina	4,40 ± 3,23		n.d		n.d		4,12 ± 3,23		n.d		0,83 ± 0,20		**
putrescina	11,94 ± 6,08		9,58 ± 6,08		11,28 ± 6,08		15,92 ± 6,08		12,71 ± 6,08		12,45 ± 3,51		n.s.
triptamina	0,37 ± 0,07		0,29 ± 0,07		0,45 ± 0,07		0,30 ± 0,07		0,36 ± 0,07		0,26 ± 0,04		**
cadaverina	0,92 ± 0,26		0,75 ± 0,26		1,12 ± 0,26		0,99 ± 0,26		1,05 ± 0,26		0,83 ± 0,14		n.s.
feniletilamina	0,26 ± 0,07		0,19 ± 0,07		0,24 ± 0,07		0,20 ± 0,07		0,23 ± 0,07		0,17 ± 0,04		n.s.
Total	22,46 ± 10,55		17,09 ± 10,55		16,53 ± 10,55		26,90 ± 10,55		17,65 ± 10,55		18,08 ± 6,09		n.s.
Amonio	20,43 ± 26,26		8,30 ± 26,26		6,35 ± 26,26		21,01 ± 26,26		34,15 ± 26,26		22,51 ± 15,16		n.s.
Nitrógeno	366,33 ± 8,00		273,00 ± 8,00		275,33 ± 8,00		342,99 ± 8,00		338,33 ± 8,00		250,44 ± 4,62		**

* Kilogramos por hectárea; ** diferencias significativas; n.s. = no significativo; n.d = no detectado.

La putrescina fue la amina biógena cuantitativamente más importante en todos los vinos estudiados. Estos hallazgos están de acuerdo con los reportados por Souza et al., (2005), evaluando vinos brasileños de la variedad Cabernet Sauvignon y por Pineda et al., (2012), analizando vinos Cabernet Sauvignon producidos en Chile. La putrescina, juntamente con la cadaverina, no posee efectos toxicológicos sobre la salud humana. Sin embargo, estas aminas pueden potencializar los efectos nocivos de la histamina por interferir en las enzimas que metabolizan este compuesto (GLORIA & VIEIRA, 2007; SOULFEROS et al., 2007; CINQUINA et al., 2004; SILLA-SANTOS, 1996). Por otro lado, la putrescina y la cadaverina están involucradas con las malas condiciones sanitarias de las uvas o con la falta de higiene en las bodegas (MARCOBAL et al., 2006; LEITÃO et al., 2005).

Otra amina biógena formada en cantidades importantes en nuestros vinos fue la histamina. Los niveles más altos de histamina fueron encontrados en las muestras de vino identificadas como vino 4 y vino 1 en la vendimia 2011. Sin embargo, estas concentraciones no son preocupantes, visto que no superan los límites dichos como tóxicos para la salud de los consumidores, que son de 8 mg L^{-1} según Leitão et al., (2012). Estos resultados no pueden ser asociados al abonado de las viñas, pues concentraciones mucho más bajas que éstas fueron encontradas en las mismas muestras, pero en la vendimia 2010 ($0,14$ y $0,48 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente). Las concentraciones encontradas en los vinos están por encima de los 2 mg L^{-1} establecidos como máximo en países como Alemania.

Atendiendo al contenido total de aminas biógenas (Figura 1.17) las cantidades encontradas en los vinos de la vendimia 2011 fueron muy superiores que las de la vendimia 2010, contrariamente a lo que ocurrió con la experiencia del abonado con caliza. Este hecho tendría que explicarse por algún factor relacionado con la actividad microbiana de los vinos, puede que con el desarrollo de la fermentación maloláctica.

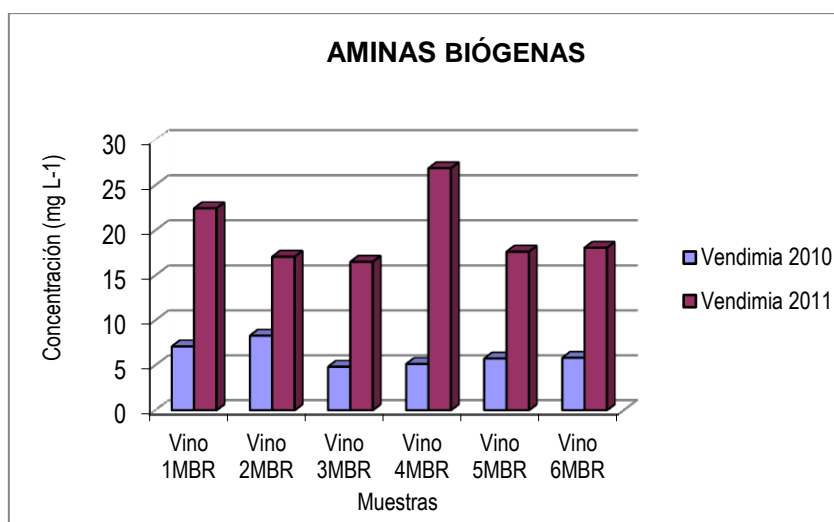


Figura 1.17. Aminas biógenas totales de los vinos tratados con matrices MBR09 y MBR13 en las vendimias 2010 y 2011.

1.3.2.4. Efecto de la aplicación de las matrices MBR09 y MBR13 en los compuestos volátiles de los vinos

La composición aromática de un vino constituye uno de los principales factores que determinan su calidad y origen, así como su aceptación por parte de los consumidores. En los últimos años, una gran cantidad de compuestos aromáticos han sido identificados en los vinos en concentraciones muy variadas, que en conjunto, forman el perfil del aroma de los mismos. Este perfil aromático se ve influenciado, entre otros factores, por las variedades de uvas utilizadas, por las diferentes prácticas vitícolas, por las técnicas enológicas empleadas y por las regiones de cultivo de los viñedos (Xi et al., 2012).

Un total de 78 compuestos volátiles, entre ellos, alcoholes, ésteres, ácidos, alcoholes C₆, compuestos de tipo furano, terpenos, compuestos bencénicos, entre otros, han sido identificados y cuantificados en nuestras muestras de vino analizadas (Tablas 1.28 y 1.29).

Los **ésteres** forman uno de los principales grupos de compuestos del aroma presentes en los vinos y son los mayores responsables del carácter afrutado, típico de los vinos jóvenes (ETIEVANT, 1991). Un total de 18 ésteres, entre ésteres etílicos y

ésteres de acetato, fueron identificados y cuantificados en las muestras de vino de ambas las vendimias. De entre los ésteres de acetato, el acetato de etilo fue el mayoritario tanto en la vendimia 2010 como en la 2011, con valores muy por encima de su umbral de percepción olfativa ($7500 \mu\text{g L}^{-1}$). En la vendimia 2010 el vino 1 (vino control) fue el que presentó mayores cantidades de este compuesto y el vino 4 las menores. Concentraciones elevadas de acetato de etilo no son deseables ya que pueden impartir a los vinos un aroma “avinagrado” Otro acetato encontrado en concentraciones elevadas en nuestros vinos fue el acetato de isoamilo. Este compuesto posee notas aromáticas descritas como fresca y plátano, con un umbral olfativo de $30 \mu\text{g L}^{-1}$ (GUTH, 1997), valores que son superados por todas nuestras muestras analizadas, aunque los vinos de la vendimia 2011 tuvieron concentraciones inferiores a los del 2010. Por otro lado, el acetato de 2-feniletilo, considerado el tercer acetato cuantitativamente más importante en nuestros vinos, no superó en ninguna de las muestras el umbral de percepción olfativa que es de $250 \mu\text{g L}^{-1}$ (GUTH, 1997).

Con relación a los ésteres etílicos, los cuantitativamente más importantes en nuestros vinos fueron el monosuccinato de etilo, succinato de dietilo, 4-hidroxibutirado de etilo, caprilato de etilo y caproato de etilo. Como ya hemos reportado anteriormente, el monosuccinato de etilo y el succinato de dietilo no interfieren en el aroma de los vinos debido a que sus umbrales de percepción olfativa son bastante elevados, alrededor de los 500mg L^{-1} para el succinato de dietilo (TOMINAGA et al., 1998). El caprilato de etilo posee un bajo umbral olfativo, entre $2 \mu\text{g L}^{-1}$ y $5 \mu\text{g L}^{-1}$, y sus notas aromáticas son descritas como piña, pera y floral (GUTH, 1997; FERREIRA et al., 2000). Las concentraciones de este compuesto encontradas en nuestros vinos superan en todos los casos su umbral de percepción olfativa y están de acuerdo con los valores encontrados en la literatura (TAO et al., 2008; MORENO-PÉREZ et al., 2013; TAO & ZHANG et al., 2013). El caproato de etilo se encontró en nuestros vinos en una concentración media de $330 \mu\text{g L}^{-1}$ en la vendimia 2011 y $203 \mu\text{g L}^{-1}$ en la vendimia 2010, resultados que están en común acuerdo con los encontrados en la

bibliografía para vinos tintos jóvenes de la misma variedad (TAO et al., 2008; MORENO-PÉREZ et al., 2013). En todos los casos, la concentración de caproato de etilo supera su umbral de percepción olfativa, que es de $14 \mu\text{g L}^{-1}$ y posee aromas descritos como afrutado y anís (FERREIRA et al., 2000). Algunas diferencias significativas se han observado dentro de este grupo de compuestos pero los patrones no se repiten en ambas vendimias.

En la Figura 1.18 se representan las cantidades totales de ésteres para cada vendimia, en todos los casos menos en el control las cantidades de ésteres fueron mayores en la vendimia 2011, en la que las diferencias entre las muestras no fueron significativas. En la vendimia 2010 el vino1 (control) presentó cantidades mayores de ésteres totales, especialmente por sus elevadas cantidades de acetato de etilo.

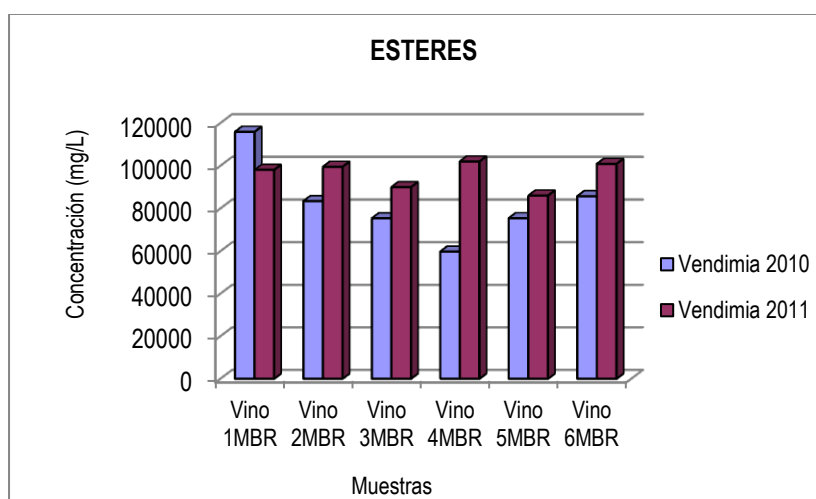


Figura 1.18. Ésteres totales de los vinos tratados con matrices MBR09 y MBR13 en las vendimias 2010 y 2011.

Un total de 17 **alcoholes** fueron encontrados en los vinos analizados, formando la fracción volátil cuantitativamente más importante de nuestros vinos. Estos compuestos son liberados al medio como productos secundarios del metabolismo de la levadura (PERESTRELO et al., 2006) y son reconocidos por su fuerte aroma y

sabor picante que los relacionan con notas herbáceas (GÓMEZ-CARPINTERO et al., 2011).

El 3-metil butanol fue el alcohol superior encontrado en mayores cantidades en todas las muestras de vino evaluadas, con concentraciones siempre por encima de los 400 mg L⁻¹. Otros alcoholes superiores encontrados en concentraciones importantes fueron el 2-metil butanol, el metanol, el isobutanol y el propanol. De ellos, el propanol parece no intervenir en el aroma de los vinos debido a su alto umbral de percepción olfativa, que es de 306 mg L⁻¹ (PEINADO et al., 2004), valores muy por encima de los encontrados en nuestros vinos. El isobutanol presenta igualmente un umbral olfativo (40 mg L⁻¹) (GUTH, 1997), que solo fue superado por una de las muestras (Tablas 1.28 y 1.29).

Las concentraciones totales de alcoholes superiores encontrados en nuestros vinos (al igual que los encontrados en los vinos provenientes de uvas tratadas con las calizas de esquisto y caliza convencional, ver Tablas 1.17 y 1.18) está muy por encima de los valores dichos como ideales, lo que podría ser un problema desde el punto de vista sensorial, por afectar negativamente el aroma de los vinos. En la vendimia 2010 los alcoholes mayoritarios y la suma total no presentaron diferencias significativas, sin embargo en la vendimia 2011 el contenido total fue significativamente diferente entre las muestras, con un mayor contenido en la muestra 5 que además presentó una cantidad de 3-metil butanol muy elevada (648,78 mg/L).

Tabla 1.28. Concentración media ($\mu\text{g/L}$) e intervalo de confianza (IC) de los compuestos volátiles minoritarios en los vinos de la vendimia 2010.

	Vino 1		Vino 2		Vino 3		Vino 4		Vino 5		Vino 6		IC
	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	
	0*	0*	120*	120*	1680*	120*	120*	1680*	1680*	1680*	900*	900*	
<i>Esteres</i>													
acetato de etilo	92960,4 ± 21199,4		63030,6 ± 21199,4		50204,9 ± 21199,4		35444,9 ± 21199,4		84338,6 ± 21199,4		64012,3 ± 12239,5		**
butanoato de etilo	115,46 ± 31,68		113,62 ± 31,68		149,51 ± 31,68		186,08 ± 31,68		194,99 ± 31,68		153,10 ± 18,29		**
isovalerato de etilo	10,92 ± 3,35		16,52 ± 3,35		15,02 ± 3,35		18,46 ± 3,35		19,06 ± 3,35		7,31 ± 1,94		**
acetato de isoamilo	401,07 ± 108,9		563,28 ± 108,9		212,94 ± 108,9		495,28 ± 108,9		502,86 ± 108,9		254,25 ± 62,88		**
caproato de etilo	306,55 ± 54,32		352,63 ± 54,32		334,98 ± 54,32		348,92 ± 54,32		360,88 ± 54,32		292,48 ± 31,37		n.s
acetato de hexilo	3,31 ± 1,93		7,02 ± 1,93		4,36 ± 1,93		3,50 ± 1,93		4,11 ± 1,93		4,54 ± 1,12		n.s
lactato de etilo	46,44 ± 22,03		48,90 ± 22,03		61,62 ± 22,03		57,74 ± 22,03		48,98 ± 22,03		53,59 ± 12,72		n.s
butanoic acid, 2-hydroxi-3methyl, etil ester	16,62 ± 2,98		15,86 ± 2,98		19,34 ± 2,98		21,51 ± 2,98		14,31 ± 2,98		9,90 ± 1,72		**
caprilato de etilo	405,20 ± 49,37		450,69 ± 49,37		409,41 ± 49,37		418,65 ± 49,37		445,30 ± 49,37		348,69 ± 28,50		**
3-hidroxibutirato de etilo	92,62 ± 13,22		121,91 ± 13,22		92,91 ± 13,22		106,44 ± 13,22		115,94 ± 13,22		83,55 ± 7,63		**
2-hidroxí-4-metil-pentanoato de etilo	99,12 ± 30,14		73,19 ± 30,14		94,55 ± 30,14		95,44 ± 30,14		70,32 ± 30,14		74,40 ± 17,40		n.s
malonato de dietilo	162,14 ± 64,59		136,25 ± 64,59		202,11 ± 64,59		169,61 ± 64,59		132,69 ± 64,59		152,21 ± 37,30		n.s
succinato de etil metilo	41,41 ± 11,64		33,04 ± 11,64		40,84 ± 11,64		26,39 ± 11,64		35,51 ± 11,64		34,12 ± 6,72		n.s
caprato de etilo	87,94 ± 17,05		83,56 ± 17,05		68,81 ± 17,05		120,22 ± 17,05		106,57 ± 17,05		65,74 ± 9,84		**
succinato de dietilo	2279,36 ± 743,55		2118,61 ± 743,55		2800,42 ± 743,55		1649,33 ± 743,55		1483,35 ± 743,55		2121,07 ± 429,29		n.s
4-hidroxibutirato de etilo	818,05 ± 225,10		789,39 ± 225,10		643,24 ± 225,10		654,28 ± 225,10		910,97 ± 225,10		705,47 ± 129,96		n.s
acetato de 2-feniletilo	155,33 ± 37,15		147,16 ± 37,15		101,17 ± 37,15		155,11 ± 37,15		149,74 ± 37,15		109,22 ± 21,45		n.s
monosuccinato de etilo	17888,5 ± 3501,05		15306,5 ± 3501,05		19920,0 ± 3501,05		19820,0 ± 3501,05		16496,2 ± 3501,05		17266,1 ± 3501,05		n.s
<i>Total</i>	<i>115890 ± 19508,3</i>		<i>83408,5 ± 19508,3</i>		<i>75376,2 ± 19508,3</i>		<i>59792,8 ± 19508,3</i>		<i>75430,7 ± 19508,3</i>		<i>85748,2 ± 19508,3</i>		<i>**</i>
<i>Alcoholes</i>													
metanol	92515,6 ± 14649,1		94652,9 ± 14649,1		85711,1 ± 14649,1		78454,9 ± 14649,1		99406,1 ± 14649,1		68443,4 ± 8457,61		**
propanol	72125,6 ± 9608,85		64767,0 ± 9608,85		45947,8 ± 9608,85		53274,7 ± 9608,85		58252,4 ± 9608,85		38136,7 ± 5547,68		**
isobutanol	91341,9 ± 22942,4		34981,7 ± 22942,4		100807 ± 22942,4		48768,5 ± 22942,4		53122,6 ± 22942,4		67945,6 ± 13246,1		**
2-metil butanol	174789 ± 29260,4		124624 ± 29260,4		139172 ± 29260,4		120309 ± 29260,4		148235 ± 29260,4		143341 ± 29260,4		n.s

Tabla 1.28. Continuación

	Vino 1		Vino 2		Vino 3		Vino 4		Vino 5		Vino 6		IC
	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	
	0*	0*	120*	120*	1680*	120*	120*	1680*	1680*	1680*	900*	900*	
3-metil butanol	472398 ± 51004,2		567270 ± 51004,2		539572 ± 51004,2		407145 ± 51004,2		648783 ± 51004,2		447145 ± 23004,02		**
butanol	9,78 ± 1,76		9,57 ± 1,76		11,90 ± 1,76		12,89 ± 1,76		12,85 ± 1,76		11,30 ± 1,01		n.s
pentanol	10,08 ± 2,83		11,04 ± 2,83		9,96 ± 2,83		11,01 ± 2,83		15,28 ± 2,83		10,96 ± 1,64		n.s
4-metil pentanol	40,85 ± 13,38		36,47 ± 13,38		44,30 ± 13,38		44,19 ± 13,38		47,99 ± 13,38		42,70 ± 7,72		n.s
2-heptanol	4,19 ± 1,62		3,09 ± 1,62		4,24 ± 1,62		4,83 ± 1,62		4,98 ± 1,62		3,93 ± 0,93		n.s
3-metil pentanol	110,70 ± 12,82		117,32 ± 12,82		116,46 ± 12,82		105,78 ± 12,82		129,44 ± 12,82		97,77 ± 7,40		**
3-etoxi-1-propanol	1,91 ± 1,20		2,09 ± 1,20		2,47 ± 1,20		3,54 ± 1,20		2,78 ± 1,20		2,47 ± 0,69		n.s
3-octen-1-ol	2,53 ± 0,97		3,25 ± 0,97		3,90 ± 0,97		3,25 ± 0,97		3,76 ± 0,97		3,25 ± 0,56		n.s
heptanol	32,42 ± 9,29		39,19 ± 9,29		31,01 ± 9,29		27,81 ± 9,29		23,77 ± 9,29		30,94 ± 5,35		n.s
2-propanol	17,51 ± 5,37		15,71 ± 5,37		20,09 ± 5,37		17,22 ± 5,37		13,50 ± 5,37		15,48 ± 4,14		n.s
2-etil-1-hexanol	2,87 ± 0,82		3,01 ± 0,82A		3,63 ± 0,82		2,99 ± 0,82		2,65 ± 0,82		3,40 ± 0,47		n.s
octanol	28,29 ± 8,95		25,11 ± 8,95		40,09 ± 8,95		34,28 ± 8,95		40,37 ± 8,95		25,99 ± 5,16		**
nonanol	7,47 ± 2,80		8,25 ± 2,80		8,87 ± 2,80		8,03 ± 2,80		6,91 ± 2,80		5,67 ± 2,80		n.s
<i>Total</i>	<i>903440 ± 93784,0</i>		<i>886570 ± 93784,0</i>		<i>911508 ± 93784,0</i>		<i>708228 ± 93784,0</i>		<i>1008105 ± 93784,0</i>		<i>765267 ± 54146,2</i>		<i>**</i>
<i>Compuestos C₆</i>													
1-hexanol	908,70 ± 139,57		953,59 ± 139,57		1057,85 ± 139,57		1041,73 ± 139,57		1100,92 ± 139,57		870,39 ± 80,58		**
(E)-3-hexen-1-ol	21,51 ± 3,31		24,27 ± 3,31		26,58 ± 3,31		26,24 ± 3,31		26,97 ± 3,31		21,33 ± 1,91		**
(Z)-3-hexen-1-ol	15,11 ± 1,89		16,58 ± 1,89		15,76 ± 1,89		18,56 ± 1,89		17,09 ± 1,89		14,31 ± 1,09		**
(E)-2-hexen-1-ol	4,62 ± 1,25		5,64 ± 1,25		7,25 ± 1,25		6,14 ± 1,25		5,68 ± 1,25		5,49 ± 0,73		**
(Z)-2-hexen-1-ol	5,22 ± 0,56		4,84 ± 0,56		6,12 ± 0,56		7,23 ± 0,56		7,54 ± 0,56		5,41 ± 0,32		**
<i>Total</i>	<i>955,15 ± 154,19</i>		<i>1004,93 ± 154,19</i>		<i>1113,56 ± 154,19</i>		<i>1099,91 ± 154,19</i>		<i>1158,20 ± 154,19</i>		<i>916,93 ± 83,83</i>		<i>**</i>
<i>Ácidos</i>													
ácido acético	8,89 ± 4,04		7,22 ± 4,04		11,28 ± 4,04		11,41 ± 4,04		10,20 ± 4,04		9,12 ± 2,33		n.s
ácido propanoico	0,84 ± 0,49		0,60 ± 0,49		0,90 ± 0,49		1,20 ± 0,49		0,95 ± 0,49		1,19 ± 0,28		n.s
ácido isobutírico	5,55 ± 1,76		6,50 ± 1,76		6,15 ± 1,76		6,44 ± 1,76		6,19 ± 1,76		5,60 ± 1,02		n.s

Tabla 1.28. Continuación

	<i>Vino 1</i>		<i>Vino 2</i>		<i>Vino 3</i>		<i>Vino 4</i>		<i>Vino 5</i>		<i>Vino 6</i>		<i>IC</i>
	<i>Mbr09</i>	<i>Mbr13</i>	<i>Mbr09</i>	<i>Mbr13</i>	<i>Mbr09</i>	<i>Mbr13</i>	<i>Mbr09</i>	<i>Mbr13</i>	<i>Mbr09</i>	<i>Mbr13</i>	<i>Mbr09</i>	<i>Mbr13</i>	
	<i>0*</i>	<i>0*</i>	<i>120*</i>	<i>120*</i>	<i>1680*</i>	<i>120*</i>	<i>120*</i>	<i>1680*</i>	<i>1680*</i>	<i>1680*</i>	<i>900*</i>	<i>900*</i>	
ácido butanoico	13,46 ± 4,01		14,43 ± 4,01		13,39 ± 4,01		15,07 ± 4,01		14,98 ± 4,01		12,04 ± 2,32		n.s
ácido 3-metilpentanoico	390,13 ± 55,85		355,56 ± 55,85		443,83 ± 55,85		409,72 ± 55,85		381,14 ± 55,85		367,04 ± 32,25		n.s
ácido hexanoico	607,73 ± 80,30		630,74 ± 80,30		616,77 ± 80,30		629,33 ± 80,30		611,17 ± 80,30		523,61 ± 46,36		n.s
ácido octanoico	806,35 ± 124,60		825,26 ± 124,60		776,53 ± 124,60		899,30 ± 124,60		912,75 ± 124,60		688,89 ± 71,94		**
ácido decanoico	389,12 ± 99,28		284,66 ± 99,28		284,27 ± 99,28		358,74 ± 99,28		344,31 ± 99,28		285,96 ± 57,32		n.s
<i>Total</i>	<i>2222,07 ± 328,39</i>		<i>2124,98 ± 328,39</i>		<i>2153,12 ± 328,39</i>		<i>2331,21 ± 328,39</i>		<i>2281,68 ± 328,39</i>		<i>1893,44 ± 189,60</i>		<i>n.s</i>
<i>Compuestos bencénicos</i>													
benzaldehído	2,32 ± 2,43		1,76 ± 2,43		1,32 ± 2,43		2,39 ± 2,43		2,57 ± 2,43		2,76 ± 1,40		n.s
guaiacol	235,06 ± 82,39		173,95 ± 82,39		286,05 ± 82,39		219,65 ± 82,39		198,69 ± 82,39		162,48 ± 77,57		n.s
alcohol bencílico	499,78 ± 109,58		652,34 ± 109,58		642,34 ± 109,58		606,65 ± 109,58		574,62 ± 109,58		521,88 ± 63,27		n.s
2-feniletanol	25041,65 ± 4293,5		21078,75 ± 4293,5		26039,52 ± 4293,5		25745, 00 ± 4293,5		26936,67 ± 4293,5		23500,86 ± 2479,2		n.s
fenol	28,77 ± 13,97		25,60 ± 13,97		31,74 ± 13,97		35,44 ± 13,97		48,51 ± 13,97		37,02 ± 8,06		n.s
4-etil guaiacol	58,87 ± 10,11		43,94 ± 10,11		98,57 ± 10,11		38,00 ± 10,11		30,54 ± 10,11		38,12 ± 5,84		**
4-metil fenol	19,37 ± 4,82		14,24 ± 4,82		14,55 ± 4,82		14,90 ± 4,82		19,23 ± 4,82		17,56 ± 2,79		n.s
4-etil fenol	23,64 ± 64,52		8,90 ± 64,52		619,60 ± 64,52		125,30 ± 64,52		52,14 ± 64,52		111,10 ± 37,25		**
4-vinil guaiacol	74,18 ± 93,26		69,19 ± 93,26		33,93 ± 93,26		84,72 ± 93,26		82,53 ± 93,26		105,00 ± 53,84		n.s
siringol	684,66 ± 263,46		792,29 ± 263,46		887,46 ± 263,46		881,21 ± 263,46		682,26 ± 263,46		572,77 ± 152,11		n.s
ácido benzoico	46,07 ± 35,69		54,34 ± 35,69		70,27 ± 35,69		75,19 ± 35,69		58,55 ± 35,69		76,49 ± 20,61		n.s
ácido fenilacético	75,81 ± 65,48		52,00 ± 65,48		76,23 ± 65,48		98,07 ± 65,48		151,44 ± 65,48		132,10 ± 37,80		n.s
vainillina	86,83 ± 38,01		80,49 ± 38,01		93,19 ± 38,01		58,36 ± 38,01		88,43 ± 38,01		66,08 ± 21,89		
metil vainillato	47,87 ± 44,68		23,15 ± 44,68		38,31 ± 44,68		68,09 ± 44,68		116,34 ± 44,68		93,03 ± 25,80		**
etil vainillato	270,11 ± 111,06		250,84 ± 111,06		259,48 ± 111,06		249,09 ± 111,06		390,33 ± 111,06		283,63 ± 64,12		n.s
acetovainillona	103,04 ± 34,91		102,80 ± 34,91		104,31 ± 34,91		104,58 ± 34,91		120,31 ± 34,91		118,72 ± 20,16		n.s
<i>Total</i>	<i>27298,1 ± 4559,9</i>		<i>23424,7 ± 4559,9</i>		<i>29296,9 ± 4559,9</i>		<i>28406,6 ± 4559,9</i>		<i>29553,1 ± 4559,9</i>		<i>25839,1 ± 2632,7</i>		<i>n.s</i>

Tabla 1.28. Continuación

	<i>Vino 1</i>		<i>Vino 2</i>		<i>Vino 3</i>		<i>Vino 4</i>		<i>Vino 5</i>		<i>Vino 6</i>		<i>IC</i>
	<i>Mbr09</i>	<i>Mbr13</i>	<i>Mbr09</i>	<i>Mbr13</i>	<i>Mbr09</i>	<i>Mbr13</i>	<i>Mbr09</i>	<i>Mbr13</i>	<i>Mbr09</i>	<i>Mbr13</i>	<i>Mbr09</i>	<i>Mbr13</i>	
	<i>0*</i>	<i>0*</i>	<i>120*</i>	<i>120*</i>	<i>1680*</i>	<i>120*</i>	<i>120*</i>	<i>1680*</i>	<i>1680*</i>	<i>1680*</i>	<i>900*</i>	<i>900*</i>	
<i>Terpenos</i>													
linalol	2,54 ± 2,05		2,96 ± 2,05		3,30 ± 2,05		2,95 ± 2,05		2,44 ± 2,05		4,01 ± 1,18		n.s
α-terpineol	11,19 ± 9,23		17,04 ± 9,23		14,94 ± 9,23		19,88 ± 9,23		16,80 ± 9,23		15,59 ± 5,32		n.s
β-citronol	9,46 ± 4,42		14,99 ± 4,42		19,89 ± 4,42		14,49 ± 4,42		14,68 ± 4,42		15,51 ± 2,55		**
β-damacenona	13,11 ± 5,14		12,24 ± 5,14		15,05 ± 5,14		13,13 ± 5,14		9,84 ± 5,14		8,27 ± 2,98		n.s
<i>trans</i> -geraniol	3,83 ± 1,94		4,61 ± 1,94		6,40 ± 1,94		6,06 ± 1,94		8,05 ± 1,94		7,46 ± 1,12		**
3-hidroxi-β-damascona	209,51 ± 74,21		77,13 ± 74,21		202,34 ± 74,21		66,92 ± 74,21		202,29 ± 74,21		125,22 ± 42,84		n.s
<i>Total</i>	<i>249,65 ± 86,97</i>		<i>128,97 ± 86,97</i>		<i>261,93 ± 86,97</i>		<i>123,43 ± 86,97</i>		<i>254,11 ± 86,97</i>		<i>176,06 ± 50,21</i>		<i>n.s</i>
<i>Furanonas</i>													
γ-butirolactona	1,04 ± 0,44		0,74 ± 0,44		0,89 ± 0,44		0,93 ± 0,44		0,65 ± 0,44		0,60 ± 0,26		n.s
γ-etoxibutirolactona	13,98 ± 1,85		11,97 ± 1,85		16,28 ± 1,85		17,37 ± 1,85		9,29 ± 1,85		8,61 ± 1,07		**
<i>Total</i>	<i>15,02 ± 1,87</i>		<i>12,72 ± 1,87</i>		<i>17,18 ± 1,87</i>		<i>18,30 ± 1,87</i>		<i>9,94 ± 1,87</i>		<i>9,21 ± 1,08</i>		<i>**</i>
<i>Miscelania</i>													
acetaldehído	3596,46 ± 1901,81		5415,28 ± 1901,81		3907,61 ± 1901,81		3528,06 ± 1901,81		1976,07 ± 1901,81		2184,77 ± 1098,01		**
ciclohexanona	2,24 ± 0,88		2,12 ± 0,88		3,30 ± 0,88		3,43 ± 0,88		3,05 ± 0,88		2,98 ± 0,51		n.s
2-metiltetrahidrotiofen-3-ona	35,36 ± 3,97		31,78 ± 3,97		30,77 ± 3,97		29,14 ± 3,97		32,57 ± 3,97		28,27 ± 2,15		**
n-(3-metilbutil)-acetamida	264,35 ± 121,42		54,67 ± 121,42		215,72 ± 121,42		110,03 ± 121,42		198,51 ± 121,42		113,98 ± 70,10		n.s
3-(metiltio) propanol	119,30 ± 24,54		145,13 ± 24,54		137,83 ± 24,54		109,78 ± 24,54		118,12 ± 24,54		96,91 ± 14,17		**
<i>Total</i>	<i>4017,71 ± 1877,96</i>		<i>5648,99 ± 1877,96</i>		<i>4295,23 ± 1877,96</i>		<i>3780,44 ± 1877,96</i>		<i>2328,34 ± 1877,96</i>		<i>2426,89 ± 1084,24</i>		<i>**</i>

* Kilogramos por hectárea; ** diferencias significativas; n.s = no significativo; n.d = no detectado.

Tabla 1.29. Concentración media ($\mu\text{g/L}$) e intervalo de confianza (IC) de los compuestos volátiles minoritarios de los vinos de la vendimia 2011.

	Vino 1		Vino 2		Vino 3		Vino 4		Vino 5		Vino 6		IC
	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	
	0*	0*	120*	120*	1680*	120*	120*	1680*	1680*	1680*	900*	900*	
<i>Esteres</i>													
acetato de etilo	67581,7 ± 22729,6		68473,7 ± 22729,6		58291,5 ± 22729,6		73764,6 ± 22729,6		60534,1 ± 22729,6		75214,5 ± 13122,75		n.s
butanoato de etilo	43,02 ± 17,73		54,91 ± 17,73		55,33 ± 17,73		68,02 ± 17,73		39,40 ± 17,73		61,78 ± 10,23		n.s
isovalerato de etilo	6,72 ± 4,07		7,45 ± 4,07		6,16 ± 4,07		3,83 ± 4,07		12,87 ± 4,07		6,35 ± 2,36		**
acetato de isoamilo	161,63 ± 78,43		184,37 ± 78,43		80,28 ± 78,43		168,29 ± 78,43		134,42 ± 78,43		168,81 ± 45,28		n.s
caproato de etilo	206,05 ± 47,53		238,76 ± 47,53		184,75 ± 47,53		223,31 ± 47,53		195,17 ± 47,53		175,12 ± 27,44		n.s
acetato de hexilo	8,19 ± 2,82		5,59 ± 2,82		3,50 ± 2,82		4,60 ± 2,82		5,19 ± 2,82		6,21 ± 1,63		n.s
lactato de etilo	97,53 ± 15,88		88,02 ± 15,88		58,20 ± 15,88		76,02 ± 15,88		59,43 ± 15,88		65,65 ± 9,17		**
butanoic acid, 2-hydroxi-3methyl, etil ester	22,25 ± 5,83		31,78 ± 5,83		14,78 ± 5,83		19,27 ± 5,83		14,69 ± 5,83		18,51 ± 3,37		**
caprilato de etilo	251,60 ± 43,77		300,96 ± 43,77		260,79 ± 43,77		299,66 ± 43,77		264,16 ± 43,77		229,19 ± 25,27		**
3-hidroxibutirato de etilo	78,38 ± 11,88		108,85 ± 11,88		69,58 ± 11,88		93,39 ± 11,88		67,78 ± 11,88		72,97 ± 6,86		**
2-hidroxi-4-metil-pentanoato de etilo	103,18 ± 13,39		126,22 ± 13,39		84,34 ± 13,39		69,78 ± 13,39		88,87 ± 13,39		85,83 ± 7,72		**
malonato de dietilo	304,80 ± 40,70		285,95 ± 40,70		254,77 ± 40,70		209,32 ± 40,70		242,28 ± 40,70		225,00 ± 23,50		**
succinato de etil metilo	136,43 ± 8,32		87,10 ± 8,32		61,11 ± 8,32		60,31 ± 8,32		53,28 ± 8,32		44,18 ± 4,80		**
caprato de etilo	65,47 ± 15,32		37,64 ± 15,32		61,85 ± 15,32		75,09 ± 15,32		83,10 ± 15,32		69,57 ± 8,84		**
succinato de dietilo	6928,65 ± 920,91		7816,79 ± 920,91		6904,09 ± 920,91		6182,06 ± 920,91		5793,16 ± 920,91		5386,63 ± 531,69		**
4-hidroxibutirato de etilo	500,75 ± 277,47		334,80 ± 277,47		356,33 ± 277,47		534,06 ± 277,47		324,87 ± 277,47		708,31 ± 160,20		n.s
acetato de 2-feniletilo	114,60 ± 38,87		137,70 ± 38,87		100,72 ± 38,87		81,43 ± 38,87		104,51 ± 38,87		103,78 ± 22,44		n.s
monosuccinato de etilo	21485,7 ± 5046,82		21202,1 ± 5046,82		23124,2 ± 5046,82		20079,8 ± 5046,82		17704,7 ± 5046,82		18230,1 ± 2913,78		n.s
<i>Total</i>	<i>98097,9 ± 25241,1</i>		<i>99522,7 ± 25241,1</i>		<i>89971,3 ± 25241,1</i>		<i>102013 ± 25241,1</i>		<i>86022,6 ± 25241,1</i>		<i>100872,8 ± 14573,4</i>		<i>n.s</i>
<i>Alcoholes</i>													
metanol	93869,4 ± 20045,7		72491,9 ± 20045,7		83073,7 ± 20045,7		64573,2 ± 20045,7		72600,9 ± 20045,7		81462,1 ± 11573,45		n.s
propanol	51735,3 ± 18009,9		55121,5 ± 18009,9		56321,1 ± 18009,9		52838,7 ± 18009,9		54099,1 ± 18009,9		55874,2 ± 10397,95		n.s
isobutanol	60186,9 ± 17329,2		74932,5 ± 17329,2		75022,8 ± 17329,2		93703,1 ± 17329,2		80389,4 ± 17329,2		75487,4 ± 10005,43		n.s
2-metil butanol	132154 ± 37095,8		125765 ± 37095,8		156287 ± 37095,8		168667 ± 37095,8		141657 ± 37095,8		127895 ± 21417,2		n.s

Tabla 1.29. Continuación

	Vino 1		Vino 2		Vino 3		Vino 4		Vino 5		Vino 6		IC
	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	
	0*	0*	120*	120*	1680*	120*	120*	1680*	1680*	1680*	900*	900*	
3-metil butanol	481110 ± 37560,8		456788 ± 37560,8		476078 ± 37560,8		482898 ± 37560,8		468519 ± 37560,8		454035 ± 21685,7		n.s
butanol	4,04 ± 1,44		3,37 ± 1,44		2,82 ± 1,44		3,82 ± 1,44		4,51 ± 1,44		3,62 ± 0,83		n.s
pentanol	16,49 ± 2,50		16,27 ± 2,50		11,52 ± 2,50		13,68 ± 2,50		16,60 ± 2,50		9,30 ± 1,45		**
4-metil pentanol	28,18 ± 5,30		25,70 ± 5,30		23,77 ± 5,30		23,19 ± 5,30		25,91 ± 5,30		23,92 ± 3,06		n.s
2-heptanol	5,83 ± 1,95		3,80 ± 1,95		4,19 ± 1,95		3,28 ± 1,95		5,63 ± 1,95		5,29 ± 1,12		n.s
3-metil pentanol	42,34 ± 6,41		44,78 ± 6,41		34,75 ± 6,41		29,60 ± 6,41		44,86 ± 6,41		35,96 ± 3,70		**
3-etoxi-1-propanol	5,70 ± 1,31		6,26 ± 1,31		5,03 ± 1,31		6,35 ± 1,31		4,57 ± 1,31		5,16 ± 0,76		n.s
3-octen-1-ol	7,06 ± 1,23		2,17 ± 1,23		4,13 ± 1,23		4,32 ± 1,23		3,33 ± 1,23		2,87 ± 0,71		**
heptanol	25,04 ± 2,60		21,01 ± 2,60		18,29 ± 2,60		17,80 ± 2,60		18,25 ± 2,60		19,11 ± 1,50		**
2-propanol	35,61 ± 6,73		48,88 ± 6,73		26,65 ± 6,73		28,30 ± 6,73		20,88 ± 6,73		24,46 ± 3,88		**
2-etil-1-hexanol	3,46 ± 0,81		2,72 ± 0,81		1,97 ± 0,81		1,72 ± 0,81		2,29 ± 0,81		1,98 ± 0,47		**
octanol	49,65 ± 10,14		43,57 ± 10,14		45,13 ± 10,14		34,43 ± 10,14		58,15 ± 10,14		38,24 ± 5,85		**
nonanol	16,12 ± 7,51		22,73 ± 7,51		12,14 ± 7,51		13,51 ± 7,51		6,81 ± 7,51		6,91 ± 4,33		**
<i>Total</i>	<i>820556 ± 80615,8</i>		<i>786471 ± 80615,8</i>		<i>847901 ± 80615,8</i>		<i>864922 ± 80615,8</i>		<i>818496 ± 80615,8</i>		<i>795872 ± 46543,5</i>		<i>n.s</i>
<i>Compuestos C₆</i>													
1-hexanol	793,29 ± 112,21		753,84 ± 112,21		625,58 ± 112,21		727,43 ± 112,21		665,80 ± 112,21		631,26 ± 64,78		n.s
(E)-3-hexen-1-ol	20,64 ± 2,79		18,01 ± 2,79		15,80 ± 2,79		19,08 ± 2,79		18,75 ± 2,79		17,09 ± 1,61		n.s
(Z)-3-hexen-1-ol	7,37 ± 1,77		10,63 ± 1,77		4,90 ± 1,77		7,95 ± 1,77		5,19 ± 1,77		6,07 ± 1,01		**
(E)-2-hexen-1-ol	7,88 ± 1,02		6,26 ± 1,02		5,57 ± 1,02		6,10 ± 1,02		5,53 ± 1,02		5,14 ± 0,58		**
(Z)-2-hexen-1-ol	9,51 ± 1,56		7,03 ± 1,56		15,63 ± 1,56		6,69 ± 1,56		6,10 ± 1,56		5,07 ± 0,89		**
<i>Total</i>	<i>838,68 ± 118,25</i>		<i>795,77 ± 118,25</i>		<i>667,47 ± 118,25</i>		<i>767,25 ± 118,25</i>		<i>701,37 ± 118,25</i>		<i>664,65 ± 6827</i>		<i>n.s</i>
<i>Ácidos</i>													
ácido acético	3,83 ± 1,09		3,96 ± 1,09		4,22 ± 1,09		3,16 ± 1,09		3,59 ± 1,09		4,51 ± 0,63		n.s
ácido propanoico	2,14 ± 0,41		1,89 ± 0,41		2,51 ± 0,41		1,93 ± 0,41		2,25 ± 0,41		1,88 ± 0,24		n.s
ácido isobutírico	7,81 ± 1,77		9,85 ± 1,77		6,92 ± 1,77		7,35 ± 1,77		6,55 ± 1,77		7,01 ± 1,01		**

Tabla 1.29. Continuación

	Vino 1		Vino 2		Vino 3		Vino 4		Vino 5		Vino 6		IC
	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	
	0*	0*	120*	120*	1680*	120*	120*	1680*	1680*	1680*	900*	900*	
ácido butanoico	8,38 ± 1,46		8,99 ± 1,46		6,96 ± 1,46		8,74 ± 1,46		6,98 ± 1,46		6,40 ± 0,84		**
ácido 3-metilpentanoico	370,40 ± 49,17		412,43 ± 49,17		397,61 ± 49,17		368,96 ± 49,17		395,40 ± 49,17		374,90 ± 26,66		n.s
ácido hexanoico	458,67 ± 46,39		551,42 ± 46,39		458,05 ± 46,39		519,06 ± 46,39		425,67 ± 46,39		417,33 ± 26,79		**
ácido octanoico	598,09 ± 74,80		788,61 ± 74,80		650,69 ± 74,80		726,48 ± 74,80		565,41 ± 74,80		557,58 ± 43,18		**
ácido decanoico	310,91 ± 97,31		251,73 ± 97,31		247,67 ± 97,31		311,12 ± 97,31		243,05 ± 97,31		254,28 ± 56,19		n.s
<i>Total</i>	<i>1757,22 ± 200,76</i>		<i>2028,88 ± 200,76</i>		<i>1774,65 ± 200,76</i>		<i>1946,81 ± 200,76</i>		<i>1648,89 ± 200,76</i>		<i>1623,88 ± 115,92</i>		**
<i>Compuestos bencénicos</i>													
benzaldehído	27,49 ± 15,5		16,48 ± 15,5		40,46 ± 15,5		34,93 ± 15,5		34,76 ± 15,5		30,28 ± 8,95		n.s
guaiacol	245,57 ± 53,48		89,11 ± 53,48		139,12 ± 53,48		165,34 ± 53,48		169,24 ± 53,48		117,76 ± 30,88		**
alcohol bencílico	830,85 ± 171,18		862,84 ± 171,18		477,59 ± 171,18		952,73 ± 171,18		578,63 ± 171,18		695,69 ± 98,84		**
2-feniletanol	40571,83 ± 7532,2		39395,03 ± 7532,2		37378,69 ± 7532,2		28911,64 ± 7532,2		33844,94 ± 7532,2		30663,03 ± 4348,8		n.s
fenol	38,52 ± 6,42		35,66 ± 6,42		30,36 ± 6,42		31,00 ± 6,42		35,26 ± 6,42		29,04 ± 3,71		n.s
4-etil guaiacol	57,77 ± 14,72		40,74 ± 14,72		50,98 ± 14,72		33,32 ± 14,72		56,34 ± 14,72		45,27 ± 8,50		n.s
4-metil fenol	23,00 ± 5,79		24,28 ± 5,79		19,48 ± 5,79		18,94 ± 5,79		19,06 ± 5,79		17,60 ± 3,34		n.s
4-etil fenol	50,99 ± 13,54		43,46 ± 13,54		39,41 ± 13,54		33,77 ± 13,54		50,01 ± 13,54		41,86 ± 7,82		n.s
4-vinil guaiacol	74,04 ± 17,05		67,75 ± 17,05		59,28 ± 17,05		77,41 ± 17,05		47,30 ± 17,05		53,21 ± 9,84		n.s
siringol	653,67 ± 235,51		454,96 ± 235,51		603,98 ± 235,51		604,18 ± 235,51		578,40 ± 235,51		489,96 ± 135,97		n.s
ácido benzoico	197,26 ± 51,36		166,09 ± 51,36		162,01 ± 51,36		176,91 ± 51,36		129,50 ± 51,36		160,26 ± 29,65		n.s
ácido fenilacético	373,73 ± 82,27		310,56 ± 82,27		293,43 ± 82,27		314,19 ± 82,27		170,70 ± 82,27		291,95 ± 47,49		**
vainillina	46,38 ± 10,16		49,81 ± 10,16		33,67 ± 10,16		43,51 ± 10,16		33,95 ± 10,16		33,91 ± 5,87		n.s
metil vainillato	157,43 ± 206,46		331,93 ± 206,46		456,07 ± 206,46		325,19 ± 206,46		454,99 ± 206,46		350,02 ± 119,20		n.s
etil vainillato	654,74 ± 94,36		392,68 ± 94,36		427,06 ± 94,36		445,01 ± 94,36		456,60 ± 94,36		428,78 ± 54,96		**
acetovainillona	133,43 ± 18,76		140,71 ± 18,76		170,03 ± 18,76		107,98 ± 18,76		65,98 ± 18,76		91,13 ± 18,76		**
<i>Total</i>	<i>44136,68 ± 7610,7</i>		<i>42422,11 ± 7610,7</i>		<i>40381,72 ± 7610,7</i>		<i>32276,06 ± 7610,7</i>		<i>36725,66 ± 7610,7</i>		<i>33539,27 ± 4394,1</i>		n.s

Tabla 1.29. Continuación

	Vino 1		Vino 2		Vino 3		Vino 4		Vino 5		Vino 6		IC
	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	Mbr09	Mbr13	
	0*	0*	120*	120*	1680*	120*	120*	1680*	1680*	1680*	900*	900*	
<i>Terpenos</i>													
linalol	4,64 ± 1,42		3,75 ± 1,42		5,88 ± 1,42		5,13 ± 1,42		5,31 ± 1,42		4,16 ± 0,82		n.s
α-terpineol	10,97 ± 1,88		7,45 ± 1,88		11,99 ± 1,88		12,26 ± 1,88		11,78 ± 1,88		8,84 ± 1,09		**
β-citronol	29,39 ± 5,88		27,29 ± 5,88		48,20 ± 5,88		35,41 ± 5,88		25,29 ± 5,88		24,48 ± 3,39		**
β-damascenona	13,25 ± 4,17		14,96 ± 4,17		18,09 ± 4,17		13,32 ± 4,17		18,53 ± 4,17		14,50 ± 2,41		n.s
trans-geraniol	13,51 ± 2,29		11,13 ± 2,29		13,88 ± 2,29		13,62 ± 2,29		16,99 ± 2,29		12,99 ± 1,32		**
3-hidroxi-β-damascona	175,74 ± 61,19		136,30 ± 61,19		60,03 ± 61,19		136,43 ± 61,19		69,09 ± 61,19		121,07 ± 61,19		n.s
<i>Total</i>	<i>247,51 ± 56,62</i>		<i>200,89 ± 56,62</i>		<i>158,08 ± 56,62</i>		<i>216,17 ± 56,62</i>		<i>146,99 ± 56,62</i>		<i>186,04 ± 32,69</i>		<i>n.s</i>
<i>Furanonas</i>													
γ-butirolactona	1,17 ± 0,66		1,86 ± 0,66		1,63 ± 0,66		1,08 ± 0,66		1,10 ± 0,66		0,78 ± 0,38		**
γ-etoxibutirolactona	n.d		n.d		n.d		n.d		22,12 ± 6,35		18,95 ± 3,67		**
<i>Total</i>	<i>1,17 ± 6,37</i>		<i>1,86 ± 6,37</i>		<i>1,63 ± 6,37</i>		<i>1,08 ± 6,37</i>		<i>23,22 ± 6,37</i>		<i>19,73</i>		<i>**</i>
<i>Miscelania</i>													
acetaldehído	3022,67 ± 1074,07		3715,79 ± 1074,07		3675,11 ± 1074,07		5328,03 ± 1074,07		2562,07 ± 1074,07		1695,49 ± 620,11		**
ciclohexanona	6,31 ± 1,12		4,52 ± 1,12		5,10 ± 1,12		5,01 ± 1,12		4,56 ± 1,12		5,09 ± 0,62		n.s
2-metiltetrahidrotiofen-3-ona	4,45 ± 2,64		12,02 ± 2,64		8,56 ± 2,64		12,61 ± 2,64		7,21 ± 2,64		5,68 ± 1,52		**
n-(3-metilbutil)-acetamida	794,19 ± 278,27		485,73 ± 278,27		635,44 ± 278,27		512,04 ± 278,27		503,08 ± 278,27		701,78 ± 160,66		n.s
3-(metiltio) propanol	230,82 ± 53,44		261,09 ± 53,44		150,45 ± 53,44		239,45 ± 53,44		218,67 ± 53,44		215,77 ± 30,86		**
<i>Total</i>	<i>4058,44 ± 1025,23</i>		<i>4479,17 ± 1025,23</i>		<i>4474,68 ± 1025,23</i>		<i>6097,15 ± 1025,23</i>		<i>3295,59 ± 1025,23</i>		<i>2623,81 ± 591,91</i>		<i>**</i>

* Kilogramos por hectárea; ** diferencias significativas; n.s = no significativo; n.d = no detectado.

Un total de cinco **compuestos C₆** fueron cuantificados en las muestras de vino, siendo en todos los casos, el 1-hexanol el compuesto mayoritario. Sus concentraciones varían desde 625,08 $\mu\text{g L}^{-1}$ hasta 1100,92 $\mu\text{g L}^{-1}$, y aportan a los vinos aromas herbáceos, al igual que el resto de compuestos C₆ identificados (RIBÉREAU-GAYON et al., 2000). Este compuesto así como el contenido total de compuestos de seis átomos de carbono, presentaron diferencias significativas entre las muestras en la vendimia 2010, en la que el vino 5 fue el que presentó mayores cantidades (Figura 1.19).

Mayores concentraciones de compuestos C₆ son típicas de vendimias poco maduras, lo que está de acuerdo con la falta de maduración debida a las condiciones climáticas de la vendimia 2010.

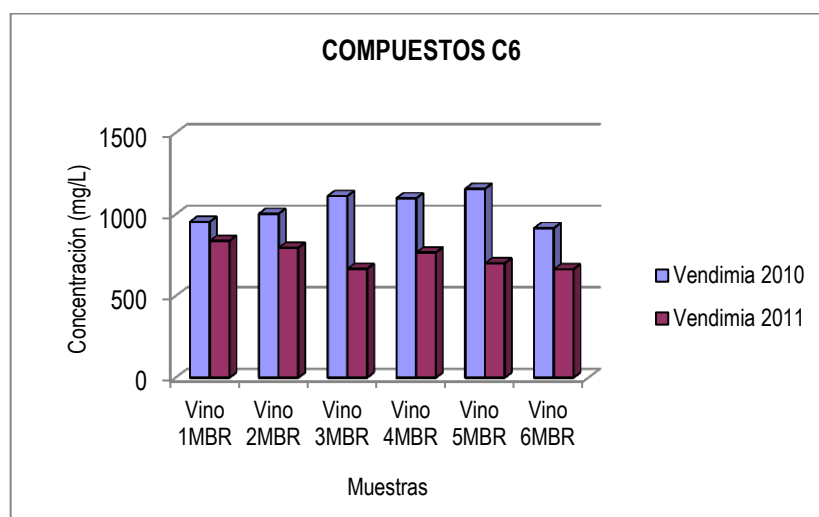


Figura 1.19. Compuestos de seis átomos de carbono de los vinos tratados con matrices MBR09 y MBR13 en las vendimias 2010 y 2011.

Un total de ocho **ácidos** fueron encontrados en las muestras de vino analizadas. El ácido octanoico, juntamente con el ácido hexanoico, fueron los que presentaron las mayores concentraciones. Las concentraciones totales de los ácidos encontrados en nuestros vinos están por debajo de los 4000 $\mu\text{g L}^{-1}$, lo que puede representar un efecto positivo sobre el aroma global de los vinos.

Un grupo importante de compuestos volátiles desde el punto de vista sensorial son los **compuestos bencénicos**. El 2-feniletanol fue el principal compuesto bencénico encontrado en nuestras muestras de vino. Puede contribuir al aroma global de los vinos con sus notas aromáticas descritas como florales y rosas, ya que las concentraciones superan su umbral de percepción en todas nuestras muestras de vino.

El alcohol bencílico presentó diferencias significativas en la vendimia 2011, con un mayor contenido en el vino 4, mientras que las diferencias no fueron significativas en la vendimia 2010.

En cuanto a los fenoles volátiles, el siringol fue el mayoritario, no presentando diferencias significativas entre las muestras. El guaiacol tiene interés por su bajo umbral de percepción que es superado por todas las muestras de vino, aunque en el 2011 los valores son significativamente diferentes y muy próximos al umbral en alguna muestra (vino 2). Por otro lado, la presencia de los etil fenoles, 4-etil guaiacol y 4-etil fenol, debe ser destacada por su efecto negativo en el aroma. En este sentido, cabe destacar la concentración de 4-etil fenol en la muestra de vino identificada como vino 3 en la vendimia 2010 (Tabla 1.28) que presenta valores relativamente elevados si comparados con las otras muestras de vino, y que llegan muy cerca de su umbral de percepción.

La vainillina presentó mayores concentraciones en los vinos de vendimia 2010 en comparación con la vendimia 2011. Sin embargo, sus derivados estuvieron en mayor concentración en la vendimia 2011 que en la vendimia 2010.

En general, los compuestos bencénicos fueron más abundantes en la vendimia 2011, en la que el vino 1 (control) presentó mayor concentración, aunque las diferencias entre muestras considerando los valores totales no fueron significativas en ninguna de las vendimias (Figura 1.20).

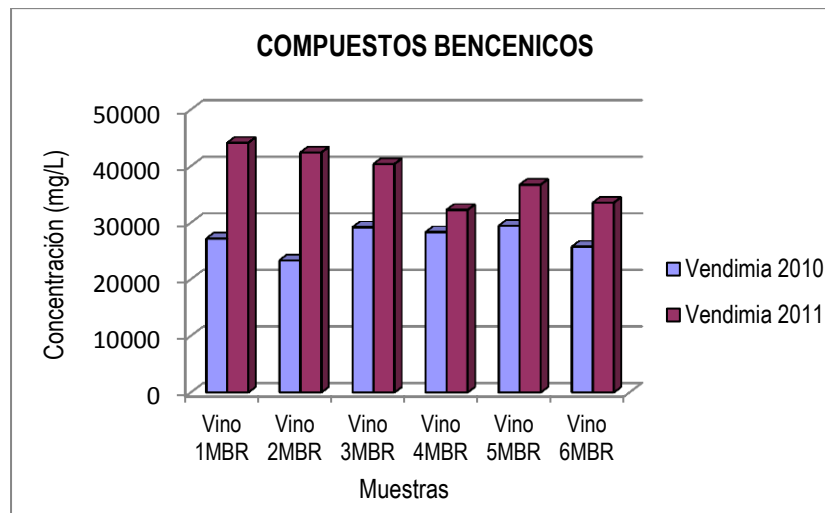


Figura 1.20: Compuestos bencénicos totales de los vinos tratados con matrices MBR09 y MBR13 en las vendimias 2010 y 2011.

Como ya indicamos anteriormente, los **terpenos y norisoprenoides** pueden ser utilizados para la caracterización varietal de los vinos. Un total de cuatro terpenos y dos norisoprenoides fueron identificados las muestras de vino analizadas (Tablas 1.28 y 1.29). En cuanto a los terpenos, a pesar de que en todos los casos sus concentraciones se encuentran por debajo del umbral de percepción, de manera conjunta estos compuestos pueden tener una contribución importante en el aroma del vino.

Dentro de los norisoprenoides, la β -damascenona presentó concentraciones que estuvieron por encima de su umbral olfativo en todas las muestras y sus valores son muy cercanos a los descritos por otros autores en los vinos Cabernet Sauvignon producidos en la misma región de Brasil (FALCÃO et al., 2007), lo que nos lleva a apuntar este compuesto como uno de los principales odorantes de nuestros vinos.

En la Figura 1.21 se representa el sumatorio de los terpenos y norisoprenoides de las muestras en las dos vendimias, los cuales no fueron significativamente diferentes entre las muestras de la misma vendimia. Mientras que los vinos control tuvieron concentraciones similares de estos compuestos, las muestras tratadas tuvieron un comportamiento fluctuante.

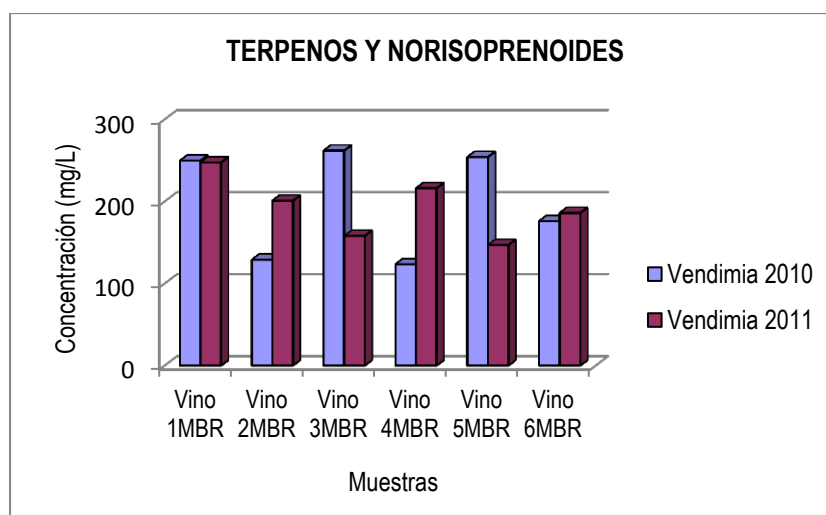


Figura 1.21. Terpenos y norisoprenoides totales de los vinos tratados con matrices MBR09 y MBR13 en las vendimias 2010 y 2011.

1.3.3. EFECTOS DE LA APLICACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS ALTERNATIVOS DEL ABONADO EN LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS VINOS CABERNET SAUVIGNON.

Para poder evaluar el efecto de los tratamientos efectuados con los diferentes tipos de abonado sobre la composición química del vino se aplicó un análisis factorial de componentes principales a los datos de composición química de las muestras procedentes de los dos tipos de experiencias realizadas: tratamientos con caliza de esquisto y caliza convencional y tratamientos con matrices de esquisto MBR09 y MBR13 de una manera conjunta. Debido a que el comportamiento en cada vendimia ha sido diferente el tratamiento estadístico se ha realizado de manera independiente para la vendimia 2010 y 2011.

1.3.3.1. Resultados obtenidos mediante el análisis factorial de Componentes Principales aplicado a los compuestos fenólicos.

Con el análisis de componentes principales aplicado a las muestras tratadas con caliza y con matrices MBR se obtuvo una varianza explicada de un 78% entre las tres primeras componentes. La proyección de las muestras en el plano formado por las dos primeras componentes (Figura 1.19) pone de manifiesto la diferenciación entre las muestras tratadas con caliza (CX) que se encuentran a la derecha del eje horizontal (componente principal 1) y las tratadas con matrices MBR (MBR), ubicadas a la izquierda de este eje. Los compuestos correlacionados con este eje se muestran en la Tabla 1.30 y son principalmente compuestos antociánicos, los cuales estuvieron presentes en mayores concentraciones en las muestras tratadas con matrices MBR.

Dado que los controles de ambas experiencias (vinos 1 CX y 1 MBR) no tuvieron tratamiento de abonado, podría pensarse que dichas diferencias son debidas a un efecto asociado a las características de las parcelas o al tipo de conducción de las viñas.

Mientras que la componente principal 2 separa las muestras dentro de cada tratamiento en base a dos flavonoles: la laricitrina y la Isorhamnetina, que presentaron coeficientes negativos. La muestra de vino 2CX, 1MBR y uno de los duplicados de a 6MBR fueron las que presentaron mayores cantidades de estos compuestos.

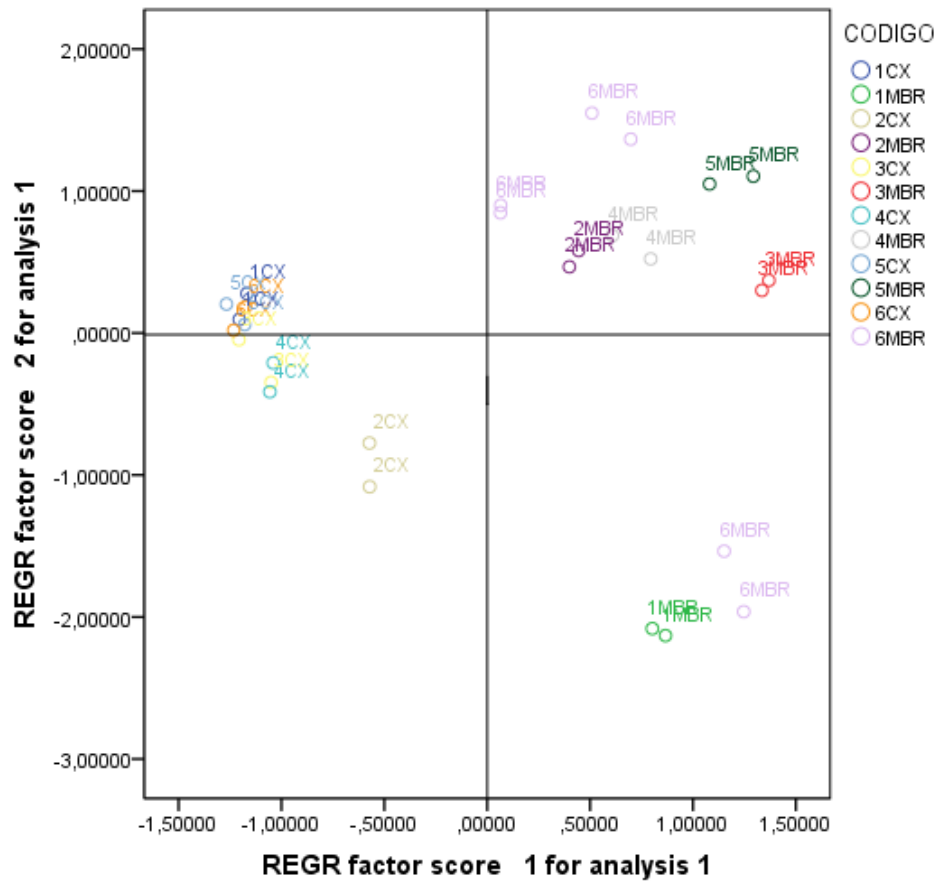


Figura 1.19.- Proyección de las muestras de vino de la experiencia de abonado con caliza de esquistos y caliza convencional (CX1-6) y los tratados con matrices MBR09 y MBR13 (MBR1-6) en el plano formado por las dos primeras componentes principales, en base a los compuestos fenólicos de la vendimia 2010.

Tabla 1.30. Variables más correlacionadas con las dos primeras componentes principales y sus coeficientes.

Componente	Variables	Coefficientes de correlación (*)
1	Cianidina 3-glucósido	0,974
	Delfinidina 3-glucósido	0,969
	Petunidina 3-glucósido	0,963
	10-Catequil-piranomalvidin-3-(6"-cumaroil)-glucósido	0,957
	Cafeoato de etilo	0,956
	10-Hidroxi-piranomalvidin-3-glucósido	0,950
	10-Hidroxi-piranomalvidin-3-(6"-cumaroil)-glucósido	0,926
	Miricetina-3-glucurónido	0,912
	Malvidina 3-(6"-acetil)-glucósido	-0,904
2	Isorhamnetina	-0,918
	Laricitrina	-0,894

(*) Sólo se incluyen aquellas variables cuyo coeficiente de correlación es mayor de 0.90 en términos absolutos.

Un efecto semejante se observó cuando se aplicó el mismo análisis a los datos de compuestos fenólicos de la vendimia 2011. La varianza explicada en este caso por las tres primeras componentes principales fue del 68%. Las muestras estuvieron ubicadas de manera más dispersa y separadas principalmente por el eje vertical (componente principal 2), en cuya parte positiva están todos los vinos tratados con caliza (Figura 1.20). De nuevo los compuestos más correlacionados con este eje (Tabla 1.31) son los antocianos, pero en este caso las formas acetiladas.

En la parte negativa del eje correspondiente a la componente principal 1 se encuentran casi todas las muestras de la experiencia de la caliza (CX) y algunas de las MBR. Estas son las que presentan menores cantidades de flavonoles y de vitisina

A (Tabla 1.31). Las muestras que presentaron mayores cantidades de los antocianos y flavonoles correlacionados con ambas componentes fueron los vinos 3MBR cuyos duplicados aparecen juntos en la gráfica, mientras que las 4MBR presentaron las menores cantidades de estos compuestos.

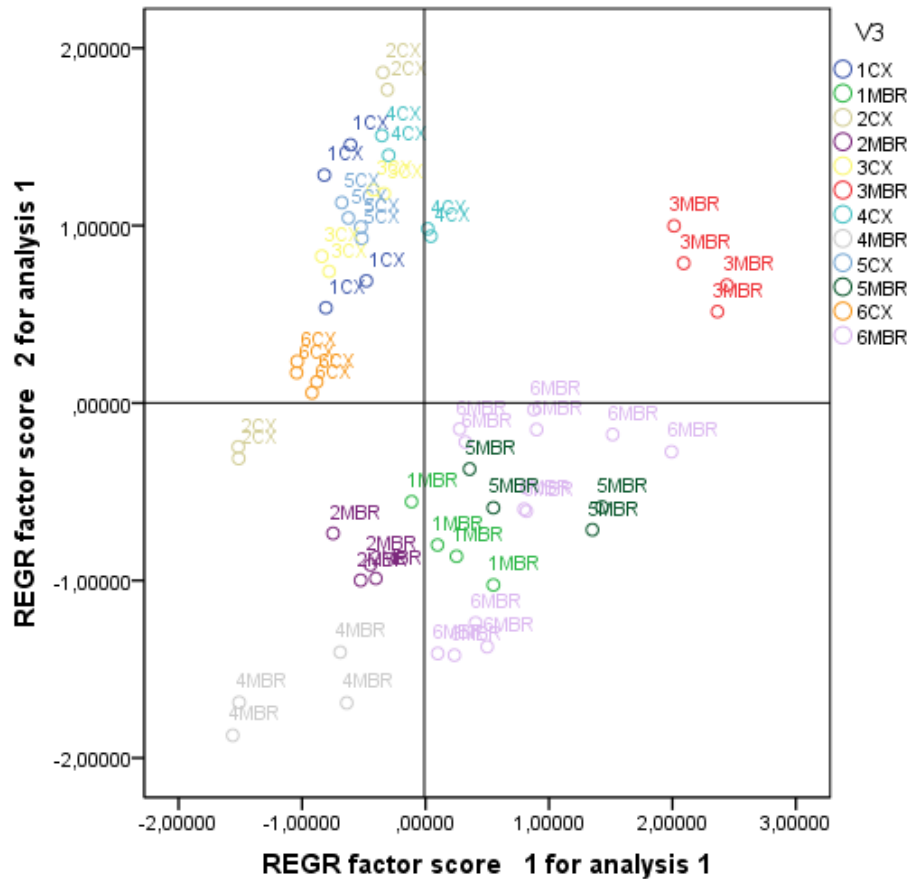


Figura 1.20.- Proyección de las muestras de vino de la experiencia de abonado con caliza de esquistos y caliza convencional (CX1-6) y los tratados con matrices MBR09 y MBR13 (MBR1-6) en el plano formado por las dos primeras componentes principales, en base a los compuestos fenólicos de la vendimia 2011.

Tabla 1.31. Variables más correlacionadas con las dos primeras componentes principales y sus coeficientes.

Componente	Variabes	Coefficiente de correlación (*)
1	Quercetina-3-glucurónido	0,940
	Vitisina A	0,900
	Isorhamnetin-3-glucósido	0,889
	Peonidina-3-glucósido	0,885
	Miricetina-3-glucurónido	0,882
	Cianidina-3-glucósido	0,853
	Quercetina 3-glucósido	0,845
2	Cianidina 3-(6"-acetil)-glucósido	0,948
	Petunidina 3-glucósido	0,935
	Delfinidina 3-(6"-acetil)-glucósido	0,909
	Peonidina 3-(6"-acetil)-glucósido	0,857
	Malvidina 3-(6"-acetil)-glucósido	0,850

(*) Sólo se incluyen aquellas variables cuyo coeficiente de correlación es mayor de 0.850 en términos absolutos.

1.3.3.2. Resultados obtenidos mediante el análisis factorial de Componentes Principales aplicado a los aminoácidos y aminos biógenas.

Se aplicó igualmente el análisis factorial de componentes principales a los datos de aminoácidos y aminos biógenas de todas las muestras de vino del año 2010. La varianza explicada con las tres primeras componentes principales fue del 73,8%, lo que indica que la diferenciación entre muestras fue bastante importante. La proyección de las muestras en el plano formado por las dos primeras componentes principales se muestra en la Figura 1.21.

Los vinos de la experiencia con esquistos se agrupan en la zona negativa de ambos ejes presentando unos contenidos de aminoácidos más similares. Se diferencian de los vinos de la experiencia con caliza por tener una menor concentración de los aminoácidos correlacionados con la Componente Principal 1 (Tabla 1.32): glicina, b-alanina, treonina y serina. Y de las aminos biógenas: tiramina y cadaverina, mientras que su contenido en prolina e hidroxiprolina (correlacionadas negativamente con la Componente Principal 2) fue mucho mayor. Al ser la prolina el aminoácido mayoritario esto supuso una mayor concentración de aminoácidos totales en las muestras de la experiencia de esquistos MBR.

No obstante, los vinos de la experiencia de abonado con caliza se dispersaron más a lo largo de ambos ejes, de manera que aunque la mayor parte de ellos se situaron en la parte positiva de ambos ejes, las muestras 3CX y 6CX mostraron comportamientos diferentes al resto del grupo.

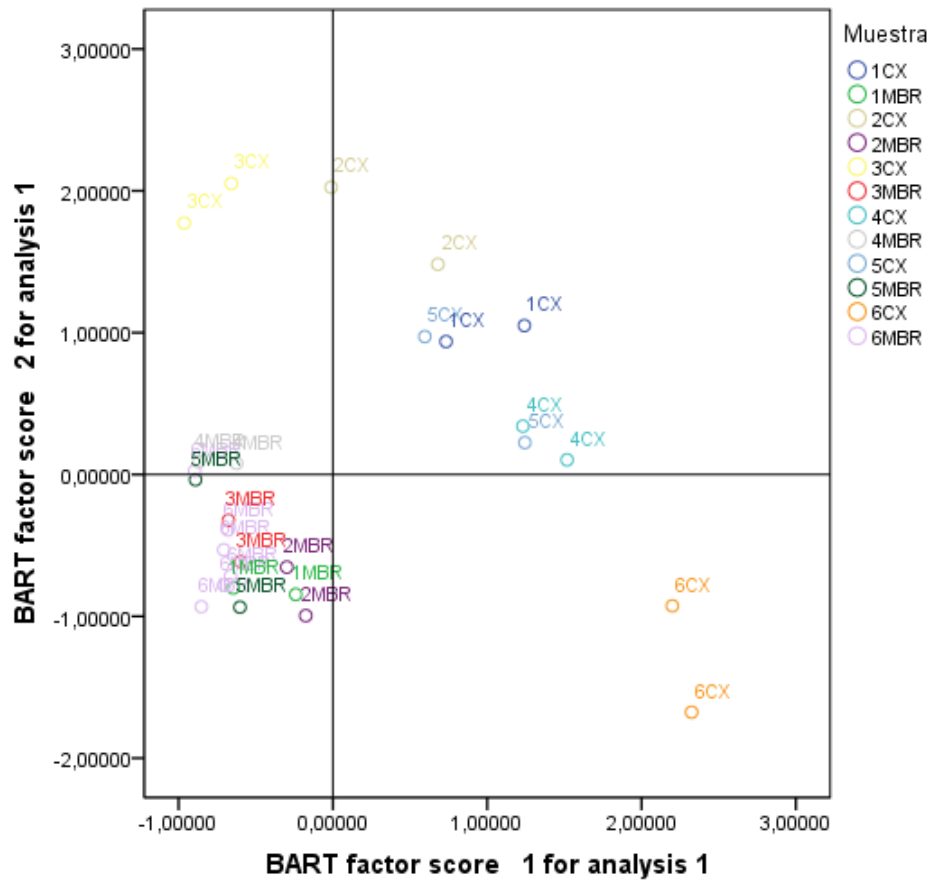


Figura 1.21.- Proyección de las muestras de vino de la experiencia de abonado con caliza de esquistos y caliza convencional (CX1-6) y los tratados con matrices MBR09 y MBR13 (MBR1-6) en el plano formado por las dos primeras componentes principales, en base a los aminoácidos y aminas biógenas de la vendimia 2010.

Tabla 1.32. Variables más correlacionadas con las dos primeras componentes principales y sus coeficientes.

Componente	VARIABLES	Coefficiente de correlación (*)
1	Glicina	0,961
	b- Alanina	0,926
	Treonina	0,913
	Serina	0,903
	Tiramina	0,882
	Cadaverina	0,871
2	Prolina	-0,884
	Hidroxiprolina	-0,830

(*) Sólo se incluyen aquellas variables cuyo coeficiente de correlación es mayor de 0.850 en términos absolutos.

Si observamos los resultados del análisis de componentes principales de la vendimia 2011 (Figura 1. 22) la distribución de las muestras en el eje formado por las dos primeras componentes principales fue distinta a la anterior vendimia, así como los compuestos que intervinieron en esta diferenciación.

En esta vendimia los vinos de la experiencia de abonado con caliza fueron los que presentaron un comportamiento más homogéneo, agrupándose en la zona negativa de ambos ejes que correspondería a una menor cantidad de los aminoácidos más correlacionados con las dos componentes principales (Tabla 1.33). Las muestras 3CX y sobre todo la 2CX, vuelven a separarse del grupo principal.

Los vinos de la experiencia con esquistos MBR aparecen muy dispersos en el plano, aunque en general se posicionan en la parte positiva de ambos ejes, lo que indica una mayor concentración de los aminoácidos de la Tabla 1.33.

Nuevamente se pone de manifiesto el efecto de la situación de la viña y del tipo de conducción en la composición final del vino, aunque en algún caso también se vean diferencias debidas al tipo de abonado.

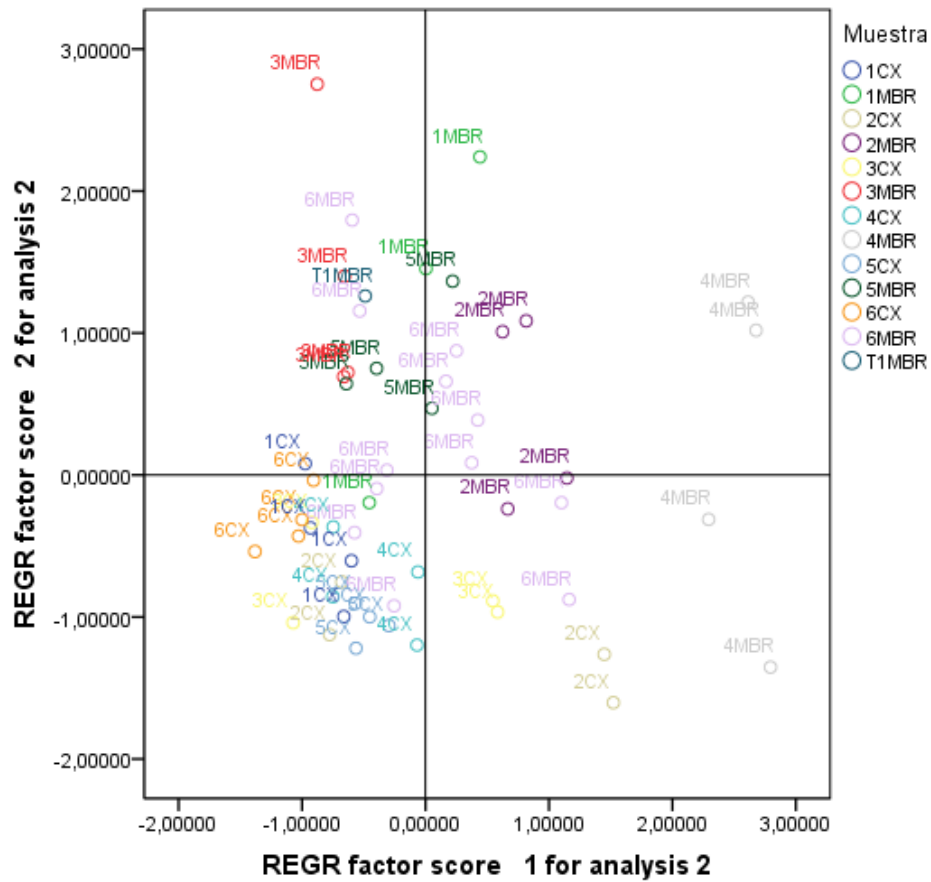


Figura 1.22.- Proyección de las muestras de vino de la experiencia de abonado con caliza de esquistos y caliza convencional (CX1-6) y los tratados con matrices MBR09 y MBR13 (MBR1-6) en el plano formado por las dos primeras componentes principales, en base a los aminoácidos y aminas biógenas de la vendimia 2011.

Tabla 1.33. Variables más correlacionadas con las dos primeras componentes principales y sus coeficientes.

Componente	Variables	Coefficiente de correlación (*)
1	Glicina	0,970
	Ácido glutámico	0,967
	Lisina	0,956
	Leucina	0,954
	Ácido aspártico	0,951
	Serina	0,949
	Treonina	0,935
	b-Alanina	0,927
	Fenilalanina	0,902
2	Feniletilamina	0,815

(*) Sólo se incluyen aquellas variables cuyo coeficiente de correlación es mayor de 0.850 en términos absolutos.

1.3.3.3. Resultados obtenidos mediante el análisis factorial de Componentes Principales aplicado a los compuestos volátiles.

El análisis de componentes principales aplicado a los datos de compuestos volátiles de las muestras tratadas con caliza y con matrices MBR durante la vendimia 2010 obtuvo una varianza explicada de un 56% entre las tres primeras componentes. La proyección de las muestras en el plano formado por las dos primeras componentes (Figura 1.23) pone de manifiesto una menor diferenciación entre las muestras. Casi todas las muestras tratadas con caliza (CX) se encuentran en la parte positiva del eje horizontal (componente principal 1) y negativa del eje correspondiente a la componente principal 2, mientras que las tratadas con matrices MBR se ubican en la zona opuesta.

Los compuestos más correlacionados con las dos primeras componentes principales se indican en la Tabla 1.34, siendo la mayor parte de ellos esteres

formados durante la fermentación alcohólica. También puede observarse como algunos duplicados de fermentación no se agrupan en la gráfica, lo que dificulta la obtención de conclusiones generales.

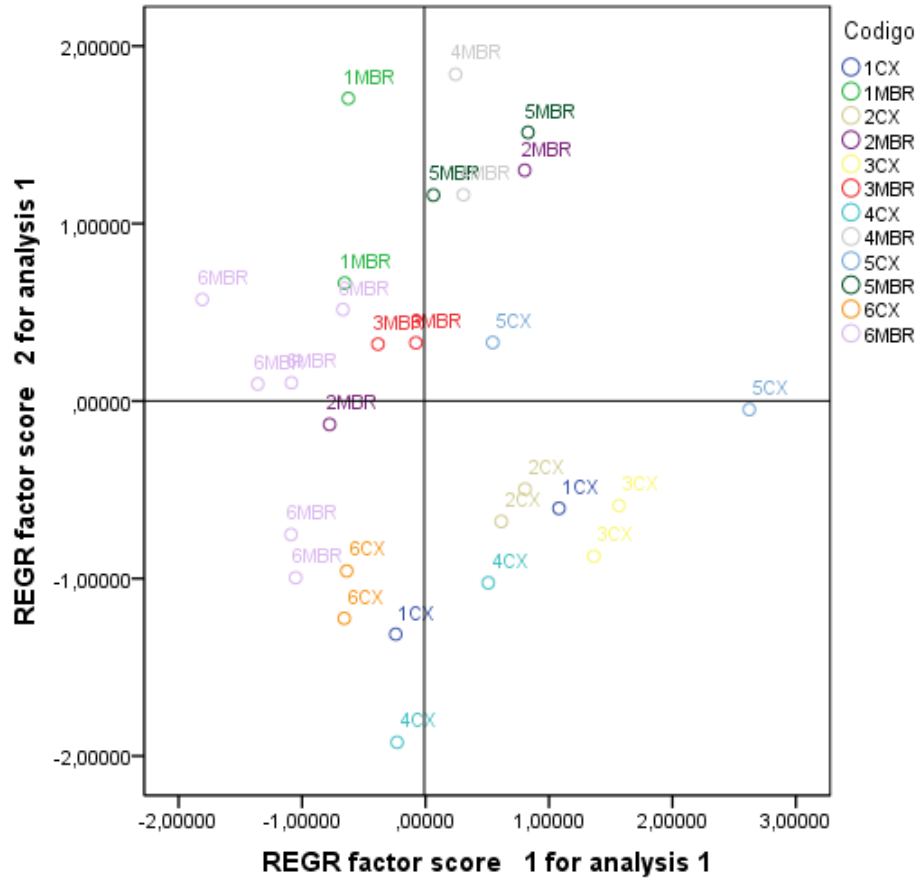


Figura 1.23.- Proyección de las muestras de vino de la experiencia de abonado con caliza de esquistos y caliza convencional (CX1-6) y los tratados con matrices MBR09 y MBR13 (MBR1-6) en el plano formado por las dos primeras componentes principales, en base a los compuestos volátiles de la vendimia 2010.

Tabla 1.34. Variables más correlacionadas con las dos primeras componentes principales y sus coeficientes.

Componente	Variables	Coefficiente de correlación (*)
1	Caproato de etilo	0,938
	Caprilato de etilo	0,864
	(E)-3-Hexen-1-ol	0,864
	Isovalerato de etilo	0,860
	3-Hidroxibutirato de etilo	0,851
	Acetato de isoamilo	0,841
2	Ácido cáprico	0,862
	Caprato de etilo	0,853

(*) Sólo se incluyen aquellas variables cuyo coeficiente de correlación es mayor de 0.850 en términos absolutos.

El análisis de componentes principales aplicado a los datos de compuestos volátiles de la vendimia 2011 obtiene unas conclusiones semejantes a las de la vendimia anterior, distribuyéndose las muestras con tratamientos de caliza (CX) en la zona positiva del eje correspondiente a la componente principal 1 y las MBR desplazadas hacia la zona negativa (Figura 1.24). En este caso los compuestos más correlacionados con este eje fueron compuestos de fermentación (ésteres y alcoholes) y algunos compuestos C6 (Tabla 1.35).

La componente principal 2 separa las muestras dentro de cada experiencia, de forma que dentro de las MBR, las 2MBR son las que presentan mayores cantidades de los compuestos de fermentación correlacionados con la componente principal 2 (Tabla 1.35), aunque tal y como ocurría en la vendimia 2010 algunos duplicados de fermentación aparecen separados.

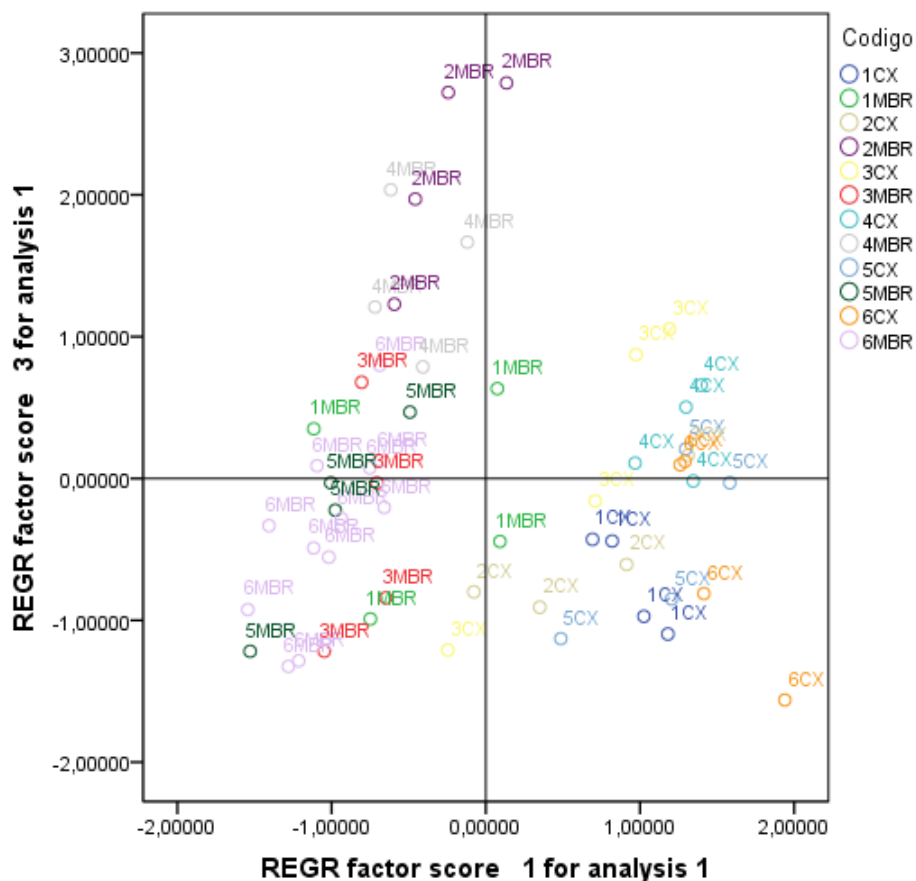


Figura 1.24.- Proyección de las muestras de vino de la experiencia de abonado con caliza de esquistos y caliza convencional (CX1-6) y los tratados con matrices MBR09 y MBR13 (MBR1-6) en el plano formado por las dos primeras componentes principales, en base a los compuestos volátiles de la vendimia 2011.

En general, los compuestos fenólicos (antociánicos y no antociánicos) y los aminoácidos fueron más eficaces en la diferenciación de las muestras de vino sometidas a diferentes tratamientos de abonado que los compuestos volátiles. Las diferencias entre las muestras sometidas al tratamiento con calizas se diferenciaron mediante el análisis factorial de componentes principales de las muestras tratadas con esquistos MBR, aunque el comportamiento en cada vendimia presentó algunas diferencias. Este análisis también puso de manifiesto diferencias entre vinos con distintos tratamientos dentro de cada experiencia, aunque las múltiples variables que intervienen en la composición química del vino dificultan la obtención de conclusiones generales.

Tabla 1.35. Variables más correlacionadas con las dos primeras componentes principales y sus coeficientes.

Componente	Variabes	Coefficiente de correlación (*)
1	Hexanol	0,977
	(E)-3-Hexen-1-ol	0,958
	(Z)-3-Hexen-1-ol	0,951
	Isobutanol	0,897
	2-Hidroxi-3-metilbutanoato de etilo	0,889
	3-Etoxi-propanol	0,867
	Acetato de isoamilo	0,832
2	1-Propanol	0,974
	Isobutanol	0,974
	Metanol	0,963
	3-Metilbutanol	0,963
	2-Metilbutanol	0,951
	Acetato de etilo	0,864

(*) Sólo se incluyen aquellas variables cuyo coeficiente de correlación es mayor de 0.850 en términos absolutos.

1.3.4. ANALISIS SENSORIAL

1.3.4.1. Efecto de la aplicación de caliza de esquisto y caliza convencional en las propiedades sensoriales de los vinos.

Para obtener información sobre la influencia del abonado en las características sensoriales de los vinos y evaluar si realmente las diferencias entre los vinos eran detectadas por los catadores se decidió realizar un primer ensayo mediante una Prueba Triangular. Este análisis se trata de una prueba de diferenciación o discriminatoria en la que se presentan simultáneamente tres muestras, dos de las cuales son iguales, con el fin de que la persona consultada identifique cual es la muestra desaparejada.

Debido al gran número de muestras que teníamos para ser evaluadas y a la incertidumbre de como el abonado iba afectar a las características sensoriales de los vinos, se decidió comparar por un lado, el vino control con todos los demás, y por otro, los vinos provenientes de las mayores y menores dosis de abonado con caliza de esquisto y caliza convencional. En este sentido, los tratamientos fueron comparados de la siguiente forma:

Experimento 1 = Vino 1 + Vino 2 (0 CE 0 CC + 1000 CE 3000 CC).

Experimento 2 = Vino 1 + Vino 3 (0 CE 0 CC + 2000 CE 2000 CC).

Experimento 3 = Vino 1 + Vino 4 (0 CE 0 CC + 3000 CE 1000 CC).

Experimento 4 = Vino 1 + Vino 5 (0 CE 0 CC + 4000 CE 0 CC).

Experimento 5 = Vino 1 + Vino 6 (0 CE 0 CC + 0 CE 4000 CC).

Experimento 6 = Vino 2 + Vino 4 (1000 CE 3000 CC + 3000 CE 1000 CC).

Experimento 7 = Vino 5 + Vino 6 (4000 CE 0 CC + 0 CE 4000 CC).

Los resultados apuntaron que en ningún caso los catadores fueron capaces de discriminar la muestra desaparejada de las muestras iguales (Tabla 1.36). Siendo así, no fue posible apuntar diferencias sensoriales significativas entre los vinos obtenidos con los distintos tratamientos con calizas.

Tabla 1.35. Respuestas de los catadores en la Prueba Triangular aplicada a las muestras de vino obtenidas a partir de los tratamientos de abonado con calizas.

Experimentos	Número de catadores	Número mínimo de respuestas correctas para diferenciación significativa al nivel de probabilidad de 95% *	Número de respuestas correctas
1	6	5	3
2	6	5	4
3	6	5	4
4	6	5	2
5	6	5	4
6	6	5	4
7	6	5	3

* Según la tabla de probabilidades (ver Tabla 1.7)

1.3.4.2. Efecto de la aplicación de matrices MBR09 y MBR13 en las propiedades sensoriales de los vinos.

Para obtener información sobre la influencia del abonado con matrices MBR en las características sensoriales de los vinos y evaluar si realmente las diferencias entre los vinos eran detectadas por los catadores se decidió realizar un primer ensayo mediante una Prueba Triangular.

Así como en los vinos tratados con calizas, en los vinos tratados con las matrices de MBR, también se disponía de un gran número de muestras para ser evaluadas y era prioritario determinar si los distintos tratamientos iban a afectar a las características sensoriales de los vinos. Por lo tanto, decidimos comparar el vino control con todos los demás vinos. En este sentido, los tratamientos fueron comparados de la siguiente forma:

Experimento 1 = Vino 1 + Vino 2 (0 MBR09 0 MBR13 + 120 MBR09 120 MBR13);

Experimento 2 = Vino 1 + Vino 3 (0 MBR09 0 MBR13 + 1680 MBR09 120 MBR13);

Experimento 3 = Vino 1 + Vino 4 (0 MBR09 0 MBR13 + 120 MBR09 1680 MBR13);

Experimento 4 = Vino 1 + Vino 5 (0 MBR09 0 MBR13 + 1680 MBR09 1680 MBR13);

Experimento 5 = Vino 1 + Vino 6 (0 MBR09 0 MBR13 + 900 MBR09 900 MBR13).

Los resultados apuntaron que en ningún caso los catadores fueron capaces de discriminar la muestra desaparejada de las muestras iguales (Tabla 1.36). Siendo así, no fue posible apuntar diferencias sensoriales significativas en los vinos obtenidos de los distintos tratamientos con los finos de esquisto que componen las matrices MBR.

Tabla 1.36. Respuesta de los catadores al análisis sensorial de los vinos a través de una Prueba Triangular.

Experimentos	Número de catadores	Número mínimo de respuestas correctas para diferenciación significativa al nivel de probabilidad de 95% *	Número de respuestas correctas
1	6	5	4
2	6	5	3
3	6	5	2
4	6	5	4
5	6	5	3

* Según la tabla de probabilidades (ver Tabla 1.7)

1.4. BIBLIOGRAFÍA

Albers, E., Lidén, G., Larsson, C., Gustafsson, L. (1998). Anaerobic redox balance and nitrogen metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*. Recent Research Developments in Microbiology, 2, 253-279.

Alcalde-Eón, C., Escribano-Bailón, M., Santos-Buelga, C., Rivas-Gonzalo, J. (2005). Changes in the detailed pigment composition of red wine during maturity and ageing. A comprehensive study. Analítica Chemical Acta. In Press.

Alvarez, I., García, M.A., González, R., Martín, P. (2000). In Avances en Ciencia y Técnicas Enológicas (p.121). ITACyL y GIENOL.

Álvarez, I., Martín, P., Álamo, M., Delgado, R., Santos D. (2001). Efecto del nivel de fertilización nitrogenada y potásica del viñedo en la composición y cinética fermentativa del mosto de Tempranillo, in *Actas XXIII Jornadas de Viticultura y Enología Tierra de Barros*. Cultural Santa Ana, Almendralejo, 181-189.

Amerine, M. A., Ough, C. S. (1972). Methods for analysis of must and wines. Wiley, New York.

Ancín-Azpilicueta, C., González-Marco, A., Jiménez-Moreno, N. (2008). Current knowledge about the presence of amines in wine. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 48, 257-275.

Ancín-Azpilicueta, C., Nieto-Rojo, R., Gómez-Cordón, J. (2013). Effect of foliar urea fertilisation on volatile compounds in Tempranillo wine. Journal of the Science of Food and Agriculture, 93, 1485-1491.

Arena, M., Manca de Nadra, M. (2001). Biogenic amines production by *Lactobacillus*. Journal of Applied Microbiology, 90, 158-162

Associação Nacional para Difusão de Adubos – ANDA (2010). Disponible en: <http://www.anda.org.br>. Acceso en: 10 de marzo de 2012.

Bai, B., He, F., Yang, L., Chen, F., Reeves, M. J., Li, J. (2013). Comparative study of phenolic compounds in cabernet Sauvignon wines made in traditional and Ganimede fermenters. *Food Chemistry*, 141, 3984-3392.

Bakker, J., Bridle, P., Honda, P., Kuwano, H., Saito, N., Telehara, N., Timberlake, C. (1997). Isolation and identification of a new anthocyanin occurring in some red wines. *Phytochemistry*, 44, 1375-1382.

Barrado, E., Rodriduez, J. A., Castrillejo, Y. (2009). Determination of primary amino acids in wines by high performance liquid magnet-chromatography. *Talanta*, 78, 672-675.

Bates, T. R., Dunst, R. M., Joy, P. (2002). Seasonal dry matter, starch, and nutrient distribution in Concord grapevine roots. *HortScience*, 37, 313-316.

Bath, G. I., Bell, C. J., Lloyd, H. L. (1991). Arginine as an indicator of the nitrogen status of wine grapes. In: J. M. Rantz (Ed). *Proceeding international symposium on nitrogen in grapes and wines*, 133-147 pp.

Baucom, T. L., Tabacchi, M. H., Cotrell, T. H. E., Richmond, B. S. (1996). Biogenic amines content of New York state wines. *Journal of Food Science*, 51, 1376-1377.

Bauza, T., Blaise, A., Daunas, F., Cabanis, J. C. (1995). Determination of biogenic amines and their precursor amino acids in wines of the Vallée du Rhône by high-performance liquid chromatography with precolumn derivatization and fluorimetric detection. *Journal of Chromatography A*, 707, 373-379.

Bauza, T., Kelly, M. T., Blaise, A. (2007). Study of polyamines and their precursor amino acid in Grenache Noir and Syrah grapes and wines of the Rhone Valley. *Food Chemistry*, 105, 405-413.

Bell., S. J., Henschke, A. (2005). Implication of nitrogen nutrition for grapes, fermentation and wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 11, 242-295.

Bell, A. A., Ough, C. S., Kliewer, W. M. (1979). Effects on must and wine composition, rates of fermentation, and wine quality of nitrogen fertilization of *Vitis vinifera* var. Thompson Seedless grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 30, 124-129.

Bell, S. J., Robson, A. (1999). Effect of nitrogen fertilization on growth, canopy density and yield of *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50, 351-358.

Bernier, R. V., Alfaro, M. V. (2006). Acidez de los suelos y efectos del encalado. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. *Boletín INIA*, 151, 1-47.

Bertrand, A., Ingargiola, M. C., Delas, J. (1991). Incidence de la fumure azotée de la vigne et du greffage sur la composition des vins de merlot en particulier sur présence de carbamate d'éthyle et des amines biogènes. *Revue Française d'Oenologie*, 31, 7-13.

Bidan, P., Feuillat, M., Moulin, J. P. (1986). Techniques d'élaboration et appréciation de la qualité. Rapport de la France. *Bulletin de l'OIV* 663-664, 563-626.

Bidon, K., Varela, C., Kennedy, J., Holt, H., Herderich, M.(2013). Relationships between harvest time and wine composition in *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon 1. Grape and wine chemistry. *Food Chemistry*, 138, 1696-1705.

Boidron, J. N., Chatonnet, P., Pons, M. (1988). Influence du bois certaines substances odorantes des vins. *Connaissance de La Vigne et Du Vin*, 22, 275+294.

Boonterm, V., Silapapum, A., Boonkerd, N. (2010). Effects of nitrogen, potassium fertilizers and cluster per vine on yield and anthocyanin content in Cabernet Sauvignon grape. *Suranaree Journal Science Technology*. 17(2), 155-163.

Boulton R. (2001). The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: a critical review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52, 67-87.

Bouteau, C., Duschaver, C. L., Ashton, G. C. (1984). A study of the biogenesis of amines in villard noir wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 35, 228-236.

Bravdo, B., Hepner, Y. (1987). Irrigation management and fertigation to optimise grape composition and vine performance (Review). *Acta Horticulturae*, 206, 49-67.

Broquedis, M., Dumery, B., Bouard, J. (1989). Mise en evidence de polyamines putrescine, cadavérine, nor-spermidine, espermidine et espermine dans les feuilles et les grappes de *Vitis vinifera* L. *Connaissances Vigne et Vin*, 23, 1-6.

Busto, O., Mestre, M., Guasch, J., Borrull, F. (1995). Determination of biogenic amines in wine after clean-up by solid-phase extraction. *Journal of Chromatographia*, 40, 404-410.

Cakmak, I., Kirkby, E. A. (2008). Role of magnesium in carbon partitioning and alleviating photooxidative damage. *Physiologia Plantarum*, 133, 692-704.

Camargo, U. A., Tonietto, J. Hoffmann, A. (2011). Progressos na viticultura brasileira. *Revista Brasileira de Fruticultura*, volume especial, E. 144-149.

Capillo, R., Sadsawka, A. (1999). Las enmiendas calcáreas. Un insumo tecnológico vital para los suelos acidificados del sur de Chile. En: Alfaro, M. (Ed.). *Curso de*

capacitación para operadores del Programa de Suelos Degradados Zona Sur. Serie Remeheu, Instituto de Investigaciones Agropecuarias, 71, 104-115.

Carmo-Vasconcelos, M., Castagnoli, S. (2000). Leaf canopy structure and vine performance. *American Journal of Enology and Viticulture*, 51, 390-396.

Castillo-Muñoz, N., Gómez-Alonso, S., García-Romero, E., Gómez, M. V., Velders, A. H., Hermosín-Gutiérrez, I. (2009). Flavonol 3-O-glycosides series of *Vitis vinifera* cv. Petit Verdot red wine grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 209-219.

Cejudo-Bastante, M. J., Sonni, F., Chinnici, F., Versari, A., Perez-Coello, M. S., Riponi, C. (2010). Fermentation of sulphite-free white must added lysozyme and oenological tannins: Nitrogen consumption and biogenic amines composition of final wines. *LWT – Food Science and Technology*, 43, 1501-1507

Champagnol, F. (1984). *Elements de physiologie de la vigne et de viticulture générale*. Imprimerie Déhan, Montpellier, Francia

Chatonnet, P., Dubourdiou, D., Boidron, J. N., Pons, M. (1992). The origin of ethylphenols in wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 165-178.

Chaves, L. H. G., Vasconcelos, A. C. F. (2006). Alterações de atributos químicos do solo e do crescimento de plantas de milho pela aplicação de xisto. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 10, (1), 84-88.

Chiera, J., Thomas, J., Rufty, T. (2002). Leaf initiation and development in soybean under phosphorus stress. *Journal of Experimental Botany*, 53, 473-481.

Choné, X., Lavigne-Cruège, V., Tominaga, T., Van Leeuwen, C., Castahnède, C., Saucier, C., Dubourdiou, D. (2006). Effect of vine nitrogen status on grape aromatic potencial: flavor precursors (S-cysteine conjugates), glutathione and phenolic content

in *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon Blanc grape juice. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 40, 1-6.

Christensen, L. P., Peacock, W. L. (2000). Mineral nutrition and fertilization. *In* Raisin Production Manual. Christensen L. P. (Ed.), University of California Agriculture and Natural Resources, Oakland, 102-114.

Christensen, P. (1984). Nutrient level comparisons of leaf petioles and blades in twenty-six grape cultivars over three years (1979 through 1981). *American Journal of Enology and Viticulture*, 35, 124-133.

Cinquina, A. L., Cali, A., Longo, F., De Santis, L., Severoni, A., Abballe, F. (2004). Determination of biogenic amines in fish tissue by ion-exchange chromatography with conductivity detection. *Journal of Chromatography A*, 1032, 73-77.

Clarkson, D. T., Carvajal, M., Henzler, T., Waterhouse, R. N., Smyth, A. J., Cooke, D. T., et al. (2000). Root hydraulic conductance: diurnal aquaporin expression and the effects of nutrient stress. *Journal of Experimental Botany*, 51, 61-70.

Cordonnier, R., Bayonove, C. (1982). Extraction et formation de certains composés de l'arôme des vins au cours de la phase préfermentaire de la vinification. *Symposium di Enologia S. Michele all' Adige-Trento* (1980). Termini-Tipolitografia Editrice-Trento. 66-86.

Cole, V. C., Noble, A. C. (2003). Flavour chemistry. In: *Fermented beverage production*. (Eds). A. G. H. Lea., J. R. Piggott. (Blackie Academic and Professional: London, 2nd edition), 393-412.

Conradie, W. J. (1981). Nutrient consumption by Chenin Blanc grown in sand culture and seasonal changes in the chemical composition of leaf blades and petioles. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 2, 15-18.

Cooper, R. M., Williams, J. S. (2004). Elemental sulphur as an induced antifungal substance in plant defence. *Journal of Experimental Botany*, 55, 1947-1953.

Costa, A. C. A., Mesquita, L. M. S., Tornovsky, J. (1996). Batch and continuous heavy metals biosorption by a brown seaweed from a zinc-producing plant. *Minerals Engineering*, 9, 811-824.

Currle, O., Bauer, O., Hofäcker, W., Schumann, F., Frisch, W. (1983). *Biologie der Rebe*. Meiningen. Germany, Neustadt an der Weinstrasse.

Davies, C., Shin, R., Liu, W., Thomas, M. R., Schachtman, D. P. (2006). Transporters expressed during grape berry (*Vitis vinifera* L.) development are associated with an increase in berry size and berry potassium accumulation. *Journal of Experimental Botany*, 57, 3209-3216.

Davies, W., Zhang, J. (1991). Root signals and the regulation of growth and the development of plants in drying soil. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 42, 55-76.

Delas, J., Molot, C., Soyer, J. P. (1991). Effects of nitrogen fertilization and grafting on the yield and quality of the crop of *Vitis vinifera* cv. Merlot. *Proceedings of the International Symposium on Nitrogen in Grapes and Wine*, Seattle, USA (American Society of Enology and Viticulture: Davis, CA). 242-248.

Delas, J., Pouget, R. (1984). Action de la concentration de la solution nutritive sur quelques caractéristiques physiologiques et technologiques chez *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon. II. Composition minérale des organes végétatifs, du moût et du vin. *Agronomie*, 4, 443-1350.

Delgado, R., Martín, P., del Álamo, M., González, R. M. (2004). Changes in the phenolic composition of grape berries during ripening in relation to vineyard nitrogen

and potassium fertilization rates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84, 623–630.

Del Prete, V., Costantini, A., Cecchini, F., Morassut, M., Garcia-Moruno, E. (2009). Occurrence of biogenic amines in wine: The role of grapes. *Food Chemistry*, 112, 474-481.

Dennis, E. G., Keyzers, R.A., Kalua, C. M., Maffei, S. M., Nicholson, E. L., Boss, P. K. (2012). Grape contribution to wine aroma: production of hexyl acetate, acetyl acetate, and benzyl acetate during yeast fermentation is dependent upon precursors in the must. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 2638-2646.

Dizy, M., Polo, M. C. (1996). Changes in concentration of nitrogenous compounds during fermentation of white grapes musts at pilot plant scale. *Food Science and Technology International*, 2, 87-93.

Domínguez, E. G. E. (2011). Abonado del viñedo. *Servicio de Investigación y Desarrollo Tecnológico Agroalimentario de la Rioja*, 26, 213-221.

Doss, B. D., Dumas, W. T., Lund, Z, F. (1979). Depth of lime incorporation for correction of subsoil acidity. *Agronomy Journal*, 71, (4), 541-544.

Dutta, R., Robinson, K. P. (2004). Identification and Characterization of stretch-activated ion channels in pollen protoplasts. *Plant Physiology*, 135, 1398-1406.

Embrapa. Centro nacional de pesquisas de solos (1999). *Sistema brasileiro de classificação de solos*. Brasília: Embrapa Produção da Informação. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 26 (2), 412 p.

Etiévant, P.X. (1991). Wine. In: *Volatile compounds in foods and beverages*. Ed. H. Maarse (Marcel Dekker, Inc.: New York), 483-587.

Falcão, L. D., Revel, G. de., Perello, M. C., Moutsiou, A., Zanus, M. C., Bordignon-Luiz, M. (2007). A survey of seasonal temperatures and vineyard altitude influences on 2-methoxy-3-isobutylpyrazine, C13-norisoprenoids, and the sensory profile of Brazilian Cabernet Sauvignon wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 3605-3612.

Fanzone, M., Peña-Neira, A., Gil, M., Jofré, V., Assof, M., Zamora, F. (2012). Impact of phenolic and polysaccharidic composition on commercial value of Argentinean Malbec and Cabernet Sauvignon wines. *Food Research International*, 45, 402-414.

Feild, T. S., Lee, D. W., Holbrook, N. M. (2001). Why leaves turn red in autumn. The role of anthocyanins in senescing leaves of red-osier dogwood. *Plant Physiology*, 127, 566-574.

Ferreira, V., López, R., Cacho, J. (2000). Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 1659-1667.

Ferguson, I. B. (1984). Calcium in plant senescence and fruit ripening. *Plant, Cell and Environment*, 7, 477-489.

Flanzy, C. (2000). *Enología: Fundamentos Científicos y Tecnológicos*. AMV, Ed., Mundi Prensa, Madrid.

Fonseca, M., V., A. (1983). Estudo da lixiviação ácida do resíduo de retortagem do xisto. Dissertação - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Programa de Engenharia Química, COPPE.

Fonseca, M. V. A., Nascimento, R. S. V., Santos, P. S., Neto, C. C. (1989). Xisto pirobetuminoso. *Boletim Tecnológico da Petrobrás*, 32, 1-2.

Food and Agriculture Organization – FAO (2012). Faostat agriculture data – production: crops, grape. Disponible en: <http://apps.fao.org>. Acceso en: 08 de junio de 2012.

Francis, I. L., Newton, J. L. (2005). Determining wine aroma from compositional data. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 11, 114-126.

García-Marino, M., Trigueros, Á., Escribano-Bailón, T. (2010). Influence of oenological practices on the formation of biogenic amines in quality red wines. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23, 455-462.

García-Villar, N., Hernández-Cassou, S., & Saurina, J. (2007). Characterization of wines through the biogenic amine contents using chromatographic techniques and chemometric data analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 7453-7461

Garde-Cerdán, T., Ancín-Azpilicueta, C. (2007). Effect of SO₂ on the formation and evolution of volatile compounds in wines. *Food Control*, 18, 1501-1506.

Garde-Cerdán, T., Lorenzo, C., Lara, J. F., Pardo, F., Ancí-Azpilicueta, C., Salinas, M. R. (2009). Study of the evolution of nitrogen compounds during grape ripening. Application to differential grape varieties and cultivated system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(6), 2410-2419.

Gärtel, W. (1993). Grapes. In Bennett, W. F., (Ed), *Nutrient deficiencies & toxicities in crop plants* St. Paul, Mn: APS Press, 177-183 pp.

Giorgessi, F., Flamini, R., Baruzzini, A., Dalla Vedova, A. (2001) Fertilization effects on nitrogen contents in the must and on fermentation aromas in the wine (cv. Pinot b.). *Rivista di Viticoltura e di Enologia*, 4, 3-24.

Giovannini, E., Manfroi, V. (2009). *Viticultura e Enologia: Elaboração de grandes vinhos nos terroirs brasileiros*. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul, IFRS, Bento Gonçalves, 1ª Ed., 344p.

Gloria, M. B. A., Vieira, S. M. (2007). Technological and toxicological significance of bioactive amines in grapes and wines. *Food*, 1(2), 258-270.

Goes da Silva, F., Iandolino, A., Al-Kayal, F., Bohlmann, M. C., Cushman, M. A., Lim, H., Erguel, A., Figueroa, R., Kabuloglu, E. K., Osborne, C., Rowe, J., Tattersall, E., Leslie, A., Xu, J., Baek, J., Cramer, G. R., Cushman, J. C., Cook, D. R. (2005). Characterizing the grape transcriptome. Analysis of expressed sequence tags from multiple *Vitis* species and development of a compendium of gene expression during berry development. *Plant Physiology*, 139, 574-597.

Goldspink, B., Frayne, B. (1997). The effect of nutrients on vine performance, juice parameters and fermentation characteristics. *Proceedings Quality Management in Viticulture*, Mildura, Australia (Australian Society of Viticulture and Oenology: Adelaide, SA), 17-21.

Gómez-Alonso, S., Hermosín-Gutiérrez, I., García-Romero, E. (2007). Simultaneous HPLC analysis of biogenic amines, amino acids, and ammonium ion as aminoenone derivatives in wine and beer samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 608-613.

Gómez García-Carpintero, E., Sánchez-Palomo, E., Gonzalez-Viñas, M. A. (2011). Aroma characterization of red wines from cv. Bobal grapes variety grown in La Mancha region. *Food Research International*, 44, 61-70.

González-Nevez, G., Franco, J., Barreiro, L., Gil, G., Moutounet, M., Carbonneau, A. (2007). Varietal differentiation of Tannat, Cabernet Sauvignon and Merlot grapes and

wines according to their anthocyanic composition. *European Food Research and Technology*, 225, 111-117.

Gouthu, S., Skinkis, P. A., Morre, J., Maier, C. S., Deluc, L. G. (2012). Berry nitrogen status altered by cropping: effects on berry hormone dynamics, growth and amino acid composition. *Food Chemistry*, 135, 1-8.

Grant, R. S., Matthews, M. A. (1996). The influence of phosphorus availability, scion, and rootstock on grapevine shoot growth, leaf area, and petiole phosphorus concentration. *American Journal of Enology and Viticulture*, 47, 217-224.

Grossman, A., Takahashi, H. (2001). Macronutrient utilization by photosynthetic eukaryotes and the fabric of interactions. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 52, 163-210.

Gurbuz, O., Rouseff, J. M., Rouseff, R. L. (2006). Comparison of aroma volatiles in commercial Merlot and Cabernet Sauvignon wines using gas chromatography – olfactometry and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 54, 3990-3996.

Guth, H. (1997). Identification of character impact odorants of different white wine varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 3027-3032.

Guth, H., Sies, A. (2002). Flavour of wines: Towards an understanding by reconstitution experiments and an analysis of ethanol's effect on odour activity of key compounds. *Proceedings of the Eleventh Australian Wine Industry Technical Conference, Adelaide, Australia (Australian Wine Industry Technical Conference Inc.: Adelaide, SA)*, 128-139.

Hachirro, J. (1997). O subgrupo Irati (Neopermiano) da Bacia do Paraná. *Dissertação de Mestrado, IG/USP*, 196.

Hachirro, J., Coimbra, A. M., Matos, S. L. I. (1993). O caráter cronoestratigráfico da unidade Irati. *Boletim IG/USP, Publicação Especial*, 12, (2), 51-52.

Henschke, P. A., Jiranek, V. (1993). Yeasts – metabolism of nitrogen compounds. In: *Wine Microbiology and Biotechnology*. (Ed) G. H. Fleet (Harwood Academic Publishers: Chur, Switzerland), 77-164.

Hermans, C., Hammond, J. P., White, P. J., Verbruggen, N. (2006). How do plant respond to nutrient shortage by biomass allocation? *Trends in Plant Science*, 11, 610-617.

Hermozín-Gutiérrez, I., Sánchez-Palomo, E. L., Espinosa, A. V. (2005). Phenolic composition and magnitude of copigmentation in young and shortly aged red wines made from the cultivars, Cabernet Sauvignon, Cencibel, and Syrah. *Food Chemistry*, 92, 269-283.

Hernández-Orte, P., Ibarz, M. J., Cacho, J., Ferreira, V. (2005). Effect of the addition of ammonium and amino acids to musts of Airen variety on aromatic composition and sensory proprieties of the obtained wine. *Food Chemistry*, 89, 163-174.

Hilbert, G., Soyer, J. P., Molot, C., Giraudon, J., Milin, S. Gaudillère, J. P. (2003). Effects of nitrogen supply on must quality and anthocyanin accumulation in berries of cv. Merlot. *Vitis* 42(2), 69–76.

Hirschi, K. D. (2004). The calcium conundrum. Both versatile nutrient and specific signal. *Plant Physiology*, 136, 2438-2442.

Hoch, W. A., Singaas, E. L., McCown, B. H. (2003). Resorption protection. Anthocyanins facilitate nutrient recovery in autumn by shielding leaves from potentially damaging light levels. *Plant Physiology*, 133, 1296-1305.

Hopkins, P. G. (1995). Introduction to Plant Physiology. John Wiley & Sons, NY, USA, 142p.

Hotchkiss, J. H. (1989). Preformed *N*-nitroso compounds in foods and beverages. *Cancer Survey*, 8(2), 295-321.

Howell, K. S., Swiegers, J. H., Eglinton, J. M., Bellon, J. R., Henschke, P. A., Fleet, G. H., Hoj, P. B., Pretorius, I. S., de Barros Lopes, M. A. (2005). Microbiological tuning of wine composition. Proceedings of the Twelfth Australian Wine Industry Technical Conference, Melbourne, Australia. (Australian Wine Industry Technical Conference Inc.: Adelaide, SA), 141-144.

Hunter, J. J., Ruffner, H. P., Volschenk, C. G., Roux, D. J. L. (1995). Partial defoliation of *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon/99 Richter: Effect on root growth, canopy efficiency, grape composition, and wine quality. *American Journal of Enology and Viticulture*, 46, 306-3014.

Hunter, J. J., Volschenk, J., Fouché, G. W. (2004). Composition of Sauvignon Blanc grapes as affected by pre-véraison canopy manipulation and ripeness level. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 25, 13-18.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE (2010). Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Agropecuária. Produção Agrícola Municipal. Disponible en: <http://www.ibge.gov.br>. Acceso en: 11 de mayo 2012.

Instituto Brasileiro do Vinho – IBRAVIN (2011). O Brasil vitivinícola. Disponible en: <http://www.ibravin.com.br/brasilvitivinicola/php>. Acceso en: 03 de mayo de 2012.

International Fertilizer Industry Association – IFA (2012). Disponible en: <http://www.fertilizer.org>. Acceso en: 10 de marzo de 2012.

Jackson, D. I., Coombe, B. G. (1988). Early bunch stem necrosis in grape – A cause of poor fruit set. *Vitis*, 27, 57-61.

Jiang, B., Xi, Z., Luo, M., Z., Z. (2013). Comparison on aroma compounds in Cabernet Sauvignon and Merlot wines from four wine grape-growing regions in China. *Food Research International*, 51, 482-489.

Jin, S., Yoshida, M., Nakajima, T., Murai, A. (2003). Accumulation of hydroxycinnamic acid amides in winter wheat under snow. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 67(6), 1245-1249.

Jones, G., Iland, P., Markides, A., Asenstorfer, R. (2003). Formation of vitisin A during fermentation and maturation. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 9, 40-46.

Kalua, C. M., Boss, P. K. (2009). Evolution of volatile compounds during the development of Cabernet Sauvignon grapes (*Vitis vinifera* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 3818-3830.

Karagiannis, S., Economou, A., Lanaridis, P. (2000). Phenolic and volatile composition of wines made from *Vitis vinifera* cv. Muscat Lefko from the island of Samos. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48, 5369-5375.

Kataoka I., Kubo Y., Sugiura A., Tomana T. (1983). Changes in L-phenylalanine ammonia-lyase activity and anthocyanin synthesis during berry development of three grape cultivars. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*. 52, 273-279.

Kato, S., Ishihara, T., Hemmi, H., Kobayashi, H., Yoshimura, T. (2011). Alteration in D-amino acids concentration and microbial community structures during the fermentation of red and white wines. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 111(1), 104-108.

Keller, M. (2010). *The science of grapevines: anatomy and physiology*. Elsevier Academic Press, California, 369p.

Keller, M., Hrazdina G. (1998). Interaction of nitrogen availability during bloom and light intensity during veraison. II. Effects on anthocyanin and phenolic development during grape ripening. *American Journal of Enology and Viticulture*, 49, 341-349.

Keller, M., Koblet, W. (1995). Stress-induced development of inflorescence necrosis and bunch stem necrosis in *Vitis vinifera* L. in response to environmental and nutritional effects. *Vitis*, 34, 145-150.

Keller, M. Kummer, M., Vasconcelos, M. C. (2001). Reproductive growth of grapevines in response to nitrogen supply and rootstock. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 7, 12-18.

Keller M, Pool, R. M., Henick-Kling, T. (1999). Excessive nitrogen supply and shoot trimming can impair colour development in Pinot noir grapes and wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 5, 45-55.

Kinsella, J.E., Frankel, E., German, B. and Kanner, J. (1993) Possible mechanisms for the protective role of antioxidants in wine and plant foods. *Food Technology* 47, 85–89.

Kliewer, W. M. (1977). Influence of temperature, solar radiation and nitrogen on coloration and composition of Emperor grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28, 96-103.

Kochian, L. V., Hoekenga, O. A., Piñeros, M. A. (2004). How do crop plants tolerance acid soils? Mechanisms of aluminum tolerance and phosphorous efficiency. *Annual Review of Plant Biology*, 55, 459-493.

Kopriva, S. (2006). Regulation of sulfate assimilation in *Arabidopsis* and beyond. *Annals of Botany*, 97, 479-495.

Kotseridis, Y., Baumes, R. (2000). Identification of impact odorants in Bordeaux red grape juice, in the commercial yeast used for its fermentation, and in the produced wine. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 48, 400-406.

Lambrechts, M. G., Pretorius, I. S. (2000) Yeast and its importance to wine aroma – A review. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 21, 97-129.

Landete, J. M., Ferrer, S., Pardo, I. (2007). Biogenic amine production by lactic acid bacteria, acetic bacteria and yeast isolated from wine. *Food Control*, 18, 1569-1574.

Landete, J. M., Ferrer, S., Polo, L., Pardo, I. (2005). Biogenic amines in wines from three Spanish regions. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53, 1119-1124.

Leigh, R. A. (2001). Potassium homeostasis and membrane transport. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 164, 193-198.

Leitão, M., Marques, A. P., Romão, S. (2005). A survey on biogenic amines in commercial Portuguese wines. *Food Control*, 16, 199-204.

Li, Z. (2006). *Wine tasting*. Science press: Beijing China.

Li, Z., Pan, Q., Jin, Z., Mu, L., Duan, C. (2011). Comparison on phenolic compounds in *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon wines from wine-growing regions in China. *Food Chemistry*, 125, 77-83.

Lillo, C., Lea, U. S., Ruoff, P. (2008). Nutrient depletion as a key factor for manipulating gene expression and product formation in different branches of the flavonoid pathway. *Plant, Cell and Environment*, 31, 587-601.

Linsenmeier, A., Munoz, H., Schubert, S., Löhnertz, O. (2005). Effect of different nitrogen fertilization on aroma quality of Riesling. *Proc. XIV Int. GESCO (Groupe Étude des Systèmes de Conduite de la Vigne) Viticulture Congr.*, Geisenheim, 724-730.

Lonvaud-Funel, A. (2001). Biogenic amines in wines: role of lactic acid bacteria. FEMS Microbiology Letters, 19, 9-13.

López, N., Puértolas, E., Hernández-Orte, P., Álvarez, I., Raso, J. (2009). Effect of pulse electric Field treatment on the anthocyanins composition and other quality parameters of Cabernet Sauvignon freshly fermented model wines obtained after different maceration times. LWT – Food Science and Technology, 42, 1225-1231.

Malagi, M. (2011). Repostas agronômicas e ecofisiológicas de videira, cultivar BRS Violeta, influenciadas por sistemas de adubação. Dissertação de Mestrado, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, UTFPR, 176.

Marais, J. (2005). Relationship between grape colour and wine quality. (On-line serial). Disponible en: <http://www.wynboer.co.za/recentarticles/200507colour.php3.11-10-2006>.

Marais, J., Calitz, F., Haasbroek, P. D. (2001). Relationship between microclimate data, aroma component concentrations and wine quality parameters in the prediction of Sauvignon Blanc wine quality. South African Journal of Enology and Viticulture, 22, 22-26.

Marais, J., Hunter, J. J., Haasbroek, P. D. (1999) Effect of canopy microclimate, season and region on Sauvignon Blanc grape composition and wine quality. South African Journal of Enology and Viticulture, 20, 19-30.

Marcobal, Á., Martín-Álvarez, P. J., Polo, M. C., Muñoz, R., Moreno-Arribas, M. V. (2006). Formation of biogenic amines throughout the industrial manufacture of red wine. Journal of Food Protection, 69, 397-4040.

Marcobal, M., Polo, M. C., Martín-Álvarez, P. J., Moreno-Arribas, M. V. (2005). Biogenic amines content of red Spanish wine: comparison of a direct ELISA and an HPLC method for the determination of histamine in wines. *Food Research International*, 38, 387-394.

Marques, A. P., Leitão, M. C., San Romão, M. V. (2008). Biogenic amines in wine: Influence of oenological factors. *Food Chemistry*, 107, 853-860.

Mateo, J. J., Jiménez, M. (2000). Monoterpenes in grape juice and wines (review). *Journal of Chromatography A*, 881, 557-567.

Mateo, J. J., Jiménez, M., Pastor, A., Huerta, T. (2001). Yeast starters cultures affecting wine fermentation and volatiles. *Food Research International*, 34, 307-314.

Maurel, C., Verdoucq, L., Luu, D. T., Santoni, V. (2008). Plant aquaporins: membrane channels with multiple integrated functions. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 595-624.

Mazza, G. (1995). Anthocyanins in grape and grape products. *Critical Review. Food Science and Nutrition*, 35, 341-371.

Melo, G. W. B. de. (2006). O perigo do excesso de adubação da videira. *Toda Fruta*. Disponible en: <http://www.todafruta.com.br>. Acceso en: 13 mayo de 2012.

Melo, L. M. R. (2010). Viticultura brasileira: panorama 2010. *Embrapa Uva e Vinho*. Disponible en: <http://www.cnpuv.embrapa.br>. Acceso en: 10 de mayo de 2012.

Messias, R. S. (2011). Aplicação foliar de água de xisto na produtividade e qualidade de alface e milho. Tese doutorado, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Agroindustrial. Universidade Federal de Pelotas, 153.

Mohammed S., Singh D., Ahlawat, V. P. (1993). Growth, yield and quality of grapes as affected by pruning and basal application of potassium. *Journal of Horticultural Science*, 22, 179-182.

Monagas, M., Núñez, V., Bartolomé, B., Gómez-Cordovés, C. (2003). Anthocyanin-derived pigments in Graciano, Tempranillo, and Cabernet Sauvignon wines produced in Spain. *American Journal of Enology and Viticulture*, 54, 163-169.

Monagas, M., Martín-Álvarez, P. J., Bartolomé, B., Gómez-Cordovés, C. (2006). Statistical interpretation of the colour parameters of red wines in function of their phenolic composition during aging in bottle. *European Food Research and Technology*, 222, 702-709.

Montedoro, G., Bertuccioli, M. (1982). I costituenti volatili dei mosti e dei vini relazione alla cultivar, alla raccolta e alla vinificazione. *Symposium di Enologiche S. Michelle all'Adige, Trento (1980)*. 169-205.

Moreno-Arribas, M. V., Polo, M. C. (2009). Nitrogen compounds, *In: Wine chemistry and biochemistry*. Madrid: Springer. 778p.

Moreno-Pérez, A., Vila-López, R., Fernández-Fernández, J. I., Martínez-Cutillas, A., Gil-Muñoz, R. (2013). Influence of cold pre-fermentation treatments on the major volatile compounds of three wine varieties. *Food Chemistry*, 139, 770-776.

Morris, J. R., Sims, C. A., Cawton D. L. (1983). Effects of excessive potassium levels on pH, acidity and color of fresh and stored grape juice. *American Journal of Enology and Viticulture*, 34, 35-39.

Mpelasoka, B. S., Schachtman, D. P., Treeby, M. T., Thomas, M. R. (2003). A review of potassium nutrition in grapevines with special emphasis on berry accumulation. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 9, 154-168.

Mullins, M. G., Bouquet, A., Williams, L. E. (1992). *Biology of the grapevine*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.

Noctor, G., Foyer, C. H. (1998). Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49, 249-279.

Office International de la Vigne et du Vin (2003). Détermination par CLHP de Neuf Anthocyanes Principales dans le Vin Rouge et Rosé, Resolution OENO 22.

Organisation Internationale de la Vigne et du Vin – OIV (2010). Publications statistiques. Disponible en: <http://www.oiv.int>. Acceso en: 08 de junio de 2012.

Ough, C. S., Bell, A. A. (1980). Effects of nitrogen fertilization of grapevines on amino acid metabolism and higher-alcohol formation during grape juice fermentation. *American Journal of Enology and Viticulture*, 31, 122-123.

Ough, C. S., Lee, T. H. (1981). Effect of vineyard nitrogen fertilization level on the formation of some fermentation esters. *American Journal of Enology and Viticulture*, 32, 125-127.

Patrick, J. W., Zhang, W., Tyerman, S. D., Offler, C. E., Walker, N. A. (2001). Role of membrane transport in phloem translocation of assimilates and water. *Australian Journal of Plant Physiology*, 28, 695-707.

Paul, M. J., Foyer, C. H. (2001). Sink regulation of photosynthesis. *Journal of Experimental Botany*, 52, 1383-1400.

Pereira, H. S., Melo, S. C. (2002). Aplicações de fertilizantes foliares na nutrição e na produção do pimentão e do tomateiro. *Horticultura Brasileira*, 20, (4), 597-600.

Pereira, H. S., Vitti, G. C. (2004). Efeito do uso do xisto em características químicas do solo e nutrição do tomateiro. *Horticultura Brasileira*, 22, (2), 317-322.

Pereira, V., Pontes, M., Câmara, J. S., Marques, J. C. (2008). Simultaneous analysis of free amino acids and biogenic amines in honey and wine samples using in loop orthophthalaldehyde derivatization procedure. *Journal of Chromatography A*, 1189, 435-443.

Perestrello, R., Fernandes, A., Albuquerque, F. F., Marques, J. C., Camara, J. S. (2006). Analytical characterization of the aroma of Tinta Negra Mole red wine: identification of the main odorants compounds. *Analytica Chimica Acta*, 563, 154-164.

Petrobras (2009). Espaço conhecer Petrobras. Disponible en <http://www2.petrobras.com.br/espacoconhecer/Produtos/xisto.asp>. Acceso en: 06 marzo de 2010.

Petrosix (2008). O xisto no Brasil e no mundo. Disponible em: <http://www.petrobras.com.br>. Acceso en: 19 octubre de 2010.

Pineda, A., Carrasco, J., Peña-Farfal, C., Henríquez-Aedo, K., Aranda, M. (2012). Preliminary evaluation of biogenic amines content in Chilean young varietal wines by HPLC. *Food Control*, 23, 251-257.

Pirie, A. J. G., Mullins, M. G. (1977). Interrelationships of sugars, anthocyanins, total polyphenols and dry weight in the skin of grape berries during ripening. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28, 204-209.

Plieth, C. (2005). Calcium: just another regulator in the machinery of life? *Annals of Botany*, 96, 1-8.

Pommer, C. V. (2003). Uva: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado. Porto Alegre, Cinco Continentes. 778p.

Protas, J. F. da S. (2003). Uvas viníferas para processamento em regiões de clima temperado. Embrapa Uva e Vinho. Sistemas de Produção. Disponible en: <http://www.sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br>. Aceso en: 03 de mayo de 2012.

Rapp, A., Versini, G. (1996). Influence of nitrogen on compounds in grapes on aroma compounds in wines. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 51, 193-203.

Rapp, A., Versini, G. (1991). Influence of nitrogen compounds in grapes on aroma compounds of wines. In: *Proceedings of the International Symposium on Nitrogen Grapes and Wines*. J. M. Rantz (Ed.). 156-164.

Reynolds, A., Cliff, M., Girard, B., Kopp, T. G. (2001). Influence of fermentation temperature on composition and sensory properties of Semillon and Shiraz wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52, 235-240.

Reynolds, A. G., Wardle, D. A. (1997) Flavour development in the vineyard: Impact of viticultural practices on grape monoterpenes and their relationship to wine sensory response. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 18, 3-18.

Revilla, E., Alonso, E., Kovac, V. (1997). The content of catechins and procyanidins in grapes and wines as affected by agroecological factors and technological practices. American Chemical Society, Washington, DC, USA, p. 69-80.

Revilla, E., López, J. F., Ryan, J. M. (2005). Anthocyanin pattern of Tempranillo wines during ageing in oak barrels and storage in stainless-steel tank. *European Food Research and Technology*, 220, 592-596.

Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Donèche, B., Lonvaud, A. (2000). Biochemistry of alcoholic fermentation and metabolic pathways of wine yeast. In: Handbook of Enology, Vol. I (edited by P. Ribéreau-Gayon). New York, NY: Wiley. Pp. 51-74.

Robert-Peillard, F., Boudenne, J. L., Coulomb, B. (2014). Development of a simple fluorescence-based microplate method for the high-throughput analysis of proline in wine samples. *Food Chemistry*, 150, 274-279.

Rodriguez-Lovelle, B., Gaudillère, J. P. (2002). Carbon and nitrogen partitioning in either fruiting or non-fruiting grapevines: effects of nitrogen limitation before and after veraison. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 8, 86-94.

Romero, C., Bakker, J. (2000). Effect of acetaldehyde and several acids on the formation of vitisin A in model wine anthocyanin and colour evolution. *International Journal of Foods Science and Technology*, 35, 129-140.

Rosa, S. E. S., Cosenza, J.P., Leão, L.T.S. (2006). Panorama do setor de bebidas no Brasil. In: *BNDES Setorial*, 23, 101-150.

Rosolem, C. A., Foloni, J. S. S., Oliveira, R. H. de. (2003). Dinâmica do nitrogênio no solo em razão da calagem e adubação nitrogenada, com palha na superfície. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 38-(2), 301-309.

Ruiz, V. S. (2011). Avances en viticultura en el mundo. *Revista Brasileira de Fruticultura*, volume especial, E, 131-143.

Schachtman, D. P., Shin, R. (2007). Nutrient sensing and signaling: NPKS. *Annual Review of Plant Biology*, 58, 47-69.

Schreiner, R. P., Scagel, C. F., Baham, J. (2006). Nutrient uptake and distribution in a mature Pinot Noir vineyard. *HortScience*, 41, 336-345.

Schreier, P. (1979). Flavor composition of wines: A reviews. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 12, 59-111.

Silla-Santos, M. H. (1996). Biogenic amines: their importance in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 29(2-3), 213-231.

Silva, D. J., de Farias, C. M. B., de Albuquerque, T. C. S. (2010). Cultivo da videira: nutrição, calagem e adubação. Sistema de produção, Embrapa Semiárido, versão eletrônica. Disponible en: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br>. Acceso en: 01 de mayo de 2012.

Sinton, T. H., Ough, C. S., Kissler, J. J., Kasimatis, A. N. (1978). Grape juice indicators for prediction of potential wine quality. I. Relationship between crop level, juice and wine composition, and wine sensory ratings and scores. *American Journal of Enology and Viticulture*, 29, 267-271.

Shinohara, T. (1985). Gas chromatographic analysis of volatile fatty acids in wines. *Agricultural and Biological Chemistry*, 49, 2211-2212.

Smyth, H., Cozzolino, D., Herderich, M. J., Sefton, M. A., Francis, I. L. (2005). Relating volatile composition to wine aroma: Identification of key aroma compounds in Australian white wines. *Proceedings of the Twelfth Australian Wine Industry Technical Conference, Melbourne, Australia (Australian Wine Industry Technical Conference Inc.: Adelaide, SA)*, 31-33.

Smit, A. Y., du Toit, W. J., du Toit, M. (2008). Biogenic Amines in Wine: Understanding the Headache. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 29(2), 109-127.

Somers, T. C. (1975). In search of quality for red wines. *Food Technology in Australia*, 27, 49-56.

Somers, T.C. (1977). A connection between potassium levels in the harvest and relative quality in Australian red wines. *Australian Wine, Brewing and Spirit Review*, 24, 32-34.

Soufleros, E. H., Barrios, M. L., Bertrand, A. (1998). Correlation between the content of biogenic amines and other wine compounds. *American Journal of Enology and Viticulture*, 49(3), 266-278.

Soufleros, E. H., Bouloumpasi, E., Tsarchopoulos, C., Biliaderis, C. G. (2003). Primary amino acid profiles of Greek white wines and their use in classification according to variety, origin and vintage. *Food Chemistry*, 80, 261-273.

Soufleros, E. H., Bouloumpasi, E., Zotou, A., Loukou, Z. (2007). Determination of biogenic amines in Greek wines by HPLC and ultraviolet detection after dansylation and examination of factors affecting their presence and concentration. *Food Chemistry*, 101, 704-716.

Souza, S. C., Theodoro, K. H., Souza, E. R., Motta, S. da., Glória, M. B. A. (2005). Bioactive amines in Brazilian wines: types, levels and correlation with physico-chemical parameters. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 48, 53-62.

Spayd, S. E., Stevens, R. G., Wample, R. L., Evans, R. G., Edwards, C. G., Webster, D. (2000). Impact of nitrogen fertilization on vine performance and juice and wine composition of *Riesling* grapes (*Vitis vinifera* L.) in Washington State. *Acta Horticultural*, 512, 65-76.

Spayd, S. E., Wample, R. L., Evans, R. G., Stevens, R. G., Seymour, B. J., Nagel, C. W. (1994). Nitrogen fertilization of white Riesling grapes in Washington, must and wine composition. *American Journal of Enology and Viticulture*, 45, 34-42.

Stockley, C. S. (2004). Australian and New Zealand Grape grower and Winemaker, 485a, 77, 79-82.

Swiegers, J. H., Bartowsky, E. J., Henschke, P. A., Pretorius, I. S. (2005). Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour. Australian Journal of Grape and Wine Research, 11, 139-173.

Swiegers, J. H., Pretorius, I. S. (2005). Yeast modulation of wine flavour. Advances in Applied Microbiology, 57, 131-175.

Tao, Y., Li, H., Wang, H., Zhang, L. (2008). Volatile compounds of young Cabernet Sauvignon red wine from Changli County (China). Journal of Food Composition and Analysis, 21, 689-394.

Tao, Y., Zhang, L. (2013). Intensity prediction of typical aroma characters of Cabernet Sauvignon wine in Changli County (China). LWT – Food Science and Technology, 43, 1550-1556.

TenBrink, B., Damink, C., Joosten, H. M. L., Tveld, J. H. J. H. I. (1990). Occurrence and formation of biologically-active amines in food. International Journal of Microbiology, 11, 73-84.

Treeby, M. T., Holzapfel, B. P., Pickering, G. J., Friedrich, C. J. (2000). Vineyard nitrogen supply and Shiraz grape and wine quality. Acta Horticulturae, 512, 77-92.

Tominaga, T., Murat, M. L., Dubourdieu, D. (2000). Development of a method for analyzing the volatile thiols involved in the characteristic aroma of wines made from *Vitis vinifera* L. Sauvignon Blanc. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 46, 1044-1048.

USA. Department of agriculture (1996). Soil survey staff. Keys to soil taxonomy, 7^o Ed. Washington: Natural Resources Conservation Service, 644 p.

Van Leeuwen, C., Friant, P., Choné, X., Tregoat, O., Koundouras, S., Dubourdieu, D. (2004). Influence of climate, soil, and cultivare on terroir. *American Journal of Enology and Viticulture*, 55, 207-217.

Vidal-Carou, M. C., Ambatle-Espunyes, A., Ulla-Ulla, M. C., Mariné-Font, A. (1990). Histamine and tyramine in Spanish wines: their formation during winemaking process. *American Journal of Enology and Viticulture*, 41, 160-167.

Vitrac, X.; Larronde, F.; Krisa, S.; Decendit, A.; Deffieux, G.; Mérillon, J.M. (2000). Sugar sensing and Ca²⁺-calmodulin requirement in *Vitis vinifera* cells producing anthocyanins. *Phytochemistry*, 53, (6), 659-665.

Walker, D. J., Black, C. R., Miller, A. J. (1998). The role of cytosolic potassium and pH in the growth of barley roots. *Plant Physiology*, 118, 957-964.

Websters, D., Edwards, C. G., Spayd, S. E., Peterson, J. C., Seymour, B. J. (1993). Influence of vineyard nitrogen fertilization on the concentration of monoterpenes, higher alcohols, and esters in aged Riesling wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 44, 275-284.

Wine Institute (2010). Per capita wine consumption by country. Disponible en: <http://www.wineinstitute.org>. Acceso en: 10 de mayo de 2012.

Xi, Z., Tao, Y., Zhang, L., Li, H. (2011). Impact of cover crops in vineyard on the aroma compounds of *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon wine. *Food Chemistry*, 127, 516-522.

Zhang, M., Xu, Q., Duan, C., Qu, W., Wu, Y. (2007). Comparative study of aromatic compounds in yong red wine from Cabernet Sauvignon, Cabernet Franc, and Cabernet Gernischt varieties in China. *Food Chemistry and Toxicology*. 72, 248-252.

Zhijun, L., Yongning, W., Gong, Z., Yunfeng, Z., Changhu, X. (2007). A survey of biogenic amines in Chinese red wine. *Food Chemistry*, 105, 1530-1535.

Capítulo II – Aprovechamiento de subproductos de
vinificación para incrementar la calidad de vinos blancos
obtenidos de variedades neutras

2.1. INTRODUCCIÓN

2.1.1. Residuos de la producción vitivinícola: problemas y soluciones

La optimización del proceso de producción de alimentos basada en la reducción y/o reutilización de los residuos se ha convertido en una práctica obligatoria en los países más desarrollados. En este sentido, uno de los mayores retos para las regiones vitivinícolas es crear alternativas para procesar y aprovechar la gran cantidad de residuos, principalmente en aquellos países con gran expresión en el sector, como es el caso de España.

Según la Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV, 2011), España ocupa el primer lugar en superficie de viñedos plantados, con aproximadamente 1,01 millones de hectáreas y el cuarto lugar en producción de uvas, con cerca de 6,11 millones de toneladas. De entre las regiones productoras, merece especial mención la región de Castilla La-Mancha por poseer más del 50 % del total de viñedos españoles (MAAM, 2011). Alrededor del 80 % de la producción nacional es procesada por la industria vinícola para la obtención de vinos o bien por la industria de bebidas no alcohólicas para la producción de zumos, generando por tanto, una cantidad de residuos nada despreciable (KRAMMERER et al., 2004).

Se ha estimado que los residuos de la producción vitivinícola, una mezcla de hollejos, pepitas y escobajos de la uva, también conocidos como orujos, equivalen a aproximadamente el 13 % del total de uvas procesadas (TORRES & BOBET, 2001). Durante la vendimia, las bodegas españolas generan aproximadamente 530 mil toneladas de orujos. En Europa, según Negro et al., (2003), se producen anualmente cerca de 14,5 millones de toneladas de orujos de uva, lo que se ha convertido en un gran problema tanto económico como ambiental.

El orujo de la uva, si no es tratado con eficacia, puede iniciar una serie de peligros medioambientales con efectos perjudiciales sobre la fauna y la flora (SPIGNO et al., 2007). Las soluciones de taninos y otros compuestos del orujo que son

lixiviados, causan la contaminación del suelo y del agua subterránea. Los orujos de las uvas también poseen niveles muy altos de demanda química y bioquímica de oxígeno, DQO y DBO, respectivamente (CÁCERES et al., 2012). La DBO corresponde a la cantidad de oxígeno necesaria para llevar a cabo la oxidación de la materia orgánica biodegradable bajo condiciones aeróbicas. La DQO evalúa la cantidad de oxígeno disuelto consumido en medio ácido que lleva a la degradación de la materia orgánica, siendo esa biodegradable o no (ARVANITTOYANNIS et al., 2006a).

Por otro lado, los niveles relativamente altos de compuestos fenólicos en los orujos también son responsables de inhibir las propiedades de germinación de las semillas (BONILLA et al., 1999; NEGRO et al., 2003). Además, grandes cantidades de orujos causan malos olores y atraen insectos y plagas, que fácilmente pueden provocar enfermedades (ARVANITTOYANNIS et al., 2006a). Por todo eso, los orujos de la uva no pueden simplemente ser desechados en cualquier lugar y mucho menos sin un tratamiento previo, lo que se ha convertido no sólo en un importante problema económico para los productores, sino también en un significativo problema ambiental.

Históricamente, los productores de vino producían aguardientes a partir de los orujos de las uvas. Sin embargo un exceso de oferta de aguardientes, ha llevado consigo una caída mundial de los precios, por la cual los productores no son capaces de amortizar los costes de producción. Por ese motivo, esta actividad está prácticamente en desuso en la actualidad (ARVANITTOYANNIS et al., 2006a).

Sin embargo, en los últimos años, a pesar del carácter contaminante descrito anteriormente, el alto contenido de compuestos fenólicos y otros compuestos bioactivos presentes en el orujo de las uvas han despertado el interés de la comunidad científica debido a los efectos favorables de estas sustancias en la salud humana (AMENDOLA et al., 2010; CASAS et al., 2010; ANASTASIADI et al., 2012; CASAZZA et al., 2012; ROCKENBACH et al., 2012; RODRIGUEZ-RODRIGUEZ et al., 2012). En este sentido, en los últimos años se han realizado diversos estudios para recuperar el potencial fenólico de los orujos desechados en las vinificaciones en tinto (BONILLA et

al., 1999; LAZZE et al., 2009; PINELO et al., 2005; SPIGNO et al., 2007), mientras que los residuos obtenidos de las vinificaciones en blanco han sido mucho menos estudiados (CASAZZA et al., 2010; MAKRIS et al., 2007). Sin embargo, el alto potencial aromático de las uvas, concentrado principalmente en los hollejos, no debería ser olvidado. Concretamente, durante la elaboración del vino blanco, este potencial, en muchos casos, no es suficientemente explotado, ya que los hollejos se separan rápidamente del mosto, pasando a formar parte de los residuos.

2.1.2. Proceso de Vinificación: Importancia de la etapa de maceración

La vinificación es el conjunto de operaciones puestas en práctica para transformar en vino el mosto resultante del aplastamiento de los racimos de la uva. Existen numerosos procedimientos de vinificación correspondiente a los diversos tipos de vinos y que se distinguen por el modo de separación de las diferentes partes de los racimos, principalmente por el contacto o no de los hollejos y de las pepitas con el mosto, proceso denominado maceración (PEYNAUD, 1989). A continuación se hace un breve repaso a las principales operaciones unitarias que tienen lugar durante la vinificación.

El **despalillado** tiene como función principal separar el raspón de las bayas de uva. La función complementaria de esta operación unitaria también es separar las bayas de todas las partículas vegetales presentes, tales como hojas, tallos, pedúnculos y todos los cuerpos extraños, manteniendo la integridad de las mismas desde el momento en que éstas se separan del pedúnculo (FLANZY, 2000). Mientras que el **estrujado** consiste en romper los hollejos para que se desprenda la pulpa y se libere el mosto.

Durante la vinificación en tinto, se suele fermentar los mostos en contacto con las partes sólidas de la uva durante algunos días. A esta técnica se denomina **maceración**. De esta manera, tanto los hollejos como en menor medida las pepitas,

son sometidos a una extracción etanólica suave, pero prolongada, que aporta a los vinos tintos un alto contenido de fenoles y de sustancias aromáticas, proporcionándoles cuerpo, aroma y color. En la vinificación de vinos blancos no se suele macerar el mosto con las partes sólidas de la uva, por lo que los hollejos suelen ser desechados tras el proceso de prensado. Sin embargo, en los últimos años han surgido nuevas técnicas de elaboración de vinos blancos como es la fermentación y/o maceración con los hollejos con el fin de aportar una mayor cantidad de aromas a los vinos elaborados a partir de uvas blancas (CASTRO-VÁZQUEZ et al., 2002; SÁNCHEZ-PALOMO et al., 2006 y 2007; CEJUDO-BASTANTE et al., 2011).

El **descube** es el proceso que separa el vino de las partes sólidas de la uva que estuvieron en contacto con él durante el periodo de maceración. El momento del descube, o mejor, el tiempo de maceración del vino es muy variable dependiendo de numerosos factores que están condicionados directamente al tipo de vino que se pretende elaborar. Cabe al enólogo establecer el mejor tiempo de maceración y las fechas del descube.

El **prensado** tiene la función de extraer el mosto de la uva fresca, en el caso de las vinificaciones en blanco, o extraer el vino de los orujos de las uvas fermentadas, en el caso de la vinificación en tinto.

La **fermentación alcohólica** es un conjunto de transformaciones bioquímicas por las cuales los azúcares contenidos en el mosto se transforman en alcohol etílico más anhídrido carbónico. Para ello es necesaria la presencia de levaduras, que están naturalmente presentes en las bayas de la uva, o que son adicionadas artificialmente.

La **fermentación maloláctica** es la segunda fermentación que ocurre en el vino, preferentemente en los tintos. En la práctica, es un procedimiento de desacidificación biológica del vino, donde el ácido málico es transformado, por el metabolismo de bacterias lácticas, en ácido láctico y gas carbónico. En este proceso el vino pierde su agresividad y se vuelve más suave y agradable al paladar.

Los **trasiegos** consisten en la operación de separación del vino de las materias sólidas depositadas en el fondo de los recipientes (las lías), tanto durante las fermentaciones como durante las siguientes etapas de la crianza.

La **clarificación** consiste en adicionar al vino sustancias orgánicas capaces de arrastrar hacia el fondo de los recipientes aquellos elementos en suspensión no deseados en el vino. Una vez clarificado, el vino pasa por la etapa de **filtración** para sacar los restos de partículas que quedaran en suspensión, dejándolo límpido y cristalino, listo para ser embotellado. Este proceso se suele utilizar en vinos blancos o tintos jóvenes, porque en los tintos de crianza, la “estabilización” se da a lo largo de los años.

De una manera general, tras los procesos de vinificación, los orujos resultantes de la elaboración del vino tinto, principalmente los hollejos y las pepitas, todavía contienen importantes cantidades de compuestos fenólicos y aromáticos retenidos en su matriz (PINELO et al., 2006). Por otro lado, aunque los vinos blancos en general no son elaborados a través de la maceración con hollejos, algunos estudios han demostrado que estos componentes de las variedades blancas de uva también contienen un espectro de polifenoles potencialmente bioactivo, y por lo tanto, merecen la misma atención que los orujos de uvas tintas (LU & FOO, 1999; SOUQUET et al., 2000). Además, es importante también mencionar el potencial aromático de los hollejos de algunas variedades consideradas no neutras o aromáticas, como es el caso de las variedades Moscatel y Malvasía (MAKRIS et al., 2007; SÁNCHEZ-PALOMO et al., 2009).

Con relación a la industria del zumo, los residuos de la misma también son de particular interés debido a que los tiempos de extracción durante el procesamiento son más cortos comparados con aquellos utilizados en la fabricación de vino, con lo que la cantidad de compuestos aún retenidos en los hollejos es bastante mayor (PEDROZA et al., 2012).

2.1.3. Morfología de las uvas: La composición química de los hollejos

La baya de uva está formada principalmente por hollejo, pulpa y semillas (también denominadas granillas o pepitas). La composición química de la baya depende de cada una de las partes y además está totalmente influenciada por el estado de maduración de la misma. Cada uno de los compuestos que conforman la baya juega un papel importante tanto en la calidad como en las propiedades sensoriales de los productos derivados, tales como mostos y vinos. La Figura 2.2 muestra un esquema de los componentes de la baya de uva y la distribución de su composición química.

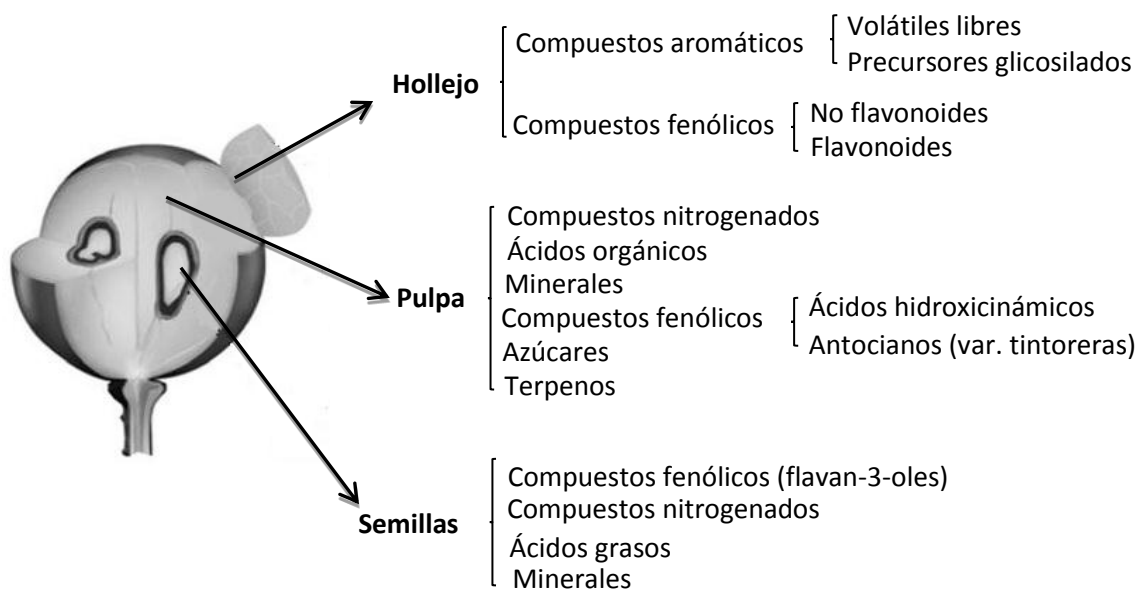


Figura 2.2. Esquema de las partes y de la composición química de la uva.

La **pulpa** representa aproximadamente el 78 % del peso de la baya. El agua es el compuesto principal con más de 80 % de la composición de la pulpa. Está constituida por azúcares de los cuales glucosa y fructosa son los mayoritarios. También presenta ácidos orgánicos siendo los ácidos málico y tartárico los que se

encuentran en mayor concentración. Se trata de una parte rica en minerales principalmente potasio, compuestos nitrogenados (proteínas solubles, amonio y aminoácidos), sustancias pépticas y compuestos fenólicos no flavonoides entre los que destacan los derivados de los ácidos benzoico y cinámico (HIDALGO-TOGORES, 2006). Sin embargo, algunas variedades de uva, denominadas “tintoreras”, poseen antocianinas (compuestos fenólicos flavonoides) dispuestas en la pulpa. La concentración es cuantitativamente igual que en los hollejos, aunque cualitativamente diferentes. La principal variedad tintorera cultivada en España es la Garnacha Tintorera, también conocida como Alicante Bouschet. En general, en estas variedades, la peonidina es la antocianina predominante en la pulpa (CASTILLO-MUÑOZ et al., 2009; GUAN et al., 2012).

Las **pepitas** suponen un 4 % del peso de la baya y están constituidas principalmente por compuestos fenólicos flavonoides y no flavonoides. Además, también encontramos cantidades significativas de sustancias nitrogenadas, minerales y ácido grasos de cadena larga principalmente el ácido linoleico y el ácido oleico.

El **hollejo** representa tan solo el 15 % del peso de la baya, pero es sin duda una de las partes claves para llevar a cabo la elaboración de los vinos, sobre todo los tintos, ya que es donde se localizan la mayoría de los compuestos fenólicos (flavonoles, antocianos y taninos,...) que otorgan al vino no solo las características cromáticas típicas sino que también influyen en las sensaciones táctiles y gustativas del mismo (ZAMORA, 2003; HIDALGO-TOGORES, 2010) y además, en los últimos años, también se ha demostrado los beneficios para la salud humana de estos compuestos fenólicos (CASSAZA et al., 2012; SUN et al., 2012). Por otra parte, los hollejos también son la principal fuente de compuestos volátiles libres y de sus precursores glicosilados importantes por sus propiedades aromáticas (RIBEREAU-GAYON et al., 2000).

2.1.3.1. Composición química de los hollejos

Compuestos volátiles

Los compuestos odoríferos de la uva son importantes por desempeñar un papel más determinante en la calidad y en la tipicidad de los vinos que cualquier otro componente del aroma. Estos compuestos están presentes en las uvas en concentraciones variadas, dependiendo de la variedad, del clima, del suelo, de las prácticas culturales (poda, conducción de la viña, fertilización, etc.), entre otros (JACKSON & LOMBARD, 1993).

Los compuestos aromáticos responsables del aroma varietal pueden encontrarse en forma libre, como sustancias odorantes y sensorialmente activas o, en forma ligada, llamados precursores glicosilados de aromas. En general, las concentraciones de compuestos en las formas ligadas superan las concentraciones de compuestos en las formas libres (BAYONOVE et al., 2000). Ambos tipos de compuestos, son característicos de cada variedad de uva de tal forma que sus sustancias odorantes típicas, pasan al vino transmitiéndole su tipicidad, mientras que los precursores glicoconjugados que pasan al vino se liberan durante la fermentación y la conservación del vino contribuyendo al aroma particular del mismo.

Existen más de 200 compuestos volátiles varietales de diversa naturaleza y estructura entre los que destacamos:

Los **terpenos** son los compuestos aromáticos de las variedades *Vitis vinifera* estudiados con más detalle. Estos compuestos son responsables de los conocidos aromas de las uvas y de los vinos moscateles, aunque también están presentes en menores concentraciones, en otras variedades. Existe un elevado número de compuestos de este tipo, siendo la mayoría monoterpenos que proceden de sesquiterpenos y de sus alcoholes y aldehídos, que son los más interesantes desde el punto de vista olfativo (FLANZY, 2000). Alrededor de 40 compuestos terpénicos se han identificado en las uvas, siendo los más importantes el linalol, nerol, α -terpineol, geraniol, citronelol y hotrienol que, en general, aportan a los vinos aromas florales

(RIBÉREAU-GAYON et al., 2000). La parte sólida de la baya (pulpa y hollejo) encierra más de la mitad de los terpenoles libres de las uvas. El 90% de la concentración de geraniol y nerol libre está ubicada en los hollejos y la mitad del linalol se encuentra en el mosto (WILSON et al., 1986).

Los ***C₁₃-norisoprenoides*** son compuestos que presentan propiedades odorantes muy interesantes y umbrales de percepción olfativa muy bajos (más bajo que los terpenos). Son formados durante la degradación oxidativa de los carotenoides, que pertenecen a la familia de los terpenos de 40 átomos de carbono, que conducen a la formación de derivados de 9, 10, 11 y 13 átomos de carbono. Estos compuestos poseen el mismo origen que los terpenoles, pero con un grado de polimerización más elevado. Pueden encontrarse en concentraciones entre 15 – 2000 $\mu\text{g Kg}^{-1}$. Su concentración depende de la variedad de uva, del clima, del suelo, entre otros. Estos compuestos están localizados en las partes sólidas de la baya, principalmente en los hollejos (RAZUNGLE & BAYONOVE, 2000). Dentro de estos compuestos pueden destacarse la β -ionona que aporta aromas a violeta y la β -damascenona que aporta notas afrutadas.

Las ***pirazinas*** son heterociclos nitrogenados presentes en la uva que proceden del metabolismo de las proteínas. Son las responsables del aroma típico de la variedad Cabernet Sauvignon, aunque también aparecen en otras variedades como Merlot, Pinot Noir, Gewüztraminer, Chardonnay y Riesling, entre otras. Su presencia en la uva depende de la maduración, del clima y de la exposición al sol. Los precursores de estos compuestos son los aminoácidos leucina, isoleucina, valina y glioxal. De las pirazinas presentes en las uvas, se han identificado principalmente tres: la 2-metoxi-3-isobutil-pirazina (olor típico a pimienta verde), la 2-metoxi-3-secbutil-pirazina y la 2-metoxi-3-isopropil pirazina (ambos aportan notas verdes), todas con umbrales de percepción olfativa del orden de 1 – 2 ng L^{-1} (BAYONOVE, 1975).

Entre los **compuestos bencénicos**, los ácidos fenólicos (cafeico, *p*-cumárico y ferúlico) derivados del ácido shikímico, por si mismo no aportan olores, sin embargo, a través de diversas reacciones (oxidación, reducción, hidrólisis, etc.), pueden transformarse en especies fenólicas volátiles, tales como benzaldehído, alcohol bencílico, 2-feniletanol, 4-vinilguaiacol y vainillina, que confieren notas aromáticas variables que vienen a menudo marcadas por notas de ahumado, de bosque, cuero y pimienta (FLANZY, 2000). Los fenoles volátiles han sido identificados en la mayoría de las variedades de uva en concentraciones suficientes para ser percibidos. Estos metabolitos secundarios formados en la uva a partir del ácido shikímico, están constituidos por un anillo aromático sustituido por cadenas carbonatadas de uno a cuatro átomos de carbono, siendo muy interesantes desde el punto de vista sensorial porque presentan umbrales de percepción muy bajos y propiedades sensoriales muy peculiares, aunque en concentraciones altas pueden generar aromas químicos y farmacéuticos desagradables (FLANZY, 2000).

Los **alcoholes y aldehídos C₆** proceden de los ácidos grasos de la uva, son los responsables de la nota aromática herbácea y a “raspón”, y se forman, en mayor concentración, durante las operaciones prefermentativas (JOSLIN & OUGH, 1978). Se localizan principalmente en el hollejo y en menor proporción en la pulpa. Durante la maduración de la baya los ácidos grasos disminuyen, sobre todo el ácido linoleico, de ahí la baja concentración de compuestos C₆ en las vendimias maduras. La presencia de mayor o menor cantidad de ácidos grasos en la uva no viene condicionada tanto por la variedad, sino por aquellas condiciones de suelo, clima y prácticas culturales que pueden influir en la maduración (RIBÉREAU-GAYON et al., 2000).

Los **precursores glicosilados** son compuestos formados por la unión de azúcares a compuestos volátiles de distinta naturaleza (agliconas), los cuales pueden separarse por hidrólisis ácida o enzimática. Todos los compuestos característicos del aroma varietal, citados anteriormente, pueden encontrarse en la uva en forma de glicósidos, por lo que la naturaleza de las agliconas es muy variada: terpenoles,

derivados del ácido shikímico, alcoholes alifáticos, C₁₃-norisoprenoides, etc. En la uva estos diferentes tipos de glicósidos pueden encontrarse unidos a una molécula de azúcar llamados β -D-glucopiranosidos, o a dos moléculas de azúcar que serán α -L-ramnopiranosil-(1,6)-D-glucopiranosidos; α -L-arabinofuranosil-(1-6)-D-glucopiranosidos y β -D-apiofuranosil-(1-6)-D-glucopiranosidos (WILLIAMS et al., 1982; VOIRON et al., 1990).

Compuestos fenólicos

Los polifenoles son constituyentes fundamentales del mundo vegetal. Se encuentran en todos los órganos de las plantas, desde las raíces a los frutos, en variadas formas de estructuras químicas. En la uva, los fenoles juegan un papel importante en la calidad del vino ya que influyen directa o indirectamente en las características sensoriales de los mismos, siendo en gran parte los responsables de su estructura, su color y de sus propiedades sensoriales.

El estudio de los compuestos fenólicos de la uva ha sido una vieja preocupación de los investigadores. Sin embargo, en los últimos años, los polifenoles de los vinos han suscitado un creciente interés debido a sus propiedades antioxidantes y sus potenciales efectos sobre la salud humana. Los compuestos fenólicos se clasifican en no flavonoides y flavonoides teniendo cada variedad una composición polifenólica determinada, la cual se encuentra fuertemente condicionada por factores agronómicos y ambientales (CARBONNEAU et al., 1978; CHEYNIER et al., 1998).

Compuestos fenólicos no flavonoides

Los compuestos fenólicos no flavonoides están divididos en dos grandes grupos, los ácidos fenólicos, que a su vez se subdividen en ácidos hidroxicinámicos y ácidos benzoicos, y los estilbenos.

Los **ácidos hidroxicinámicos** se encuentran principalmente en forma de ésteres del ácido tartárico. Los más importantes son los ácidos cafeico, ferúlico y *p*-cumárico que en la uva se encuentran en las vacuolas de las células del hollejo y de la pulpa. Las proporciones son más elevadas en el hollejo que en la pulpa según la variedad. Su concentración disminuye durante el desarrollo de la baya y se estabiliza en la madurez (ROMEYER et al., 1983).

Entre los **ácidos benzoicos** de la uva se encuentra principalmente el ácido gálico bajo forma de éster de flavanol (galocatequinas, epigallocatequinas). El ácido gálico posee importante actividad antioxidante, antimutagénica y hepatoprotectora (LEIGHTON & URQUIAGA, 1999).

La familia de los compuestos fenólicos tipo **estilbenos** forman parte de las fitoalexinas, sustancias sintetizadas por las plantas en respuesta a restricciones o estrés de diversas índoles, como por ejemplo la respuesta al ataque de bacterias y hongos. En las uvas, destaca el resveratrol (3,5,4'-trihidroxiestilbeno) bajo las formas *trans*- y de su derivado glucosilado, el *trans* piceido (CHEYNIER et al., 1998), hallándose exclusivamente en los hollejos (no en las pepitas) en concentraciones del orden de 20 µg de peso seco; aunque esta concentración varía de acuerdo con las variedades.

Compuestos fenólicos flavonoides

Entre los flavonoides encontramos las antocianinas que dan el color a los vinos tintos, los flavan-3-oles que son los principales responsables de la astringencia, de la estructura y del color de los vinos, y los flavonoles que parecen contribuir al gusto amargo y a las características cromáticas de los vinos (GAWEL, 1998).

Las **antocianinas** pertenecientes al complejo grupo de compuestos fenólicos solubles (PRIOR et al., 1998), son los compuestos que aportan los colores azul, rojo y violeta a los frutos, flores y hojas. Son sintetizados durante el envero acumulándose en los hollejos y en las vacuolas de las tres o cuatro primeras capas celulares

hipodérmicas de las bayas, siendo también encontradas en el seno de la pulpa de las variedades tintoreras (CASTILLO-MUÑOZ et al., 2009). Las antocianinas del género *Vitis* son la cianidina, peonidina, delphinidina, petunidina y malvidina. La concentración en las uvas depende del vigor de la viña y de la insolación de la planta y de los racimos (HERMOZÍN-GUTIÉRREZ & GARCÍA-ROMERO, 2004). En general, el contenido global está en el rango de 500 mg Kg⁻¹ hasta 3000 mg Kg⁻¹, variando los niveles de cada antocianina con la variedad.

Los antocianos (glucósidos de antocianidinas) de la uva también pueden formar aductos de colores rojo-anaranjado, denominados **piranoantocianos**. Estos compuestos son resultantes de las reacciones de condensación sobre los antocianos que se modifican para dar lugar a oligómeros más estables. Estos compuestos no están presentes en las uvas, sino que son formados a partir de la fermentación alcohólica y en las etapas subsiguientes de la elaboración del vino (BAKKER et al., 1997). La **vitisina A**, formada por la cicloadición de una molécula de ácido pirúvico sobre una molécula de antociano, y la **vitisina B**, formada por la cicloadición de una molécula de acetaldehído sobre una molécula de antociano son algunos de estos compuestos que poseen funciones importantes en la estabilización del color de los vinos (FRANCIA-ARICHA et al., 1997; FULCRAND et al., 1998).

Los **flavan-3-oles** aparecen en las semillas y en los hollejos de las bayas de la uva en la forma de monómeros o bajo formas más o menos polimerizadas, mediante enlaces interflavan, que constituyen los taninos condensados (o catéquicos), siendo sintetizados durante la primera etapa del crecimiento de la baya (crecimiento herbáceo) y su síntesis finaliza poco después del envero. Los principales flavan-3-oles monómeros de la uva son la (+)-catequina y su isómero la (-)-epicatequina. Este último puede ser encontrado bajo la forma de éster gálico (3-galato de epicatequina). Los taninos tienen un papel importante tanto en el plano organoléptico como nutricional, fisiológico y farmacológico. Así su capacidad de formar complejos con las proteínas es

el origen de sus múltiples propiedades, entre ellas generar la sensación astringente de los vinos (BATE-SMITH, 1954).

Los **flavonoles** están presentes únicamente en el hollejo de uvas tintas y blancas bajo la forma de glicósidos (CASTILLO-MUÑOZ et al., 2007). Las concentraciones en ambos tipos de uva son muy similares, pero su composición es muy diferente (HERMOSÍN-GUTIÉRREZ et al., 2011). Entre los principales flavonoles de la baya de uva, los derivados del quercetol (quercetina) son siempre predominantes, en cuanto que los del miricetol (miricetina) y los glucósidos del isoramnetol (isoramnetina) parecen ser específicos de las variedades tintas (SOUQUET et al., 1996). Una propiedad importante de los flavonoles es su capacidad para actuar como fuertes copigmentos formando complejos con los antocianos, favoreciendo la disolución y la retención de éstos en el vino, lo que se traduce en un aumento del color (BOULTON, 2001).

Por último, los compuestos pertenecientes a la familia de los **flavanonoles y flavonas** han sido identificados en el hollejo de las uvas blancas. La astilbina (3-ramnósido de dihidroquercetina) y la engeletina (3-ramnósido de dihidrokaempferol) son los principales, siendo las concentraciones totales del orden de 9 mg Kg⁻¹ de materia fresca para la astilbina y 0,6 mg Kg⁻¹ de materia fresca para la engeletina, representando un 5 % de los compuestos fenólicos totales del hollejo de la uva (FLANZY, 2000).

2.1.4. Potencial de los hollejos como subproductos de la industria vitivinícola

Como hemos visto, los hollejos son una matriz muy compleja debido a la gran cantidad de compuestos de diversa naturaleza y estructura que podemos encontrar en ellos. Sin embargo, a pesar de las diferentes operaciones de procesamiento de la uva con el objetivo de extraer la mayor cantidad posible de sustancias aromáticas y de color, los hollejos de las uvas no están totalmente agotados. De hecho, los hollejos que componen el orujo todavía tienen una cantidad considerable de sustancias

bioactivas restantes, como por ejemplo, compuestos antioxidantes, pigmentos, vitaminas y compuestos del aroma (LAFKA et al., 2007; RUBERTO et al., 2008; CASAS et al., 2010).

Los compuestos fenólicos y otros antioxidantes encontrados en los hollejos de los orujos de las uvas pueden ser beneficiosos para la salud humana, actuando contra las enfermedades crónicas y degenerativas (HEINONEN et al., 1998), debido a las actividades anticancerígenas, antiinflamatorias y antimicrobianas que poseen (HARBORNE & WILLIAMS, 2000; WOLLGAST & ANKLAM, 2000; RODRIGUEZ-RODRIGUEZ et al., 2012).

Por otra parte, la actividad de estos compuestos como antioxidantes de los lípidos de alimentos es bien conocida. La adición de antioxidantes es un método utilizado para aumentar la vida útil de los alimentos que contienen principalmente aceites y grasas (SPIGNO & FAVERI, 2007; TSENG & ZHAO, 2013). Dado que los antioxidantes sintéticos tienen su uso restringido en los alimentos debido a los efectos toxicológicos sobre las distintas especies y el sospechoso potencial cancerígeno, la búsqueda de antioxidantes naturales más seguros, sobre todo de origen vegetal, ha aumentado considerablemente en los últimos años (POKORNY et al., 2001).

Por otro lado, algunas investigaciones han demostrado que muchos residuos orgánicos biodegradables pueden ser compostados de una manera conveniente con el fin de obtener de ellos un beneficio económico. El compostaje de los orujos es una forma simple y eficiente de transformación de los residuos agroindustriales en productos adecuados para el uso como enmiendas del suelo o para producción de abonos orgánicos (BERTRÁN et al., 2004; MOLDES et al., 2007). Algunos estudios también han sugerido el carácter represivo del compost de los residuos de la industria del vino contra fitopatógenos del suelo (TRILLAS et al., 2006; SEGARRA et al., 2007; BORRERO et al., 2009). Asimismo, el compostaje de los orujos de la uva puede sustituir parcialmente los sustratos, como la turba, en la producción de plántulas de

diversas hortalizas, como el tomate, la lechuga, el pimiento, etc. (CARMONA et al., 2012). Igualmente, el orujo de la uva también puede ser reciclado y reutilizado como sustrato para la producción de pululano, un polisacárido polimérico de alto valor añadido, producido a partir de almidón por el hongo *Aureobasidium pullulans* (ARVANITTOYANNIS et al., 2006b).

En la actualidad, los orujos de las uvas también son considerados como una fuente muy abundante y relativamente barata para la producción de adhesivos y resinas utilizados en maderas (PING et al., 2012). Los taninos condensados retenidos en la matriz de los orujos no solo son utilizados con éxito en la sustitución del fenol para la producción de resinas (fenol-formaldehído; resorcinol-formaldehído; fenol-resorcinol-formaldehído), sino que también en la preparación de adhesivos de madera (taninos condensados-formaldehído) utilizados en el pegado interno y externo de productos como tableros de partícula y contrachapado (PING et al., 2011 y 2012).

Por otra parte, el orujo de la uva puede ser potencialmente utilizado como fuente de energía renovable. En ese sentido, Cáceres et al., (2012) evaluaron la obtención de electricidad a través de la producción de biogás a partir de un modelo termodinámico de digestión anaeróbica del orujo acoplado a un sistema de micro-turbinas. Los resultados apuntan que una bodega puede cubrir hasta un 45 % de sus necesidades energéticas durante los procesos de vinificación a partir de la reutilización de los orujos de la uva que ella mismo produce, disminuyendo así los costes de vinificación.

De ésta forma, los orujos de la uva presentan una gran capacidad de reutilización y una rica fuente de diversos compuestos con alto valor añadido, que pueden ser utilizados en la industria agroalimentaria, para la fabricación de suplementos dietéticos, en la agricultura, para la fabricación de fertilizantes y biocombustibles, en la industria farmacéutica, para la fabricación de fitoquímicos, entre otros. (ALONSO et al., 2002; NEGRO et al., 2003; GONZÁLEZ-PARAMÁS et al., 2004; ANASTASIADI et al., 2012; CÁCERES et al., 2012).

Recientemente, algunos estudios se han centrado en la utilización de los hollejos procedentes de los residuos de la industria del vino y del mosto para mejorar las características químicas y sensoriales de los vinos. En este sentido, Pedroza et al., (2011; 2012 y 2013), evaluaron la posibilidad de utilización de los hollejos de orujos de uva como aditivos naturales para la producción de vino, indicando el potencial de liberación de los compuestos de color y de aroma. Los resultados indican que ésta técnica puede ser una herramienta útil para mejorar los parámetros de calidad no solo de los vinos, sino que también de otras bebidas. La reutilización de los orujos puede ser una técnica innovadora y sostenible, sin embargo, la optimización de las condiciones de uso todavía merece más investigaciones. Además, el uso de los hollejos del orujo de la uva todavía no está autorizado como una práctica enológica. Por lo tanto, su aprobación como aditivos en las vinificaciones necesita de una mayor investigación científica así como del interés político y cultural relacionado con las condiciones de uso.

No obstante, es necesario tener en cuenta dos aspectos, por un lado los orujos son productos altamente perecederos y debido a los enormes volúmenes de residuos de uva generados durante la temporada de vendimia, su utilización fresca es prácticamente inviable, por lo que requieren de un método adecuado de conservación y uso apropiado. Por otra parte, la recuperación de compuestos de interés a partir de los residuos de vinificación, estará condicionada por la naturaleza de los mismos. Así, aunque los polifenoles son altamente reactivos, debido a su carácter no volátil, su recuperación a partir de los residuos de la uva es relativamente más fácil que la recuperación de los compuestos volátiles. La volatilidad de los compuestos del aroma hace que su obtención en forma de extractos sea más costosa y compleja, además de que las condiciones de extracción podrían modificar profundamente su perfil volátil. En este sentido, el secado se presenta como una alternativa para el aprovechamiento del potencial aromático y de color de los residuos de vinificación, concentrado

principalmente en los hollejos. Además, posibilita la utilización de los residuos deshidratados fuera de la temporada de vendimia, rompiendo así la estacionalidad de su uso (de TORRES, et al., 2010).

2.1.5. Métodos de deshidratación de productos alimentarios

Una de las técnicas más antiguas de preservación de los alimentos utilizada por el hombre es la eliminación de la humedad de los mismos a través del proceso de deshidratación. En 1795 fue diseñada en Francia la primera máquina de deshidratar frutas y vegetales por medios no naturales. Sin embargo, es bien sabido que los grandes impulsos al desarrollo de la industria de los alimentos deshidratados ocurrieron durante las grandes guerras mundiales, en razón de la necesidad de alimentación de las tropas en los campos de batalla. A partir de allí, la deshidratación de alimentos pasó a ser estudiada e interpretada como una tecnología que posibilitó la obtención de productos con alta calidad y de excelente conservación (MELLONI, 2003).

Con relación a las frutas, la conservación se da a través de la reducción del contenido de agua hasta que la concentración de sólidos naturales sea lo suficientemente elevada como para disminuir la actividad del agua, inhibiendo el desarrollo de microorganismos y las reacciones bioquímicas de alteración. De este modo el producto tendrá una vida útil más larga, sin la necesidad de refrigeración (TRAVAGLINI, 1993). Por otro lado, los productos deshidratados poseen volumen y peso más pequeños que los productos naturales, lo que implica menores costes de acondicionamiento, almacenaje y transporte. En otros casos, la deshidratación presenta la ventaja adicional de poner al alcance del consumidor una mayor variedad de productos que pueden estar disponibles fuera de la época de cosecha, como es el caso de los frutos secos, un producto con alto valor añadido (PARK et al., 2002).

Sin embargo deshidratar los alimentos no resulta fácil, especialmente si se trata de aquellos que contienen gran cantidad de agua y que en su composición química

aparecen compuestos lábiles (compuestos orgánicos volátiles, responsables del aroma) y/o compuestos no volátiles (de tipo polifenólico, responsables del color, antioxidantes, vitaminas y nutrientes). La transformación o pérdida de dichos compuestos podría provocar el rechazo del alimento deshidratado por parte del consumidor. Por ello es necesario buscar técnicas de secado que respeten las propiedades sensoriales y nutritivas del alimento.

2.1.5.1. Secado por estufa

El secado en estufa u horno es el método de deshidratación más sencillo y el más barato de todos. En general, los hornos o estufas están equipados con un pequeño recinto en forma paralelepípedica de dos pisos (Figura 2.3). El aire de secado se calienta en un quemador del piso inferior y atraviesa por convección natural o forzada el segundo piso perforado en el cual se asienta el lecho de producto a ser deshidratado. Hoy en día es utilizado en la industria alimentaria para deshidratar productos como manzanas, lúpulo y forrajes verdes (MAUPOEY et al., 2001).

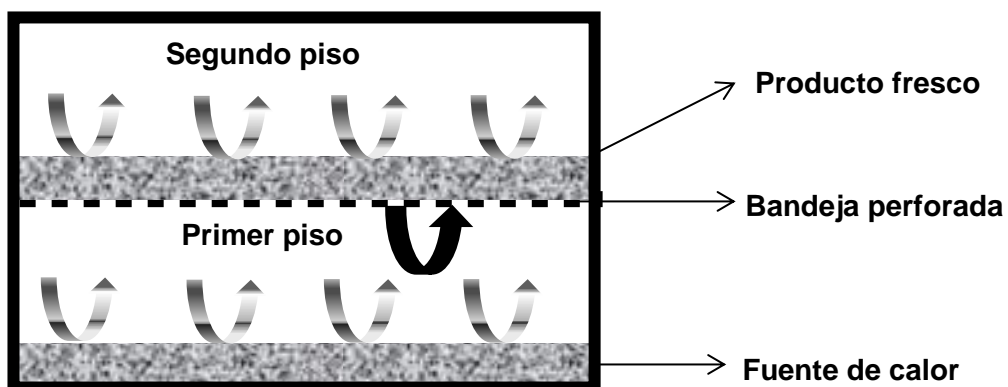


Figura 2.3. Esquema de un secador de estufa u horno.

2.1.5.2. Secado por liofilización

La liofilización es un método de secado en el que el agua de los alimentos se congela y seguidamente se sublima, es decir, se transforma en vapor sin pasar por

estado líquido, generalmente con ligero aporte de calor, en condiciones de presión muy baja. Es considerada como uno de los métodos de deshidratación que mejor conserva las características del alimento fresco (COHEN & YANG, 1995).

El agua pura puede existir en estado líquido, sólido y gaseoso dependiendo de los valores de presión y temperatura. El punto triple es un punto en el que coexisten los tres estados y sus condiciones son: $T = 0,0098 \text{ }^\circ\text{C}$ y $P = 0,64 \text{ KP}$ (4,8 mm de Hg). Si se aplica calor al agua en cualquier estado a presión constante su temperatura se eleva por lo que su posición en el diagrama de fases se irá desplazando horizontalmente. Si se cruza una de las líneas de separación de estado, se produce el cambio de estado (Figura 2.4).

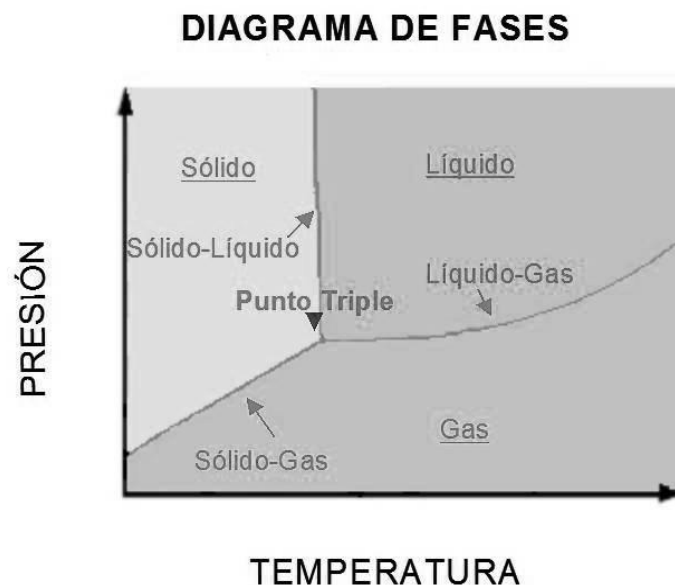


Figura 2.4. Diagrama de fases del agua.

El calor latente de sublimación es la energía necesaria para evaporar 1 Kg de agua en estado sólido. Para llevar a cabo la liofilización es necesario transmitir energía a la superficie en que tiene lugar la sublimación. Pero este calor ha de suministrarse a una velocidad tal que no provoque el aumento de la temperatura de la superficie de secado por encima del punto de congelación.

Este método de secado ha sido desarrollado para evitar la pérdida de componentes sápidos y aromáticos, ya que las condiciones utilizadas son baja presión y temperatura. El proceso de liofilización consta de dos etapas, ambas igual de importantes: congelación y secado por sublimación.

La **congelación** es el paso previo en el secado por liofilización. Tiene por objetivo transformar las disoluciones acuosas de los alimentos en una mezcla de dos fases: una constituida por cristales de hielo y otra por la solución concentrada de solutos. La congelación puede hacerse en un congelador o en el mismo liofilizador. El tipo y velocidad de congelación tiene una gran repercusión en la estructura final del producto ya que debe garantizar una adecuada difusión del vapor de agua; así los alimentos sólidos se suelen congelar de forma rápida ya que se formaran cristales pequeños que difundirán por la estructura que ya posee el alimento (ej. carne). Por el contrario los alimentos líquidos como zumos y sopas se deben congelar de forma lenta para favorecer la formación de un gran bloque de agua congelada por un lado y la concentración de los solutos por otro.

El **secado por sublimación** a su vez se divide en dos etapas: deshidratación primaria y deshidratación secundaria.

- ✓ La deshidratación primaria es el momento en el que se elimina mayor contenido de agua al existir menor resistencia por parte de las moléculas, ya que la afinidad por la matriz es débil, perdiéndose volumen en el sólido formado por cristales de hielo. Como es lógico esta etapa va a depender también del tipo de alimento, así los productos compactos tienen una conductividad térmica elevada, pero su estructura dificulta la difusión de vapor. En el caso de los porosos ocurrirá lo contrario.
- ✓ La deshidratación secundaria, tras eliminar el mayor contenido de agua en la fase primaria, en esta segunda etapa de secado por sublimación existe un margen mayor de temperatura de trabajo (sin que el aumento de temperatura provoque, en ningún caso un estado de colapso del material), ya que la difusividad de los aromas

disminuye sensiblemente cuando la humedad es pequeña, aunque siempre dependerá de las características del alimento. Por la misma razón es necesario aplicar mayor energía ya que en esta etapa el agua se encuentra interaccionando más fuertemente con la matriz.

De esta manera es posible obtener un alimento seco con una humedad entre un 2 y un 8 %. Los productos finales son muy higroscópicos por lo que antes de abrir la cámara es importante introducir un gas inerte para romper el vacío.

En general, los liofilizadores están compuestos por cuatro elementos básicos que son descritos a continuación e ilustrados en la Figura 2.5:

- ✓ La **cámara de vacío**, es el aparato donde se introduce el producto a ser liofilizado. Han de ser bastante robustas pues tendrán que soportar grandes diferencias de presión.
- ✓ La **bomba de vacío**, es la que establece el gradiente de presión necesario para la sublimación y elimina los gases no condensables así como el vapor de agua residual.
- ✓ El **condensador**, es necesario ya que las bombas de vacío no tienen capacidad para evacuar grandes cantidades de gases. Este elemento es muy importante ya que sin él sería muy difícil mantener las condiciones de bajas presiones, lo que podría provocar la fusión del hielo.
- ✓ El **sistema de calentamiento**, aplica la energía necesaria para que el agua congelada sublime. Al trabajar a bajas presiones este aporte de calor será bajo, y permite acelerar el proceso. El mecanismo de calentamiento de la muestra da lugar al tipo de liofilizador.

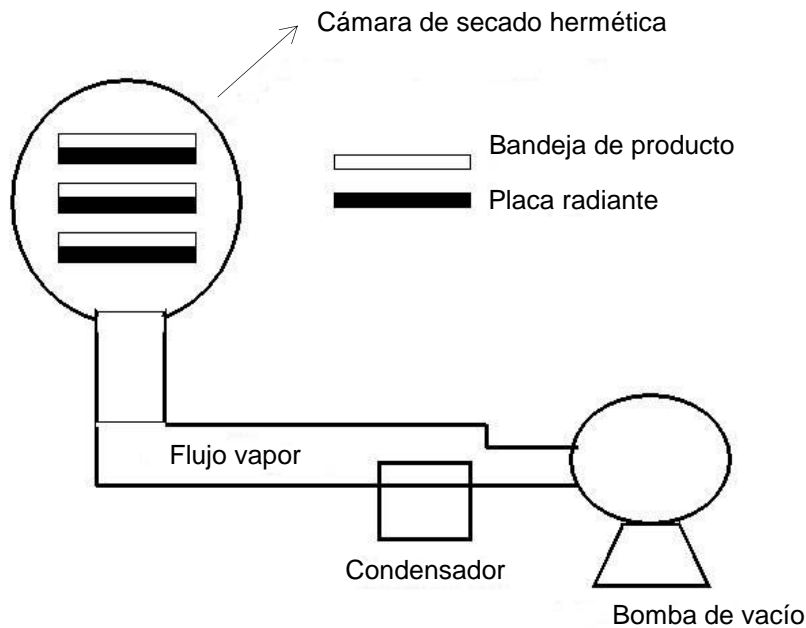


Figura 2.5. Esquema de un liofilizador (BARBOSA-CÁNOBAS & VEGA-MERCADO, 2000).

Los liofilizadores pueden ser de tres tipos, tales como: liofilizadores de contacto, liofilizadores acelerados y liofilizadores de microondas.

Los **liofilizadores de contacto** aportan calor por conducción. Constan de unas bandejas que están sobre unas placas huecas que son calentadas por agua caliente o por resistencias incorporadas. El producto puede congelarse en estas mismas bandejas haciendo circular un refrigerante. La velocidad de secado es lenta ya que el calor sólo se aplica en una de las caras de la superficie del alimento.

En los **liofilizadores acelerados** el calor puede ser aportado por conducción o por radiación. La diferencia fundamental con respecto a los demás es que para mejorar la transmisión de calor y la extracción de humedad se insertan láminas de metal ondulado entre los productos alimenticios y las placas calientes. Los fragmentos del alimento deben tener la máxima superficie plana posible en contacto con las placas a fin de obtener una buena transmisión de calor. Para condensar el vapor de agua se utiliza también un condensador refrigerado.

A los **liofilizadores de microondas** se les atribuye un gran potencial, aunque hasta el momento no se fabrican a escala industrial por la dificultad de control que presentan. La razón es que tanto el hielo como el agua tienen un factor de pérdida elevado (capacidad de absorber energía cuando se encuentran en el seno de un campo de microondas), aumentando éste con la temperatura, por ello existe el riesgo de que a medida que el núcleo de hielo se calienta absorba más energía pudiendo llegar a fundirse. Por otro lado si existiese una pequeña cantidad de agua no congelada, que presentaría un factor de pérdida incluso mayor que el hielo, ocasionaría fusión del hielo por efecto dominó (ARSEN & MA, 1990; SOCHANSKI et al., 1990).

Los alimentos deshidratados por liofilización son ligeros, de estructura porosa y conservan el tamaño y la forma de los originales. En general con la liofilización se evitan muchos de los inconvenientes de los métodos convencionales de deshidratación como es la retracción, el movimiento de solutos, que en este caso es muy limitado, así como el daño por calor.

Sin embargo, a pesar de los beneficios que aporta la liofilización esta técnica ha sido siempre considerada como un método de deshidratación muy costoso desde el punto de vista energético. Como se ha visto el proceso de liofilización consta de cuatro operaciones principales, congelado, vacío, sublimación y condensación. La Figura 2.6 muestra cual es el porcentaje del coste energético que supone cada una de ellas en el total consumido (RATI, 2001).

Habitualmente se intenta evitar la utilización de la congelación como método para conservar los alimentos pues se considera una técnica muy costosa, reemplazándolo por la utilización de sustancias químicas. En el proceso de liofilización no sólo la congelación es una operación costosa, ya que tanto el vacío, la condensación como la sublimación provocan un coste energético que se traduce en un gran gasto económico en el proceso. Esto indica que a pesar de que la liofilización es una técnica que ofrece productos de alta calidad, el beneficio de los productos

deshidratados debe justificar este gasto energético y por tanto un coste tan elevado (LORENTZEN, 1979).

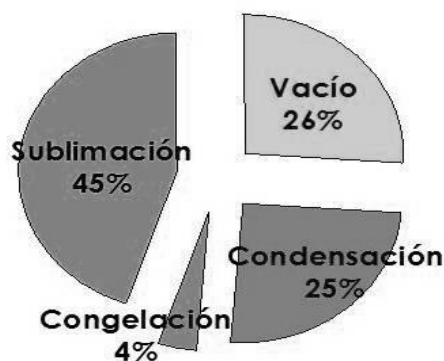


Figura 2.6. Coste energético del proceso de liofilización

Teniendo en cuenta todo lo anteriormente descrito, el propósito de nuestro estudio fue evaluar, en primer lugar, el impacto de la liofilización en el potencial aromático y polifenólico de los hollejos de uvas blancas obtenidos a partir de subproductos de vinificación (orujo), con el fin de obtener un producto estable y de calidad. Este método de secado se seleccionó después de llevar a cabo un estudio preliminar sobre el efecto de diferentes procesos de deshidratación (secado en horno a 30 °C, secado en horno a 45 °C y liofilización) en la calidad del aroma de hollejos de uvas blancas de la variedad “Moscatel de Alejandría”, obtenidos tras la vinificación de dichas uvas. Posteriormente, los hollejos deshidratados fueron utilizados para mejorar e incrementar las características químicas y sensoriales de un vino blanco obtenido a partir de una variedad de uva neutra “Airén”, mediante maceración prefermentativa.

2.2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.2.1. Muestras

2.2.1.1. Hollejos

Los hollejos empleados para el estudio preliminar se obtuvieron a partir de uvas blancas de la variedad *Vitis vinifera* “Moscatel de Alejandría”, mediante separación manual. Una vez obtenidos se separaron en cuatro lotes, uno de ellos fue almacenado en fresco a -5 °C, mientras que los restantes se sometieron a los distintos métodos de secado estudiados: secado en horno a 30 °C durante 36 horas, secado en horno a 45°C durante 24 horas y liofilización durante 24 horas (congelación previa a -78°C; vacío 2.4×10^{-2} mB; temperatura del condensador $-49 \pm 2^\circ\text{C}$). Todos los tratamientos se realizaron por triplicado. Las condiciones de secado fueron previamente seleccionadas con el fin de conseguir en todos los casos un contenido de humedad inferior al 10 % en los hollejos deshidratados en el menor tiempo posible. El contenido inicial de humedad de los hollejos frescos fue del 74,0 % en peso seco, mientras que en los hollejos secados en estufa y liofilizados se alcanzó una humedad del 9,5 % en peso seco.

Por otro lado, los hollejos empleados para llevar a cabo la maceración prefermentativa de mosto con hollejos deshidratados, como técnica alternativa para incrementar la calidad de vinos elaborados a partir de variedades de uva neutras, se obtuvieron de los orujos (mezcla de hollejos y pepitas) generados durante la vinificación de uvas de la variedad “Moscatel de Alejandría” en la bodega experimental de la Universidad de Castilla-La Mancha, Ciudad Real, España. Las pepitas fueron separadas manualmente de los hollejos inmediatamente después de su recepción y se almacenaron a -78 °C hasta su deshidratación. El contenido inicial de humedad de los hollejos frescos fue del 73,5 % en peso seco, mientras que en los hollejos liofilizados se alcanzó un humedad del 9,5 % en peso seco.

La determinación de la humedad se realizó, por duplicado, mediante secado en estufa a 105 °C.

2.2.1.2. Ensayos de vinificación

Los vinos blancos fueron obtenidos a partir de uvas *Vitis vinifera* variedad "Airén" (principal variedad de uva blanca en la región de Castilla-La Mancha, España, considerada neutra por su escaso potencial aromático), con y sin maceración prefermentativa con hollejos Moscatel.

Los ensayos se realizaron en tres matraces de tres litros. En uno de ellos se fermentó solo mosto Airén, mientras que en los dos restantes se fermentó mosto Airén tras mantenerse en maceración con un 25 % de hollejos Moscatel frescos (500 g) y liofilizados (145 g), respectivamente. La maceración prefermentativa se realizó durante 15 horas a 18 °C (SÁNCHEZ-PALOMO et al., 2007), posteriormente los hollejos fueron retirados y todas las muestras se inocularon con cepas de levaduras *Saccharomyces cerevisiae* (CECT nº 10835) para el buen desarrollo de la fermentación alcohólica, llevada a cabo a -18 °C. Todos los ensayos se realizaron por duplicado. Tras completar la fermentación alcohólica, los vinos fueron centrifugados a 5000 rpm, a 8 °C, durante 15 minutos y almacenados bajo refrigeración hasta que fueron analizados.

2.2.2. Análisis convencionales de los vinos

Los parámetros enológicos convencionales: pH, acidez total, acidez volátil, SO₂ libre, SO₂ total y grado alcohólico fueron determinados en todas las muestras de vinos consideradas. Dichas determinaciones se llevaron a cabo mediante el empleo de los métodos oficiales de la Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV).

La medida de pH en los vinos fue obtenida con un pH-metro *Crisol modelo 2001*, previamente calibrado con soluciones tampón de pH 7,02 y 4,00.

La acidez total es la medida de la concentración de protones del medio mediante volumetría de neutralización con Na OH 0,1 N hasta pH = 7, monitorizando

el punto de equivalencia con un pH-metro *Crisol modelo 2001*. Los resultados se expresaron en g de ácido tartárico por L de vino.

La determinación de la acidez volátil se realizó mediante la separación de los ácidos volátiles por arrastre de vapor de agua, evitando la presencia de gas carbónico en el destilado, y posterior valoración del destilado con Na OH 0,1 N, empleando fenolftaleína como indicador. La acidez del anhídrido sulfuroso libre y combinado arrastrados con el destilado debe ser restada, para lo cual se siguió la norma de *JAULMES*, en la que se considera como completa la influencia del SO₂ libre y sólo la mitad del combinado.

El grado alcohólico se analizó según el método aerométrico de medida de la densidad del destilado hidroalcohólico procedente de alícuotas de 200 mL de vino previamente neutralizado. El grado alcohólico se expresó como % de etanol (v/v).

Para el análisis del SO₂ libre y total se utilizó el aparato *ENO 20*, el cual mide ambos parámetros de forma automática. Para el análisis del SO₂ libre se introdujeron en un matraz 20 mL de vino al cual se le añadieron 2 mL de H₂SO₄ a 1/3 (la valoración debe realizarse en medio ácido) y se accionó el aparato. Para el análisis del SO₂ total se adicionaron 2 mL de sosa 5 N (este reactivo libera el sulfuroso ligado) a 20 mL de vino y se esperaron 5 minutos. Posteriormente se añadieron 4 mL de H₂SO₄ a 1/3 (para neutralizar y dejar el medio ácido para la valoración) y se realizó la medida.

2.2.3. Análisis de los compuestos volátiles

Compuestos volátiles mayoritarios

Para el análisis de los compuestos volátiles mayoritarios del vino, las muestras se centrifugaron durante 30 min a 1200 rpm, bajo 4 °C de temperatura, y a continuación se pasaron a través de lana de vidrio. A 1,5 mL de muestra de vino se le añadió 90 µL de 2-pentanol como patrón interno (1 g L⁻¹). Las muestras se inyectaron directamente, en modo Split, en un cromatógrafo de gases *Hewlett Packard modelo 5890N* serie II, acoplado a un detector de ionización de llama (FID). Para llevar a cabo

la separación cromatográfica, se utilizó una columna capilar CP-Wax 57 CB Chrompack (50 m × 0,25 mm d.i. × 0,25 μm de espesor de fase estacionaria). La temperatura del inyector y la del detector se mantuvo a 220 °C y 250 °C, respectivamente. La temperatura del horno fue de 40 °C durante 10 min a partir de la cual se aumentó a una velocidad de 4 °C min⁻¹ hasta los 130 °C. El gas portador fue He con un flujo de 1 mL min⁻¹. Los compuestos analizados fueron acetato de etilo, acetaldehído, metanol, 1-propanol, isobutanol, 2-metil-1-butanol y 3-metil-1-butanol. La identificación se llevó a cabo comparando los tiempos de retención con los de patrones comerciales. La cuantificación se llevó a cabo mediante el empleo de curvas de calibrado de los estándares puros.

Compuestos volátiles minoritarios

Previamente a su análisis por cromatografía de gases, los compuestos volátiles de los hollejos de las uvas se extrajeron mediante extracción-destilación simultáneas (SDE), conforme a la metodología descrita por GODEFROOT et al., (1981). En un matraz de 100 mL, se adicionaron 5 g de hollejos frescos ó secos, 40 mL de agua Milli-Q y 10 μL de 4-nonanol (0,5 g L⁻¹) como patrón interno. La extracción se llevó a cabo a presión atmosférica durante dos horas, utilizando diclorometano como disolvente. Los extractos obtenidos fueron congelados a -18 °C hasta su análisis.

Por otro lado, los compuestos volátiles minoritarios de los vinos fueron aislados mediante la técnica de extracción en fase sólida (SPE). Una alícuota de 100 mL de vino, junto con 40 μL de 4-nonanol (1 g L⁻¹) como patrón interno, fueron fraccionados en cartuchos de estireno divinilbenceno *Licrolut EN Merck* de 0,5 g de fase, previamente acondicionados con 10 mL de diclorometano, seguidos de 5 mL de metanol y 10 mL de una solución hidroalcohólica (10 % v/v).

Posteriormente, se pasaron 50 mL de agua Mili-Q para eliminar los compuestos hidrofílicos unidos a los puntos activos de la resina que pudieran interferir en la

identificación de los compuestos. Finalmente, los compuestos volátiles fueron eluidos con 10 mL de diclorometano. La elución de las muestras a través de los cartuchos se realizó a un flujo de 2 mL min⁻¹. Los extractos orgánicos fueron congelados y filtrados a través de sulfato sódico con el fin de eliminar cualquier resto de agua y posteriormente concentrados bajo flujo de nitrógeno hasta un volumen final de unos 200 µL para su posterior análisis cromatográfico.

El análisis cromatográfico de ambos extractos (hollejos y vinos) se realizó en un cromatógrafo de gases modelo 6890N acoplado a un detector de masas modelo 5973 inert, ambos de la marca *Agilent Technologies* y equipado con una columna capilar BP-21 (60 m × 0,25 mm d.i.; 0,25 µm de espesor de fase estacionaria). El volumen de inyección fue 1 µL y se realizó en modo splitless (0,5 min). Las temperaturas del inyector y de la línea de transferencia se mantuvieron a 250 y 280°C, respectivamente. El programa de temperatura del horno comenzó a 70 °C durante 5 min para después, mediante una rampa de temperatura de 1 °C min⁻¹, alcanzar la temperatura de 95 °C durante 10 minutos. Seguidamente, se aumentó la temperatura a una velocidad de 2 °C min⁻¹ hasta alcanzar 200 °C, que se mantuvieron durante 40 min. Como gas portador se utilizó He a un flujo de 1 mL min⁻¹.

La ionización de los compuestos se realizó en modo de impacto electrónico (IE) con una energía de 70 eV. La temperatura de la fuente fue de 178 °C, la velocidad de barrido fue de 1scan seg⁻¹ y el rango de adquisición de masas fue de 40 a 450 amu.

La identificación se basó en la comparación de los tiempos de retención y los espectro de masas obtenidos de los patrones comerciales y de las librerías *NBS75 K* y *Wiley A*. La cuantificación se llevó a cabo mediante la utilización de factores de respuesta obtenidos mediante la inyección del patrón comercial. Para aquellos compuestos de los que no se poseía de patrones comerciales, la cuantificación se llevó a cabo aplicando el factor de respuesta de aquellos patrones de estructura química semejante.

2.2.4. Parámetros del color e índice de polifenoles totales

Las características cromáticas de las muestras de vino definidas en el espacio CIELAB se obtuvieron por medio de las medidas de absorbancia a 450, 520, 570 y 630 nm, después de ajustar los valores de pH de los vinos a 3,6. Los cálculos necesarios para obtener los valores de los parámetros cromáticos L*, a*, b*, C* y H* se llevaron a cabo utilizando una aplicación informática específica para tal efecto (AYALA et al., 2001).

El contenido de polifenoles totales se determinó mediante el método de Folin-Ciocalteu. El método está basado en la oxidación que los compuestos fenólicos sufren con el reactivo de Folin y en la medida espectrofotométrica a 765 nm de la coloración azul debida a los óxidos de wolframio y molibdeno resultantes de la reducción de dicho reactivo. La absorbancia obtenida para la muestra se interpoló en la recta de calibrado realizada previamente con ácido gálico y los resultados se expresaron en mg de fenoles equivalentes al ácido gálico por litro.

2.2.5. Análisis cromatográfico de los compuestos fenólicos

Extracción de los polifenoles de los hollejos de las uvas

Una alícuota de 20 g de hollejos Moscatel frescos o liofilizados fue mezclada con 150 mL de una solución extractora compuesta por CH₃OH/H₂O/HCOOH (50:48.5:1.5). La mezcla fue triturada en una *Moulinex*[®] durante 2 minutos y se dejó reposar durante 20 minutos. Después, la mezcla fue centrifugada a 2500 g durante 15 minutos a una temperatura de 5 °C y los sobrenadantes fueron recogidos y almacenados a -18 °C hasta su análisis.

Determinación de la composición fenólica de hollejos y vinos por HPLC-DAD-ESI-MSⁿ

La identificación, separación y cuantificación de los compuestos fenólicos de hollejos y vinos se llevó a cabo mediante el análisis de los extractos por cromatografía líquida de alta resolución utilizando un cromatógrafo HPLC modelo *Agilent 1100*, equipado con un detector de fotodiodos alineados - DAD (G1315B) y acoplado a un espectrómetro de masas con trampa iónica (G2445C) VL con sistema de ionización por electroespray (ESI-MSⁿ). Los datos de los espectros fueron procesados a través del software *Agilent ChemStation* (B.01.03) y el programa del *Tap Agilent LC/MS* versión 5.3.

Como fase estacionaria se utilizó una columna cromatográfica de fase inversa *Rapid Resolution Agilent Zorbax Eclipse XDB-C18*, de 150 mm de longitud x 2,1 mm de diámetro interno, con 3,5 µm de tamaño de partícula, protegida por una columna guardia *Zorbax Eclipse XDB-C18* (12,5 mm x 2,1 mm; 5 µm de tamaño de partícula). La columna fue termostatzada a 40 °C.

El análisis de los compuestos fenólicos (flavonoles y ácidos hidroxicinámicos) se llevó a cabo mediante inyección directa en el caso de los vinos y, mediante inyección de los extractos, previamente obtenidos, en el caso de los hollejos. Los eluyentes utilizados se describen a continuación, pudiéndose observar el gradiente de elución en la Tabla 2.1:

Eluyente A: 3% de acetonitrilo + 88,5% de agua Mili-Q + 8,5% de ácido fórmico.

Eluyente B: 50% de acetonitrilo + 41,5% de agua Mili-Q + 8,5% de ácido fórmico.

Eluyente C: 90% de metanol + 1,5% de agua Mili-Q + 8,5% de ácido fórmico.

Tabla 2.1. Gradiente de elución utilizado en el método de análisis de flavonoles y ácidos hidroxicinámicos de extractos de hollejos y vinos.

Tiempo (min)	% Eluyente A	% Eluyente B	% Eluyente C	Flujo (mL min ⁻¹)
0	96,0	4,0	0	0,19
7,00	96,0	4,0	0	0,19
38,00	70,0	17,0	13,0	0,19

52,00	50,0	30,0	20,0	0,19
52,50	30,0	40,0	30,0	0,19
57,00	0	50,0	50,0	0,19
58,00	0	50,0	50,0	0,19
65,00	96,0	4,0	0	0,19

Cada eluyente se desgasificó por ultrasonidos durante 5 minutos, con el fin de eliminar posibles burbujas que pudieran interferir en el proceso cromatográfico de líquidos.

El volumen de inyección fue de 20 μL y el rango de longitudes de ondas para la detección fue de 200 – 600 nm.

Para el análisis cuantitativo se utilizaron diferentes rectas de calibrado de las sustancias patrón, que fueron obtenidas a partir de las disoluciones de concentraciones crecientes de los diferentes patrones.

La cuantificación de los flavonoles se realizó usando los cromatogramas obtenidos por el detector DAD a 360 nm de longitud de onda y empleando la curva de calibrado de los patrones. En el caso de los derivados de ácidos hidroxicinámicos, la cuantificación se realizó con rectas de calibrado de los patrones comerciales registrando la medida cromatográfica a 320 nm de longitud de onda.

La identificación final de los diferentes compuestos se basó en la comparación con las diferentes sustancias patrón, así como de los tiempos de retención, las características espectroscópicas en el UV – Vis y en algunos casos en los espectros de masas registrados.

2.2.6. Análisis sensorial descriptivo

Tanto el vino control como los vinos obtenidos por maceración prefermentativa del mosto con los hollejos frescos y liofilizados, fueron evaluados por un panel de expertos catadores con amplia trayectoria en el análisis sensorial. La evaluación se

llevó a cabo en una sala de análisis sensorial normalizada (ISO 8589, 1998), equipada con cabinas separadas. Las muestras se presentaron en copas de vino estandarizadas (ISO 3591, 1997) cubiertas con un vidrio de reloj para minimizar el escape de compuestos volátiles responsables del aroma. Los jueces evaluaron tanto las sensaciones olfativas como las gustativas, así como las sensaciones táctiles de las muestras utilizando una escala de 10 cm no estructurada para valorar la intensidad de cada atributo, donde el extremo izquierdo de la escala indicaba una intensidad nula del descriptor y el extremo derecho los valores máximos.

2.2.7. Análisis estadístico de los datos

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el paquete estadístico IBM SPSS versión 19 para Windows. El test de Student fue utilizado para evaluar las diferencias significativas entre los hollejos frescos, secados en estufa y liofilizados. El Student-Newman-Keuls fue aplicado a fin de encontrar diferencias significativas entre las diferentes muestras de vino.

2.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.3.1. Efecto del secado en la calidad del aroma de los hollejos Moscatel. Estudio preliminar

Con el fin de seleccionar un método de secado adecuado para la deshidratación de hollejos frescos de uvas blancas, se realizó un estudio preliminar sobre el efecto de diferentes métodos de secado en la calidad del aroma de hollejos Moscatel. Concretamente, los tratamientos estudiados fueron tres: secado en estufa a 30°C, secado en estufa a 45°C y liofilización. En la Tabla 2.2 se muestran los resultados obtenidos, con la media ($\mu\text{g kg}^{-1}$ de peso seco) y desviación estándar (DE) para cada compuesto volátil y tratamiento empleado. En la tabla también se observan los resultados del test de Student-Newman-Keuls para comparación de medias.

Tabla 2.2. Concentraciones de compuestos volátiles ($\mu\text{g Kg}^{-1}$) de los hollejos frescos y secados con los diferentes tratamientos estudiados.

Compuestos	Hollejos frescos	Liofilizados	Secados en horno a 45 °C	Secados en horno a 30 °C
	$\bar{X} \pm \text{SD}$	$\bar{X} \pm \text{SD}$	$\bar{X} \pm \text{SD}$	$\bar{X} \pm \text{SD}$
Hexanal	535.8 ^a ± 29.3	414.5 ^b ± 39.1	77.7 ^c ± 10.6	106.2 ^d ± 7.6
E-2-Hexenal	687.4 ^a ± 63.3	546.7 ^b ± 56.8	67.5 ^c ± 6.5	94.3 ^d ± 8.4
1-Hexanol	87.2 ^a ± 23.3	42.6 ^b ± 4.2	4.5 ^c ± 0.3	0.0 ^d ± 0.0
Furfural	0.0 ^a ± 0.0	5.7 ^b ± 0.8	227.7 ^c ± 28.5	202.0 ^c ± 14.6
5-Metilfurfural	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	6.3 ^b ± 0.9	4.1 ^c ± 0.6
Linalol	2959.7 ^a ± 461.5	3055.2 ^a ± 618.4	2185.2 ^a ± 300.0	2022.6 ^a ± 351.6
Hotrienol	592.5 ^a ± 150.9	616.4 ^a ± 2.3	528.7 ^a ± 107.8	539.6 ^a ± 109.5
α -Terpineol	595.8 ^a ± 23.7	569.4 ^a ± 45.9	549.2 ^a ± 64.1	502.2 ^a ± 57.5
Nerol	332.3 ^a ± 18.6	281.1 ^a ± 56.2	183.1 ^b ± 38.7	194.6 ^b ± 21.3
<i>trans</i> -Geraniol	1125.2 ^a ± 52.9	1056.3 ^a ± 189.6	599.5 ^b ± 96.0	558.4 ^b ± 77.4

Diferentes superíndices (a, b, c, d) en la misma fila indican diferencias estadísticas entre las muestras de acuerdo al test de Student-Newman-Keuls test (0,05)

Para realizar este primer estudio se seleccionaron 10 compuestos volátiles pertenecientes a tres familias químicas diferentes, alcoholes y aldehídos C₆, terpenos y compuestos furánicos. Los compuestos de 6 átomos de carbono y los terpenos fueron elegidos por su carácter varietal, mientras que los compuestos furánicos se seleccionaron debido a su relación con el proceso de deshidratación, ya que, su formación estará condicionada por el tratamiento de secado empleado, principalmente por la temperatura aplicada.

La cantidad de compuestos volátiles en los hollejos frescos decreció considerablemente durante el secado en horno a 45°C y a 30°C, con pérdidas del 35,9% y del 38,9 %, respectivamente. Sin embargo, en las muestras liofilizadas las pérdidas fueron mucho menores, del 4,7 %. Pérdidas similares de compuestos volátiles se han observado en variedades de uvas tintas, tales como Cabernet Sauvignon or Carmènère (de TORRES et al., 2010).

Con respecto a los compuestos terpénicos, no se detectaron pérdidas significativas en los hollejos liofilizados, sin embargo en las muestras secadas en horno, tanto a 45°C como a 30°C, se produjo una disminución en el contenido de nerol y geraniol. Por otro lado, las pérdidas de aldehídos y alcoholes de 6 átomos de carbono fueron muy importantes en las muestras secas, principalmente en las secadas en horno y, en menor medida, en las liofilizadas. Resultados semejantes se obtuvieron cuando hollejos de uvas tintas fueran secadas en horno y por liofilización (de TORRES et al., 2010).

Las muestras frescas no presentaron compuestos derivados del furano, sin embargo estos compuestos volátiles fueron detectados en los hollejos secos, mayoritariamente en los secados en horno. La liofilización sólo produjo un pequeño incremento de furfural, mientras que el secado en horno dio lugar a concentraciones de furfural superiores a 200 µg Kg⁻¹, además de aparecer pequeñas cantidades de 5-metilfurfural.

El importante incremento de compuestos furánicos durante el secado en horno, junto con la disminución de terpenos y alcoholes y aldehídos de 6 átomos de carbono, pone en evidencia el gran potencial de la liofilización para el secado de hollejos de uvas blancas.

2.3.2. Efecto de la liofilización en los componentes volátiles de hollejos Moscatel obtenidos a partir de subproductos de la vinificación

Con el fin de conocer el potencial real de la liofilización para la obtención de hollejos secos de calidad, se decidió realizar un estudio más amplio sobre el efecto de esta técnica de secado en los componentes volátiles y fenólicos de hollejos de uvas blancas. Además en este caso, las muestras frescas de partida se obtuvieron de los residuos obtenidos tras una vinificación en blanco, con el objetivo de intentar, además, aprovechar el gran volumen de subproductos que generan las bodegas.

La Tabla 2.3 muestra los compuestos volátiles identificados en hollejos Moscatel, obtenidos a partir de orujos, frescos y liofilizados. Se identificaron un total de 53 compuestos, incluyendo monoterpenos, sesquiterpenos, norisoprenoides, alcoholes y aldehídos de 6 átomos de carbono, compuestos alifáticos, bencénicos y furánicos. Al igual que en el estudio preliminar, la cantidad total de compuestos volátiles en los hollejos frescos decreció ligeramente durante la liofilización, con pérdidas del 5,5 %.

Como es común en la variedad Moscatel y aunque las muestras procedían de subproductos de vinificación, elevadas cantidades de compuestos terpénicos se encontraron en los hollejos frescos (RIBÉREAU-GAYON et al., 2000), los cuáles no se vieron prácticamente afectados por el proceso de deshidratación, al igual que los norisoprenoides. Además, se observó un incremento en el contenido de algunos de estos compuestos, concretamente ácido geránico, δ -careno y vitispirano. Los incrementos observados podrían ser atribuidos a la ruptura de las células vegetales en las cuáles se almacenan dichos volátiles, producida por el vacío aplicado durante la

liofilización. Este aumento de compuestos volátiles durante la liofilización ha sido previamente descrito por otros investigadores en el caso de hollejos de distintas variedades de uvas (de TORRES et al., 2010), y en otros materiales vegetales, tales como tomillo ó albahaca (VENSKUTONIS, 1997; DÍAZ-MAROTO et al., 2002b).

En el caso de los compuestos alifáticos y bencénicos no se observaron pérdidas significativas, sin embargo, se produjeron importantes pérdidas de alcoholes y aldehídos de 6 átomos de carbono, al igual que en el estudio preliminar, y durante la liofilización y secado en horno de hollejos de uva de variedades tintas (de TORRES et al, 2010).

Finalmente, se observó un incremento en la concentración de algunos compuestos furánicos debido a reacciones de pardeamiento. Este incremento fue similar al detectado en variedades de uvas tintas, y mucho menor al que ocurre cuando el secado en horno es utilizado como método de deshidratación (de TORRES et al., 2010).

Al contrario que en el estudio preliminar, en el que las muestras no fueron obtenidas de subproductos de vinificación, algunos compuestos furánicos fueron detectados en las muestras frescas en concentraciones muy bajas. Sólo dos compuestos, el 2-pentilfuran y el 5-metilfurfural, se detectaron exclusivamente en las muestras liofilizadas, aunque el incremento más significativo fue el producido en el contenido de furfural, sin embargo su concentración no excedió su umbral olfativo (3000 - 23.000 ppb en agua (BUTTERY et al., 1988).

Tabla 2.3. Compuestos volátiles ($\mu\text{g Kg}^{-1}$) en hollejos Moscatel frescos y liofilizados obtenidos a partir de subproductos de vinificación.

Compuestos	Hollejos frescos	Hollejos liofilizados
	$\bar{X} \pm \text{SD}$	$\bar{X} \pm \text{SD}$
β -Myrceno	57.6 ^a \pm 4.9	62.1 ^a \pm 13.4
Limoneno	47.6 ^a \pm 3.5	76.0 ^b \pm 1.0
α -Pino	34.9 ^a \pm 2.0	29.6 ^a \pm 1.2
α -Terpinoleno	51.8 ^a \pm 4.2	52.2 ^a \pm 1.7
Alloocimeno	16.2 ^a \pm 0.8	17.0 ^a \pm 1.8
<i>cis</i> -furan-Linalol oxido	46.5 ^a \pm 3.4	65.7 ^b \pm 3.6
<i>trans</i> -furan-Linalol oxido	37.1 ^a \pm 3.2	52.3 ^a \pm 3.4
Linalol	2914.6 ^a \pm 110.9	2595.4 ^a \pm 185.6
Terpinen-4-ol	8.7 ^a \pm 0.3	9.5 ^a \pm 0.4
Hotrienol	188.7 ^a \pm 16.7	229.9 ^a \pm 8.4
Z-Citral	5.1 ^a \pm 0.1	6.2 ^a \pm 0.5
α -Terpineol	682.2 ^a \pm 29.7	684.8 ^a \pm 31.2
E-Citral	14.6 ^a \pm 1.8	13.6 ^a \pm 0.0
<i>cis</i> -pyran-Linalol oxido	37.2 ^a \pm 11.1	41.0 ^a \pm 3.8
<i>trans</i> -pyran-Linalol oxido	26.1 ^a \pm 10.4	29.7 ^a \pm 3.5
β -Citronelol	23.7 ^a \pm 2.9	19.4 ^a \pm 5.4
Nerol	328.5 ^a \pm 15.7	279.1 ^b \pm 1.6
<i>trans</i> -Geraniol	1087.8 ^a \pm 83.0	838.8 ^b \pm 8.7
Geranil acetona	46.4 ^a \pm 14.6	38.1 ^a \pm 3.4
2,6-Dimetil-3,7-octadien-2,6-diol	6.0 ^a \pm 2.6	8.3 ^a \pm 0.6
Ácido geránico	298.6 ^a \pm 96.9	543.3 ^b \pm 52.1
<i>Monoterpenos totales</i>	5959.9	5692.0
δ -Careno	13.6 ^a \pm 0.2	17.6 ^b \pm 0.7
<i>trans</i> -Farnesol	6.5 ^a \pm 0.6	7.8 ^a \pm 0.4
<i>Sesquiterpenos totales</i>	20.1	25.4
Vitispirano	3.7 ^a \pm 0.7	6.7 ^b \pm 0.4
β -Damascenona	24.1 ^a \pm 6.3	24.0 ^a \pm 1.1
β -Ionona	11.6 ^a \pm 2.5	9.2 ^a \pm 0.5
Metil dihidrojasmonato	1.6 ^a \pm 0.6	5.7 ^a \pm 2.2
<i>Norisoprenoides totales</i>	41.0	45.6
Hexanal	261.5 ^a \pm 4.4	178.2 ^b \pm 5.0
E-2-Hexenal	383.1 ^a \pm 16.1	259.4 ^b \pm 20.9
1-Hexanol	26.3 ^a \pm 1.6	18.0 ^b \pm 0.7
Z-3-Hexen-1-ol	29.6 ^a \pm 8.6	14.7 ^b \pm 1.4
E-2-Hexen-1-ol	26.6 ^a \pm 4.0	28.4 ^a \pm 4.8
<i>Alcoholes y aldehídos C6 totales</i>	727.1	498.7

Tabla 2.3. Continuación.

Compuestos	Hollejos frescos	Hollejos liofilizados
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
Heptanal	13.3 ^a ± 0.4	3.7 ^b ± 1.3
Octanal	4.5 ^a ± 0.1	4.6 ^a ± 0.5
Nonanal	45.2 ^a ± 2.5	45.5 ^a ± 4.3
2,4-Hexadienal	6.4 ^a ± 0.1	8.1 ^b ± 0.2
E-2-Octenal	8.4 ^a ± 0.9	12.5 ^a ± 4.4
(E,E)-2,4-Heptadienal	5.4 ^a ± 1.0	14.1 ^a ± 5.6
Decanal	12.4 ^a ± 0.7	15.2 ^b ± 0.2
(Z)-2-Nonenal	5.2 ^a ± 0.3	9.1 ^a ± 3.0
(E,Z)-2,6-Nonadienal	2.9 ^a ± 0.6	4.1 ^a ± 0.6
(E,E)-2,4-Decadienal	4.7 ^a ± 0.9	7.4 ^a ± 2.3
(E,Z)-2,4-Decadienal	12.4 ^a ± 3.9	21.6 ^a ± 10.5
<i>Compuestos alifáticos totales</i>	120.8	145.9
Benzaldehído	7.7 ^a ± 0.9	11.5 ^a ± 2.2
Bencenacetaldéhído	28.4 ^a ± 0.6	41.9 ^a ± 8.5
Alcohol bencílico	20.7 ^a ± 8.1	20.8 ^a ± 1.2
2-Feniletanol	31.9 ^a ± 7.7	33.4 ^a ± 6.6
Vinilguaiacol	3.7 ^a ± 0.3	8.0 ^b ± 0.1
<i>Compuestos bencénicos totales</i>	92.4	115.6
2-Pentil furan	n.d.	6.8 ^b ± 1.8
Furfural	60.5 ^a ± 2.2	95.7 ^b ± 14.3
5-Metilfurfural	n.d.	4.0 ^b ± 0.1
Furanmetanol	1.8 ^a ± 0.4	3.3 ^b ± 0.2
2,3-Dihidrobencofurano	2.9 ^a ± 1.4	7.3 ^a ± 3.3
<i>Compuestos furánicos totales</i>	65.3	117.2

Diferentes superíndices (a, b) en la misma fila, indican diferencias estadísticas de acuerdo al test de Student (0,05).

n.d.: no detectado.

2.3.3. Efecto de la liofilización en los componentes fenólicos de hollejos Moscatel obtenidos a partir de subproductos de la vinificación

Respecto al contenido en compuestos fenólicos, en la Tabla 2.4 se muestran los flavonoles y los ácidos hidroxicinámicos identificados en hollejos Moscatel frescos y liofilizados. Dentro de la familia de los flavonoles, derivados de la quercetina y del kaempferol fueron identificados en ambos hollejos, encontrándose el glucurónido y el glucósido de quercetina en concentraciones mayores. Aunque la quercetina-galactósido ha sido identificada en uvas Moscatel en concentraciones menores a los derivados glucurónido y glucósido (CASTILLO-MUÑOZ et al., 2010), no pudo ser cuantificada por el método empleado, ya que apareció como un hombro del pico cromatográfico correspondiente a la quercetina-glucurónido. La liofilización no generó importantes cambios en las cantidades de estos compuestos, al contrario que en el caso de dos variedades de uva tintas, Cabernet Sauvignon and Carmenère (de TORRES et al., 2010).

Los flavonoles se almacenan en vacuolas celulares, sin embargo, a menudo se encuentran en las áreas más externas de dichas vacuolas (CHRISM & HAARD, 1996). Por tanto, si la estructura celular se daña durante la liofilización, debido principalmente al vacío aplicado, aquellos compuestos almacenados en las áreas más externas de las células serán más sensibles a su degradación o pérdida, lo cual podría explicar el distinto comportamiento de los flavonoles durante la liofilización de diferentes variedades de uvas, en este caso, blancas y tintas.

Con respecto al GRP (ácido 2-S-glutationil *trans*-cafeoil tartárico, producto resultante de la adición nucleófila del glutatión, tripéptido abundante en la baya de uva y especialmente en la pulpa (CHEYNIER et al., 1986), sobre la quinona del ácido caftárico generado por oxidación enzimática de éste último), y a los dos ácidos hidroxicinámicos (*trans*-caftárico y *trans*-cutárico) determinados a 320 nm, no se observaron diferencias significativas entre las muestras frescas y liofilizadas. Los

niveles de estos compuesto decrece considerablemente en condiciones oxidativas, tales como las etapas prefermentativas (estrujado, despalillado, etc.) (CHEYNIER et al., 1986), sin embargo la liofilización no produjo ningún cambio en sus concentraciones, probablemente a que dicho tratamiento de desecación se realiza en ausencia de oxígeno y a bajas temperaturas. Esto demuestra las ventajas de la liofilización para obtener un producto desecado de similar calidad al original.

Tabla 2.4. Compuestos fenólicos (mg Kg⁻¹) en hollejos Moscatel frescos y liofilizados obtenidos a partir de subproductos de vinificación.

Compuestos	Hollejos frescos	Hollejos liofilizados
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
<i>Flavonoles</i>		
Quercetina-glucurónido	11.58 ^a ± 0.52	12.75 ^a ± 0.03
Quercetina-glucósido	9.36 ^a ± 1.52	10.39 ^a ± 0.52
Kaempferol-galactósido	1.06 ^a ± 0.27	1.18 ^a ± 0.08
Kaempferol-glucurónido	0.33 ^a ± 0.04	0.33 ^a ± 0.02
Kaempferol-glucósido	3.83 ^a ± 0.96	4.32 ^a ± 0.37
<i>Total</i>	26.16	28.97
<i>Ácidos hidroxicinámicos</i>		
GRP	8.55 ^a ± 0.61	8.92 ^a ± 0.07
<i>trans</i> -Ácido caftárico	4.48 ^a ± 0.30	4.82 ^a ± 0.26
<i>trans</i> -Ácido coutárico	0.20 ^a ± 0.00	0.21 ^a ± 0.02
<i>Total</i>	13.23	13.95

Diferentes superíndices (a, b) en la misma fila, indican diferencias estadísticas de acuerdo al test de Student (0,05)

2.3.4. Utilización de hollejos Moscatel liofilizados para incrementar la calidad de vinos blancos obtenidos de variedades de uva neutras

Los hollejos Moscatel liofilizados, obtenidos de subproductos de vinificación, se utilizaron para incrementar la calidad de vinos blancos elaborados a partir de uvas *Vitis vinifera* variedad Airén, una variedad de uva blanca considerada neutra. Para ello los vinos se obtuvieron mediante maceración prefermentativa de mosto Airén con hollejos

Moscatel frescos y liofilizados, utilizando como control el vino obtenido de la fermentación del mosto Airén sin maceración. Estudios previos han puesto de manifiesto el potencial de los orujos deshidratados, obtenidos tras una vinificación en tinto, para la obtención de vinos rosados mediante maceración de vinos blancos con dichos orujos (PEDROZA et al., 2011, 2012). En este caso los productos deshidratados se obtuvieron mediante secado en horno a 60°C, lo que supone un importante incremento de compuestos furánicos, además de una mayor pérdida de compuestos responsables del aroma. Además, en la actualidad la Legislación no contempla la obtención de vinos rosados mediante maceración de vinos ya acabados con hollejos tintos, en cuyo caso, además, el contenido en alcohol jugará un papel primordial. Por estas razones, nuestro planteamiento fue totalmente distinto, en primer lugar obtuvimos un producto deshidratado de calidad y, en segundo lugar, los vinos obtenidos en el presente estudio están de acuerdo a la Legislación vigente.

Los vinos control (sin macerar) y macerados (con hollejos Moscatel frescos y liofilizados) no presentaron diferencias significativas en sus parámetros convencionales, excepto en el caso del contenido en alcohol, que fue superior en los vinos macerados (12.9° vino control, 13.6° vino macerado con hollejos frescos, 13.9° vino macerado con hollejos liofilizados) probablemente debido a la adición de azúcar por parte de los hollejos. Todos los vinos tuvieron valores de pH y acidez volátil de 3,6 y 0,2 g/L, respectivamente.

2.3.4.1. Compuestos volátiles

En la Tabla 2.5 aparecen los compuestos volátiles cuantificados en los vinos control y macerados con hollejos Moscatel frescos y liofilizados, junto con los resultados del test de Student-Newman-Keuls para comparación de medias. Se identificaron 34 compuestos, incluyendo aquellos previamente identificados en los

hollejos Moscatel y cedidos al vino, y otros formados durante la fermentación alcohólica.

Tanto los vinos macerados con hollejos frescos como liofilizados presentaron un alto contenido en compuestos terpénicos, característicos de la variedad Moscatel, mientras, como era de esperar, en el vino control sólo aparecieron los alcoholes terpénicos, linalol, nerol y geraniol en cantidades traza. Al igual que en el caso de los hollejos, no se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de terpenos entre los vinos macerados con hollejos frescos y liofilizados.

Los compuestos terpénicos más abundantes presentes en los vinos macerados fueron ácido geránico, linalol, 3,7-dimetil-1,5-octadien-3,7-diol (Diendiol I), *trans*-geraniol y β -citronellol. Como norma general, las concentraciones de terpenos en los vinos macerados fue inferior a la identificada en las muestras de hollejos frescas y liofilizadas, excepto en casos muy puntuales como el β -citronellol. Además ciertos compuestos no fueron transferidos a los vinos y, sin embargo, se detectaron terpenos nuevos, previamente no identificados en los hollejos, tales como 3,7-dimetil-1,5-octadien-3,7-diol (Diendiol I), 3,7-dimetil-1,7-octadien-3,6-diol (Diendiol II), 3,7-dimetil-1,7-octanediol y neril acetato.

El β -citronellol puede ser formado a partir del nerol y del geraniol por el metabolismo de las levaduras (DUGELAY et al., 1992), mientras que el 3,7-dimetil-1,7-octanediol es un derivado del β -citronellol (RIBÉREAU-GAYON et al., 2000). Por otro lado los diendoles son derivados del linalol, componente terpénico mayoritario de los hollejos frescos y liofilizados, y el neril acetato se forma a partir del nerol durante la fermentación alcohólica (RIBÉREAU-GAYON et al., 2000).

La influencia de la maceración con hollejos Moscatel en el contenido en alcoholes y aldehídos de 6 átomos de carbono de los vinos Airén, fue mínima. Esto es lógico, ya que dichos compuestos se forman principalmente durante los tratamientos sufridos por la uva desde la vendimia hasta el comienzo de la fermentación alcohólica,

es decir, durante las operaciones de vendimia, especialmente de vendimia mecánica, transporte, estrujado, despalillado, prensado, etc. Los efectos mecánicos de estos tratamientos van a suponer la ruptura a nivel celular permitiendo a los sistemas enzimáticos responsables de la formación de estos compuestos entrar en contacto con los sustratos presentes en la baya, es decir, con los ácidos grasos poliinsaturados, linoleico y linolénico (DRAWERT et al. 1966).

Hay ciertas variedades como la Chardonnay cuyo hollejo es más rico en ácidos grasos poliinsaturados que la pulpa, lo que ocasiona que la cantidad de ácidos grasos y de compuestos de 6 átomos de carbono aumente con el tiempo de contacto del mosto con el hollejo (FERREIRA et al., 1995), sin embargo, este comportamiento no se observó en nuestro estudio ya que la variedad Moscatel no resultó especialmente rica en dichos compuestos.

En los vinos control y macerados con hollejos, los compuestos C6 mayoritarios fueron el 1-hexanol y el E-2-hexenal, ambos con notas aromáticas verdes y herbáceas (JOSLIN & OUGH, 1978).

Dentro del grupo de los ésteres formados durante la fermentación alcohólica, se observó un ligero incremento en algunos compuestos en los vinos macerados con hollejos frescos y liofilizados, que pueden jugar un papel importante en su aroma, concretamente el butirato de etilo o el hexanoato de etilo. Ambos compuestos se consideran especialmente importantes en el aroma de vinos blancos elaborados con variedades neutras, debido a su influencia en las notas aromáticas afrutadas de dichos vinos (ETIÉVANT, 1991; KOTSÉRIDIS, 1999).

Otro compuesto cuya concentración fue superior en los vinos macerados, fue el alcohol bencílico, lo que ha sido previamente descrito por otros autores durante la maceración prefermentativa en diferentes variedades de uva (JURADO et al., 2001; SÁNCHEZ-PALOMO et al., 2006).

Tabla 2.5. Compuestos volátiles ($\mu\text{g L}^{-1}$) identificados en los vinos control y macerados con hollejos Moscatel frescos y liofilizados.

Compuestos	Vino control	Vino macerado con hollejos frescos	Vino macerado con hollejos liofilizados
	$\bar{X} \pm \text{SD}$	$\bar{X} \pm \text{SD}$	$\bar{X} \pm \text{SD}$
<i>cis</i> -furan-Linalol oxido	n.d.	5.2 ^a \pm 0.5	5.4 ^a \pm 0.1
Linalol	Tr	305.9 ^a \pm 31.3	273.4 ^a \pm 13.7
Hotrienol	n.d.	7.8 ^a \pm 1.2	6.8 ^a \pm 1.1
α -Terpineol	Tr	151.4 ^a \pm 9.3	163.0 ^a \pm 4.1
<i>cis</i> -pyran-Linalol oxido	n.d.	32.0 ^a \pm 2.8	35.7 ^a \pm 2.4
<i>trans</i> -piran-Linalol oxido	n.d.	19.5 ^a \pm 1.6	19.2 ^a \pm 0.6
β -Citronellol	n.d.	107.9 ^a \pm 6.9	107.8 ^a \pm 5.3
Nerol	n.d.	74.7 ^a \pm 5.2	84.3 ^a \pm 2.2
<i>trans</i> -Geraniol	Tr	129.9 ^a \pm 4.5	124.1 ^a \pm 14.2
3,7-Dimetil-1,5-octadien-3,7-diol	n.d.	218.0 ^a \pm 17.1	220.2 ^a \pm 25.7
3,7-Dimetil-1,7-octadien-3,6-diol	n.d.	25.0 ^a \pm 3.0	29.2 ^a \pm 2.9
3,7-Dimetil-1,7-octanediol	n.d.	34.9 ^a \pm 5.5	42.0 ^a \pm 0.4
Neril acetato	n.d.	95.2 ^a \pm 11.3	104.2 ^a \pm 2.3
Ácido geránico	n.d.	434.3 ^a \pm 38.8	429.0 ^a \pm 9.1
<i>Terpenos totales</i>		1641.6	1644.3
E-2-Hexenal	314.4 ^a \pm 30.6	333.2 ^a \pm 26.4	313.2 ^a \pm 20.1
1-Hexanol	894.1 ^a \pm 85.9	1007.7 ^a \pm 70.6	955.9 ^a \pm 28.3
Z-3-Hexen-1-ol	18.1 ^a \pm 1.4	22.4 ^a \pm 1.4	23.1 ^a \pm 1.2
E-2-Hexen-1-ol	3.7 ^a \pm 0.0	3.2 ^b \pm 0.1	3.6 ^a \pm 0.0
<i>Total C₆ alcohols</i>	1230.3	1366.5	1295.7
Ethyl butyrate	67.1 ^a \pm 4.6	174.7 ^b \pm 20.1	217.5 ^c \pm 8.3
Isoamyl acetate	1428.4 ^a \pm 160.8	1129.6 ^a \pm 122.6	1395.2 ^a \pm 45.8
Ethyl hexanoate	610.0 ^a \pm 42.0	875.3 ^b \pm 33.2	945.6 ^b \pm 27.5
Hexyl acetate	131.3 ^a \pm 9.7	18.2 ^b \pm 1.2	25.3 ^b \pm 0.9
Ethyl lactate	55.4 ^a \pm 5.4	65.1 ^b \pm 2.3	56.2 ^b \pm 4.7
Ethyl octanoate	1055.0 ^a \pm 73.4	1160.8 ^b \pm 0.2	1198.2 ^a \pm 21.1
Ethyl 3-hydroxybutyrate	39.8 ^a \pm 0.1	60.8 ^b \pm 3.9	61.4 ^b \pm 5.1
Ethyl decanoate	425.6 ^a \pm 71.3	252.6 ^b \pm 4.2	259.9 ^b \pm 1.8

Ethyl 3-hydroxyhexanoate	3.0 ^a ± 0.4	4.9 ^b ± 0.4	5.7 ^b ± 0.4
Diethyl-succinate	55.8 ^a ± 2.9	101.0 ^b ± 1.8	126.9 ^b ± 8.5
2-Phenylethyl acetate	213.4 ^a ± 2.9	62.9 ^b ± 6.6	97.5 ^b ± 7.2
<i>Total ésteres</i>	4084.7	3905.9	4389.3

Tabla 2.5. Continuación.

Compuestos	Vino control	Vino macerado con hollejos frescos	Vino macerado con hollejos liofilizados
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
Benzaldehyde	2.6 ^a ± 0.2	3.0 ^a ± 0.1	3.6 ^a ± 0.5
Guaiacol	8.6 ^a ± 2.2	8.3 ^a ± 1.6	7.0 ^a ± 0.1
Benzyl alcohol	25.9 ^a ± 1.0	104.8 ^b ± 12.5	106.0 ^b ± 13.7
2-Phenylethanoll	13544.1 ^a ± 466.1	17466.3 ^a ± 1723.1	16938.3 ^a ± 196.5
4-Vinylguaiacol	350.1 ^a ± 5.3	215.8 ^b ± 26.2	218.3 ^b ± 8.2
<i>Total compuestos bencénicos</i>	13931.3	17798.3	17273.1

Diferentes superíndices (a, b, c) en la misma fila indican diferencias estadísticas entre las muestras de acuerdo al test de Student-Newman-Keuls test (0,05)

n.d.: no detectado

Tr.: trazas

Aunque en los hollejos, tanto frescos como liofilizados, se identificaron compuestos furánicos, éstos no fueron cedidos a los vinos durante la maceración, probablemente a la baja concentración en la que dichos compuestos se encontraron en los hollejos.

2.3.4.2. Compuestos fenólicos y parámetros del color

Flavonoides (flavonoles) y no flavonoides (ácidos hidroxicinámicos) se identificaron en los tres vinos analizados (Tabla 2.6). Respecto a los flavonoles, en el vino control sólo se encontraron los derivados glucurónidos de quercetina y kaempferol, mientras que en los vinos macerados se identificaron además el kaempferol-galactósido y la quercetina-glucósido, éste último sólo en vinos macerados con hollejos liofilizados. El kaempferol-glucósido cuantificado previamente en los hollejos frescos y liofilizados no fue identificado en los vinos. La desaparición ó

disminución considerable en la concentración de los derivados glucosilados en los vinos macerados pudo ser debida a su hidrólisis durante la etapa fermentativa.

Los perfiles de flavonoles de los vinos difieren de los de las uvas originales debido a la hidrólisis de los flavonol 3-O-glicósidos (CASTILLO MUÑOZ et al., 2007). Por lo tanto, los perfiles de flavonoles del vino consisten en una mezcla de flavonoles 3-O-glicósidos y agliconas flavonoles libres liberados de ellos. Las causas de dicha hidrólisis en el vino todavía no han sido reveladas, sin embargo, Castillo Muñoz et al., 2007 sugieren que la hidrólisis de los flavonoles 3-O-glicósidos se desarrolla indistintamente en los vinos jóvenes y de edad y, además, el grado de hidrólisis parece ser dependiente de la estructura flavonoide y del tipo de 3-O-glucósido.

Por otro lado, el GRP y los ácidos hidroxicinámicos se encontraron en mayor concentración y variedad en los vinos que en los hollejos, debido a la aportación del vino control. Además de los compuestos identificados en los hollejos frescos y liofilizados (GRP, *trans*-ácido caftárico y *trans*-ácido cutárico), tanto en el vino control como en los vinos macerados se cuantificaron el *cis*-ácido cutárico, el ácido cafeico y el *trans*-ácido fertárico. Las diferencias entre los tres tipos de vinos fueron escasas.

Además de los compuestos fenólicos, en la Tabla 2.6 se muestran también los parámetros del color y el contenido en polifenoles totales. En el primer caso no se obtuvieron diferencias significativas entre el vino control y los vinos macerados con hollejos frescos y liofilizados, lo que pone de manifiesto que la maceración prefermentativa con hollejos no supone una variación en el color de los vinos blancos. En cuanto al contenido en polifenoles totales, sólo se observó un pequeño incremento en los vinos macerados, debido a la aportación de los hollejos.

Tabla 2.6. Compuestos fenólicos (mg L⁻¹) y parámetros del color en los vinos control y macerados con hollejos Moscatel frescos y liofilizados.

Compuestos	Vino control	Vino macerado con hollejos frescos	Vino macerado con hollejos liofilizados
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
<i>Flavonoles</i>			
Quercetina-glucurónido	2.21 ^a ± 0.03	10.93 ^b ± 0.70	10.94 ^b ± 0.41
Quercetina-glucósido	n.d.	n.d.	0.12 ^a ± 0.01
Kaempferol-galactósido	n.d.	0.50 ^a ± 0.08	0.58 ^a ± 0.01
Kaempferol-glucurónido	0.10 ^a ± 0.00	0.39 ^b ± 0.03	0.43 ^b ± 0.02
<i>Total</i>	2.30	11.83	12.07
<i>Ácidos hidroxicinámicos</i>			
GRP	22.55 ^a ± 0.94	28.60 ^a ± 0.94	23.28 ^a ± 2.20
<i>trans</i> -Ácido caftárico	13.94 ^a ± 0.04	9.11 ^b ± 0.04	9.28 ^b ± 0.32
<i>trans</i> -Ácido coutárico	1.05 ^a ± 0.09	0.45 ^b ± 0.02	0.45 ^b ± 0.02
<i>cis</i> -Ácido coutárico	2.97 ^a ± 0.03	1.75 ^b ± 0.06	1.87 ^b ± 0.07
Ácido cafeico	2.91 ^a ± 0.00	2.60 ^b ± 0.00	2.64 ^c ± 0.00
<i>trans</i> -Ácido fertárico	4.48 ^a ± 0.01	4.20 ^a ± 0.02	4.76 ^a ± 0.43
<i>Total</i>	47.89	46.72	42.27
<i>Parámetros del color</i>			
L	96.25 ^a ± 0.07	96.05 ^a ± 0.49	95.75 ^a ± 0.21
C	9.74 ^a ± 0.06	8.73 ^a ± 0.65	8.21 ^a ± 0.49
h	92.52 ^a ± 0.63	94.02 ^a ± 1.15	94.81 ^a ± 1.26
a*	-0.43 ^a ± 0.11	-0.54 ^a ± 0.11	-0.69 ^a ± 0.13
b*	9.72 ^a ± 0.07	7.71 ^a ± 0.66	8.18 ^a ± 0.51
<i>Polifenoles totales</i>	214.03 ^a ± 0.01	224.91 ^b ± 0.00	223.74 ^b ± 0.00

Diferentes superíndices (a, b, c) en la misma fila indican diferencias estadísticas entre las muestras de acuerdo al test de Student-Newman-Keuls test (0,05)

n.d.: no detectado.

2.3.4.3. Análisis sensorial

En la Figura 2.7 se muestran los resultados obtenidos del análisis sensorial descriptivo cuantitativo de los vinos, en forma de tela de araña. La Figura (a) muestra los valores medios de las puntuaciones otorgadas a los atributos olfativos, mientras que en la Figura (b) se observan los atributos gustativos junto con la impresión global de cada uno de los vinos.

El perfil aromático del vino control, obtenido de uvas Airén, se caracterizó por un intenso aroma a fresco y manzana verde, con notas moderadas de cítricos y afrutadas, concretamente a melocotón, albaricoque y plátano. Además presentó un ligero aroma a fruta tropical y floral. El contacto con hollejos Moscatel, tanto frescos como liofilizados, produjo un moderado incremento en las notas afrutadas (albaricoque, melocotón) y en el aroma a fresco, observándose una mayor contribución en el aroma floral y en las notas cítricas. Los atributos olfativos florales y afrutados son principalmente atribuidos a los compuestos terpénicos y a los ésteres etílicos de los ácidos grasos de cadena corta, respectivamente (GÜTH, 1997; ETIÉVANT, 1991; 1995; KOTSÉRIDIS, 1999), cuya concentración fue superior en los vinos macerados con hollejos.

Por otro lado, se observó una disminución en aromas característicos de los vinos Airén, concretamente, manzana verde, plátano y fruta tropical.

En cuanto a la comparación entre los vinos macerados con hollejos frescos y liofilizados, no se observaron diferencias, lo que pone de manifiesto el potencial de la liofilización como técnica de deshidratación de hollejos.

Las diferencias en los perfiles gustativos se encontraron también entre vinos macerados y vino control, aunque en este caso los vinos macerados con hollejos liofilizados fueron ligeramente mejor valorados que los vinos macerados con hollejos frescos y, ambos obtuvieron puntuaciones superiores en impresión global y calidad del retrogusto con respecto al vino control.

El vino control Airén se caracterizó principalmente por su acidez y sabor a manzana verde, con ligeras notas gustativas a melocotón, albaricoque y fruta tropical. Los vinos macerados con hollejos conservaron las notas afrutadas, aunque perdieron intensidad en el sabor a manzana verde y en su acidez. Resultados similares han sido obtenidos por otros autores para vinos obtenidos por maceración con hollejos (GARCÍA ROMERO et al., 1999; SÁNCHEZ-PALOMO et al., 2006 SÁNCHEZ-PALOMO et al., 2007), probablemente debido a la neutralización de los principales ácidos del vino durante la maceración prefermentativa del mosto. El único vino que presentó en su perfil gustativo notas florales, fue el vino macerado con hollejos liofilizados.

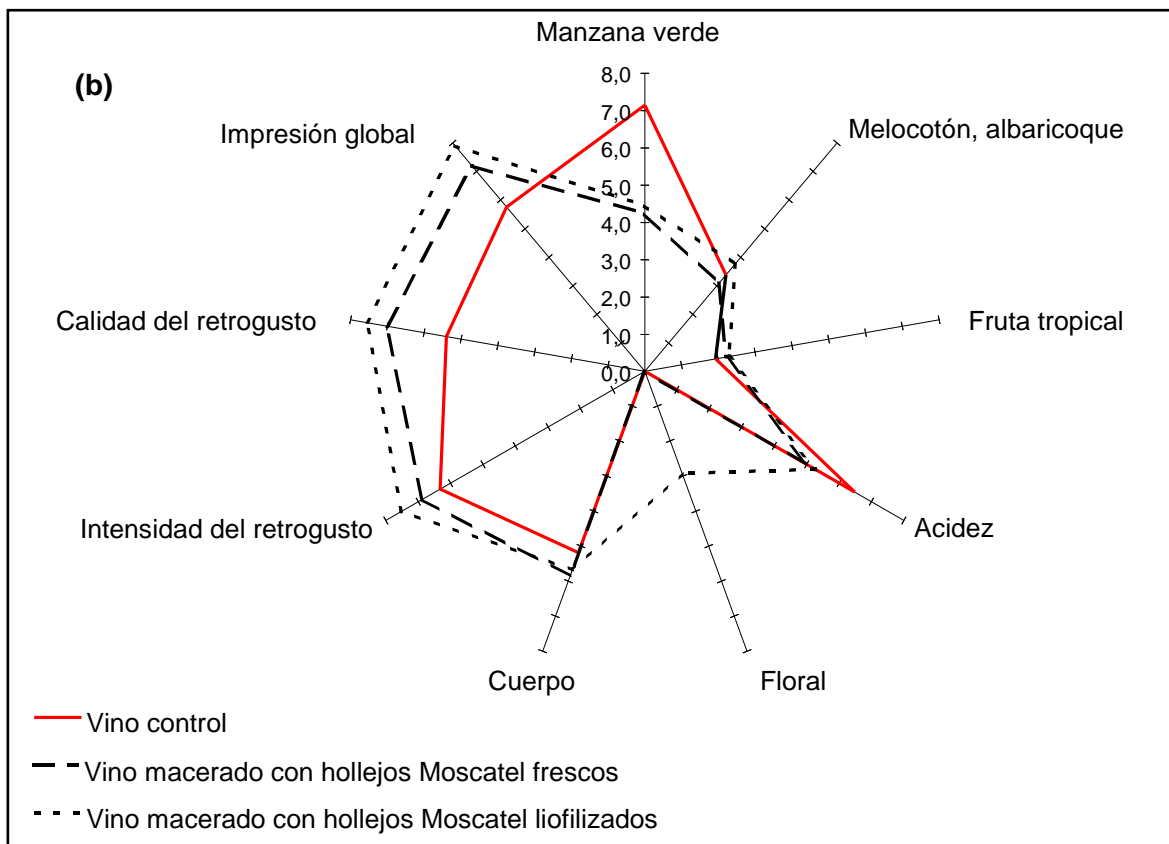
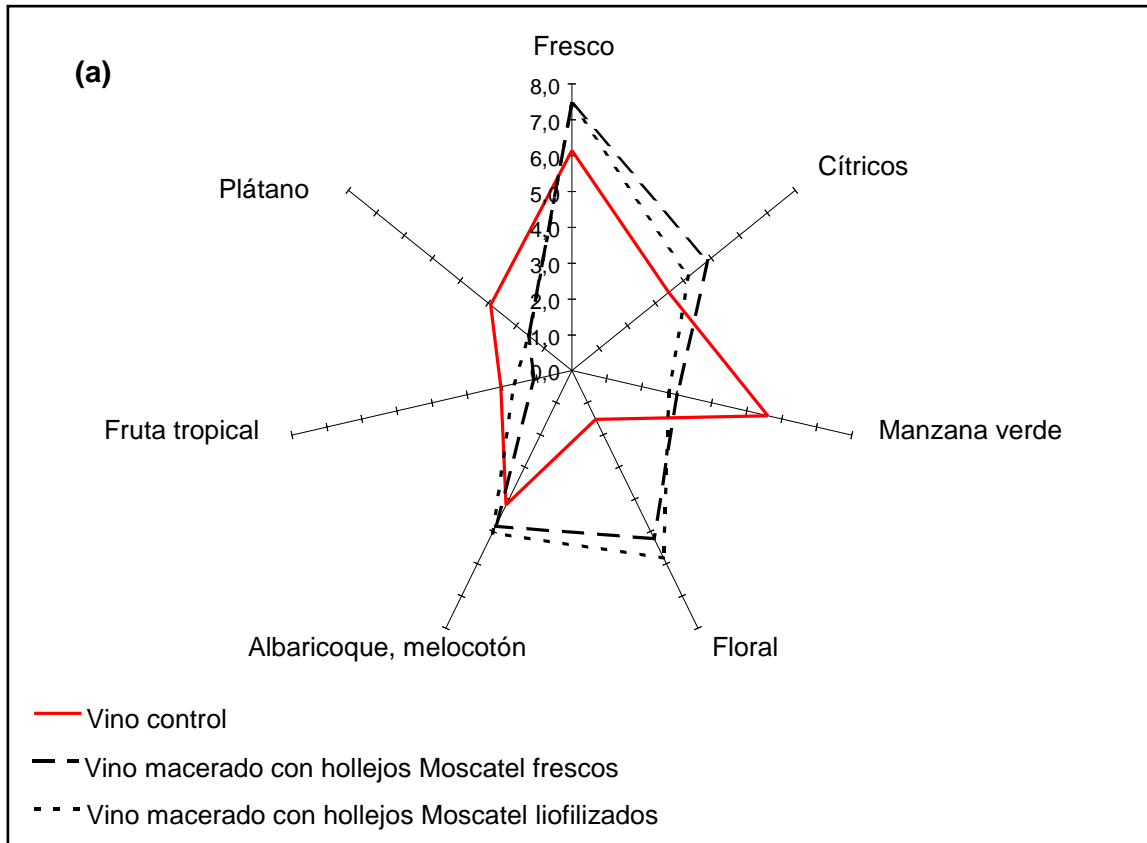


Figura 2.7. Análisis sensorial de los vinos. (a) Atributos olfativos, (b) Atributos gustativos.

2.4. BIBLIOGRAFÍA

Alonso, A. M., Guillén, D. A., Barroso, C. G., Puertas, B., García, A. (2002). Determination of antioxidant activity of wine byproducts and its correlation with polyphenolic content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 5832-5836.

Amendola, D., Faveri, D. M. de., Spigno, G. (2010). Grape marc phenolics: Extraction kinetics, quality and stability of extracts. *Journal of Food Engineering*, 97, 384-392.

Anastasiadi, M., Pratsinis, H., Kletsas, D., Skaltsounis, A. L., Haroutounian, S. A. (2012). Grape stem extracts: Polyphenolic content and assessment of their in vitro antioxidant properties. *LWT - Food Science and Technology*, 48, 316-322.

Arsem, H. B., Ma, Y. H. (1990). Simulation of a combined microwave and radiant freeze-dryer. *Drying Technology*, 8 (5), 993-1016.

Arvanitoyannis, I. S., Ladas, D., Mavromatis, A. (2006a). Wine waste treatment methodology. *International Journal of Food Science and Technology*, 41, 1117-1151.

Arvanitoyannis, I. S., Ladas, D., Mavromatis, A. (2006b). Potential uses and applications of treated wine waste: A review. *International Journal of Food Science and Technology*, 41, 475-487.

Bakker, J., Bridle, P., Honda, P., Kuwano, H., Saito, N., Terehara, N., Timberlake, C. (1997). Isolation and identification of a new anthocyanin occurring in some red wines. *Phytochemistry*, 44, 1375-1382.

Barbosa-Cánovas, G. V., Vega-Mercado, H. (2000). *Deshidratación de Alimentos*. Ed. Acribia, S.A. España.

Bate-Smith, E. C. (1954). Astringency in foods. *Foods*, 23,124.

Bayonove, C., Baumes, R., Cruzet, J., Gunata, Z. (2000). Capítulo 5: Aromas. En: Flanzy, C., "Enología: fundamentos científicos y tecnológicos". AMV Ediciones, Madrid, España.

Bayonove, C., Cordonnier, R., Dubois, P. (1975). Étude d'une fraction caractéristique de l'arôme du raisin de variété Cabernet-Sauvignon: mise en évidence de la 2-méthoxy-3-isobutylpyrazine. *CR Acad Sci Paris*, 281: série D, 75-78.

Bertrán, E., Sort, X., Soliva, M., Trillas, I. (2004). Composting winery waste: sludge and grape stalks. *Bioresource Technology*, 96, 69-78.

Bonilla, F., Mayen, M., Merida, J., Medina, M. (1999). Extration of phenolic compounds from red grape marc for use as food lipid antioxidant. *Food Chemistry*, 66, 209-215.

Borrero, C., Trillas, M. I., Avilés, M. (2009). Carnation Fusarium wilt suppression in four composts. [European Journal of Plant Pathology](#), 123, 425-433.

Boulton, R. (2001). The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: a critical review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52, 67-87.

Cáceres, C. X., Cáceres, R. E., Hein, D., Molina, M. G., Pia, J. M. (2012). Biogas production from grape pomace: Thermodynamic model of the process and dynamic model of the power generation system. *International Journal of Hydrogen Energy*, 37, 10111-10117.

Carbonneau, A., Casteran, P., Leclair, P. (1978). Essai de détermination, en biologie de la plante entière, de relations essentielles entre le bioclimat naturel, la physiologie de la vigne et la composition du raisin. *Méthodologie et premiers résultats sur les systèmes de conduite. Ann. Amélior. Plantes*, 28, 195-221.

Carmona, E., Moreno, M. T., Avilés, M., Ordovás, J. (2012). Use of grape marc compost as substrate for vegetable seedlings. *Scientia Horticulturae*, 137, 69-74.

Casas, L., Mantell, C., Rodríguez, M., Martínez de la Osa, E. J., Roldán, A., De Ory, I., Caro, I., Blandino, A. (2010). Extraction of resveratrol from the pomace of Palomino Fino grapes by supercritical carbon dioxide. *Journal of Food Engineering*, 96, 304-308.

Casazza, A. A., Aliakbarian, B., Faveri, D. de., Fiori, L., Perego, P. (2012). Antioxidants from winemaking wastes: A study on extraction parameters using response surface methodology. *Journal of Food Biochemistry*, 36, 28-37.

Castillo-Muñoz, N., Fernández-González, M., Gómez-Alonso, S., García-Romero, E., Hermosín-Gutiérrez, I. (2009). Red-color related phenolic composition of Garnacha Tintorera (*Vitis vinifera* L.) grapes and red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 7883-7891.

Castillo-Muñoz, C., Gómez-Alonso, S., García-Romero, E., Hermosín-Gutiérrez, I. (2007). Flavonol profiles of *Vitis vinifera* red grapes and their single-cultivar wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 992-1002.

Castro-Vásquez, L., Pérez-Coello, M. S., Cabezudo, M. D. (2002). Effects of enzyme treatment and skin extraction on varietal volatiles in Spanish wines made from Chardonnay, Muscat, Airén, and Macabeo grapes. *Analytica Chimica Acta*, 458, 39-44.

Cejudo-Bastante, M. J., Castro-Vásquez, L., Hermosín-Gutiérrez, I., Pérez-Coello, M. S. (2011). Combined effects of prefermentative skin maceration and oxygen addition of must on color-related phenolics, volatile composition, and sensory characteristics of Airén white wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 12171-12182.

Cheynier V., Moutounet, M., Sarni-Manchado, P. (1998). Les composés phénoliques. In: Lavoissier Tec&Doc (eds) *Oenologie, fondements scientifiques et technologiques*. C. Flanzy, Paris, pp 124-164.

Cohen, J. S., Yang, T. C. S. (1995). Progress in food dehydration. *Trends in Food Science and Technology*, 6, 20-25.

de Torres, C., Díaz-Maroto, M. C., Hermosín-Gutiérrez, I., Pérez-Coello, M. S. (2010). Effect of freeze-drying and oven-drying on volatiles and phenolics composition of grape skin. *Analytica Chimica Acta*, 660, 177-182.

Flanzy, C. (2000). *Enología: Fundamentos Científicos y Tecnológicos*. AMV ed., Madrid, Spain: Mundi prensa.

Francia-Aricha, E., Guerra, M. T., Rivas-Gonzalo, J. C., Santos-Buega, C. (1997). New anthocyanine pigments formed after condensation with flavonols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 2262-2266.

Fulcrand, H., Benabdeljalil, C., Rigaud, J., Cheynier, V., Moutounet, M. (1998). A new class of wine pigments generated by reaction between pyruvic acid and grape anthocyanins. *Phytochemistry*, 47, 1401-1407.

Gawel R. (1998). Red wine astringency: a review. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 4, 74-95.

González-Paramás, A. M., Esteban-Ruano, S., Santos-Buega, C., Pascual-Teresa, S., Rivas-Gonzalo, J. C. (2004). Flavanol content and antioxidant activity in winery byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 234-238.

Guan, L., Li, J. H., Fan, P. G., Chen, S., Fan, J. B., Li, S. H., Wu, B. H. (2012). Anthocyanin accumulation in various organs of a teinturier cultivar (*Vitis vinifera* L.) during the growing season. *American Journal of Enology and Viticulture*, 63 (2), 177-184.

Harborne, J. B., Williams, C. A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55, 481-504.

Heinonen, I. M., Meyer, A. S., Frankel, E. N. (1998). Antioxidant activity of berry phenolics on human low-density lipoprotein and liposome oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 107-112.

Hermosín-Gutiérrez, I., Castillo-Muñoz, N., Gómez-Alonso, S., García-Romero, E. (2011). Flavanol profile for grape and wine authentication. In: Ebeler, S., et al. (Ed). *Authentication of Food and Wine*.

Hermosín Gutiérrez, I., García-Romero, E. (2004). Anthocyanins of red wine grape cultivars grown in the Spanish region of La Mancha: Characteristic cultivar patterns of grapes and single cultivar wines, and evolution during the ripening of the berry. *Alimentaria*, 41, 127-139.

Hidalgo-Togores, J. (2006). *La calidad del vino desde el viñedo*. Mundi-Prensa, Madrid. 389p.

Hidalgo-Togores, J. (2010). *Tratado de enología*. (2ª Ed). Mundi-Prensa, Madrid. 1822p.

Jackson, D. I., Lombard, P. B. (1993). Environmental and management practices affecting grape composition and wine quality – a review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 44, 409-430.

Joslin, W. S., Ough, C. S. (1978). Cause and fate of certain C-6 compounds formed enzymatically in macerated grapes leaves during harvest and wine fermentation. *American Journal of Enology and Viticulture*, 29 (1), 11-17.

Kammerer, D., Claus, A., Carle, R., Schieber, A. (2004). Polyphenol screening of pomace from red and white grape varieties (*Vitis vinifera* L.) by HPLC-DAD-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 4360–4367.

Lafka, T. I., Sinanoglou, V., Lazos, E. S. (2007). On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes. *Food Chemistry*, 104, 1206-1214.

Leighton, F., Urquiaga, I. (1999). Los componentes del vino y sus efectos beneficiosos para la salud humana. In: VII Congreso Latinoamericano de Viticultura y Enología. Mendoza, Argentina.

Lorentzen, J. (1979). Freeze-drying of foodstuffs, quality and economics n freeze-drying. *Chemistry and Industry*, 14, 465-468.

Lu, Y., Foo, L. Y. (1999). The polyphenol constituents of grape pomace. *Food Chemistry*, 65, 1-8.

MAAM (2011). Anuario de estadística. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente de España.

Makris, D. P., Boskou, G., Andrikopoulos, N. K. (2007). Recovery of antioxidant phenolics from white vinification solid by-products employing water/ethanol mixtures. *Bioresource Technology*, 98, 2963-2967.

Maupoey, P. F., Grau, A. M. A., Baviera, J. M. B., Sorolla, A. M. A. (2001). Introducción al secado de alimentos por aire caliente. Universidad Politécnica de Valencia. Valencia, 221 p.

Melloni, P. L. S. (2003). *Produção de Frutas Desidratadas*, Viçosa - MG: CPT.

Moldes, A. B., Vázquez, M., Domínguez, J. M., Díaz-Fierros, F., Barral, M. T. (2007). Evaluation of mesophilic biodegraded grape marc as soil fertilizer. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 141, 27-36.

Negro, C., Tommasi, L., Miceli, A. (2003). Phenolic compounds and antioxidant activity from red grape marc extracts. *Bioresource Technology*, 87, 41-44.

OIV. (2011). Organización Internacional de la Viña y del Vino. Obtenido en 03 de marzo de 2013, de Balance sobre la situación vitivinícola mundial en el año de 2011: <http://www.oiv.int/oiv/info/espublicationsstatistiques>.

Park, K. J., Bin, A., Brod, F. P. R. (2002). Drying of pear 'd'Anjou' with and without osmotic dehydration. *Journal of Food Engineering*, 56, 97-103.

Pedroza, M. A., Carmona, M., Salinas, M. R., Zalacain, A. (2011). Use of dehydrated waste grape skins as a natural additive for producing rosé wines: study of extraction conditions and evolution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(20), 10976-10986.

Pedroza, M. A., Carmona, M., Pardo, F., Salinas, M. R., Zalacain, A. (2012). Waste grape skins thermal dehydration: potential release of colour, phenolic and aroma compounds into wine. *CyTA – Journal of Food*, 23, 1-11.

Pedroza, M. A., Carmona, M., Alonso, G. L., Salinas, M. R., Zalacain, A. (2013). Pre-bottling use of dehydrated waste grape skins to improve colour, phenolic and aroma composition of red wines. *Food Chemistry*, 136, 224-236.

Peynaud, E. (1989). *Enología práctica: conocimiento y elaboración del vino*. (3^o Ed.). Mundi Prensa. Madrid, 406 p.

Pinelo, M., Arnous, A., Meyer, A. S. (2006). Upgrading of grape skins: Significance of plant cell-wall structural components and extraction techniques for phenol release. *Trends in Food Science and Technology*, 17, 579-590.

Ping, L., Chrusciel, L., Navarrete, P., Pizzi, A. (2011). Extraction of condensed tannins from grape pomace for use as wood adhesives. *Industrial Crops and Products*, 33, 253-257.

Ping, L., Pizzi, A., Guo, Z. D., Brosse, N. (2012). Condensed tannins from grape pomace: Characterization by FTIR and MALDI TOF and production of environment friendly wood adhesive. *Industrial Crops and Products*, 40, 13-20.

Pokorny, J., Yanishlieva, N., Gordon, M. (Eds.). (2001). *Antioxidants in food. Practical applications*. New York: CRC Press.

Prior, R. L., Cao, G., Martin, A., Sofic, E., Ewen, J. Mc., O'Brien, C., Lischner, N., Ehkenfeldt, M., Kalt, m W., Maillard, C. M. (1998). Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity, and variety of *Vaccinium* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(7), 2686-2693.

Ratti, C. (2001). Hot air and freeze-drying of high-value foods: a review. *Journal of Food Engineering*, 49, 311-319.

Razungles, A., Bayonove, C. (2000). Les Carotenoides du raisin et leur potentialité aromatique. *Food Chemistry*, 48(8), 3387-3393.

Ribereau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., Dubourdieu, D. (2000). Varietal Aroma. *Handbook of Enology. The chemistry of wine stabilization and treatments (Vol. 2)*, ED Willey, New York.

Rockenbach, I. I., Jungfer, E., Ritter, C., Santiago-Schübel, B., Thiele, B., Fett, R., Galensa, R. (2012). Characterization of flavan-3-ols in seeds of grape pomace by CE, HPLC-DAD-MSⁿ and LC-ESI-FTICR-MS. *Food Research International*. 48, 848-855.

Rodriguez-Rodriguez, R., Justo, M. L., Claro, C. M., Vila, E., Parrado, J., Herrera, D. M., de Sotomayor, M. A. (2012). Endothelium-dependent vasodilator and antioxidant properties of a novel enzymatic extract of grape pomace from wine industrial waste. *Food Chemistry*, 135, 1044-1051.

Romeyer F. M., Macheix J. J., Goiffon J. J., Reminiac C. C., Sapis J. C. (1983). The browning capacity of grapes. 3. Changes and importance of hydroxycinnamic acid-tartaric acid esters during development and maturation of the fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 31(2), 346-349.

Ruberto, G., Renda, A., Amico, V., Tringali, C. (2008). Volatile components of grape pomaces from different cultivars of Sicilian *Vitis vinifera* L. *Bioresource Technology*, 99, 260-268.

Sánchez-Palomo, E., Pérez-Coello, M. S., Díaz-Maroto, M. C., González-Viñas, M. A., Cabezudo, M. D. (2006). Contribution of free and glycosidically-bound volatile compounds to the aroma of muscat "a petit grains" wines and effect of skin contact. *Food Chemistry*, 95, 279-289.

Sánchez-Palomo, E., González-Viñas, M. A., Díaz-Maroto, M. C., Soriano-Pérez, A., Pérez-Coello, M. S. (2007). Aroma potential of Albillo wines and effect of skin-contact treatment. *Food Chemistry*, 103, 631-640.

Sánchez-Palomo, E., Alañón, M. E., Díaz-Maroto, M. C., González-Viñas, M. A., Pérez-Coello, M. S. (2009). Comparison of extraction methods for volatile compounds of Muscat grape juice. *Talanta*, 79, 871-876.

Segarra, G., Casanova, E., Borrero, C., Avilés, M., Trillas, I. (2007). The suppressive effects of composts used as growth media against *Botrytis cinerea* in cucumber plants. [European Journal of Plant Pathology](#), 117, 393-402.

Sochanski, J. S., Gollete, J., Bose, T. K., Akyel, C., Bosisio, R. (1990). Freeze dehydration of foamed milk by microwaves. *Drying Technology*, 8 (5), 1017-1037.

Souquet, J. M., Cheynier, V., Sarni-Manchado, P., Moutounet, M. (1996). Les composés phénoliques du raisin. [Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin](#), n° hors serie, 13-23.

Souquet, J. M., Labarbe, B., Le Guernevé, C., Cheynier, V., Moutounet, M. (2000). Phenolic composition of grape stems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 1076-1080.

Spigno, G., Faveri, D. M., de (2007). Antioxidants from grape stalks and marc: Influence of extraction procedure on yield, purity and antioxidant power of the extracts. *Journal of Food Engineering*, 78(3), 793-801.

Sun, T., Chen, Q. Y., Wu, L. J., Yao, X. M., Sun, X. J. (2012). Antitumor and antimetastatic activities of grape skin polyphenols in a murine model of breast cancer. *Food Chemical Toxicology*, 50, 3462-3467.

Tseng, A., Zhao, Y. (2013). Wine grape pomace as antioxidant dietary fibre for enhancing nutritional value and improving storability of yogurt and salad dressing. *Food Chemistry*, 138, 356-365.

Torres, J. L., Bobet, R. (2001). New flavonol derivatives from grape (*Vitis vinifera*) byproducts. Antioxidant aminoethylthio-3-flavan-3-ol conjugates from a polymeric

waste fraction used as a source of flavanols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 4627-4634.

Travaglini, D. A., Neto, M. P., Bleinroth, E. W., Leitão, M. F. F. (1993). *Banana-passa: princípios de secagem, conservação e produção industrial*. 76 ITAL/Rede de Núcleo de Informação Tecnológica. Manual Técnico, v. 12, p. 73.

Trillas, I., Casanova, E., Cotxarrera, L., Ordovás, J., Borrero, C., Avilés, M. (2006). Composts from agricultural wastes and the *Trichoderma aspergillum* strain T-34 suppress *Rhizoctonia solani* in cucumber seedlings. *Biological Control*, 39, 32–38.

Williams, P. J., Strauss, C. R., Wilson, B., Massy-Westropp, R. A. (1982). Use of C18 reversed-phase liquid chromatography for the isolation of monoterpenes glycosides and norisoprenoids precursors from grape juice and wines. *Journal Chromatography A*, 235, 471-480.

Wilson, B., Strauss, C. R., Williams, P. I. (1986). The distribution of free and glycosidically bound monoterpenes among skin, juice and pulp fraction of some white grape varieties. *American Journal of Enology and Viticulture*, 37(2), 107-111.

Wollgast, J., Anklam, E. (2000). Review of polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International*, 33, 423-427.

Zamora, F. (2003). *Elaboración y crianza del vino tinto: aspectos científicos y prácticos*. Mundi-Prensa, Madrid. 224 p.

Capítulo III – Potencial enológico de la madera de
castaño como alternativa a la madera de roble tradicional.
Estudio de la composición fenólica, volátil y sensorial de
los vinos tintos.

3.1. INTRODUCCIÓN

3.1.1. La variedad Tempranillo y su importancia en España

La tradición vitivinícola de España es reconocida mundialmente por la producción de vinos diversos y de gran calidad. Los vinos españoles viven un momento de creciente popularidad internacional y su oferta está relacionada con la gran diversidad cultural, climática y geográfica que este país posee. Esta diversidad resulta fácil para que los consumidores encuentren los vinos que más se adapten a sus gustos.

España es el país que tiene la mayor área de viñedos cultivada en todo el mundo. Según las estimaciones de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura – FAO, cerca de 1,10 millones de hectáreas fueron cultivados en España en el año de 2009, con una producción de aproximadamente 5,58 millones de toneladas de uvas y cerca de 32,50 millones de hectolitros de vino. Datos más recientes, suministrados por el Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente de España, apuntan que fueron cultivadas cerca de 968,29 mil hectáreas en el año de 2011, lo que indica una reducción de aproximadamente del 5% en el área total de viñedos en los últimos años. Esta reducción se debe principalmente a las políticas de incentivos dados por el gobierno para que los viticultores arranquen sus viñedos.

Actualmente, existe en España 69 Denominaciones de Origen Protegidas, 6 Indicaciones Geográficas de Vinos de Calidad y 13 denominaciones Vinos de Pago, abrigando prácticamente todas las regiones, áreas significativas en el cultivo de la vid. De entre las regiones productoras, merece la pena destacar la región de Castilla La-Mancha por su extenso territorio implantado con viñedos, con un área estimada de 495,30 mil hectáreas, lo que corresponde a más de la mitad (cerca de 51,50%) del total de los viñedos españoles (MAAMA España, 2009).

Las variedades Airén, Tempranillo, Bobal, Garnacha, Monastrell y Macabeo, entre otras, son algunas de las variedades de uva cultivadas en España. La

Tempranillo (*Vitis vinifera*) es la variedad autóctona española más difundida y reconocida mundialmente. También es la variedad de uva tinta más importante y la más cultivada en todo el territorio español. Aproximadamente 21,45% de todos los viñedos españoles son cultivados con esta cepa, lo que corresponde alrededor de 207,69 mil hectáreas, de los cuales 72,56 mil están ubicados en Castilla La-Mancha (MAAMA España 2009).

Desde el punto de vista agronómico, la variedad Tempranillo se caracteriza por ser una variedad relativamente vigorosa y de maduración temprana. Es susceptible a los ataques de hongo patogénicos, tales como oídio y mildiu (JACKSON, 2008). Produce bayas de tamaño mediano y de piel gruesa, con alta concentración de taninos, pero con baja acidez, lo que muchas veces supone un problema durante los procesos de vinificación (CLARKE & BAKKER, 2004).

A pesar de que su graduación alcohólica relativamente baja, la variedad Tempranillo produce vinos tintos muy sutiles, los cuales posee un buen potencial de envejecimiento. Además, se obtienen vinos jóvenes delicados, con un estilo muy peculiar (JACKSON, 2008). En líneas generales, las mejores características climáticas para el cultivo de la variedad Tempranillo son las zonas con alta insolación y con temperaturas nocturnas muy frías. Bajo estas condiciones, típicas de la región de Castilla La-Mancha, se alcanzan graduaciones alcohólicas más altas y una buena acidez, lo que permite obtener vinos de altísima calidad.

Desde el punto de vista sensorial, la uva Tempranillo es considerada una variedad neutra. Sin embargo, en condiciones favorables, puede producir vinos de aromas complejos, bastante afrutados, con notas cítricas y de frutas rojas bien pronunciadas, los cuales, cuando son sometidos a los procesos de envejecimiento, adquiere aromas empireumáticos, con notas a incienso, además del típico aroma de madera de roble (CLARKE & BAKKER, 2004; JACKSON, 2008).

3.1.2. Importancia de la etapa de envejecimiento en la elaboración de vinos tintos

El envejecimiento del vino es un proceso largo y delicado, destinado a conferir características distintas a un vino ya elaborado, al que ofrece la posibilidad de ver mejoradas sus características organolépticas. Esta es una práctica tradicionalmente empleada en las zonas productoras de vinos de calidad y que en la actualidad se ha extendido a la mayor parte de las regiones vitivinícolas mundiales.

La etapa de maduración del vino, consiste en dos procesos muy importantes en la obtención de vinos de calidad. Inicialmente el vino se somete a una estancia en barricas de madera, donde tiene lugar no sólo los procesos oxidativos de envejecimiento, sino también la cesión de compuestos de importancia sensorial desde la barrica al vino, para posteriormente complementarlo con un período de reducción en botella (DEL ÁLAMO et al., 2004).

La madera, concretamente la madera de roble, ha sido el material más utilizado para el envejecimiento de los vinos, puesto que concurren en ella una serie de características particulares que mejoran las cualidades organolépticas de los vinos envejecidos. La crianza del vino en barricas de roble es un fenómeno realmente complejo en el que participan diversos procesos mediante los cuales el vino se transforma, ganando complejidad y estabilidad. Durante el proceso de crianza en barrica, el vino sufre tres efectos fundamentales, tales como:

- ✓ La *cesión* al vino de sustancias propias de la madera, de diversa naturaleza y estructura, las cuales pueden ser desde compuestos volátiles, que influyen directamente en el aroma de los vinos, hasta compuestos fenólicos de diverso peso molecular, que influyen en el color y en las sensaciones táctiles, como la astringencia, pasando también por los azúcares que parecen tener una influencia en las sensaciones organolépticas (DUBOIS & DEKIMPE, 1982; DUBOIS, 1989). La cesión de todas esas sustancias dependerán de la composición química inicial de la barrica, la cual es enormemente influenciada

a su vez, por el origen geográfico del roble, su especie, así como por los procesos sufridos en tonelería durante el proceso de secado y tostado.

- ✓ La madera de roble posee una ligera porosidad que permite el paso lento, pero continuado del oxígeno atmosférico a través de sus poros, favoreciendo la oxidación suave de determinados compuestos del vino y ciertos fenómenos fisicoquímicos que intervienen en la crianza de los mismo, produciendo una mejora del color y del sabor de los vinos tintos (CHATONNET et al., 1989; MARTÍNEZ et al., 1998). Esta *microoxigenación* será más o menos acusada en función del tamaño de poro de la madera, el cual dependerá tanto de la naturaleza de la madera, como del proceso de cortado para la conformación de la barrica.
- ✓ La porosidad de la madera también provoca la *evaporación* parcial del etanol y del agua hacia el exterior, en contracorriente a la difusión del oxígeno (FEUILLAT et al, 1998). A parte de la porosidad, la proporción de etanol y agua evaporada también se ve influenciada por las condiciones de humedad y temperatura del ambiente.

La acción conjunta de estos tres fenómenos, *cesión*, *microoxigenación* y *evaporación* sobre el vino causarán una serie de transformaciones respecto a sus características gustativas, olfativas, táctiles y de color las cuales conformarán el “*bouquet*” definitivo de los vinos envejecidos en barrica.

Sin embargo, hay que tener en cuenta que no todos los vinos son adecuados para ser sometidos al proceso de crianza en barricas de madera. En líneas generales, los vinos tintos son los que suelen someterse al proceso de envejecimiento (PÉREZ-COELLO et al., 2000), pero no todos ellos presentan la composición química adecuada para soportar con éxito dicho proceso. Los vinos tintos más aptos para ser sometidos a esta etapa de envejecimiento son aquellos vinos equilibrados, de alta calidad, que presentan un alto contenido en antocianinas y compuestos fenólicos, y con un alto nivel de alcohol (ORTEGA-HERAS, et al., 2003).

Los vinos blancos no son a menudo envejecidos debido a que durante el dicho proceso, se produce una reducción en el carácter afrutado de estos vinos, el cual es muy apreciado por los consumidores. La pérdida de estas características se debe principalmente a la disminución de las concentraciones de esteres etílicos de ácidos grasos conjuntamente con la de acetatos de alcoholes superiores que son afectados por los procesos de oxidación y evaporación (WILKER & GALLANDER, 1988). Sin embargo, el uso de virutas o trozos de madera puede ser ventajoso para “*amaderar*” los vinos blancos, difundiendo en ellos, notas de roble sin disminuir los caracteres de frescor y afrutado, además de evitar los cambios de color producidos por la oxidación que afectan negativamente la calidad de estos vinos cuando son envejecidos en barricas de madera (PÉREZ-COELLO et al., 2000; GUCHU et al., 2006).

La crianza de los vinos debe regularse adecuadamente y para ello es necesario conocer con profundidad todos los factores involucrados en dicho proceso. Por lo tanto, la duración del proceso de envejecimiento, el origen de la madera, el tipo de secado y tostado que la madera ha sufrido, así como el volumen de la barrica y el número de veces que ésta ha sido utilizada, son factores que deberán adaptarse a la personalidad y a las características intrínsecas de cada vino, para que la madera no las enmascare y puedan obtenerse así, vinos de la mejor calidad (VIVAS & GLORIES, 1996).

Por lo tanto, hay que tener en cuenta que si no se lleva a cabo correctamente el proceso de crianza, en vez de mejorar las cualidades del vino podemos llevarlo incluso a su deterioro ya que, como hemos visto, no todos los vinos pueden ser sometidos a crianza. Además, el tiempo de crianza óptimo no es el mismo para todos los vinos y no todas las maderas poseen aptitudes enológicas para ser utilizadas en tonelería. Por otro lado, es importante destacar que los procesos tecnológicos aplicados de forma inadecuada a las barricas pueden provocar aromas no armoniosos con las características organolépticas del vino o incluso desagradables, por lo que

periódicamente hay que hacer un control y un buen mantenimiento de las barricas usadas para evitar la producción de sabores y olores indeseables.

Finalmente, el conocimiento y el control de todos estos aspectos se hacen necesarios para que la crianza en barrica sea indudablemente un complemento indispensable de la tipicidad y carácter de los grandes vinos envejecidos.

3.1.3. La hegemonía de la madera de roble en los procesos de crianza

La utilización de los envases para almacenar y transportar vinos y otros alimentos entre las zonas productoras y consumidoras puede remontarse a la época romana. Por lo tanto, las barricas de madera sustituyeron las ánforas de barro, muy utilizada en aquella época, principalmente por ser más resistentes, menos pesadas y más fácil de manejar (VIRIOT et al., 1994). Además, los comerciantes y viticultores de la época notaron que los vinos almacenados en las ánforas de barro rápidamente tomaban gustos desagradables, mientras que el vino almacenado en barricas de madera, no sólo se conservaba durante mucho más tiempo sino que además, los vinos adquirirían gustos y sabores muy agradables (CHATONNET et al., 1990).

No se han encontrado reseñas históricas que documenten cuándo y cómo se impuso el roble sobre otras maderas como el castaño, cerezo, acacia, pino, entre otras, en la elaboración de barricas. Sin embargo, las razones parecen ser claras y de fácil comprensión. El roble era abundante en Europa y mecánicamente era la madera más resistente que existía en el continente. De esta manera, el roble fue ganando fama con el paso del tiempo, debido a que sus barricas o toneles eran más resistentes y duraderos. Además, esta madera era capaz de modificar favorablemente las características gustativas y olfativas del vino, congregando en una misma madera los dos aspectos más importantes para un recipiente destinado al almacenamiento prolongado de vinos: buenas propiedades mecánicas y desarrollo de aromas y sabores agradables.

3.1.3.1. Especies y orígenes de las maderas de roble más utilizadas en tonelería

Botánicamente el roble pertenece al género *Quercus* que agrupa más de 250 especies de árboles. Corresponde a la familia de las *Fagáceas*, subfamilia *Quercoidae* y se divide en dos subgéneros: *Cyclobalanopsis* y *Euquercus* (FERNANDÉZ DE SIMÓN & CANDAHÍA, 2007). Este último subgénero contiene las especies más importantes desde el punto de vista enológico las cuales son ampliamente utilizadas en tonelería. Se trata del *Quercus petraea* (*Q. sessilis*), *Quercus robur* (*Q. pedunculata*) y *Quercus alba* (GUIMBERTEAU, 1992; CHATONNET, 2001).

La mayor parte de las especies de roble con alto potencial enológico se distribuyen en las zonas templadas del hemisferio norte (Figura 3.1). Sin embargo, las regiones de Francia y de Norte América son las más conocidas en el medio tonelero, debido a su especial climatología y a las características particulares de suelo, que permiten el desarrollo óptimo de varias especies de roble con una producción de madera de altísima calidad. Este es el motivo por el cual muchas veces clasificamos los robles acorde a su origen geográfico, es decir, roble Americano y roble Francés, sin distinción entre especies.

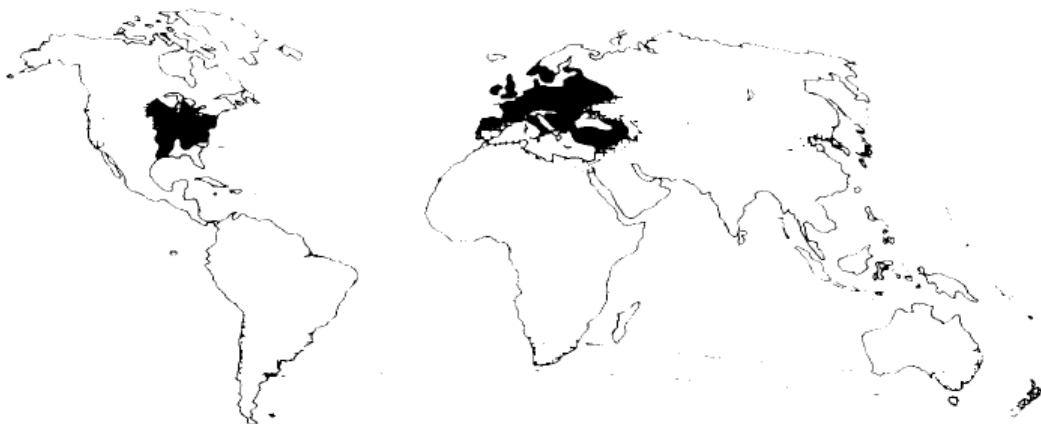


Figura 3.1. Principal regiones forestales de madera de roble del mundo.

Particularmente en Francia es cultivado el roble de las especies *Quercus petraea* y *Quercus robur* distribuidos en varias regiones. En la región Central (Allier, Tronçais y Nevers), así como en las regiones de Bourgogne, Voges y Argonne, podemos encontrar bosques de la especie *Quercus petraea*, que se adapta bien a los suelos arenosos menos fértiles y a la baja luminosidad. Mientras que en la región de Limousin y Aquitania se cultiva fundamentalmente el roble de la especie *Quercus robur*, que necesita de suelos más fértiles y de mayor iluminación. En Norte América, son cultivados exclusivamente los robles de la especie *Quercus alba*, distribuidos en los bosques de los estados de Missouri, Ohio, Illinois, Tennessee, Oregón, Virginia, Carolina del Norte y Kentucky.

Sin embargo, debido al agotamiento de las principales masas forestales de roble y a que las especies *Q. robur* y *Q. petraea* se desarrollan por otras partes del continente europeo, en los últimos años se ha comenzado a estudiar y considerar la utilización de robles de otros países con fines enológicos (CHATONNET & DUBOURDIEU, 1999; PRIDA & PUECH, 2006), que además de aportaren maderas de buena calidad enológica, ofrecen menores costes en la fabricación de las barricas. De entre ellos, se destacan países del Este Europeo como Hungría, Rumania, Rusia y Ucrania.

En el caso particular de España, la necesidad de nuevas fuentes de suministro de madera de calidad para tonelería ha llevado consigo la evaluación de otras especies de madera de roble para llevar a cabo los procesos de envejecimiento. En este sentido, recientes estudios han demostrado el potencial enológico de la madera de roble *Quercus pyrenaica*, especie autóctona de la Península Ibérica, como alternativa a los robles tradicionales tanto por sus características químicas, como por sus propiedades mecánicas (ALAÑÓN et al., 2011a; FERNÁNDEZ DE SIMÓN et al., 2006 y 2008). Por otro lado, en los últimos años, también se han realizados estudios acerca de la composición química de las especies *Q. petraea* y *Q. robur* cultivados en nuestros bosques. Los resultados demuestran que ambas las especies cultivadas en

España, presentaban ciertas similitudes en su composición química con sus homólogos de origen francés (FERNÁNDEZ DE SIMÓN et al, 2003; GUCHU et al., 2006).

Sin embargo, en la actualidad, todavía persiste la hegemonía de las maderas de roble francés y americano en la fabricación de barricas.

3.1.3.2. Propiedades físicas de la madera de roble

Para la fabricación de las barricas, la madera de roble debe cumplir una serie de características físico-mecánicas tales como, alta resistencia y durabilidad; facilidad de hendido y aserrado para la producción de duelas; buena aptitud al doblado por acción del calor; buen aislamiento térmico para la conservación del vino y porosidad adecuada con el fin de favorecer los procesos de microoxigenación del vino y evitar las fugas. Estas características exigen una estructura especial que sólo poseen algunas especies.

De las distintas capas que componen la sección transversal de un tronco, únicamente el duramen, capa más interna desprovista de la corteza y de otras capas exteriores (Figura 3.2), es la que se utiliza para la obtención de madera destinada a los procesos de crianza en el sector enológico. Sin embargo, unos de los principales hechos que condicionarán de forma decisiva tanto el comportamiento mecánico como la composición química de las maderas de roble es el tamaño del grano, que está condicionado por el crecimiento anual de los árboles.

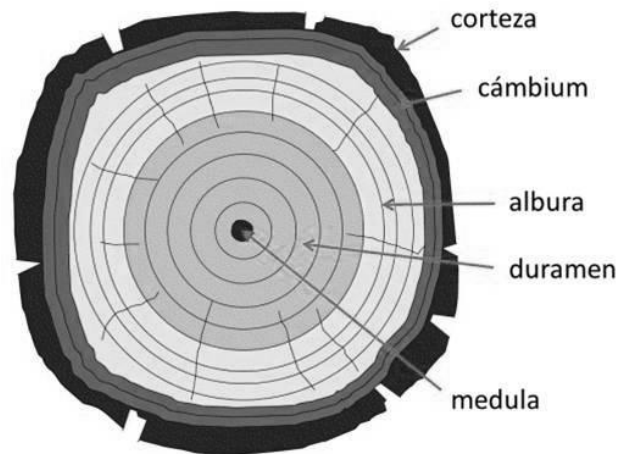


Figura 3.2. Distintas capas que componen un corte transversal de un tronco.

El crecimiento anual de los árboles está relacionado con la actividad del cambium, que formará los anillos de crecimiento que hacen aumentar el tamaño del tronco, formando madera nueva hacia el interior y corteza hacia el exterior. Los anillos de crecimiento son compuestos por madera de primavera, con gran cantidad de vasos gruesos y paredes celulares delgadas, y por madera de verano, con vasos de muy pequeño tamaño y menos numerosos (Figura 3.3). La velocidad de crecimiento determinará la anchura del anillo, que a su vez, condicionará el tamaño del grano, utilizado en tonelería para identificar las características de cada madera (FEUILLAT et al., 1992).

Se denomina roble de grano fino a aquel que presenta una velocidad de crecimiento anual pequeña, mientras que el roble de grano grueso será aquel que presente un crecimiento anual rápido (POLGUE & KELLER, 1973). Evidentemente, el tamaño y regularidad del grano no sólo van a depender de la especie de roble, sino que también las condiciones edafoclimáticas y las prácticas silvícolas tendrán una influencia en ellos (VIVAS et al., 2001). Los robles de grano fino, al poseer un mayor número de crecimientos anuales por unidad de superficie, presentan una mayor proporción de madera de primavera y por tanto presentan una mayor porosidad, que los robles de grano grueso (FEUILLAT et al., 1993; VIVAS, 1997).

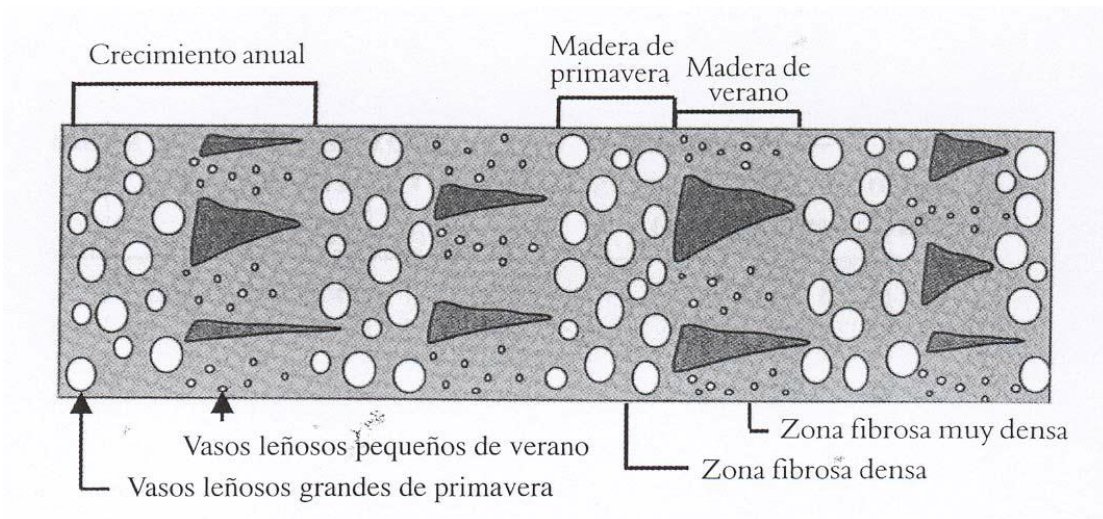


Figura 3.3. Estructura de la madera de roble (ZAMORA, 2003).

Se considera grano muy fino cuando el tamaño del crecimiento anual es menor de 1 mm, grano fino cuando es de 1 a 2 mm, grano medio si su tamaño oscila entre 2 y 4 mm, grano grueso si tiene entre 4 y 5 mm y con más de 5 mm es considerada una madera de grano muy grueso (VIVAS, 1995). Concretamente la especie *Q. petraea* presenta un grano entre fino y medio, *Q. robur* un grano entre grueso y muy grueso y *Q. alba* presenta un grano de medio a grueso (CHATONNET, 2001; VIVAS, 2002). Sin duda este hecho, condicionará de forma decisiva tanto el comportamiento mecánico como la composición química de la madera de roble utilizada en tonelería.

3.1.3.3. Composición química de la madera de roble

Como hemos visto anteriormente, solo el duramen de la madera de roble se utiliza en tonelería para la fabricación de barricas. Su composición básica varía poco de una especie a otra, y está constituida principalmente por celulosa (50%), hemicelulosa (20%) y lignina (30%). Sin embargo, la madera de roble también contiene otros compuestos de menor peso molecular, tales como ácidos volátiles y no volátiles, azúcares, esteroides, terpenos, taninos hidrolizables (ellagitaninos) y

lactonas (Figura 3.4), que pueden ser extraídos hacia los vinos durante los procesos de crianza (MAGA, 1984; NYKANEN, 1986).

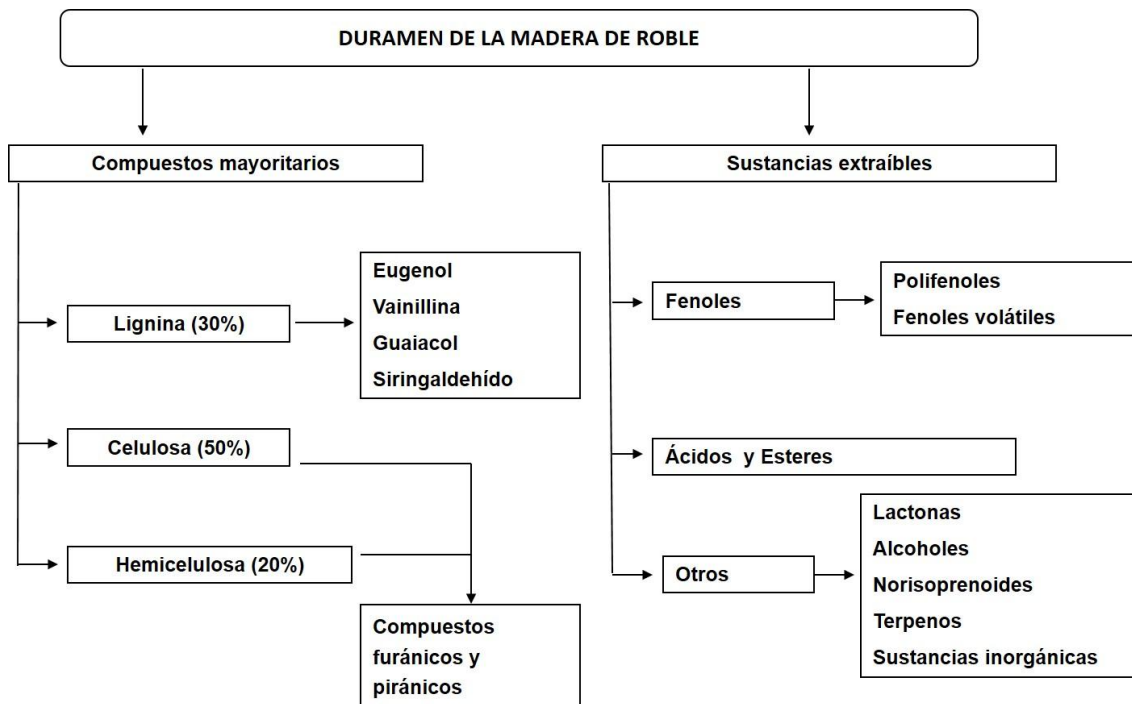


Figura 3.4. Composición química del duramen de roble

Celulosa, hemicelulosa y lignina son sustancias insolubles, pero algunos de sus monómeros pueden ser parcialmente extraídos en soluciones hidroalcohólicas, como el vino. Algunos de los compuestos así extraídos tienen interesantes cualidades organolépticas y contribuyen de forma decisiva en el color, sabor y olor de los vinos envejecidos (BOIDRON et al., 1988).

Compuestos volátiles

Este grupo está formado por compuestos de diversa naturaleza y estructura que componen, en gran medida, la fracción más importante de sustancias extraíbles de la madera de roble. Son responsables del aroma y sabor que conforman en parte el tan apreciado “*bouquet*”, típico de los vinos sometidos al proceso de crianza. Entre ellos, merecen ser destacados los aldehídos fenólicos y las fenil cetonas; los fenoles

volátiles; las whisky lactonas o lactonas de roble; los compuestos furánicos; los terpenos y norisoprenoides; los alcoholes y aldehídos de cadena lineal, los cuales serán detallados a seguir.

Los aldehídos fenólicos provienen de fragmentos derivados de la lignina a través de los procesos de hidrólisis, pirolisis y reacciones de oxidación. El principal de ellos es la vainillina, responsable del aroma a vainilla, muy característico de los vinos de crianza. En general, este compuesto se encuentra en altas concentraciones en los vinos y posee un umbral de detección olfativa de $0,32 \text{ mg L}^{-1}$ en los vinos tintos (BOIDRON et al., 1988). Otros compuestos de esta familia, como el siringaldehído, coniferaldehído y sinapaldehído, también pueden ser encontrados en los vinos, pero no parecen aportar ninguna nota sensorial debido a sus altos umbrales de percepción olfativa, aunque podrían contribuir de alguna forma en el aroma global de los vinos de crianza. Por otro lado, las fenil cetonas, tales como, acetovainillona, propiovainillona y butirovainillona, procedentes sobre todo de la vainillina, sí que participan del aroma debido a sus notas avainilladas (CHATONNET, 1998b).

Los principales fenoles volátiles son el guaiacol y sus derivados, 4-etil guaiacol y 4-vinil guaiacol, junto con el eugenol e isoeugenol. Son producidos por la ruptura de la lignina durante los procesos de secado y tostado y generan un importante impacto sensorial en los vinos criados en madera. El primer grupo contribuye a aromas medicinales, tostados y humo, mientras que el segundo imparte características aromáticas a clavo y a roble (BOIDRON et al., 1988; DÍAZ-MAROTO et al., 2008).

Los dos isómeros de las lactonas (*cis*- y *trans*- β -metil- γ -octalactonas), también llamadas whisky lactonas o lactonas de roble, ya que solo se encuentran en este tipo de madera (MASUDA & NISHIMURA, 1971), proceden de la degradación de los lípidos de la madera e influyen directamente en el carácter sensorial del vino (MOSEDALE et al., 1999). Se tratan de uno de los principales compuestos presentes en la fracción extraíble de la madera. El umbral de percepción de estos dos isómeros es de $0,092 \text{ mg L}^{-1}$ para el isómero *cis* y $0,49 \text{ mg L}^{-1}$ para el isómero *trans* (ABBOT et

al., 1995). Se les atribuyen aromas principalmente a madera, roble, y coco (BOIDRON et al., 1988; SPILLMAN 1997; SPILLMAN et al., 1998; POLLNITZ et al., 1999; PÉREZ-COELLO et al., 1999), mientras que, en ocasiones, sus altas concentraciones en los vinos son asociadas a un intenso aroma a vainilla y a notas especiadas (SPILLMAN et al., 1998).

La relación entre los isómeros *cis* y *trans* de las whisky lactonas se ha utilizado como medio de diferenciación de robles de diferentes orígenes. La relación de isómeros es alta (entre 5 y 9) en los robles americanos *Q. alba*. Mientras que la proporción es ligeramente diferente en roble francés de la especie *Q. petraea*, entre 1 y 5, dependiendo de la región geográfica de origen (Vosges, Centre, y Allier) (WATERHOUSE & TOWEY, 1994; PÉREZ-COELLO et al., 1999), mientras que *Q. robur* posee bajos niveles de ambos isómeros (FEUILLAT et al., 1997).

Los compuestos furanos y algunos otros heterociclos volátiles son originados a través de la termodegradación de la celulosa y hemicelulosa de la madera, siendo el furfural y sus derivados, 5-metilfurfural y 5-hidroximetil furfural, los más importantes. Estos compuestos ceden a los vinos envejecidos características sensoriales agradables, siempre y cuando sus concentraciones sean moderadas. Poseen aromas caracterizados por notas tostadas, de caramelo, miel y de almendras tostadas, (CHATONNET, 1998b). Concentraciones más elevadas de estos compuestos podrían enmascarar los atributos varietales y fermentativos de los vinos, además de generar aromas a quemado, que son muy desagradables para los consumidores (GUCHU et al., 2006b).

Otros compuestos formados por la termodegradación de la celulosa y hemicelulosa son las cetonas cíclicas y los heterocíclicos nitrogenados. Los primeros, corresponden a sustancias como el maltol y el furaneol, que posee umbrales de detección muy bajos, 0,2 y 5 mg L⁻¹, respectivamente, y aportan a los vinos aromas a caramelo, azúcar tostado, entre otros (CHATONNET, 1998b). Los segundos, forman

parte de las dimetilpirazinas, pirrolcarboxaldehído y piridinas, que aportan a los vinos aromas a cacao, café y pan tostado (CHATONNET, 1999).

Los terpenos y norisoprenoides, tales como el linalol y sus derivados, α -terpineol, β -ionona, 3-OH- β -damascona, vomifoliol, entre otros, se encuentran de forma natural en las maderas de roble de diversos orígenes (PEREZ-COELLO & DÍAZ-MAROTO, 2009). Los norisoprenoides son importantes desde el punto de vista sensorial, aunque se encuentren en bajas concentraciones, por impartir notas a tabaco, té y a frutas en los vinos (SELFON, et al., 1990). Por otro lado, los terpenos presentan aromas más florales, a frescos y a verde.

Sin embargo, la madera de roble posee algunos compuestos volátiles que pueden transmitir aromas desagradables a los vinos, tales como a “serrín” o aroma de madera seca que es perceptible en algunos vinos criados en barricas de roble. Las sustancias responsables de estos aromas son alcoholes y aldehídos de cadena lineal, como el (E)-2-nonenal, 3-octen-1-ona, (E)-2-octenal, y 1-decanal, (CHATONNET & DUBOURDIEU, 1998b).

Compuestos fenólicos

La fracción fenólica de la madera de roble también desempeña un importante papel en la obtención de vinos de calidad. No solo por la liberación de compuestos fenólicos propios de la madera, sino también por la interacción con otros compuestos del vino y por la evolución de algunos componentes como consecuencia de los procesos de microoxigenación. Los compuestos fenólicos están implicados en la estabilización del color, en los procesos de copigmentación, en la protección contra la oxidación y en la astringencia de los vinos tintos envejecidos (VIRIOT et al., 1993; DARIAS-MARTIN et al., 2001).

Como hemos visto anteriormente, los aldehídos fenólicos, principalmente la vainillina, originados a partir de la degradación térmica de la lignina, tiene comprobada

su importancia en la crianza de los vinos debido al aporte del potente y agradable aroma a vainilla. Pero además, los aldehídos fenólicos pueden servir como intermediarios en las reacciones entre flavonoles y antocianinas (SOMERS, 1971), produciendo pigmentos tipo catequinpirililo. Estos pigmentos poseen un color rojo anaranjado muy característico de los vinos envejecidos en barricas de roble, y son denominados de “*oaklins*”, que pueden participar en la estabilización del color de los vinos tintos de crianza (SOUSA et al., 2005).

En las maderas de roble también se han identificado algunos ácidos fenólicos, tales como, ácido gálico, vainillínico, siríngico, ferúlico, sinápico, elágico, entre otros, que son procedentes de las vías biosintéticas de los compuestos fenólicos o de la oxidación de sus correspondientes aldehídos fenólicos. De entre todos ellos, el ácido gálico y el ácido elágico son los más importantes (CANAS et al., 2000).

La presencia del ácido elágico en estado libre se explica por una hidrólisis parcial de los elagitaninos presentes en la madera de roble (VIRIOT et al., 1994). Por otro lado, el origen del ácido gálico sigue siendo incierto, aunque algunos autores apuntan la hidrólisis de los galotaninos como su posible fuente (VIVAS, 2002).

Desde el punto de vista sensorial, el ácido gálico contribuye a las sensaciones de acidez de los vinos, mientras que el ácido elágico puede considerarse bastante neutro (VIVAS 1997). Además, ambos ácidos pueden participar en la evolución del color del vino tinto mediante su contribución como posibles copigmentos (MAZZA et al., 1990), y mediante su posible efecto protector de la oxidación de los antocianos (VIVAS & GLORIES, 1996).

Otros compuestos fenólicos encontrados en las maderas de roble son las cumarinas. Estos compuestos son considerados derivados de los ácidos hidroxicinámicos que se forman mediante esterificaciones intramoleculares (PUECH & MOUTOUNET, 1988; RIBÉREAU-GAYON et al., 1999). Son encontrados en la forma de heterósido (muy amargas) o en forma de sus correspondientes agliconas (menos amargas). La escopoletina es la cumarina más importante, sobre todo en la especie *Q*.

alba. Sin embargo, otras cumarinas como la esculina, umbeliferona y 4-metil umbeliferona también pueden ser encontradas en las maderas de roble (PUECH & MOUTOUNET, 1988).

No obstante, los principales polifenoles derivados de la madera de roble son los taninos hidrolizables, que se diferencian en galotaninos y elagitaninos en función de si por su hidrólisis ácida liberan ácido gálico o ácido elágico, siendo los taninos elágicos los más importantes.

Los taninos gálicos están formados por una molécula de glucosa, cuyos grupos hidroxilos están esterificados total o parcialmente con moléculas de ácido gálico. Presentan sabor ácido, ligeramente astringente y muy amargo, pero su contribución a las características sensoriales del vino es mínima, visto que la madera de roble no posee grandes cantidades de este tipo de taninos (VIVAS, 1997).

Por otro lado, los taninos elágicos son una clase compleja de polifenoles bastante abundantes en las maderas de roble. Se han identificado varios compuestos correspondientes a las formas monómeras, dimeras y pentosiladas, tales como, vescalagina, castalagina, grandinina y las roburinas A, B, C, D, E, siendo de todos ellos, la vescalagina y la castalagina los principales (SCALBET et al., 1989; VIRIOT et al., 1994). Estos compuestos están involucrados en las reacciones de condensación de antocianos y taninos con acetaldehído, promueven la oxidación del etanol en etanal y favorecen la polimerización de los flavonoles del vino, uniéndose a ellos formando complejos flavanoelagitaninos (SAUCIER et al., 2006). Por esta razón, una pequeña parte de los elagitaninos aportados por la madera se encuentran en el vino en la forma libre, contribuyendo a las sensaciones de amargor y astringencia (GLABASNIA & HOFMANN, 2006). Esto es importante desde el punto de vista sensorial, ya que si las concentraciones de elagitaninos son elevadas, darían lugar a vinos con características organolépticas no deseadas, a lo que se denomina "sabor a tablón". Sin embargo, las concentraciones de elagitaninos se ven bastante reducidas por el procesado que sufre

la madera durante la fabricación de las barricas, principalmente durante el proceso de tostado.

3.1.3.4. El tostado de las maderas de roble

Tostar la superficie interna de las duelas es una práctica común empleada en tonelería para la fabricación de las barricas. Inicialmente, durante el ajuste de las duelas en los aros de montaje, estas sufren un calentamiento rápido (alrededor de 15 minutos) que permite su flexibilización, haciendo posible doblarlas mediante acción mecánica y adaptarlas a la forma característica de las barricas. A este proceso se denomina “domado de las duelas” o “tostado de formación”. Posteriormente se aplica otra fase de tostado conocida como “tostado de afinado” durante el cual, el contacto de la madera con el fuego provoca toda una serie de transformaciones químicas que modifican el conjunto de sustancias que la barrica aportará al vino durante la crianza. Evidentemente, el tiempo de contacto de la madera con el fuego determinará que estas transformaciones sean de mayor o menor intensidad y por lo tanto el tiempo de tostado influirá en gran medida sobre el cambio químico y sensorial de la madera al vino.

Hoy en día se definen tres tipos distintos de tostado (Tabla 3.1), de acuerdo con el tiempo de duración, la temperatura y la superficie de la madera quemada. No obstante, hay que tener en cuenta que cada tonelería tiene su protocolo de tostado y que por tanto sus criterios pueden ser diferentes.

Tabla 3.1. Tipos de tostados de las maderas de roble más utilizados en tonelería.

Tostado	Duración (min)	Temperatura (°C)	Superficie (mm)
Ligero	30	120 – 130	3 – 5
Medio	35 – 40	160 – 190	< 5
Fuerte	45	200 – 230	> 5

El calor producido durante el tostado medio degrada la lignina produciendo un incremento de los fenoles volátiles, guaiacol y eugenol, y de los aldehídos fenólicos como la vainillina y el siringaldehído. Por otro lado, un tostado más fuerte, con temperaturas más elevadas reducen los contenidos de estos compuestos como resultado de su pérdida por carbonización (CHATONNET, 1998 y 1999; PÉREZ-COELLO et al., 1999).

Aunque, generalmente, los tostados medio y fuerte producen una disminución en el contenido de lactonas de roble, el tostado ligero puede aumentar los niveles de estos compuestos. El incremento en la concentración de las lactonas de roble con el tostado se ha justificado por su liberación a partir de sus precursores: el ácido β -D-glucopiranosilo-3-metil octanoico y su derivado 6-O-gallato (MASSON et al., 2000).

El calentamiento de la madera también se traduce en la formación de productos de la degradación de los hidratos de carbono (celulosa y hemicelulosa), tales como el furfural, 5-metil furfural, furfural alcohol, entre otros (CHATONNET, 1998).

El tostado también origina otra serie de compuestos como resultado de la reacción de Maillard. Éstos incluyen el cicloteno, el maltol y sus derivados (hidroximaltol y dihidroximaltol), la 2,3-dihidro-5-hidroxi-2-metil-4(H)-piranona (DHM) y su derivado 5-hidroxi (DDMP) y el furaneol. El impacto sensorial de estos compuestos puede jugar un papel importante en los aromas tostado, quemado, o caramelo de los vinos criados en barricas (CUTZACH et al., 1997 y 1999). Sin embargo, si estos compuestos se encuentran en concentraciones elevadas, las agradables notas a tostado pueden tornarse a evidentes aromas a quemado, o torrefacto, los cuales incluso pueden llegar a enmascarar la percepción del resto de los aromas del vino. Por este motivo, y debido a que la concentración de estos compuestos está íntimamente relacionada con la intensidad del tostado, resulta de vital importancia controlar el proceso de tostado con el fin de obtener siempre un vino de calidad.

Pero además, el tostado también provoca la degradación de los elagitaninos, acentuándose este efecto al aumentar el tiempo y la temperatura de tratamiento, hasta

poder llegar incluso a la eliminación total de los elagitaninos en la capa superficial de la madera tostada (SARNI et al., 1990). Esta práctica, muy utilizada sobre todo por las tonelerías francesas, reduce considerablemente la sensación de amargor y astringencia debida a la reducción causada en la concentración de elagitaninos.

Por tanto, el tostado de las duelas es de fundamental importancia para la crianza de los vino de calidad e influirá directamente en su composición química y sensorial. Cabe al enólogo, escoger la barrica con el grado de tostado más adecuado, que mejor se adapte a las características de los vinos que pretende elaborar.

3.1.4. Efecto del envejecimiento en las características organolépticas de los vinos

Los cambios en el color, aroma y en las sensaciones táctiles de los vinos de crianza se da principalmente debido a la difusión lenta y continua del oxígeno a través de los poros de la madera y por la cesión al vino de compuestos propios de la madera de roble (DUBOIS, 1989), los cuales, son directamente influenciados por el origen geográfico y la especie de roble utilizada (FERNÁNDEZ de SIMÓN et al., 2003; GUCHU et al., 2006), por los procesos de secado y tostado que la madera ha sufrido (DOUSSOT et al., 2002), así como por el tiempo de contacto del vino con la barrica, el tamaño de la barrica y por el número de veces que esta ha sido utilizada (PÉREZ-PRIETO et al., 2002).

De entre todos los compuestos cedidos por la madera de roble, las sustancias volátiles tienen una gran importancia debido a su notable aportación de aromas y sabores característicos de los vinos envejecidos. Muchos compuestos volátiles de la madera de roble se han descritos, pero solo algunos de ellos tienen un impacto significativo en las características sensoriales de los vinos.

Una de las principales características sensoriales que adquieren los vinos envejecidos en barricas se refiere a las notas aromáticas descritas como madera, o a roble, y coco, originadas a partir de las *cis*- y *trans*- β -metil- γ -octalactonas (MASUDA et

al., 1971; ABBOT et al., 1995). Además, los vinos criados en barricas de roble posee otros importantes atributos desde el punto de vista sensorial, tales como, aroma a vainilla, que tiene su origen a partir de la vainillina, aroma a clavo, originado a partir del eugenol, aroma a especias y a humo, atribuidas al guaicol, y notas a tostado y a caramelo, originadas a partir del furfural y sus derivados (RIBÉREAU-GAYON et al., 2000; GARDE-CERDÁN et al., 2006). El conjunto de todos esos atributos forma parte del tan apreciado “*buquet*” de los vinos tintos envejecidos.

No obstante, las notas florales y afrutadas, características de los vinos jóvenes, disminuyen considerablemente durante los procesos de crianza. Esto se debe, al menos en parte, a la evolución de los compuestos volátiles de origen fermentativo y varietal, responsables de estos aromas, los cuales ven reducidas sus concentraciones durante el envejecimiento de los vinos (ORTEGA-HERAS et al., 2004). Además, los aromas aportados por la madera pueden llegar a enmascarar los aromas primarios y secundarios. Sin embargo, la crianza de los vinos solo es óptima cuando los aromas aportados por la madera compensan las pérdidas de los aromas frutados y florales de los vinos jóvenes, encontrando un equilibrio perfecto y armonioso entre aromas primarios, secundarios y terciarios.

Por otro lado, en los vinos tintos jóvenes, los antocianos están presentes en las formas de catión flavilio, que posee color rojo, y en las seudobases quinoidales, de color azul, lo que manifiesta el color rojo violáceo típico de estos vinos. Durante el envejecimiento el color de los vinos empieza a experimentar cambios de forma lenta, desaparecen los tonos azul violáceos y aparecen tintes amarillo naranjas, es decir, el vino pasa de un color rojo violáceo a un color rojo teja.

En lo que se refiere a los cambios del color, estos están relacionados con la formación de nuevos pigmentos poliméricos que tienen lugar durante los procesos de envejecimiento de los vinos, a través de distintas formas. Estos nuevos pigmentos son más estables a la descoloración por el sulfuroso y a los cambios del pH, y son más

resistentes a la oxidación, propiedades sumamente importantes en el mantenimiento del color para la obtención de vinos tintos de calidad.

Uno de los fenómenos que ocurre en estos vinos es la polimerización de los flavonoles y flavan-3-oles, que en condiciones de suave acidez, forman procianidinas de distintos grados de polimerización, las cuales, van aumentando con el paso del tiempo. Esta polimerización, en presencia del oxígeno y mediada por acetaldehído forma nuevos compuestos que provocarán un aumento de la tonalidad amarilla en los vinos (aumento del grado de insaturación de la molécula), además de la disminución del gusto amargo y de la astringencia de los vinos (BEART et al., 1985).

Sin embargo, eso no explica del todo los cambios de color ni la estabilidad del mismo manifestados por los vinos durante el envejecimiento. Estos cambios suelen ser explicados por la progresiva formación de pigmentos condensados resultantes de la interacción entre los antocianos y otros productos fenólicos, más concretamente por la reacción directa entre antocianos y flavanoles (condensación antocianinas-taninos; y condensación taninos-antocianinas).

La condensación antocianinas-taninos (A-T) trata de la reacción en la cual las antocianinas bajo forma catiónica, reaccionan sobre las posiciones negativas de las procianidinas, formando un flaveno, que en un medio oxidante, da lugar a la forma flavilio combinada. Por otro lado, la condensación tanino-antocianinas (T-A) resultará en la formación de aductos flavonol-antocianos en su forma carbinol, que es incolora, el cual adquiere tonos coloreados tras sufrir una deshidratación (RIVAS-GONZALO et al., 1995; ESCRIBANO-BAILÓN et al., 2001). Ambos mecanismos de condensación, son acelerados por las presencia de elagitaninos de la madera de roble (VIVAS y GLORIES, 1996; QUIDEAU, et al., 2005), y darán lugar a pigmentos de color rojo-anaranjado, típico de los vinos de crianza, que son menos sensibles a los efectos del pH y a decoloración por el SO₂ que los antocianos libres (BAKKER & TIMBERLAKE, 1997). Además, el equilibrio que estos pigmentos presentan en sus formas conlleva a la disminución de la astringencia de los vinos.

En los últimos años se ha descubierto una nueva clase de pigmentos, denominados “*oaklins*”. Estos nuevos pigmentos poseen color rojo anaranjado y son formados por las interacciones entre antocianos-flavanoles unidos a ciertos aldehídos fenólicos de la madera de roble y pueden participar de la estabilización del color de los vinos tintos de crianza (SOUSA, et al., 2005).

Como podemos ver, el proceso de crianza es una de las etapas más importantes y fundamentales a la hora de obtener vinos de calidad. Durante la crianza, no solo se ven mejoradas las características cromáticas del vino sino que también éste adquiere aromas y sabores característicos, los cuales son muy valorados y apreciados por el consumidor, lo que supone un valor añadido para el producto.

Sin embargo, el excesivo y exclusivo uso de la madera de roble en los procesos de envejecimiento está generando un agotamiento considerable de los bosques en las principales zonas productoras de roble con potencial enológico, al mismo tiempo que provoca una homogeneidad en la oferta actual de vinos. Por lo tanto, la búsqueda de nuevas alternativas a madera de roble cobra especial interés.

3.1.5. El papel de la madera de castaño en enología

Otros tipos de madera, distintos de la madera de roble, como por ejemplo, el castaño, el cerezo, la acacia, el fresno y la morera, se están considerando últimamente como posibles fuentes alternativas a la madera de roble para su uso en tonelería, con el fin de aportar características especiales a los vinos envejecidos (DE ROSSO et al., 2009; FERNÁNDEZ DE SIMÓN et al., 2009).

En los últimos años, algunos estudios han sido llevados a cabo para evaluar el real impacto de estas maderas en el envejecimiento de los vinos. En este sentido, De Roso et al., (2009), evaluaron la crianza de vinos elaborados a partir de la variedad tinta italiana Raboso Piave, con éstas nuevas maderas. Los resultados mostraron que

la morera es el tipo de madera menos aconsejada para llevar a cabo los procesos de envejecimiento, ya que producía en los vinos una disminución considerable de las notas afrutadas al tiempo que cedía gran cantidad de etilfenol, compuesto caracterizado por otorgar al vino olores desagradables (CHATONNET et al., 1992). Mientras tanto, el cerezo, debido a su alta porosidad y permeabilidad al oxígeno, solo es aconsejable para procesos cortos de envejecimiento, comportamiento totalmente contrario a la acacia, la cual creaba ambientes muy poco oxidantes debido a la poca porosidad que presenta esta madera, lo que la haría especialmente aconsejable para la fermentación o crianza de vinos blancos.

Recientemente, Kozlovic et al., (2010), estudiaron el comportamiento del vino blanco de la variedad Malvazija, autóctona de Croacia, ante el envejecimiento en barricas de roble y en barricas de acacia. Los resultados revelaron que los vinos criados en barricas de acacia fueron mejor valorados que aquellos envejecidos en madera de roble, debido a su mayor dulzor y sabor amielado, al mismo tiempo que presentaban una menor intensidad del sabor a madera, lo que pone de manifiesto el potencial de esta madera para la fermentación y/o crianza de vinos blancos.

Por otro lado, estos nuevos tipos de madera han sido probados para el envejecimiento de vinagres, con el fin de aumentar la oferta sensorial de estos productos. Cerezo et al., (2008 y 2010) y Callejón et al., (2009 y 2010) utilizaron las maderas de castaño, cerezo y acacia frente a la madera de roble. Los resultados mostraron que las maderas más adecuadas para llevar a cabo los procesos de envejecimientos de los vinagres eran por un lado la madera de roble, donde los atributos de madera, vainilla y dulzor eran más pronunciados, y por otro la madera de cerezo, debido al notable sabor y olor a frutas rojas que resultaban bastante peculiares y agradables a los catadores.

Sin embargo, hasta ahora sólo el uso de las barricas de madera de castaño está aprobado por el Código Internacional de Prácticas Enológicas de la Organización Internacional de la Viña y el Vino (OENO 4/2005).

En el pasado, los toneles de castaño eran ampliamente utilizados en las regiones mediterráneas, principalmente para fines de almacenamiento y transporte, debido a su amplia disponibilidad y bajo coste (SANZ et al., 2010). Más tarde, y debido a su gran contenido en ácido gálico y taninos hidrolizables (VIRIOT et al., 1994; PENG et al., 1991; SALAGOITY-AUGUSTE et al., 1987), la madera de castaño fue ampliamente utilizada en la industria enológica como fuente de tanino comercial con el fin de proteger los mostos de las oxidaciones no deseadas, contribuir a la estructura del vino y a la estabilización del color y mejora de la astringencia de los vinos (PARKER et al., 2007; SANZ et al., 2008).

No obstante, uno de los primeros trabajos de investigación que estudiaron la madera de castaño como potencial para llevar a cabo los procesos de crianza de bebidas fueron los de Canas et al., (1999 y 2000), donde el castaño fue la madera utilizada para envejecer brandies y destilados sintéticos. Más tarde, Caldeira et al., (2002 y 2006a) mostraron la posibilidad del uso de esta madera en el envejecimiento de los brandies portugueses, debido a las interesantes propiedades sensoriales, similares a los obtenidos en la crianza en madera de roble, que estos adquirirían al entrar en contacto con las maderas de castaño.

Sin embargo, hasta ahora, pocos estudios se han centrado en las implicaciones e interacciones que se producen entre los compuestos del vino y la madera de castaño durante el periodo de envejecimiento.

En estudios comparativos de la fracción fenólica de los vinos envejecidos en madera de castaño con aquellos envejecidos en madera de roble, Castellari et al., (2001) y más tarde Gambuti et al., (2010), apuntaron que los vinos envejecidos en madera de castaño eran más ricos en compuestos fenólicos, más tánicos y con mejor intensidad colorante.

Con relación a las características sensoriales, algunos estudios demostraron el potencial de la madera de castaño para la crianza de los vinos, debido principalmente al carácter afrutado más acentuado en estos vinos, en comparación con los vinos

envejecidos en madera de roble (CASTELLARI et al., 2001; ARFELLI, et al., 2007; GAMBUTI et al., 2010). Sin embargo, en estos estudios, el comportamiento de las barricas de madera de castaño solo han sido evaluados para variedades de uvas muy minoritarias específicas de determinadas zonas vitivinícolas.

3.1.5.1. Composición físico-química de la madera de castaño

La madera de castaño presenta como característica física importante una mayor porosidad que la madera de roble (DE ROSSO et al., 2009b), y por tanto, posee menor resistencia a la difusión gas-líquido. Por lo tanto, los vinos envejecidos en este tipo de madera están expuestos a un ambiente más oxidativo que los envejecidos en madera de roble, y el uso de esta madera para largos periodos de envejecimiento puede ser inadecuado (ALANÓN, et al., 2012). En este sentido, Castellari et al., (2001), indican que esta mayor porosidad de la madera de castaño puede acelerar la polimerización de los compuestos fenólicos monómeros, tales como (+)-catequina, (-)-epicatequina y antocianinas, produciéndose una reducción mayor de estos compuestos en los vinos envejecidos con madera de castaño más que en aquellos envejecidos con madera de roble.

Numerosos estudios han demostrado que la madera de castaño es adecuada para llevar a cabo los procesos de crianza de los vinos debido a la gran complejidad que presenta su composición química. En lo que se refiere a la composición volátil, Canas et al., (1999), encontraron aldehídos fenólicos como la vainillina, siringaldehído y sinapaldehído presentes en la madera de castaño, siendo la vainillina la que se encontraba en mayor concentración. Por otro lado, Caldeira et al., (2006b), identificaron por primera vez en la madera de castaño compuestos como 4-hidroxi-2-butenico lactona, 2,3-metil-1-butano, benzaldehído, acetovainillona, β -metil- γ -octalactona, guaiacol, 4-metil guaiacol, 4-propil guaiacol, 4-etil guaiacol, eugenol, isoeugenol, 4-metil siringol y 4 alil-siringol. Fernández de Simón et al., (2009), demostraron que la madera de castaño es rica en los compuestos derivados de la

lignina, destacando las concentraciones de coniferil alcohol, siringaldehído, sinapaldehído, coniferaldehído, etil vainillil éter y alcohol vainílico. De Rosso et al., (2009b) encontraron cantidades considerablemente altas, y bastante similares a aquellas encontradas en la madera de roble, de vainillina, eugenol, metoxieugenol, siringaldehído y α -terpineol. Recientemente, Alañón et al., (2012), indicaron que la madera de castaño es rica en fenoles volátiles, como por ejemplo, isoeugenol, guaiacol y metilguaiacol, así como en aldehídos fenólicos, especialmente vainillina y sus derivados.

En lo que se refiere a la composición fenólica de la madera de castaño, los primeros estudios llevados a cabo por Salagoity-Auguste et al., (1987) y Peng et al., (1991), indicaron la riqueza de esta madera en ácido gálico y elagitaninos, más concretamente castalagina y vescalagina, lo que justifica el hecho de que hasta ahora, la madera de castaño haya sido casi exclusivamente usada en la producción comercial de taninos enológicos (SANZ et al., 2008)

En los últimos años, la composición fenólica de la madera de castaño se ha estudiado más a fondo con el objetivo de potenciar su uso como madera enológica. De esta manera, Canas et al., (1999) corroboraron los estudios hechos anteriormente e indicaron el predominio del ácido gálico en las maderas de castaño. Además, estos mismos autores identificaron la cumarina escopoletina, como la principal proveniente de esta madera. Por otro lado, Alañón et al., (2011b) pusieron de manifiesto que la madera de castaño es una de las más ricas en polifenoles totales, por lo que los extractos de estas mostraron una gran actividad antioxidante *in vitro*.

De una manera general, los altos niveles de ácido gálico en las maderas de castaño se han utilizados en la literatura como un buen marcador químico de esta madera en la bebidas envejecidas en barricas de castaño en comparación con aquellas envejecidas en barricas de roble. Además, estos altos niveles de ácido gálico y sus esteres etílicos podrían tener un efecto sobre las características organolépticas de la bebidas ya que recientemente se ha demostrado estar relacionados con una

sensación de astringencia en boca, y de amargor producidas por los vinos tintos que han estado en contacto con las maderas de castaño (HUFNAGEL & HOFMANN, 2008).

Como hemos visto, la madera de castaño posee buenas características químico-físicas para su utilización con fines enológicos. Además, los primeros resultados de la crianza de los vinos en este tipo de madera han sido bastante interesantes y prometedores. Sin embargo, hay mucho trabajo que hacer, pues los pocos estudios realizados, se refieren al comportamiento de las barricas de castaño con variedades de uvas minoritarias, procedentes de regiones muy puntuales y concretas. Parámetros cruciales en la crianza de los vinos, tales como, el efecto del tostado, el tiempo de envejecimiento o el efecto que el uso de chips de madera de castaño puede tener en la composición del vino no han sido todavía estudiados con profundidad.

Por lo tanto, el principal objetivo de nuestro estudio fue el de evaluar las aptitudes enológicas de la madera de castaño para el envejecimiento de los vinos tintos de una variedad mucho más internacional como es la Tempranillo. El contacto del vino con la madera se llevó a cabo mediante el uso de barricas y mediante el uso de virutas, procedentes de la propia barrica. De este modo, se buscó la mejor combinación entre la madera, la variedad de uva utilizada y el tiempo de crianza, con la finalidad de obtener vinos de calidad semejantes a los obtenidos en la crianza tradicional con madera de roble, pero con características sensoriales distintas.

3.2. MATERIAL Y MÉTODOS

3.2.1. Vinificaciones

El estudio se llevó a cabo con un vino tinto joven, elaborado a partir de la variedad Tempranillo (*Vitis vinifera* L.), suministrado por una bodega local (Bodegas Naranja, Carrión de Calatrava, Ciudad Real, España). Después de realizar la fermentación maloláctica, el vino fue sometido a diferentes tratamientos de envejecimiento, el vino fue envejecido en barricas de castaño de 225 L, no tostadas y con tostado medio (160 – 170 °C durante 45 – 50 minutos), suministradas por Tonelería Casado (Montilla, Córdoba, España). Las características del vino fueron evaluadas justo al comienzo de los tratamientos de envejecimiento y después de tres y seis meses de crianza. Por otro lado, la forma alternativa de envejecer de manera acelerada los vinos mediante el uso de virutas también fue evaluada. Para ello se contó con las virutas de castaño obtenidas de la propia barrica anteriormente mencionada. Sólo las virutas no tostadas de castaño fueron evaluadas debido a los inconvenientes que podría presentar la utilización de virutas tostadas (GUCHU et al., 2006; SCHUMACHER et al., 2012). Para este propósito, 7 g L⁻¹ de virutas de castaño se maceraron con el vino durante un periodo de 25 días, bajo condiciones de temperatura y humedad controladas (PEREZ-COELLO et al., 2000). La evaluación de cada tratamiento se realizó por duplicado.

3.2.2. Análisis convencionales de los vinos

Los parámetros enológicos convencionales: pH, acidez total, acidez volátil, SO₂ libre, SO₂ total y grado alcohólico fueron determinados en todas las muestras de vinos consideradas. Dichas determinaciones se llevaron a cabo mediante el empleo de los métodos oficiales de la Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV), los cuales, prácticamente, han sido adoptados por el Ministerio Español de Agricultura, Pesca y Alimentación y por la Unión Europea.

La medida de pH en los vinos fue obtenida con un pH-metro *Crisol modelo 2001*, previamente calibrado con soluciones tampón de pH 7,02 y 4,00.

La acidez total es la medida de la concentración de protones del medio mediante volumetría de neutralización con NaOH 0,1 N hasta pH = 7, monitorizando el punto de equivalencia con un pH-metro *Crisol modelo 2001*. Los resultados se expresaron en g de ácido tartárico por L de vino.

La determinación de la acidez volátil se realizó mediante la separación de los ácidos volátiles por arrastre de vapor de agua, evitando la presencia de gas carbónico en el destilado, y posterior valoración del destilado con NaOH 0,1 N, empleando fenolftaleína como indicador. La acidez del anhídrido sulfuroso libre y combinado arrastrado con el destilado, debe ser restada para lo cual se siguió la norma de *JAULMES*, en la que se considera como completa la influencia del SO₂ libre y sólo la mitad del combinado.

El grado alcohólico se analizó según el método aerométrico de medida de la densidad del destilado hidroalcohólico procedente de alícuotas de 200 mL de vino previamente neutralizado. El grado alcohólico se expresó como % de etanol (v/v).

Para el análisis del SO₂ libre e total se utilizó el aparato *ENO 20*, el cual mide ambos parámetros de forma automática. Para el análisis del sulfuroso libre se introdujeron en un matraz 20 mL de vino al cual se le añadieron 2 mL de H₂SO₄ a 1/3 (la valoración debe realizarse en medio ácido) y se accionó el aparato. Para el análisis de sulfuroso total se adicionaron 2 mL de sosa 5 N (este reactivo libera el sulfuroso ligado) a 20 mL de vino y se esperaron 5 minutos. Posteriormente se añadió 4 mL de H₂SO₄ a 1/3 (para neutralizar y dejar el medio ácido para la valoración) y realizar la medida en el aparato.

3.2.3. Análisis de los compuestos volátiles mayoritarios

Para el análisis de los compuestos volátiles mayoritarios, las muestras se centrifugaron durante 30 min a 1200 rpm, bajo 4 °C de temperatura, y a continuación

se pasaron a través de lana de vidrio. A 1,5 mL de muestra de vino se le añadió 90 μL de 2-pentanol como patrón interno (1 g L^{-1}). Las muestras se inyectaron directamente, en modo split, en un cromatógrafo de gas *Hewlett Packard modelo 5890N* serie II, acoplado a un detector de ionización de llama. Para llevar a cabo la separación cromatográfica, se utilizó una columna capilar CP-Wax 57 CB Chrompack ($50 \text{ m} \times 0,25 \text{ mm d.i.} \times 0,25 \mu\text{m}$ de espesor de fase estacionaria). La temperatura del inyector y la del detector fueron de $220 \text{ }^\circ\text{C}$ y $250 \text{ }^\circ\text{C}$ respectivamente. La temperatura del horno fue de $40 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 10 min a partir de la cual se aumentó la temperatura a una velocidad de $4 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ hasta los $130 \text{ }^\circ\text{C}$. El gas portador fue He con un flujo de 1 mL min^{-1} . Los compuestos analizados fueron acetato de etilo, acetaldehído, metanol, 1-propanol, isobutanol, 2-meti-1-butanol y 3-meytil-1-butanol. La identificación se llevó a cabo comparando los tiempos de retención con los de los patrones comerciales. La cuantificación se llevó a cabo mediante el empleo de curvas de calibrado de los estándares puros.

3.2.4. Análisis de los compuestos volátiles minoritarios

Los compuestos volátiles minoritarios fueron aislados mediante la técnica de extracción en fase sólida (SPE). Un alícuota de 100 mL de vino, junto con 40 μL de 4-nonanol (1 g L^{-1}) como patrón interno, fueron fraccionados en cartuchos de estireno divinilbenceno *Licrolut EN Merck* de 0,5 g de fase, previamente acondicionados con 10 mL de diclorometano, seguidos de 5 mL de metanol y 10 mL de una solución hidroalcohólica (10 % v/v).

La elución de las muestras a través de los cartuchos se realizó a un flujo de 2 mL min^{-1} . Posteriormente, se pasaron 50 mL de agua Milli-Q para eliminar los compuestos hidrofílicos unidos a los puntos activos de la resina que pudieran interferir en la identificación de los compuestos. Finalmente, los compuestos volátiles fueron eluidos con 10 mL de diclorometano. Los extractos orgánicos fueron congelados y filtrados a través de sulfato sódico con el fin de eliminar cualquier resto de agua y

posteriormente concentrados bajo flujo de nitrógeno hasta un volumen final de unos 200 μL para su posterior análisis cromatográfico.

Para el análisis cromatográfico se utilizó un cromatógrafo de gases modelo 6890N acoplado a un detector de masas modelo 5973 *inert*, ambos de la marca *Agilent Technologies* y equipado con una columna capilar BP-21 (60 m \times 0,25 mm d.i.; 0,25 μm espesor de fase estacionaria). La inyección de los compuestos fue de 1 μL y se realizó en modo splitless (0,5 min). Las temperaturas del inyector y de la línea de transferencia fueron 250 y 280 $^{\circ}\text{C}$, respectivamente. La temperatura del horno fue 70 $^{\circ}\text{C}$ a la cual se mantuvo 5 min para después, mediante una rampa de temperatura 1 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, alcanzar la temperatura de 95 $^{\circ}\text{C}$ durante 10 minutos. Seguidamente, se aumentó la temperatura a una velocidad de 2 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ hasta alcanzar 200 $^{\circ}\text{C}$ durante 40 min. Como gas portador se utilizó He a un flujo de 1 mL min^{-1} .

La ionización de los compuestos se realizó en modo de impacto electrónico (IE) con una energía de 70 eV. La temperatura de la fuente fue de 178 $^{\circ}\text{C}$, la velocidad de barrido fue de 1scan seg^{-1} y el rango de adquisición de masas fue de 40 a 450 amu.

La identificación se basó en la comparación de los tiempos de retención y el espectro de masas obtenidos de los patrones comerciales y de las librerías *NBS75 K* y *Wiley A*. La cuantificación se llevó a cabo mediante la utilización de factores de respuesta obtenidos mediante la inyección del patrón comercial. Para aquellos compuestos de los que no poseíamos patrones comerciales, la cuantificación se llevó a cabo aplicando el factor de respuesta de aquellos patrones de estructura química semejante.

3.2.5. Análisis sensorial descriptivo

Tanto el vino control como los vinos envejecidos con madera de castaño mediante los distintos tratamientos fueron evaluados por un panel de expertos catadores con amplia trayectoria en el análisis sensorial. La evaluación se llevó a cabo en una sala de análisis sensorial normalizada (ISO 8589, 1998), equipada con cabinas

separadas. Las muestras de vino se presentaron en copas de vino estandarizadas (ISO 3591, 1997) cubiertas con un vidrio de reloj para minimizar el escape de compuestos volátiles responsables del aroma. Los jueces evaluaron tanto las sensaciones olfativas como las gustativas, así como las sensaciones táctiles de las muestras, generando términos sensoriales que describieran las sensaciones organolépticas percibidas. Finalmente, de entre todos ellos, 28 atributos fueron seleccionados por consenso con el fin de describir el aroma del vino tinto. Los panelistas usaron una escala de 10 cm no estructurada para valorar la intensidad de cada atributo, donde el extremo izquierdo de la escala indicaba una intensidad nula del descriptor y el extremo derecho, los valores máximos.

3.2.6. Medidas espectrofotométricas de los compuestos fenólicos y características cromáticas de los vinos

Los compuestos fenólicos fueron determinados siguiendo el método propuesto por Mazza et al., (1999). Las muestras de vino se diluyeron 1:10 en 10% de etanol. En 0,25 mL de las muestras diluidas se añadieron 0,25 mL de HCl al 0,1 % en etanol al 96%, junto con 4,55 mL de HCl acuoso al 2%.

Tras 15 minutos de reacción, la absorbancia de las muestras fue medida a través de un espectrofotómetro marca *Helios Gamma*, en cubetas de cuarzo de 1 cm de paso óptico, a 280 nm para los fenoles totales, 320 para ésteres de ácidos hidroxicinámicos, 360 para los flavonoles y 520 nm para antocianinas totales. Como blanco se utilizó agua Milli-Q, con el mismo tratamiento de las muestras. La cuantificación se realizó utilizando las curvas de calibración obtenidas con soluciones patrones de ácido gálico para los fenoles totales, ácido cafeico para ésteres de ácidos hidroxicinámicos, quercetina para los flavonoles y malvidina 3-monoglucósido para los antocianos totales. La familia de los flavan-3-oles también se midió de acuerdo con el método propuesto por Amerine & Ough (1980) y fueron usadas curvas de calibrado con la solución patrón de (+)-catequina para la cuantificación.

La evaluación del contenido de taninos se llevó a cabo según Ribéreau-Gayon & Stonestreet (1996), midiendo la absorbancia a 550 nm del vino diluido con agua y ácido clorhídrico y calentado (D) en comparación con el vino en la misma dilución sin calentamiento (D₀).

$$\text{Tannins (g L}^{-1}\text{)} = 19.19 \times (D - D_0)$$

La intensidad del color y la tonalidad de los vinos fueron evaluadas por medio de las absorbancias medidas a 420, 520 y 620 nm, de acuerdo con el método propuesto por Glorías (1984).

$$\text{Intensidad del color} = A_{420} + A_{520} + A_{620}$$

$$\text{Tonalidad} = A_{420} / A_{520}$$

La contribución de los antocianos copigmentados y polimerizados al color total del vino a pH 3,6 (% copigmentación y % polimerización) y el aumento del color debido a la copigmentación (Δ color) fueron determinadas según el método propuesto por Hermosín-Gutiérrez (2003).

Mientras que las características cromáticas de las muestras de vino definidas en el espacio CIELAB se obtuvieron por medio de las medidas de absorbancia a 450, 520, 570 y 630 nm, después de ajustar los valores de pH de los vinos a 3,6. Los cálculos necesarios para obtener los valores de los parámetros cromáticos L*, a*, b*, C* y H* se llevaron a cabo utilizando una aplicación informática específica para tal efecto (AYALA et al., 2001).

3.2.7. Análisis cromatográfico de los compuestos fenólicos del vino

Preparación de las muestras de vino para el análisis de los compuestos fenólicos.

Los pigmentos antociánicos presentes en las muestras de vinos suelen causar grandes interferencias en la separación cromatográfica y en la identificación de compuestos fenólicos no antociánicos. La eliminación de los pigmentos antociánicos

se llevó a cabo por medio de la extracción en fase sólida (SPE) aplicada a los vinos mediante la utilización de cartuchos *Oasis*[®] *MCX* de 6 cm³ de capacidad y rellenos con 500 mg de material absorbente de fase inversa e intercambio catiónico. Estos cartuchos permiten así, la elución de los flavonoles, ácidos hidroxicinámicos y estilbenos, mientras que los antocianos quedan retenidos en los puntos activos de la resina.

El procedimiento de preparación de la muestra fue adoptado del método desarrollado por Castillo-Muñoz et al., (2007), que además permite la reutilización de los cartuchos *MCX Oasis*, y consta de los siguientes pasos:

a) Acondicionamiento de los cartuchos: una alícuota de 5 mL de metanol fue pasada a través del cartucho con el fin de arrastrar los compuestos de polaridad intermedia que pudieran estar contaminando el relleno. Posteriormente, se lavó con 5 mL de agua Milli-Q.

b) Carga de la muestra: una muestra de 3 mL de vino fue diluida con 3 mL de HCl 0,1 N y pasada a través de los cartuchos. En este paso, el flujo es controlado, lento y constante, para garantizar la retención de todos los compuestos fenólicos de polaridad media. Además, en condiciones ácidas los antocianos están presentes como iones flavilio, por lo que son retenidos por intercambio iónico en los puntos activos de la resina. Posteriormente, se llevó a cabo un lavado con 5 mL de HCl 0,1N y 5 mL de agua Milli-Q.

c) Extracción: la fracción de los flavonoles fue eluída de los cartuchos con 3 x 5 mL de metanol. Esta fracción también contiene otros polifenoles neutros o ácidos (flavan-3-ol o taninos y derivados de ácidos hidroxicinámicos, respectivamente). El eluato se llevó hasta sequedad mediante un rotavapor a 40 °C y posteriormente fue redisolto en 3 mL de metanol al 25% para su inyección en el sistema HPLC.

d) Regeneración de los cartuchos: los antocianos fijados en la resina fueron eluídos utilizando 3 x 5 mL de amoniaco al 2% en metanol al 55%, seguido de 5 mL de

amoníaco al 2% en metanol al 80%. Finalmente el material de intercambio iónico del cartucho fue regenerado con 3 x 5 mL de HCl al 2% en metanol al 80%.

Determinación de la composición fenólica de los vinos por HPLC-DAD-ESI-MSⁿ

La identificación, separación y cuantificación de los compuestos fenólicos se llevó mediante el análisis de los extractos por cromatografía líquida de alta resolución utilizando un cromatógrafo HPLC modelo *Agilent 1100*, equipado con un detector de fotodiodos alineados - DAD (G1315B) y acoplado a un espectrómetro de masas con trampa iónica (G2445C) VL con sistema de ionización por electroespray (ESI-MSⁿ). Los datos de los espectros fueron procesados a través del software *Agilent ChemStation* (B.01.03) y el programa del *Tap Agilent LC/MS* versión 5.3.

Como fase estacionaria se utilizó una columna cromatográfica de fase inversa *Rapid Resolution Agilent Zorbax Eclipse XDB-C18*, de 150 mm de longitud x 2,1 mm de diámetro interno, con 3,5 µm de tamaño de partícula, protegida por una columna guardia *Zorbax Eclipse XDB-C18* (12,5 mm x 2,1 mm; 5 µm de tamaño de partícula). Para el análisis de los ácidos fenólicos (gálico, protocatéquico y elágico), fue utilizada una columna de fase inversa *Agilent Zorbax Eclipse XDB-C18*, de 250 mm de longitud x 4,6 mm de diámetro interno, con 5 µm de tamaño de partícula. Ambas columnas fueron termostatazadas a 40 °C.

Las condiciones cromatográficas para el análisis de los antocianos, piranoantocianos y flavan-3-oles fueron adaptadas del método de la OIV (CASTILLO-MUÑOZ et al., 2007). Las muestras de vino fueron filtradas a través de filtros de membrana de poliéster con tamaño de poro de 0,20 µm e inyectadas por duplicado, directamente en el cromatógrafo.

Como fase móvil se utilizaron los siguientes eluyentes:

Eluyente A: 3% de acetonitrilo + 87% de agua Milli-Q + 10% de ácido fórmico.

Eluyente B: 50% de acetonitrilo + 40% de agua Milli-Q + 10% de ácido fórmico.

Cada eluyente se desgasificó por ultrasonidos durante 5 minutos, con el fin de eliminar posibles burbujas que pudieran interferir en el proceso cromatográfico. No obstante, el equipo de HPLC dispone de una cámara de desgasificación previa a la bomba de flujo. El gradiente utilizado para llevar a cabo la separación viene reflejado en la Tabla 3.2.

Tabla 3.2. Gradiente de elución utilizado en el método de análisis de antocianos, piranoantocianos y flavan-3-oles.

Tiempo (min)	% Eluyente A	% Eluyente B	Flujo (mL min ⁻¹)
0	94,0	6,0	0,19
15,00	70,0	30,0	0,19
30,00	50,0	50,0	0,19
35,00	40,0	60,0	0,19
38,00	40,0	60,0	0,19
46,00	94,0	6,0	0,19

El volumen de inyección fue de 10 µL y el rango de longitudes de onda para la detección fue de 200-600 nm.

La cuantificación de los antocianos se realizó usando los cromatogramas obtenidos por el detector DAD a 520 nm de longitud de onda y empleando la curva de calibrado de la malvidina 3-glucósido. En el caso de los piranoantocianos, la cuantificación se realizó usando los cromatogramas obtenidos a 510 nm de longitud de onda y empleando las curvas de calibrado de la Vitisina A y el 10-dihidroxifenil-piranomalvidin-3-glucósido o Pinotina A. La cuantificación de los flavan-3-oles ((+)-catequina, (-)-epicatequina y procianidina B1 y B2) se realizó usando los cromatogramas obtenidos a 280 nm de longitud de onda y empleando curvas de calibrado de sus respectivos patrones.

En algunos casos, para llevar a cabo la identificación de algunos compuestos se utilizó un detector de espectrometría de masas con ionización por electroespray en modo negativo y con un analizador de masas multidimensional de trampa iónica (ESI-MSⁿ). Como gas nebulizador y de secado fue utilizado nitrógeno. La adquisición de datos se realizó con el modo SCAN, entre 100 y 1200 m/z , con los siguientes parámetros: flujo de N₂ = 11 mL min⁻¹; temperatura de secado = 350 °C; presión del nebulizador = 65 psi; voltaje del capilar = - 2500 V; voltaje a la salida del capilar = 70 V; Skimmer 1 = 20 V; Skimmer 2 = 6 V.

Para el análisis de los compuestos fenólicos no antociánicos, se usó la misma columna cromatográfica empleada en el caso de los compuestos antociánicos, pero en este caso fueron utilizados los siguientes eluyentes conforme al gradiente de elución descrito en la Tabla 3.3.

Eluyente A: 3% de acetonitrilo + 88,5% de agua Milli-Q + 8,5% de ácido fórmico;

Eluyente B: 50% de acetonitrilo + 41,5% de agua Milli-Q + 8,5% de ácido fórmico;

Eluyente C: 90% de metanol + 1,5% de agua Milli-Q + 8,5% de ácido fórmico.

Tabla 3.3. Gradiente de elución utilizado en el método de análisis de polifenoles no antociánicos.

Tiempo (min)	% Eluyente A	% Eluyente B	% Eluyente C	Flujo (mL min ⁻¹)
0	96,0	4,0	0	0,19
7,00	96,0	4,0	0	0,19
38,00	70,0	17,0	13,0	0,19
52,00	50,0	30,0	20,0	0,19
52,50	30,0	40,0	30,0	0,19
57,00	0	50,0	50,0	0,19
58,00	0	50,0	50,0	0,19
65,00	96,0	4,0	0	0,19

Al igual que en el caso de los antocianos, cada eluyente se desgasificó por ultrasonidos durante 5 minutos, con el fin de eliminar posibles burbujas que pudieran interferir en el proceso cromatográfico de líquidos.

El volumen de inyección fue de 20 μL y el rango de longitudes de ondas para la detección fue de 200 – 600 nm.

Las patrones utilizados para llevar a cabo la identificación de las sustancias fenólicas fueron: Flavonoles: 3-glucósido de quercetina, isorhamnetina, miricetina, siringetina, miricetina y quercetina 3-glucurónido; Ácidos hidroxicinámicos: ácido cafeico y ácido *p*-cumárico; Estilbenos: *trans*-piceido y *trans*-resveratrol. Los isómeros *cis* de ambos compuestos se obtuvieron mediante irradiación UV a 360 nm durante 5 minutos en viales de cuarzo de las disoluciones de los isómeros *trans* al 25% en metanol.

Para el análisis cuantitativo se utilizaron diferentes rectas de calibrado de las sustancias patrón, que fueron obtenidas a partir de las disoluciones de concentraciones crecientes de los diferentes patrones.

La cuantificación de los flavonoles se realizó usando los cromatogramas obtenidos por el detector DAD a 360 nm de longitud de onda y empleando la curva de calibrado de los patrones. Aquellos flavonoles para los que no existe patrón de referencia comercial, fueron cuantificados como el flavonol más similar (por ejemplo, miricetina 3-glucurónido y laricitrina 3-glucósido fueron cuantificados como miricetina 3-glucósido). En el caso de los derivados de ácidos hidroxicinámicos y estilbenos, la cuantificación se realizó con rectas de calibrado de los patrones comerciales registrando la medida cromatográfica a 320 nm de longitud de onda.

Al igual que en el caso de los antocianos, en algunos casos, para llevar a cabo el proceso de identificación fue utilizado un detector de espectrometría de masas con ionización por electroespray en modo positivo y negativo, con analizador de masas multidimensional de trampa iónica (ESI-MSⁿ). El nitrógeno fue utilizado como gas

nebulizador y de secado. La adquisición de datos se realizó con el modo SCAN, entre 50 y 1200 m/z , con los mismos parámetros del detector de espectrometría de masas utilizado para los antocianos.

La identificación final de los diferentes compuestos se basó en la comparación con las diferentes sustancias patrón, así como de los tiempos de retención, las características espectroscópicas en el UV – Vis y en algunos casos en los espectros de masas registrados.

El análisis de los ácidos benzoicos se basó en la metodología descrita por Fernández de Simón et al., (1999), la cual utilizó como eluyentes:

Eluyente A: 99% de agua Milli-Q + 1% de ácido fórmico;

Eluyente B: 99% de metanol + 1% de ácido fórmico;

Al igual que en los otros casos, cada eluyente se desgasificó por ultrasonidos durante 5 minutos, con el fin de eliminar posibles burbujas que pudieran interferir en el proceso cromatográfico.

El volumen de inyección fue de 50 μL y el rango de longitudes de ondas para la detección fue de 200 – 600 nm. El gradiente utilizado para llevar a cabo el análisis cromatográfico esta descrito en la Tabla 3.4.

La cuantificación de los flavonoles se realizó mediante el uso de curvas de calibrado de los patrones comerciales registrando la señal cromatográfica a 280 y 320 nm de longitud de onda.

Tabla 3.4. Gradiente de elución utilizado en el método de análisis de los derivados del ácido benzoico.

Tiempo (min)	% Eluyente A	% Eluyente B	Flujo (mL min^{-1})
0,00	95,0	5,0	0,70
15,00	65,0	35,0	0,70
30,00	57,0	43,0	0,70
32,00	0,0	100,0	0,70

40,00

95,0

5,0

0,70

Al igual que en el caso de los antocianos y flavonoles, en algunos casos, para la identificación fue utilizado un detector de espectrometría de masas con ionización por electrospray en modo negativo, con analizador de masas multidimensional de trampa iónica (ESI-MSⁿ). El nitrógeno fue utilizado como gas nebulizador y de secado. La adquisición de datos se realizó con el modo SCAN, entre 50 y 1200 *m/z*, con los mismos parámetros del detector de espectrometría de masas descritos anteriormente.

3.2.8. Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el paquete estadístico IBM SPSS versión 19 para Windows. El test de Student-Newman-Keuls fue aplicado a los datos químicos con el fin de encontrar diferencias entre las muestras que pudieran permitir su discriminación. Además, se llevó a cabo un análisis multivariante de componentes principales (PCA) con el objetivo de destacar los principales componentes responsables de las variaciones entre las muestras.

PARTE I: COMPUESTOS VOLÁTILES Y CARACTERÍSTICAS SENSORIALES DE LOS VINOS

3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.3.1. Análisis convencionales

La composición general del vino control y de los vinos tintos de la variedad Tempranillo envejecidos (pH, grado alcohólico, acidez volátil y total, y el SO₂ libre y total) fue analizada en base a los métodos oficiales anteriormente descritos. Los resultados de los parámetros convencionales revelaron el correcto desarrollo tanto de la fermentación alcohólica como de los procesos de envejecimiento (Tabla 3.5).

Tabla 3.5. Parámetros convencionales del vino control y de los vinos envejecidos (n = 2).

	Vino control	Virutas de Castaño	Barricas de Castaño no tostadas		Barricas de Castaño tostadas	
			3 meses	6 meses	3 meses	6 meses
			pH	3,6	3,5	3,6
Grado alcohólico	13,9	12,3	12,7	13,9	12,2	13,9
Acidez volátil g L ⁻¹	0,4	0,3	0,3	0,6	0,3	0,6
Acidez total g L ⁻¹	4,8	5,1	5,1	5,3	5,2	5,3
SO ₂ libre mg L ⁻¹	43,0	20,5	28,5	29,0	26,5	27,1
SO ₂ total mg L ⁻¹	68,0	31,0	42,5	55,1	34,5	54,0

Aunque los parámetros convencionales no mostraron grandes variaciones entre el vino control y los vinos envejecidos, se pudo observar como el contenido libre y total de SO₂ fue ligeramente menor en los vinos de crianza: (68,0 mg L⁻¹ para el vino control en contra de 31,0 mg L⁻¹ para el tratamiento de virutas y 42,5; 55,1; 34,5 y 54,0 mg L⁻¹ para los tratamientos con barricas de castaño). Este hecho puede ser atribuible a las pérdidas volátiles de SO₂ durante el almacenamiento de los vinos. La acidez volátil de los vinos envejecidos con castaño se vio incrementada hasta valores de 0,6 g L⁻¹ cuando se sometieron a 6 meses de estancia en barrica. Este parámetro es

considerado como un parámetro crítico para los vinos de crianza. Sin embargo, los valores encontrados en los vinos envejecidos en madera de castaño fueron aceptables.

3.3.2. Efecto de los tratamientos de envejecimiento con madera de castaño en los compuestos volátiles del vino

Un total de 121 compuestos volátiles de diferentes familias químicas (alcoholes C_6 , terpenos, C_{13} norisoprenoides, compuestos bencénicos, ésteres, ácidos, alcoholes y compuestos de tipo furano y pirano entre otros) han sido identificados en los vinos analizados. La Tabla 3.6 muestra las concentraciones de los compuestos identificados y las diferencias estadísticas encontradas entre el vino control y los vinos envejecidos con diferentes tratamientos de castaño según el test de Student-Newman-Keuls.

Los alcoholes C_6 , los terpenos y los C_{13} norisoprenoides constituyen la fracción volátil varietal de los vinos. Estas familias de compuestos volátiles juegan un papel importante en el carácter varietal de los vinos porque poseen agradables aromas afrutados y florales cuyos umbrales de percepción olfativa son muy bajos. El nivel y el perfil de estos compuestos se consideran como una característica de las variedades de uva *Vitis vinifera* (VERSINI et al., 1994). La variedad Tempranillo es considerada una variedad neutral desde el punto de vista sensorial por su bajo contenido en compuestos volátiles varietales. Pequeñas diferencias fueron encontradas en las concentraciones de los alcoholes C_6 , terpenos y C_{13} norisoprenoides a consecuencia del envejecimiento de este vino con la madera de castaño. Concretamente en el caso de los alcoholes C_6 , prácticamente, no se encontraron diferencias significativas, a excepción de algunas variaciones en compuestos como el 1-hexanol y (*Z*)-3-hexen-1-ol.

El contenido de α -terpineol y linalol aumentó durante el envejecimiento de los vinos. Por un lado, este incremento puede atribuirse al contacto del vino con la madera, debido a la extracción parcial de estos compuestos presentes en la madera

de castaño (ALANÓN et al., 2012). Pero por otro lado, el aumento de las concentraciones de α -terpineol y linalol también podría ser debido a la liberación de estos compuestos procedentes de las formas glicosiladas no volátiles o debido a la transformación de otros monoterpenos tales como el geraniol (SÁNCHEZ-PALOMO et al., 2006). Sin embargo, sólo las diferencias encontradas en el contenido de α -terpineol fueron significativas. Los valores más altos de α -terpineol fueron encontrados en los vinos envejecidos con barricas de castaño durante tres meses, especialmente en las barricas no tostadas, pero su concentración parece disminuir durante el tiempo de almacenamiento. Por otro lado, una ligera disminución en el *trans*-geraniol fue detectada, siendo más notable en los vinos almacenados en barrica durante más tiempo. Este hecho podría ser atribuible a la transformación del *trans*-geraniol en otros terpenos debido a las reacciones de oxidación (SÁNCHEZ-PALOMO, et al., 2006). Los niveles del contenido de 3-oxo- α -ionol no se vieron afectados por los tratamientos de envejecimiento, aunque un ligero aumento se observó en los vinos de crianza debido a la presencia de este norisoprenoide en la madera de castaño, la cual ha sido reportada recientemente en la literatura (ALANÓN et al., 2012).

Los compuestos bencénicos forman un grupo importante de compuestos volátiles desde el punto de vista sensorial. Entre ellos, el 2-feniletanol es el principal compuesto bencénico encontrado en los vinos, a los cuales, les proporciona aromas florales, concretamente, a rosas. Este compuesto se forma principalmente por el metabolismo de las levaduras (ETIEVANT, 1991) y sus concentraciones no fueron afectados por los procesos de envejecimiento. Los demás compuestos bencénicos fueron drásticamente influenciados por los diferentes tratamientos de envejecimiento con madera de castaño. En algunos casos, algunos compuestos bencénicos encontrados en el vino control, aumentaron sus concentraciones, así como otros aparecieron a consecuencia de su liberación procedente de la madera de castaño durante el período de envejecimiento. Estos compuestos juegan un papel importante

en el aroma del vino, aunque su influencia en el producto final puede ser positiva o negativa, dependiendo de sus concentraciones detectadas.

Las concentraciones de fenoles volátiles, tales como guaiacol, eugenol, fenol, siringol y sus derivados fueron más altas en los vinos de crianza que en el vino control. En particular, fue especialmente notable la cantidad significativa de guaiacol encontrada en aquellos vinos envejecidos mediante virutas de castaño ($116,48 \mu\text{g L}^{-1}$). Este hecho puede ser atribuible a la extracción más rápida del guaiacol (GARDECERDÁN & ANCÍN AZPILICUETA, 2006), que además parece acentuarse a consecuencia de la mayor superficie de contacto de las virutas de castaño. Sin embargo, es importante tener en cuenta que el guaiacol se asocia con sabores medicinales que podrían ser desagradables si la concentración supera su umbral de percepción olfativa, que se estima en $75 \mu\text{g L}^{-1}$ (BOIDRON et al., 1988). Con la excepción del vinil guaiacol, ningún derivado del guaiacol se detectó en los vinos envejecidos con virutas. En cuanto a los vinos envejecidos por medio de barricas, las concentraciones medias de guaiacol fueron mayores en aquellos vinos sometidos a menores tiempos de envejecimiento (3 meses), independientemente del tratamiento de tostado, aunque no se encontraron diferencias estadísticas. Por otra parte, la presencia de 4-propil guaiacol, un derivado del guaiacol, se detectó sólo en los vinos envejecidos durante seis meses. Este hecho podría indicar la transformación de guaiacol en sus derivados a lo largo del tiempo de envejecimiento.

Tabla 3.6. Concentración media ($\mu\text{g L}^{-1}$) y desviación estándar ($n = 2$) de los compuestos volátiles del vino control y de los vinos envejecidos con madera de castaño analizados por GC-MS (volátiles minoritarios) y GC (volátiles mayoritarios).

	<i>Vino control</i>	<i>Virutas de Castaño</i>	<i>Barricas de Castaño no tostadas</i>		<i>Barricas de Castaño tostadas</i>	
			<i>3 meses</i>	<i>6 meses</i>	<i>3 meses</i>	<i>6 meses</i>
Compuestos C₆						
2-hexanol [§]	20,77 ± 0,84	26,30 ± 4,25	24,61 ± 1,45	25,10 ± 0,30	28,42 ± 9,80	31,90 ± 1,33
1-hexanol	424,88 ± 6,70 ^a	473,49 ± 10,32 ^b	469,75 ± 21,28 ^b	421,40 ± 9,60 ^a	482,85 ± 8,46 ^b	448,95 ± 1,16 ^{a,b}
(<i>E</i>)-3-hexen-1-ol	12,05 ± 5,65	21,39 ± 0,31	21,25 ± 0,58	15,84 ± 2,35	21,59 ± 1,19	16,73 ± 0,80
(<i>Z</i>)-3-hexen-1-ol	45,75 ± 0,61 ^a	52,91 ± 0,36 ^b	51,27 ± 1,88 ^{a,b}	45,71 ± 2,18 ^a	53,00 ± 0,91 ^b	50,78 ± 2,53 ^{a,b}
(<i>E</i>)-2-hexen-1-ol [†]	1,69 ± 0,10	2,22 ± 0,07	1,99 ± 0,35	2,82 ± 0,86	1,94 ± 0,28	3,07 ± 1,22
(<i>Z</i>)-2-hexen-1-ol [†]	2,38 ± 0,38	2,37 ± 0,07	2,11 ± 0,23	2,15 ± 0,13	2,07 ± 0,04	2,26 ± 0,77
<i>Total</i>	507,51 ± 12,61 ^a	578,69 ± 22,17 ^b	570,98 ± 22,17 ^b	513,01 ± 10,72 ^a	589,86 ± 20,11 ^b	553,32 ± 6,21 ^b
Terpenos						
linalol	3,10 ± 0,24	6,23 ± 0,06	6,36 ± 1,81	6,89 ± 1,15	4,98 ± 1,80	5,58 ± 0,65
α -terpineol	3,38 ± 0,45 ^a	4,71 ± 0,71 ^{a,b}	9,53 ± 0,37 ^c	5,44 ± 0,04 ^b	5,76 ± 0,93 ^b	4,21 ± 0,01 ^{a,b}
<i>trans</i> -geraniol	8,46 ± 0,00 ^c	6,16 ± 0,56 ^b	5,37 ± 0,25 ^b	0,63 ± 0,90 ^a	4,61 ± 0,61 ^b	0,55 ± 0,77 ^a
<i>Total</i>	14,94 ± 0,22 ^{a,b}	17,11 ± 1,33 ^b	21,25 ± 1,99 ^c	12,96 ± 2,01 ^{a,b}	15,35 ± 3,26 ^b	10,33 ± 0,13 ^a
C₁₃ norisoprenoides						
3-oxo- α -ionol	10,33 ± 0,63	16,07 ± 4,34	14,19 ± 6,91	18,79 ± 1,61	11,00 ± 0,50	14,94 ± 0,17
Compuestos bencénicos						
benzaldehído	2,96 ± 0,18	4,24 ± 1,33	3,19 ± 1,10	2,71 ± 0,84	3,80 ± 1,44	2,86 ± 1,70
bencenoacetaldehído ^o	Nd	5,55 ± 2,42 ^b	2,55 ± 0,45 ^{a,b}	2,44 ± 0,16 ^{a,b}	2,41 ± 0,83 ^{a,b}	1,54 ± 0,61 ^{a,b}
alcohol bencílico	197,68 ± 1,50	279,19 ± 53,36	200,95 ± 3,29	232,34 ± 2,01	208,09 ± 6,42	219,56 ± 21,60
2-feniletanol	28234,28 ± 97,97	27974,77 ± 6958,84	28116,79 ± 2198,16	26063,86 ± 127,66	25456,52 ± 1659,41	22884,77 ± 802,34

Tabla 3.6. Continuación

	<i>Vino control</i>	<i>Virutas de Castaño</i>	<i>Barricas de Castaño no tostadas</i>		<i>Barricas de Castaño tostadas</i>	
			<i>3 meses</i>	<i>6 meses</i>	<i>3 meses</i>	<i>6 meses</i>
4-metil-benzaldehído ^o	65,37 ± 8,49	151,50 ± 102,17	133,58 ± 9,00	85,53 ± 2,84	68,56 ± 4,85	60,94 ± 1,93
ácido benzoico*	10,29 ± 0,46 ^a	51,96 ± 14,73 ^b	20,51 ± 2,68 ^a	21,92 ± 4,00 ^a	12,87 ± 1,78 ^a	18,56 ± 3,33 ^a
ácido fenilacético *	16,40 ± 3,07 ^a	26,61 ± 10,35 ^{a,b}	29,23 ± 3,86 ^{a,b}	35,46 ± 3,04 ^{a,b}	29,71 ± 1,66 ^{a,b}	41,23 ± 6,71 ^b
fenol ^ς	Nd	9,58 ± 3,75	7,40 ± 1,11	8,01 ± 0,67	8,74 ± 2,03	10,00 ± 0,61
4-etil fenol ⁹	Nd	Nd	Nd	860,94 ± 25,64 ^b	Nd	722,03 ± 15,83 ^a
guaiacol	13,58 ± 0,69 ^a	116,48 ± 27,80 ^c	64,63 ± 12,86 ^b	35,06 ± 1,62 ^{a,b}	72,52 ± 4,15 ^b	35,01 ± 3,08 ^{a,b}
4-metil guaiacol ^ς	Nd	Nd	25,79 ± 0,45	24,47 ± 1,25	30,91 ± 0,69	29,84 ± 6,72
4-etil guaicol	Nd	Nd	Nd	133,85 ± 5,78	Nd	123,53 ± 13,36
4-propil guaiacol ^ς	Nd	Nd	Nd	15,95 ± 7,78 ^a	Nd	35,06 ± 5,51 ^b
vinil guaiacol ^ς	20,84 ± 0,26	114,81 ± 58,69	78,67 ± 24,05	41,39 ± 8,55	78,73 ± 7,59	39,74 ± 3,61
siringol	108,44 ± 1,89 ^a	655,09 ± 296,21 ^b	381,35 ± 122,59 ^{a,b}	285,42 ± 47,03 ^{a,b}	386,31 ± 11,54 ^{ab}	242,09 ± 25,66 ^{a,b}
acetosiringona ³	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	17,88 ± 4,57
propiosiringona ³	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	46,76 ± 3,95
butirosiringona ³	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	19,68 ± 5,73
(E)-4-alil siringol	Nd	35,63 ± 15,44 ^a	35,19 ± 5,20 ^a	68,99 ± 2,23 ^a	49,53 ± 0,18 ^a	103,67 ± 21,10 ^b
(Z)-4-alil siringol	Nd	59,02 ± 32,72	54,95 ± 14,69	64,96 ± 1,49	47,86 ± 11,56	60,54 ± 6,15
metil siringol ³	Nd	1,05 ± 0,70	0,92 ± 0,21	0,69 ± 0,19	0,68 ± 0,07	0,87 ± 0,06
eugenol	Nd	43,57 ± 5,80 ^a	52,85 ± 0,78 ^a	139,37 ± 11,10 ^c	98,40 ± 1,48 ^b	162,08 ± 1,94 ^d
(E)-isoeugenol	Nd	18,19 ± 3,47 ^a	24,52 ± 2,02 ^b	62,49 ± 1,42 ^c	71,03 ± 3,35 ^d	92,12 ± 0,92 ^e
(Z)-isoeugneol	Nd	14,21 ± 7,31	5,88 ± 0,59	9,95 ± 0,75	14,18 ± 8,19	15,50 ± 0,02
vainillina	4,85 ± 0,10 ^a	40,72 ± 18,23 ^a	106,17 ± 19,40 ^b	156,72 ± 16,90 ^b	146,89 ± 4,08 ^b	240,68 ± 26,29 ^c
vainillil propan-2-ona*	Nd	23,37 ± 19,99	11,62 ± 2,93	22,27 ± 1,43	18,03 ± 5,97	26,48 ± 0,46

Tabla 3.6. Continuación

	<i>Vino control</i>	<i>Virutas de Castaño</i>	<i>Barricas de Castaño no tostadas</i>		<i>Barricas de Castaño tostadas</i>	
			<i>3 meses</i>	<i>6 meses</i>	<i>3 meses</i>	<i>6 meses</i>
metil vainillato*	Nd	1,52 ± 0,39	1,52 ± 0,25	2,03 ± 0,16	1,51 ± 0,05	2,03 ± 0,19
etil vainillato	14,85 ± 0,49	50,69 ± 32,20	21,22 ± 4,86	27,07 ± 0,79	17,62 ± 0,07	22,13 ± 0,17
acetovainillona	27,45 ± 0,47 ^a	66,33 ± 31,64 ^{a,b}	78,89 ± 16,08 ^{a,b}	135,82 ± 2,98 ^c	88,89 ± 2,84 ^b	155,01 ± 22,91 ^c
vainillil propanal*	Nd	78,35 ± 6,19 ^a	125,07 ± 3,85 ^b	380,19 ± 18,05 ^d	261,08 ± 8,96 ^c	512,05 ± 30,65 ^e
ácido vainillínico *	25,50 ± 1,03 ^a	28,58 ± 17,50 ^a	17,75 ± 0,76 ^a	16,78 ± 0,94 ^a	90,60 ± 25,84 ^b	82,62 ± 1,76 ^b
propiovainillona*	Nd	6,28 ± 2,20 ^a	8,21 ± 2,36 ^a	7,92 ± 0,11 ^a	12,36 ± 0,28 ^b	13,21 ± 0,80 ^b
butirovainillona*	5,21 ± 0,24 ^a	53,11 ± 4,58 ^b	50,70 ± 3,44 ^b	56,94 ± 6,14 ^b	42,27 ± 9,72 ^b	57,68 ± 6,28 ^b
derivado de vainillina*	Nd	53,95 ± 0,07 ^{a,b}	164,86 ± 9,13 ^c	98,53 ± 17,29 ^{b,c}	169,82 ± 49,16 ^c	123,95 ± 25,74 ^{b,c}
metil vainillin éter*	Nd	6,35 ± 0,04 ^a	10,91 ± 2,88 ^a	16,68 ± 2,35 ^b	10,03 ± 0,08 ^a	28,24 ± 1,81 ^c
zingerona*	Nd	Nd	1,04 ± 0,13 ^a	6,04 ± 1,87 ^a	1,43 ± 0,09 ^a	20,09 ± 6,03 ^b
ácido ferúlico*	Nd	10,35 ± 3,87 ^a	1,19 ± 0,13 ^a	6,04 ± 1,87 ^a	1,43 ± 0,09 ^a	20,09 ± 6,03 ^b
ácido cinámico*	Nd	10,08 ± 1,12 ^a	19,18 ± 2,72 ^b	17,28 ± 0,22 ^b	17,68 ± 0,69 ^b	8,58 ± 1,98 ^a
ácido siríngico*	Nd	Nd	2,19 ± 0,66	2,65 ± 0,21	1,67 ± 0,12	2,53 ± 0,22
siringaldehído*	Nd	36,52 ± 15,32 ^{a,b}	96,08 ± 8,59 ^b	108,03 ± 27,22 ^b	200,26 ± 22,49 ^c	252,77 ± 45,62 ^c
<i>Total</i>	<i>28747,69 ± 90,49</i>	<i>30027,65 ± 7634,47</i>	<i>29955,52 ± 2422,15</i>	<i>29251,89 ± 91,60</i>	<i>27722,03 ± 1674,61</i>	<i>26534,88 ± 1035,02</i>
Ésteres						
acetato de etilo	28132,32 ± 83,75 ^{a,b}	24167,97 ± 5315,26 ^a	28885,66 ± 756,24 ^{a,b}	36118,40 ± 1598,51 ^b	30179,83 ± 1923,29 ^{a,b}	34989,83 ± 2810,81 ^b
butirato de etilo ^x	135,79 ± 11,46 ^b	131,61 ± 24,50 ^b	136,48 ± 17,73 ^b	64,14 ± 1,46 ^a	153,05 ± 9,29 ^b	67,67 ± 1,79 ^a
acetato de isoamilol	1072,24 ± 10,52 ^c	846,99 ± 85,47 ^b	936,72 ± 15,67 ^{b,c}	349,80 ± 60,27 ^a	969,65 ± 99,17 ^{b,c}	422,26 ± 18,27 ^a
hexanoato de etilo	380,28 ± 5,00	320,95 ± 29,03	405,47 ± 33,43	352,56 ± 21,85	370,94 ± 48,44	398,12 ± 18,25
acetato de hexilo ^x	25,75 ± 0,27 ^c	17,35 ± 3,96 ^{b,c}	21,11 ± 0,91 ^{b,c}	4,79 ± 1,64 ^a	20,18 ± 2,47 ^{b,c}	11,17 ± 5,70 ^{a,b}
lactato de etilo	48,49 ± 0,54 ^a	64,18 ± 2,33 ^b	62,29 ± 1,90 ^b	63,99 ± 0,68 ^b	62,73 ± 1,29 ^b	75,38 ± 3,37 ^c

Tabla 3.6. Continuación

	<i>Vino control</i>	<i>Virutas de Castaño</i>	<i>Barricas de Castaño no tostadas</i>		<i>Barricas de Castaño tostadas</i>	
			<i>3 meses</i>	<i>6 meses</i>	<i>3 meses</i>	<i>6 meses</i>
2-hidroxi-3-metil-butirato de etilo ^x	21,17 ± 0,73 ^a	26,64 ± 0,01 ^b	25,71 ± 1,60 ^b	26,11 ± 0,48 ^b	26,08 ± 0,36 ^b	29,53 ± 0,50 ^c
octanoato de etilo	675,39 ± 1,48 ^b	402,02 ± 104,49 ^a	625,14 ± 55,72 ^b	699,34 ± 38,46 ^b	578,39 ± 75,65 ^b	645,02 ± 28,75 ^b
3-hidroxibutirato de etilo ^x	66,49 ± 0,36 ^a	89,17 ± 4,37 ^b	86,05 ± 6,78 ^b	93,26 ± 0,42 ^b	86,93 ± 3,62 ^b	90,57 ± 2,20 ^b
2-hidroxi-4metil pentanoato de etilo ^r	76,86 ± 1,44 ^a	102,96 ± 0,04 ^b	111,75 ± 4,07 ^{b,c}	113,65 ± 1,33 ^c	100,69 ± 6,09 ^{b,c}	111,02 ± 2,50 ^{b,c}
lactato de isoamilo ^x	101,73 ± 0,09 ^a	135,39 ± 9,38 ^b	147,11 ± 6,14 ^b	208,53 ± 3,05 ^c	153,01 ± 12,53 ^b	217,70 ± 6,82 ^c
malonato de dietilo ^p	2,57 ± 0,28	2,78 ± 0,46	2,43 ± 0,18	2,54 ± 0,16	2,59 ± 0,38	2,60 ± 0,45
decanoato de etilo	26,05 ± 0,24 ^{a,b}	17,02 ± 6,23 ^a	24,51 ± 0,09 ^{a,b}	28,42 ± 2,53 ^b	22,99 ± 1,53 ^{a,b}	24,91 ± 1,19 ^{a,b}
succinato de etil metilo ^p	10,89 ± 0,04 ^a	16,61 ± 2,57 ^b	18,32 ± 1,34 ^b	34,70 ± 2,44 ^c	17,10 ± 0,38 ^b	44,28 ± 0,84 ^d
octanoato de isoamilo ^x	Nd	Nd	Nd	24,70 ± 7,27	Nd	26,87 ± 0,24
succinato de dietilo	5221,03 ± 7,08 ^a	6623,77 ± 1196,61 ^b	7466,57 ± 109,54 ^c	10586,72 ± 109,54 ^c	6950,12 ± 65,50 ^b	9772,49 ± 392,82 ^c
4-hidroxibutirato de etilo ^x	1100,07 ± 11,83 ^{a,b}	1288,95 ± 369,27 ^b	1183,9 ± 197,74 ^{a,b}	577,68 ± 25,45 ^a	1038,66 ± 9,12 ^{a,b}	608,54 ± 60,67 ^a
acetato de 2-feniletilo	272,98 ± 2,19	265,62 ± 65,82	295,65 ± 7,81	227,09 ± 33,85	278,09 ± 9,58	220,32 ± 14,11
3-hidroxi octanoato de etilo ^x	Nd	12,92 ± 5,61	12,70 ± 1,91	11,60 ± 0,40	11,33 ± 2,31	10,40 ± 0,37
malato de dietilo ^p	139,23 ± 0,97 ^a	184,90 ± 35,54 ^a	199,31 ± 23,37 ^a	306,21 ± 9,23 ^b	181,60 ± 5,28 ^a	292,18 ± 32,64 ^b
cinnamato de etilo ^p	15,34 ± 1,05 ^a	18,20 ± 10,64 ^a	23,00 ± 5,12 ^a	45,01 ± 14,26 ^a	16,56 ± 3,13 ^a	78,16 ± 7,23 ^b
monosuccinato de etilo ^p	20020,82 ± 200,87 ^a	20168,22 ± 1305,90 ^a	18859,48 ± 1605,65 ^a	23870,86 ± 47,93 ^b	19004,72 ± 485,63 ^a	23241,81 ± 924,96 ^b
<i>Total</i>	<i>57545,49 ± 116,96^a</i>	<i>54904,21 ± 5965,68^a</i>	<i>59529,45 ± 2496,46^a</i>	<i>73810,10 ± 1403,72^b</i>	<i>60225,53 ± 1625,66^a</i>	<i>71380,81 ± 4178,87^b</i>
Ácidos						
ácido isobutírico	4,34 ± 0,04	5,50 ± 0,46	5,22 ± 0,25	5,43 ± 0,24	5,03 ± 0,60	5,95 ± 0,65
ácido butírico	5,47 ± 0,05	6,63 ± 0,57	5,55 ± 0,27	8,22 ± 2,55	5,96 ± 0,12	7,12 ± 0,86
ácido isovalérico ^z	159,38 ± 0,89 ^a	202,97 ± 11,62 ^{a,b}	203,35 ± 6,11 ^{a,b}	236,94 ± 0,30 ^b	207,61 ± 0,06 ^{a,b}	286,21 ± 38,55 ^c
ácido hexanoico	642,22 ± 2,94	756,95 ± 93,22	782,17 ± 17,51	780,51 ± 0,79	771,01 ± 7,30	722,31 ± 41,80

Tabla 3.6. Continuación

	<i>Vino control</i>	<i>Virutas de Castaño</i>	<i>Barricas de Castaño no tostadas</i>		<i>Barricas de Castaño tostadas</i>	
			<i>3 meses</i>	<i>6 meses</i>	<i>3 meses</i>	<i>6 meses</i>
(<i>E</i>)-2-ácido hexanoico †	2,60 ± 0,42 ^a	3,96 ± 0,11 ^a	5,18 ± 1,06 ^a	12,55 ± 1,57 ^b	11,70 ± 1,01 ^b	13,12 ± 2,22 ^b
ácido octanoico	1175,55 ± 19,89	1327,72 ± 260,45	1427,94 ± 107,73	1384,33 ± 25,04	1321,17 ± 2,33	1202,80 ± 77,45
ácido decanoico	324,39 ± 12,17	316,28 ± 6,73	352,47 ± 44,06	442,32 ± 75,54	316,08 ± 26,27	330,14 ± 6,40
<i>Total</i>	<i>2313,96 ± 33,42</i>	<i>2620,02 ± 370,80</i>	<i>2781,88 ± 162,34</i>	<i>2870,30 ± 52,90</i>	<i>2638,57 ± 21,49</i>	<i>2567,66 ± 165,38</i>
<i>Alcoholes</i>						
metanol	45598,56 ± 1036,15	42968,46 ± 4457,58	40929,74 ± 4553,84	38816,74 ± 422,86	42578,97 ± 1804,23	35314,96 ± 4307,25
1-propanol	35588,95 ± 437,68	35388,79 ± 1790,33	32207,72 ± 1261,43	33400,14 ± 459,57	34304,60 ± 5408,33	32516,89 ± 4213,442
isobutanol	65235,08 ± 1452,45	62930,16 ± 1212,08	64944,92 ± 5485,65	64083,23 ± 11889,74	64461,55 ± 1860,94	65735,74 ± 2128,31
2-metil butanol	81409,35 ± 2693,88	74863,46 ± 4085,50	71794,36 ± 6376,28	77130,20 ± 287,24	75286,18 ± 1471,08	74145,12 ± 2815, 81
3-metil butanol	356460,3 ± 8706,19 ^b	321891,6 ± 12995,8 ^{a,b}	306075,8 ± 2683,87 ^a	332449,06 ± 423,44 ^{a,b}	326819,31 ± 6544,3 ^{a,b}	322552,97 ± 1445,9 ^{a,b}
butanol °	158,36 ± 18,06 ^{a,b}	199,88 ± 0,25 ^{b,c}	145,91 ± 36,88 ^{a,b}	103,39 ± 11,30 ^a	238,43 ± 8,73 ^c	142,18 ± 17,94 ^{a,b}
3-pentenol °	45,66 ± 0,76 ^b	3,54 ± 0,80 ^a	3,61 ± 1,06 ^a	Nd	3,96 ± 0,28 ^a	Nd
1-pentanol °	10,18 ± 0,08 ^a	16,89 ± 0,95 ^{a,b}	16,17 ± 0,24 ^{a,b}	15,14 ± 3,85 ^{a,b}	15,19 ± 3,85 ^{a,b}	19,96 ± 1,95 ^b
4-metil-pentanol °	31,25 ± 0,03	41,76 ± 0,64	42,39 ± 5,31	26,58 ± 8,01	40,96 ± 4,09	36,90 ± 0,04
3-metil-pentanol °	57,68 ± 0,24	66,30 ± 0,92	64,46 ± 4,78	43,29 ± 17,47	66,96 ± 4,30	63,42 ± 1,65
2-butoxietanol °	4,37 ± 0,34 ^a	11,61 ± 1,05 ^b	4,39 ± 0,37 ^a	4,34 ± 0,01 ^a	3,85 ± 0,36 ^a	4,26 ± 0,14 ^a
heptanol	9,34 ± 0,05	10,51 ± 0,74	10,97 ± 2,42	8,00 ± 2,17	9,18 ± 0,71	10,53 ± 0,00
2-etil hexanol °	3,18 ± 0,11	3,21 ± 0,28	3,09 ± 0,12	2,29 ± 0,15	2,04 ± 0,69	2,56 ± 0,36
2,3-butanediol °	Nd	9,41 ± 2,07 ^b	3,81 ± 2,63 ^a	12,36 ± 0,27 ^b	2,26 ± 1,91 ^a	11,21 ± 2,76 ^b
octanol	13,27 ± 0,25 ^a	15,72 ± 1,33 ^b	16,00 ± 0,60 ^a	13,25 ± 0,06 ^a	17,07 ± 0,36 ^b	12,08 ± 0,44 ^a
3-metiltio-propanol °	86,81 ± 0,45	107,13 ± 14,51	95,05 ± 0,76	94,82 ± 9,53	89,01 ± 7,00	84,03 ± 0,29
<i>Total</i>	<i>584712,4 ± 11441,31</i>	<i>538527,9 ± 20976,59</i>	<i>516358,2 ± 30393,80</i>	<i>546202,8 ± 10860,50</i>	<i>543939,5 ± 23383,71</i>	<i>530652,8 ± 16308, 18</i>

Tabla 3.6. Continuación

	<i>Vino control</i>	<i>Virutas de Castaño</i>	<i>Barricas de Castaño no tostadas</i>		<i>Barricas de Castaño tostadas</i>	
			<i>3 meses</i>	<i>6 meses</i>	<i>3 meses</i>	<i>6 meses</i>
<i>Furanos y Piranos</i>						
furfuril formato ^φ	Nd	Nd	Nd	12,30 ± 0,77 ^a	Nd	28,47 ± 4,48 ^b
furfural	Nd	4,40 ± 0,56 ^a	207,21 ± 20,04 ^b	9,67 ± 1,55 ^a	601,75 ± 131,69 ^c	15,72 ± 3,22
1-(2-furanil)-etanona ^φ	Nd	Nd	15,17 ± 4,54 ^a	24,36 ± 1,99 ^b	17,53 ± 4,47 ^a	30,92 ± 0,33 ^b
etil maltol ^φ	Nd	Nd	0,32 ± 0,02 ^a	0,68 ± 0,01 ^b	0,34 ± 0,02 ^a	0,68 ± 0,00 ^b
5-metilfurfural ^φ	Nd	Nd	143,47 ± 34,12 ^b	64,26 ± 15,59 ^a	349,27 ± 53,93 ^c	183,99 ± 12,05 ^b
γ-butirolactona	0,61 ± 0,04 ^a	0,40 ± 0,05 ^a	0,59 ± 0,19 ^a	1,31 ± 0,32 ^b	0,85 ± 0,5 ^{a,b}	0,84 ± 0,05 ^{a,b}
furfuril alcohol ^φ	Nd	Nd	2,90 ± 0,27 ^a	13,74 ± 0,44 ^a	3,07 ± 0,04 ^a	44,61 ± 23,11 ^b
2(3H)-furanona, 5 etoxidihidro ^φ	13,68 ± 0,32 ^a	33,24 ± 2,54 ^d	28,90 ± 1,18 ^c	20,02 ± 1,26 ^b	34,19 ± 0,01 ^d	18,60 ± 0,75 ^b
maltol ^φ	Nd	Nd	1,35 ± 0,15 ^a	2,40 ± 0,19 ^c	1,69 ± 0,11 ^b	3,31 ± 0,07 ^d
tetrahidro-6-propil 2H-piran-2-ona ^φ	Nd	7,98 ± 3,01	7,06 ± 1,39	6,93 ± 0,85	10,05 ± 0,58	7,34 ± 0,50
5-etoxi-metilfurfural ^φ	Nd	Nd	6,99 ± 1,40 ^a	12,77 ± 0,42 ^b	8,21 ± 0,42 ^b	13,58 ± 3,42 ^b
pantolactona	8,07 ± 0,20	7,54 ± 2,35	7,44 ± 1,12	44,14 ± 57,16	8,96 ± 2,86	3,82 ± 1,10
ácido 4-hexil-2,5-dihidro-2,5-dioxo, 3-furanacetico ^φ	Nd	10,70 ± 2,31 ^b	8,95 ± 1,17 ^{a,b}	4,71 ± 0,28 ^a	8,45 ± 1,45 ^{a,b}	5,79 ± 1,58 ^a
5-acetoxi-metilfrufural ^φ	Nd	Nd	1,44 ± 0,06 ^a	Nd	16,02 ± 8,65 ^b	Nd
3-etil-4-metil 2,5-furandiona ^φ	Nd	10,54 ± 3,63 ^b	4,72 ± 0,25 ^{a,b}	Nd	7,09 ± 4,51 ^{a,b}	Nd
3-acetil-6-metil,2H-piran-2,4(3H)-diona ^φ	Nd	Nd	27,53 ± 3,75 ^b	17,27 ± 2,60 ^a	38,23 ± 2,42 ^c	23,28 ± 4,28 ^{a,b}
5-hidroxi-metilfurfural ^φ	Nd	Nd	2,77 ± 0,09 ^a	3,26 ± 0,22 ^a	8,42 ± 1,85 ^c	6,24 ± 0,24 ^b
<i>Total</i>	<i>22,37 ± 0,56^a</i>	<i>74,81 ± 9,29^a</i>	<i>466,81 ± 51,24^b</i>	<i>237,84 ± 74,24^b</i>	<i>1114,12 ± 193,72^c</i>	<i>387,19 ± 26,18^b</i>

Tabla 3.6. Continuación

	Vino control	Virutas de Castaño	Barricas de Castaño no tostadas		Barricas de Castaño tostadas	
			3 meses	6 meses	3 meses	6 meses
Miscelania						
acetaldehído ^ζ	2066,78 ± 134,92 ^a	3695,06 ± 692,82 ^b	2615,49 ± 442,21 ^{a,b}	3308,60 ± 33,11 ^{a,b}	2550,16 ± 265,58 ^{a,b}	3304,60 ± 232,73 ^{a,b}
3-hidroxi-2-butanona ^ζ	5,57 ± 0,51 ^a	8,31 ± 4,40 ^{a,b}	7,49 ± 0,52 ^{a,b}	1,37 ± 0,13 ^a	14,33 ± 3,58 ^b	1,87 ± 0,88 ^a
3-metil-tetrahidrotiofen-3-ona ^ζ	35,36 ± 0,84	32,46 ± 2,39	37,60 ± 3,62	31,86 ± 0,90	37,80 ± 2,93	33,16 ± 0,79
4-hidroxi-3-metil, 2-butanona ^ζ	Nd	11,58 ± 0,89 ^a	11,28 ± 0,74 ^a	Nd	13,39 ± 0,66 ^b	Nd
N-(3-metilbutil)-acetamida ^ζ	36,37 ± 0,44	38,20 ± 2,28	39,22 ± 4,70	34,43 ± 1,25	40,50 ± 4,06	34,31 ± 5,58
2-(1-metiletil)tio pentano ^ζ	Nd	14,83 ± 10,58 ^a	13,92 ± 4,33 ^a	39,95 ± 6,07 ^b	21,11 ± 10,45 ^a	43,55 ± 6,61 ^b
diacetil (2,3-butaediona) ^ζ	Nd	33,78 ± 7,58 ^a	43,95 ± 2,79 ^{a,b}	52,81 ± 7,46 ^b	41,35 ± 4,75 ^{a,b}	42,78 ± 0,34 ^{a,b}

Los valores con superíndices diferentes en la misma fila indican diferencias significativas según en método de Student-Newman-Keuls con $p < 0,05$. Los compuestos sin superíndices fueron cuantificados con los factores de respuesta de los patrones comerciales. Los compuestos con superíndices fueron cuantificados con el factor de respuesta de un compuesto de estructura química similar: ^ξ 1-hexanol; [†] E-3-hexenol; ^δ benzaldehído; ^ς guaiacol; ^θ 4-etil guaiacol; ^ϑ siringol; ^{*} vainillina; ^χ hexanoato de etilo; ^ρ succinato de dietilo; ^ι ácido hexanóico; ^ο heptanol; ^φ furfural; ^ζ Un factor de respuesta igual a uno fue asumido por el método del patrón interno.

El siringol fue uno de los fenoles volátiles más abundantes detectados en el vino control y más aún en los vinos de crianza. El siringol exhibió un comportamiento similar al del guaiacol debido, probablemente, a que su concentración también aumentó durante el período de envejecimiento, especialmente cuando el tratamiento con virutas fue aplicado, debido a la mayor superficie de contacto con la madera. La madera de castaño presenta una cantidad considerable de siringol (ALANÓN et al., 2012) y su liberación parece ser más rápida que la de otros fenoles volátiles. En cuanto a los derivados del siringol, compuestos tales como acetosiringona, propiosiringona y butirosiringona provienen de la degradación de la lignina de la madera producida sobre todo, durante el proceso de tostado. Por esa razón, estos compuestos fueron detectados sólo en los vinos envejecidos en barricas de castaño tostado y sólo en aquellos vinos envejecidos durante 6 meses, lo que indica una extracción lenta de estos compuestos. La presencia de los dos isómeros (*E*)-4-alil siringol y (*Z*)-4-alil siringol fue otra característica de los vinos sometidos a los tratamientos de envejecimiento con madera. Sin embargo, a pesar de los valores similares de (*Z*)-4-alil siringol en todos los vinos de crianza, las concentraciones de (*E*)-4-alil siringol fueron significativamente diferentes en los vinos envejecidos con barricas de castaño tostadas durante un período más largo de envejecimiento (6 meses). Este hecho puede atribuirse no sólo al incremento de la concentración de este compuesto en la madera de castaño durante el proceso de tostado, sino también a su extracción a través de la etanólisis de la lignina de la madera a lo largo del periodo de envejecimiento.

Por otro lado, las concentraciones de eugenol y (*E*)-isoeugenol se incrementaron durante el proceso de envejecimiento. Además, es digno de mención que los niveles de ambos compuestos fueron seriamente afectados por el tratamiento de envejecimiento. Los vinos envejecidos en barricas durante seis meses presentaron valores más altos de eugenol y (*E*)-isoeugenol, así como los vinos envejecidos en barricas tostadas. Por lo tanto, la extracción de estos compuestos parece ser un

proceso lento, pero continuado, que es más acentuado cuando se utilizan barricas de castaño tostadas, debido a la liberación de estos compuestos a consecuencia de la degradación de la lignina durante el proceso de tostado de la madera. Sin embargo, la concentración de (*Z*)-isoeugenol no se vio influenciada por los tratamientos de envejecimiento utilizados. En comparación con los resultados obtenidos en este trabajo con los datos disponibles en la bibliografía, es posible observar que las concentraciones de eugenol y isoeugenol encontradas en los vinos envejecidos en madera de castaño fueron más altas que en los vinos envejecidos con madera de roble. En particular, la concentración de eugenol encontrada en los vinos envejecidos en barricas de roble nuevas no tostadas, durante seis meses, fue alrededor de 85 $\mu\text{g L}^{-1}$ (GARDE-CERDÁN et al., 2006), mientras que las concentraciones encontradas en nuestro trabajo, en las mismas condiciones pero empleando madera de castaño, fueron de 139,37 $\mu\text{g L}^{-1}$. Este hecho parece indicar que la madera de castaño es más rica en eugenol y isoeugenol que la madera de roble, lo que está de acuerdo con los últimos datos publicados en la literatura, donde el potencial aromático de la madera de castaño fue comparado con aquel de las especies de roble más comúnmente utilizadas en tonelería (ALANÓN et al., 2012). Por otro lado, el contenido de eugenol detectado en nuestros vinos fue superior a los niveles encontrados en otros vinos envejecidos con barricas nuevas de madera de castaño de origen italiano en similares condiciones de envejecimiento (DE ROSSO et al., 2009a), acentuándose esta diferenciación cuando se emplearon barricas de castaño usadas (ARFELLI et al., 2007).

La presencia de los etilfenoles, 4-etil guaiacol y 4-etil fenol, debe ser destacada. Estos compuestos son producidos debido al metabolismo de algunas levaduras tales como las especies de *Brettanomyces/Dekkera* (las principales productoras de etilfenoles por reacciones de reducción de los vinilfenoles) y bacterias lácticas que también producen etilfenoles, pero en cantidades mucho más pequeñas. Los atributos sensoriales de estos compuestos se describen como aroma a "fenol",

"animal" y "cuadra", malos olores que pueden tener una influencia negativa en el aroma del vino. Sus umbrales de percepción en el vino tinto son de $140 \mu\text{g L}^{-1}$ para 4-etil guaiacol y de $620 \mu\text{g L}^{-1}$ para el 4-etil fenol (CHATONNET et al., 1992). Estos compuestos no se detectaron cuando el envejecimiento de los vinos se llevó a cabo por medio del uso de virutas o de barricas de castaño durante un periodo corto de tiempo (3 meses). Sin embargo, las concentraciones de estos compuestos parecen aumentar durante toda la etapa de envejecimiento (CHATONNET et al, 1992; GARDE-CERDÁN et al., 2010). La acumulación de estos etilfenoles en los vinos envejecidos en barricas durante seis meses fue mayor que sus umbrales de percepción olfativa ($133,85$ y $123,53 \mu\text{g L}^{-1}$ para las barricas no tostadas y tostadas en el caso del 4-etil guaiacol y $860,94$ y $722,03 \mu\text{g L}^{-1}$ para las barricas no tostadas y tostadas en el caso del 4-etil fenol). Este aspecto debe ser tenido en cuenta ya que, aunque en este trabajo los malos olores de estos compuestos no fueron detectados por los catadores (ver sección análisis sensorial descriptivo), la presencia de estos compuestos en concentraciones más altas, podría disminuir la calidad sensorial de los vinos tintos envejecidos en madera de castaño.

En comparación con nuestros datos a los reportados en la bibliografía, fue posible observar que los valores de estos compuestos presentes en los vinos envejecidos en barricas de castaño son más altos que los encontrados en los vinos envejecidos en barricas de roble, inclusive con un período de envejecimiento más largo (PÖLLNITZ, 2000; GARDE-CERDÁN et al, 2006). Es importante tener en cuenta que la madera de castaño se caracteriza por una mayor porosidad que la madera de roble (DE ROSSO et al., 2009b). Por tanto, la microoxigenación sufrida a través de los poros es mayor en el caso de la madera de castaño, lo que parece estimular el crecimiento microbiológico, lo que implica una mayor producción del 4-etil guaiacol y 4-etil fenol. Este hecho debe ser tenido en cuenta especialmente cuando los vinos son sometidos a periodos más largos de envejecimiento. Para evitar y controlar este aspecto, es recomendable raspar y recalentar las barricas de castaño antes de

reutilizarlas, con el fin de reducir la carga microbiana en la superficie del interior de las barricas, lo que puede evitar las mayores concentraciones, indeseables, de 4-etil fenol y 4-etil guaiacol (PÖLLNITZ et al., 2000).

Uno de los compuestos más notable en los vinos debido a su intenso aroma a vainilla y su bajo umbral de percepción olfativa ($0,32 \text{ mg L}^{-1}$) es la vainillina (BOIDRON et al., 1988). Aunque por lo general se encuentran en los vinos jóvenes, su presencia es más característica de los vinos de crianza, ya que sus concentraciones aumentan considerablemente a consecuencia del contacto con la madera. La extracción de la vainillina dependió tanto del tiempo de envejecimiento, como del tratamiento de tostado aplicado a la madera de castaño. Entre los diferentes tratamientos de envejecimiento probados, los vinos envejecidos con virutas presentaron menores concentraciones de vainillina, lo que indica un lento proceso de extracción de este compuesto, que también fue observado por Garde-Cerdán et al., (2006). Mientras tanto, la mayor concentración de vainillina se encontró en aquellos vinos criados durante seis meses en barricas tostadas. En comparación con los datos reportados en la bibliografía, los rangos de vainillina que se encontraron en los vinos tintos envejecidos con barricas de castaño tostados durante seis meses, fueron muy similares a los encontrados en los vinos envejecidos en las mismas condiciones con barricas de madera de roble (*Quercus alba*) (GARDE-CERDÁN, et al., 2006). *Quercus alba* es la especie de roble que mayor contenido de vainillina presenta (CHATONNET et al., 1998) y cuyos niveles son comparables a los obtenidos en la madera de castaño (ALANÓN et al., 2012). Por lo tanto, la madera de castaño parece tener excelentes propiedades aromatizantes a vainillina. Sin embargo, los niveles de vainillina detectados en los vinos de crianza fueron considerablemente inferiores a los reportados en otros vinos envejecidos con barricas nuevas de castaño de origen italiano en condiciones similares (DE ROSSO et al., 2009a), pero superiores a los encontrados en los vinos de crianza en barricas de castaño usadas (ARFELLI et al., 2007).

Un gran número de derivados de vainillina, procedentes de la degradación de la lignina, se encontraron también en los vinos envejecidos. Estos compuestos aparecieron o aumentaron en su concentración en función del tratamiento de envejecimiento utilizado. Las concentraciones de acetovanillona, vainillil propanal y vainillil metil éter extraídas por los vinos envejecidos no sólo se vieron influenciadas por el proceso térmico de las barricas, sino también por el tiempo de envejecimiento. En todos los casos, las mayores concentraciones de estos compuestos se encontraron en los vinos envejecidos durante seis meses con barricas de castaño tostadas. Los compuestos tales como, ácido vanílico y propiovanillona sólo se vieron afectados por el tratamiento térmico de la madera de castaño. Mientras que los niveles de vainillato de metilo y butirovanillona no mostraron diferencias significativas respecto al tratamiento de envejecimiento utilizado. Los derivados de la vainillina citados son importantes desde el punto de vista sensorial ya que también contribuyen al aroma de vainilla de los vinos, aunque en menor intensidad.

El siringaldehído fue otro aldehído fenólico encontrado sólo en los vinos de crianza, el cual presentó un comportamiento similar al de la vainillina. Las concentraciones de siringaldehído aumentaron con el proceso de tostado de la madera como consecuencia de la degradación térmica de la lignina. Por esta razón, las cantidades que se encontraron en los vinos envejecidos con barricas tostadas fueron mayores que las encontradas en el resto de vinos analizados.

Otros compuestos sensoriales importantes son **los ésteres**, ya que se encuentran en gran concentración y, además, exhiben agradables olores afrutados (ETIEVANT, 1991). La mayor parte de los ésteres se produce en el vino a lo largo de la fermentación. Durante el envejecimiento, los ésteres, en general, tienden a disminuir y si bien, su evolución varía con el tipo de vino, y con las condiciones de envejecimiento, algunas generalizaciones pueden ser hechas (RAPP & MARAIS, 1993). Los ésteres de acetatos, tales como acetato de isoamilo y acetato de etilo tienden a disminuir durante el proceso de envejecimiento más que los ésteres etílicos

de ácidos grasos (butirato de etilo, hexanoato de etilo, octanoato de etilo y decanoato de etilo). Las disminuciones de estos compuestos son atribuibles no sólo a las reacciones de evaporación sino también, a su hidrólisis para alcanzar el equilibrio entre los ésteres y los ácidos correspondientes. Las diferencias significativas en las concentraciones de estos compuestos se encontraron sólo en los vinos envejecidos durante seis meses, mientras que el tratamiento de tostado de la madera de castaño no influyó en la concentración encontrada. Por otra lado, los ésteres etílicos de ácidos polipróticos, tales como malónico y succínico, aumentaron sus concentraciones en los vinos con un mayor período de envejecimiento (6 meses), probablemente debido a la reacción de esterificación sufrida a lo largo del tratamiento de envejecimiento para alcanzar el equilibrio del sistema entre los ésteres y los ácidos correspondientes. Otros ésteres, tales como el lactato de etilo y lactato de isoamilo, no provienen de la madera, sin embargo, aumentaron sus niveles durante los tratamientos de envejecimiento. Este hecho podría ser atribuible a la microflora residual de bacterias del ácido láctico. Además, cuanto mayor sea el tiempo de envejecimiento, mayor es la evaporación de agua a través de los poros de la madera, lo que sin duda, favorece la reacción de esterificación de acuerdo con la ley de acción de masas.

En cuanto a **los ácidos**, su producción está regulada por la composición inicial del mosto y de las condiciones de fermentación. Sus niveles, prácticamente, no se vieron afectados significativamente por los diferentes tratamientos de envejecimiento con madera de castaño testados. Por otra parte, un gran número de **alcoholes** se detectó tanto en el vino control como en los vinos de crianza. Estos compuestos se generan durante el proceso de fermentación y los tratamientos de envejecimiento no tienen mucha influencia sobre su composición.

La presencia de diversos **compuestos de tipo furano y pirano** también fue detectada en los vinos tratados con diferentes tratamientos de envejecimiento con madera de castaño. Estos compuestos provienen de la degradación térmica de las hexosas y pentosas, que son los constituyentes principales de los polímeros de

celulosa y hemicelulosa que conforman la madera. Son compuestos clave, desde el punto de vista sensorial, debido a sus agradables aromas a caramelo, a tostado y a sus notas amieladas, siempre y cuando se encuentren en concentraciones moderadas. En el vino control, prácticamente ningún compuesto furano o pirano fue detectado. Los vinos envejecidos con virutas de castaño no tostadas no mostraron importantes concentraciones de compuestos furanos, sólo pequeñas cantidades de furfural. En el caso de las barricas de castaño no tostada, a pesar de no haber sido sometidas al tratamiento térmico, fue notable la presencia de varios compuestos furanos y piranos en cantidades considerables. Este hecho se debe al calentamiento ligero que sufre la madera en un primer estadio, crucial para doblar las duelas y facilitar la conformación de las barricas. Sin embargo, cuando el proceso de tostado se aplica a las barricas, las concentraciones de estos compuestos aumentaron considerablemente. La extracción de compuestos tales como 1-(2-furanil)-etanona, etil maltol, maltol y 5-etoxi-metilfurfural y 5-hidroxi-metilfurfural aumentó, no sólo con el tratamiento térmico, sino también con el tiempo de envejecimiento, siendo los vinos envejecidos durante seis meses en barricas tostadas de castaño aquellos donde se detectaron mayores cantidades de estos compuestos. Particularmente notable fue el comportamiento observado por el furfural y 5-metilfurfural. La mayor acumulación de estos compuestos fue mayor en los vinos envejecidos durante tres meses, la cual posteriormente, a mayores tiempos de envejecimiento, se vio reducida notablemente. Esta evidencia se encuentra de acuerdo con estudios realizados por otros autores, que también reflejaron este hecho cuando se utilizan barricas de madera de roble (TOWEY & WATERHOUSE, 1996; SPILLMAN et al., 1998; GARDE-CERDÁN et al., 2006; 2010). Este hecho parece deberse a la reducción del furfural y del 5-metilfurfural a furfural alcohol y su conversión a furfuralformato. Además, el furfural parece ser más susceptible a estas transformaciones (SPILLMAN et al., 1998). El mismo comportamiento se observó por la 5-acetoxi-metilfurfural, aunque mucho menos acentuado. Como consecuencia de estos procesos, las concentraciones de alcohol

furfurílico y furfuralformato se incrementaron notablemente en los vinos con seis meses de envejecimiento. Por lo tanto, el contenido total de los compuestos furánicos y piránicos fue mayor en los vinos envejecidos en barrica durante tres meses que en aquellos envejecidos en barrica durante seis meses.

La presencia de otros compuestos también ha sido recopilada en la Tabla 3.6. Sin embargo, estos compuestos no son relevantes desde el punto de vista sensorial y tampoco fueron encontradas grandes diferencias en sus concentraciones en función de los diferentes tratamientos de envejecimiento con madera de castaño evaluados.

El análisis de Componentes Principales se aplicó a los datos de compuestos volátiles significativos con el fin de resaltar las diferencias entre los distintos tratamientos de envejecimiento con la madera de castaño. Los tres componentes principales representaron el 70,1% de la varianza total explicada. Las variables que mostraron las mejores correlaciones con cada componente principal se exponen en la Tabla 3.7.

La distribución de las muestras en el plano formado por el componente principal 1 y 2 (PC1 y PC2) se muestran en la Figura 3.5. El componente principal, PC1, separó los vinos envejecidos durante los tratamientos largos de envejecimiento con castaño, principalmente debido a mayores concentraciones de 4-etil fenol, 4-etil guaiacol, ésteres como el succinato de dietilo, malato de dietilo, lactato de isoamilo, octanoato de isoamilo y succinato de etil metilo, pero también debido a los compuestos de la madera de castaño, tales como el etil maltol, eugenol, vainillil propanal, 5-etoximetilfurfural, acetovainillona y maltol, entre otros. La disminución de ésteres tales como el acetato de isoamilo, acetato de hexilo, butirato de etilo y 4-hidroxibutirato de etilo, junto con la disminución del terpeno *trans*-geraniol con el tiempo de envejecimiento, también permitió la discriminación de los tratamientos de envejecimiento más largos del resto de las muestras. El componente principal 2 se relacionó principalmente con algunos compuestos de la madera, tales como siringol; guaiacol; ácido 4-hexil-2,5-dihidro-2,5-dioxo-3-furanacético; tetrahidro-6-propil-2H-

piran-2-ona; fenol y (*Z*)-4-alil siringol. Como consecuencia, el componente principal 2 diferenció los vinos control de aquellos que habían estado en contacto con la madera de castaño. En la Figura 3.6 se muestra la distribución en el plano de las muestras de acuerdo con el componente principal 1 y 3. El PC3 estuvo relacionado con los compuestos furánicos tales como el 5-metilfurfural, furfural, 5-acetoxi-metilfurfural y 5-hidroxi-metilfurfural, cuyas concentraciones permitió la separación de los vinos envejecidos en madera de castaño tostada de los cuales aquellos macerados durante tres meses fueron los que mayor acumulación de estos compuestos presentaron.

Por otra parte, aunque el uso de virutas mostró algunas diferencias cuantitativas, el análisis de componentes principales no fue capaz de distinguir los vinos envejecidos con virutas de castaño de aquellos envejecidos durante tres meses con barricas de castaño sin tostar. Además, fue notable la variabilidad encontrada en la composición volátil de los vinos envejecidos por el uso de virutas. Este hecho puede atribuirse a la diferencia de tamaño de las virutas que implican diferencias en la cinética de extracción de los compuestos de la madera. Esta variabilidad reveló la desventaja de la utilización de virutas frente al uso de las barricas para la obtención de un producto más homogéneo.

Tabla 3.7. Resultado del análisis multivariante de componentes principales de los compuestos volátiles detectados en el vino control y en los vinos envejecidos con madera de castaño.

Componente Principal	Compuestos	Coefficiente de correlación
PC1	4-etil fenol	0,95
	acetato de isoamilo	-0,94
	4-etil guaiacol	0,94
	succinato de dietilo	0,94
	<i>trans</i> -geraniol	-0,93
	malato de dietilo	0,92
	acetato de hexilo	-0,92
	lactato de isoamilo	0,92
	octanoato de isoamilo	0,90
	etil maltol	0,90
	eugenol	0,88
	2-(1-metiletil)tio pentano	0,88
	butirato de etilo	-0,86
	vainillil propanal	0,86
	succinato de etil metilo	0,85
	monosuccinato de etilo	0,85
	5-etoxi-metilfurfural	0,84
	4-hidroxbutirato de etilo	-0,84
	acetovanillona	0,84
	(<i>E</i>)-2-ácido hexanoico	0,82
γ -butirolactona	0,81	
maltol	0,80	
PC2	siringol	0,96
	guaiacol	0,91
	ácido 4-hexil-2,5-dihidro 2,5-dioxo 3-furanacetico	0,90
	3-hidroxiocetanoato de etilo	0,85
	tetrahidro-6-propil 2H-piran-2-ona	0,81
	fenol	0,80
	(<i>Z</i>)-4-alil siringol	0,80
PC3	5-metilfurfural	0,95

furfural	0,93
5-acetoxi-metilfurfural	0,92
5-hidroxi-metilfurfural	0,88

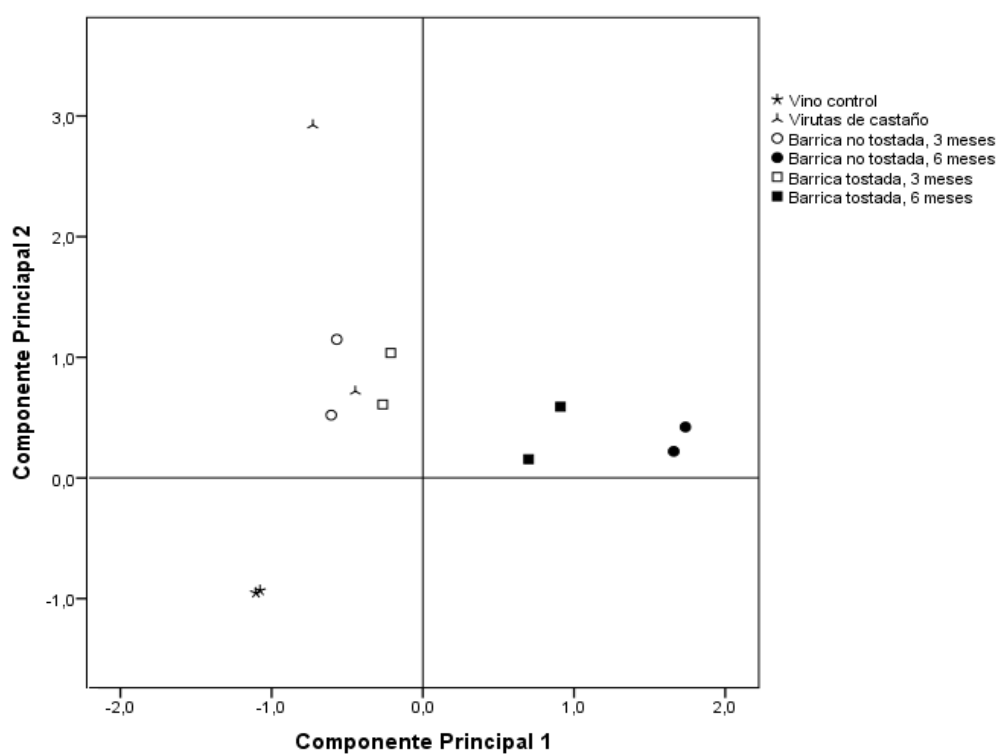


Figura 3.5. Distribución en el plano de las muestras definido por los componentes principales (PC1 y PC2) con respecto a los compuestos volátiles

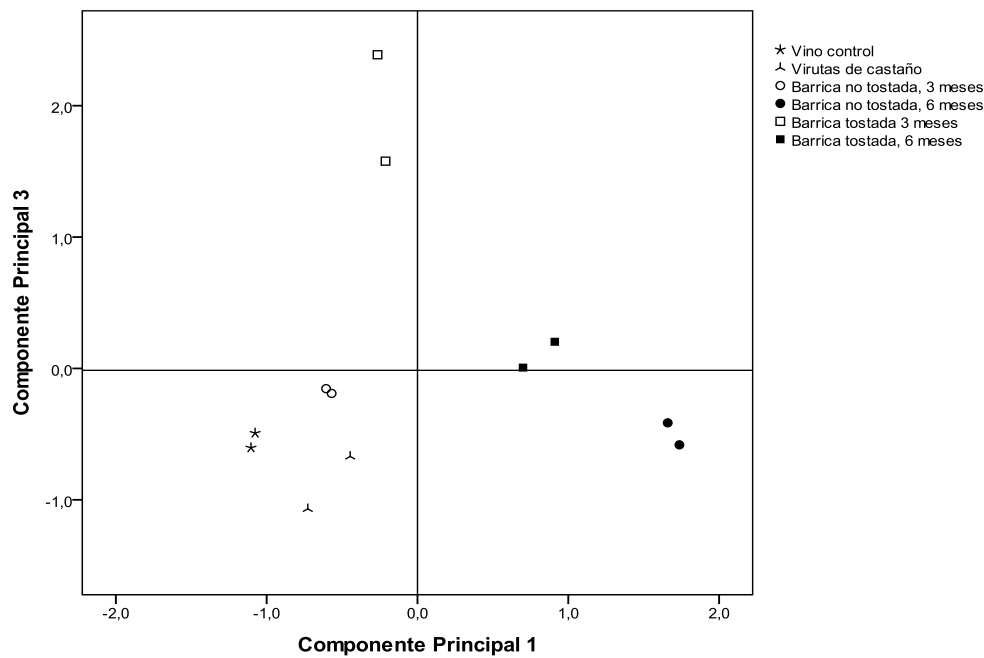


Figura 3.6. Distribución en el plano de las muestras definido por los componentes principales (PC1 y PC3) con respecto a los compuestos volátiles

Por lo tanto, el efecto del tiempo de envejecimiento fue el principal factor en la composición aromática de los vinos envejecidos con los diferentes tratamientos de envejecimiento con madera de castaño. Aunque el proceso de tostado de la madera también tuvo una notable influencia en la composición volátil de los vinos sometidos a crianza en especial para aquellos vinos envejecidos en madera de castaño tostada durante tres meses.

3.3.3. Análisis sensorial descriptivo

La Tabla 3.8 muestra las puntuaciones medias de los 28 atributos seleccionados en el análisis sensorial descriptivo para describir las características sensoriales de las muestras. Mientras tanto, la Figura 3.7 muestra el diagrama bi-trama del análisis de componentes principales, que ilustra la proyección simultánea de los vinos probados y los descriptores sensoriales. Los dos componentes principales representaron 71,5% de la varianza total.

El primer componente principal, representado por el eje "x", separó los vinos envejecidos durante el mayor período de tiempo del resto de muestras. El tratamiento de envejecimiento disminuyó los aromas a frutas rojas de los vinos control, sobre todo en los vinos envejecidos durante seis meses. Este hecho estuvo en buen acuerdo con la disminución de los ésteres observada durante el tiempo de envejecimiento. Mientras tanto, notas de ciruela/grosella aparecieron como consecuencia del tiempo de almacenamiento de los vinos. Aromas a regaliz, clavo y pimienta mostraron puntuaciones más altas en los vinos envejecidos durante seis meses en barricas de castaño, siendo más intensos cuando trataban de barricas tostadas. Nuevos sabores se detectaron en los vinos de envejecidos tales como tabaco, frutos secos, vainilla y madera, cuyas intensidades fueron mayores cuando el proceso de envejecimiento se llevó a cabo durante seis meses por medio de barricas de castaño tostadas. Por otro lado, el atributo de aroma verde y frutas rojas, y los atributos gustativos: herbáceo y amargor de los vinos control, característicos de los vinos jóvenes, disminuyeron drásticamente como consecuencia del tratamiento de envejecimiento a largo plazo. Los vinos envejecidos con virutas de castaño conservaron mejor las características afrutadas y notas verdes del vino control (PÉREZ-COELLO et al., 2000).

Tabla 3.8. Puntuaciones medias y desviación estándar de los descriptores sensoriales del vino control y de los vinos envejecidos con madera de castaño.

	<i>Vino control</i>	<i>Virutas de Castaño</i>	<i>Barricas de Castaño sin tostar</i>		<i>Barricas de Castaño tostadas</i>	
			<i>3 meses</i>	<i>6 meses</i>	<i>3 meses</i>	<i>6 meses</i>
Perfil Sensorial Aromático						
Frutas rojas	7,71 ± 0,41 ^d	5,27 ± 1,17 ^c	4,23 ± 1,18 ^b	2,56 ± 1,16 ^a	5,43 ± 1,18 ^c	3,11 ± 1,54 ^a
Ciruela/grosella	Nd	6,22 ± 1,13 ^c	2,66 ± 0,86 ^a	4,42 ± 1,27 ^b	3,07 ± 1,88 ^a	5,15 ± 1,65 ^{b,c}
Regaliz	2,37 ± 0,87 ^b	0,57 ± 1,24 ^a	2,49 ± 0,87 ^b	3,60 ± 0,57 ^c	2,21 ± 1,31 ^b	4,30 ± 0,83 ^c
Verde	4,34 ± 0,63 ^b	0,45 ± 0,82 ^a	Nd	Nd	Nd	Nd
Pimienta	2,03 ± 0,74 ^b	0,88 ± 1,55 ^{a,b}	1,62 ± 1,61 ^b	3,49 ± 0,85 ^c	0,41 ± 0,63 ^a	3,04 ± 1,02 ^c
Clavo	Nd	4,10 ± 1,14 ^b	3,04 ± 0,93 ^a	4,55 ± 1,25 ^b	3,53 ± 1,23 ^{a,b}	5,63 ± 1,13 ^c
Tabaco	Nd	Nd	2,82 ± 1,53 ^c	3,30 ± 1,21 ^c	0,50 ± 1,17 ^a	1,82 ± 1,64 ^b
Frutos secos	Nd	1,40 ± 1,12 ^b	0,33 ± 0,63 ^a	Nd	1,68 ± 1,55 ^b	2,64 ± 1,53 ^c
Vainilla	Nd	1,89 ± 0,64 ^a	1,86 ± 1,12 ^a	3,32 ± 0,84 ^b	3,08 ± 1,51 ^b	5,35 ± 1,29 ^c
Madera	Nd	2,41 ± 0,47 ^a	4,58 ± 1,20 ^b	5,13 ± 1,49 ^b	2,44 ± 1,86 ^a	Nd
Madera tostada	Nd	Nd	0,32 ± 1,10 ^a	Nd	3,94 ± 1,45 ^b	5,24 ± 1,20 ^c
Caramelo	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	1,10 ± 1,48 ^a
Perfil Sensorial Gustativo						
Frutas rojas	5,99 ± 0,77 ^c	4,48 ± 1,06 ^b	4,12 ± 0,97 ^b	2,64 ± 1,10 ^a	4,81 ± 0,92 ^b	2,44 ± 1,53 ^a
Verde	7,15 ± 0,67 ^d	5,19 ± 0,98 ^c	3,54 ± 1,08 ^b	4,67 ± 1,95 ^c	1,18 ± 1,21 ^a	Nd
Clavo	Nd	0,66 ± 1,01 ^a	1,83 ± 1,20 ^b	2,66 ± 1,04 ^b	2,63 ± 1,30 ^b	4,74 ± 1,42 ^c
Pimienta	Nd	0,20 ± 0,69 ^a	0,22 ± 0,52 ^a	2,07 ± 0,86 ^b	0,41 ± 1,01 ^a	0,82 ± 1,10 ^a
Acidez	5,33 ± 0,41 ^a	6,56 ± 0,75 ^b	5,06 ± 0,55 ^a	4,82 ± 0,59 ^a	5,01 ± 0,48 ^a	4,82 ± 0,59 ^a
Amargor	6,90 ± 1,50 ^d	4,52 ± 1,42 ^c	3,86 ± 1,44 ^{b,c}	3,55 ± 1,82 ^{b,c}	2,63 ± 1,38 ^{a,b}	1,68 ± 1,47 ^a
Frutos secos	Nd	0,12 ± 0,40 ^a	Nd	Nd	1,37 ± 1,04 ^b	2,46 ± 1,32 ^c
Vainilla	Nd	1,17 ± 1,11 ^{a,b}	1,10 ± 1,19 ^{a,b}	1,67 ± 0,94 ^b	3,18 ± 0,81 ^c	4,52 ± 2,58 ^d
Serrín	Nd	2,61 ± 1,41 ^a	Nd	Nd	Nd	Nd

Tabla 3.8: Continuación

Madera tostada	Nd	Nd	1,23 ± 0,31 ^a	1,84 ± 0,29 ^a	4,38 ± 1,74 ^b	6,42 ± 0,95 ^c
Tabaco	Nd	Nd	1,01 ± 1,51 ^{a,b}	0,92 ± 0,88 ^{a,b}	0,21 ± 0,72 ^a	1,68 ± 1,52 ^b
Perfil Táctil e Impresión Global						
Cuerpo	4,63 ± 0,16 ^a	5,14 ± 0,11 ^b	6,18 ± 0,16 ^c	6,56 ± 0,00 ^d	7,01 ± 0,06 ^e	6,94 ± 0,08 ^e
Astringencia	7,44 ± 0,01 ^d	5,93 ± 0,13 ^c	5,24 ± 0,39 ^{b,c}	4,38 ± 0,73 ^{a,b}	4,36 ± 0,20 ^{a,b}	3,45 ± 0,10 ^a
Intensidad del deajo	6,17 ± 0,02 ^a	6,98 ± 0,28 ^b	7,24 ± 0,13 ^b	7,72 ± 0,34 ^c	8,14 ± 0,59 ^{c,d}	8,57 ± 0,07 ^d
Calidad del deajo	3,99 ± 0,03 ^a	5,12 ± 0,06 ^b	6,11 ± 0,06 ^c	6,90 ± 0,62 ^d	7,43 ± 0,23 ^d	8,63 ± 0,10 ^e
Impresión global	4,65 ± 0,02 ^a	5,06 ± 0,19 ^a	5,92 ± 0,14 ^b	6,91 ± 0,49 ^c	7,12 ± 0,09 ^c	8,43 ± 0,07 ^d

Los valores con superíndices diferentes en la misma fila indican diferencias significativas según en método de Student-Newman-Keuls con $p < 0,05$.

Sin embargo, los catadores detectaron una gran acidez y la presencia desagradable de un atributo descrito como “serrín” en aquellos vinos envejecidos con virutas de castaño. Este hecho también ha sido descrito en bibliografía anteriormente cuando se utilizan virutas de roble sin tostar por otros autores (CHATONNET & DUBOURDIER, 1998b; DÍAZ-MAROTO et al., 2008; SCHUMACHER et al., 2012).

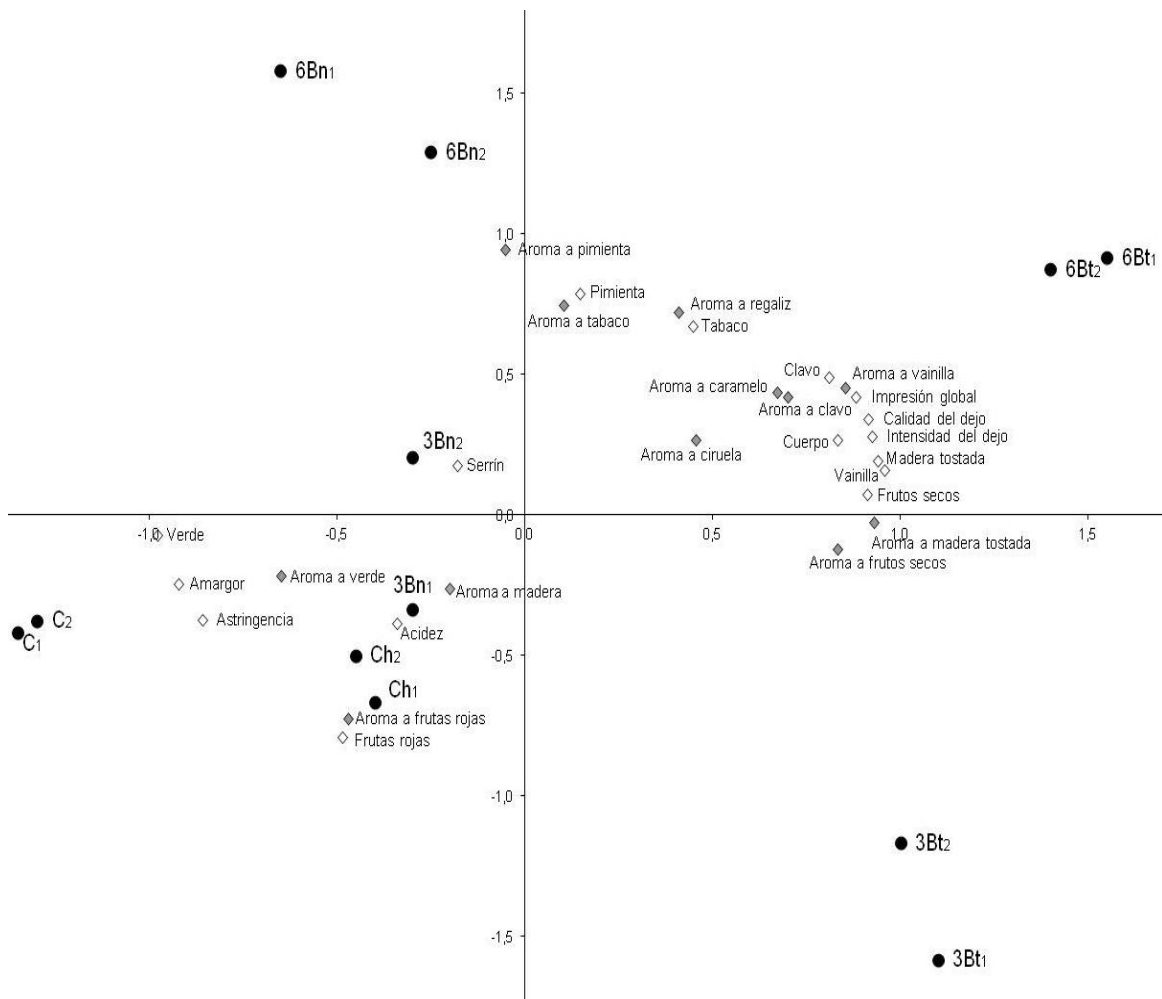


Figura 3.7. Distribución en el plano de las muestras con sus atributos gustativos (◇) y olfativos (◇). Las muestras de vino están marcadas con el símbolo (●). C: Vinos control; Ch: vinos envejecidos con virutas de castaño; 3Bn: vinos envejecidos durante 3 meses en barricas de castaño sin tostar; 6Bn: vinos envejecidos durante 6 meses en barricas de castaño sin tostar; 3Bt: vinos envejecidos durante 3 meses con barricas de castaño tostado; 6Bt: vinos envejecidos durante 6 meses con barricas de castaño tostado.

La posición de los vinos basados en el segundo componente principal (eje "y") vino determinada por el tratamiento de tostado. Los vinos envejecidos con barricas

tostadas estaban claramente separados de los restantes de acuerdo con el segundo componente principal. Una característica típica de los vinos envejecidos en madera son las notas "a madera". Esta nota ha sido tradicionalmente atribuida a la presencia de la *cis* y *trans* β -metil- γ -octanolactonas que son exclusivas de la madera de roble. La madera de castaño no posee estos particulares compuestos. Sin embargo, las notas "amaderadas" no parecen ser exclusivas de las lactonas de roble. Otros compuestos derivados de la lignina como *cis* y *trans* isoeugenol parecen impartir este atributo (DÍAZ-MAROTO et al., 2008). Las intensidades de los atributos sensoriales característicos de los vinos de crianza, tales como olor a clavo, frutos secos, vainilla, madera tostada y tabaco, fueron más acentuadas en los vinos envejecidos en barricas de castaño tostado durante seis meses. Este hecho está se encuentra en buen acuerdo con los compuestos volátiles liberados de la madera de castaño al vino, debido a la degradación térmica de la lignina durante el proceso de tostado. En particular, la presencia de notas tostadas y sabores de caramelo se detectaron especialmente en vinos envejecidos con barricas tostadas durante seis meses. Estas características están relacionadas con los compuestos furanos y piranos detectados en los vinos de crianza.

También fue notable la no identificación de los malos sabores descritos como "fenol", "animal" y "cuadra", a pesar de la presencia de 4-etil guaiacol y 4-etil fenol detectada en los vinos con tiempo de envejecimiento largos. Este hecho podría deberse a que, en un medio tan complejo como es el vino, estos compuestos pueden influir en el aroma del vino en niveles inferiores a sus umbrales de percepción olfativa debido a efectos aditivos, sinérgicos o supresores (PEREZ-PRIETO et al., 2003).

La astringencia de los vinos control fue reducida con los tratamientos de envejecimiento. Las puntuaciones para cuerpo, intensidad del sabor, calidad del sabor y calidad global fueron más altas para los vinos envejecidos en barricas de castaño tostado durante seis meses.

Por lo tanto, en base al análisis químico de los compuestos volátiles y al análisis sensorial, el castaño mostró ser una madera con excelentes propiedades aromatizantes para llevar a cabo los procesos de envejecimiento. El tratamiento con virutas fue el menos valorado por los panelistas, mientras que los vinos envejecidos en barricas de castaño tostado, principalmente durante seis meses, fueron las más apreciadas. Sin embargo, es importante tener en cuenta que un período más largo de envejecimiento podría provocar la presencia de sabores extraños y problemas de oxidación debido a la mayor porosidad de la madera de castaño.

PARTE II: COMPUESTOS FENÓLICOS Y CARACTERÍSTICAS CROMÁTICAS DE LOS VINOS

3.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.4.1. Efecto de los tratamientos de envejecimiento con madera de castaño en la composición fenólica y características cromáticas de los vinos

El análisis estadístico aplicado a la composición fenólica y parámetros de color, dio lugar a diferencias significativas entre el vino control y los vinos de envejecidos en madera de castaño (Tabla 3.9). Como consecuencia de los tratamientos de envejecimiento, se observó un aumento significativo en los pigmentos polimerizados, especialmente en aquellos vinos envejecidos durante el período más largo de tiempo (6 meses). La formación de pigmentos poliméricos es producida por la reacción entre los antocianos y los principales compuestos fenólicos de los vinos tintos, los flavan-3-oles, que por lo general conducen a la pérdida de materia colorante si los pigmentos polimerizados alcanzan un peso molecular suficientemente alto como para tornarse insolubles. Este hecho explicaría la disminución significativa de las concentraciones de antocianos y flavan-3-oles en los vinos envejecidos, en comparación con el vino control. Además, la formación de pigmentos más polimerizados contribuye a la disminución de la saturación de color (C^*) como resultado de una mezcla más compleja de los pigmentos implicados en el color real del vino tinto. La reducción de los antocianos durante el proceso de envejecimiento también provocó una disminución significativa en el porcentaje de la copigmentación que contribuye al color total del vino, lo que implica una reducción del efecto hiperocrómico, estrechamente relacionado con el aumento de la claridad (L^*). Por esa razón, los vinos envejecidos mostraron menores valores de la componente rojo del color (a^*) que el vino control. La disminución de la concentración de flavonoles en los vinos envejecidos también podría contribuir a la disminución observada en el porcentaje de la copigmentación del color de los vinos tintos envejecidos. En contraste, la componente amarilla del color (b^*) y el matiz (h^*) no mostraron diferencias significativas después de los procesos de

envejecimiento. Además, los vinos envejecidos todavía preservaban un color rojo con matices violáceos similares a los que corresponden a los vinos jóvenes originales. También fueron encontradas diferencias significativas en los parámetros de luminosidad (L^*) y saturación (C^*) entre el vino control y los vinos de crianza.

La intensidad del color de los vinos de crianza fue significativamente menor que la del vino control. Este hecho podría ser atribuible no sólo a la reducción del efecto de la copigmentación, sino también a la formación de pigmentos poliméricos insolubles que constituyen los precipitados de la materia colorante en los vinos de crianza. Por otro lado, la tonalidad, que es la ganancia del color amarillo, fue mayor en los vinos envejecidos durante seis meses. Este hecho parece estar relacionado con la formación de pigmentos poliméricos (% polimerización), la cual produce una estabilización del color a lo largo del tiempo de envejecimiento.

Tabla 3.9. Características cromáticas, familias de polifenoles (mg L⁻¹) y parámetros de color de los vinos Tempranillo control y con diferentes tratamientos de envejecimiento en madera de castaño (valor medio ± desviación estándar, n = 2).

	<i>Vino control</i>		<i>Virutas de Castaño</i>		<i>Barricas de Castaño sin tostar</i>				<i>Barricas de Castaño tostada</i>			
					<i>3 meses</i>		<i>6 meses</i>		<i>3 meses</i>		<i>6 meses</i>	
<i>L</i> *	46,25	± 0,07 ^a	54,90	± 1,84 ^b	53,80	± 3,54 ^{a,b}	50,90	± 0,42 ^{a,b}	52,95	± 3,04 ^{a,b}	52,50	± 0,14 ^{a,b}
<i>C</i> *	52,59	± 0,08 ^b	47,46	± 0,95 ^a	48,13	± 2,06 ^a	48,59	± 0,18 ^a	48,14	± 1,46 ^a	46,67	± 0,05 ^a
<i>h</i> *	10,50	± 0,10	8,96	± 0,68	10,80	± 1,87	12,60	± 0,12	10,82	± 1,94	13,26	± 0,26
<i>a</i> *	51,71	± 0,06 ^b	46,87	± 1,03 ^a	47,26	± 1,72 ^a	47,42	± 0,19 ^a	47,27	± 1,12 ^a	45,42	± 0,10 ^a
<i>b</i> *	9,59	± 0,11	7,39	± 0,40	9,05	± 1,92	10,60	± 0,06	9,07	± 1,87	10,70	± 0,20
Polifenoles totales	1197,08	± 29,46	1174,17	± 120,80	1140,83	± 114,90	1167,92	± 23,57	1130,42	± 111,96	1167,92	± 0,00
HCAD	353,95	± 8,22	302,79	± 31,24	316,74	± 31,24	320,23	± 3,29	317,91	± 32,89	328,37	± 1,64
Flavonoles	184,48	± 39,01 ^b	54,24	± 17,08 ^a	79,31	± 21,94 ^a	77,59	± 24,38 ^a	63,79	± 9,75 ^a	75,86	± 2,44 ^a
Flavan-3-oles	355,00	± 0,79 ^b	297,78	± 19,86 ^a	310,00	± 11,00 ^a	305,56	± 15,71 ^a	302,78	± 8,64 ^a	290,56	± 16,50 ^a
Antocianos totales	389,12	± 23,47 ^b	267,41	± 33,90 ^a	258,19	± 5,22 ^a	217,61	± 10,43 ^a	250,81	± 5,22 ^a	217,61	± 10,43 ^a
Taninos (g L ⁻¹)	3,44	± 0,03	2,95	± 0,28	2,74	± 0,03	3,15	± 0,11	2,66	± 0,72	3,05	± 0,19
Intensidad de color	12,33	± 0,05 ^b	9,30	± 0,50 ^a	9,73	± 1,15 ^a	10,63	± 0,13 ^a	9,93	± 1,03 ^a	10,08	± 0,04 ^a
Tonalidad	0,62	± 0,00 ^a	0,65	± 0,01 ^b	0,66	± 0,02 ^b	0,69	± 0,00 ^c	0,66	± 0,00 ^{b,c}	0,72	± 0,00 ^d
Copigmentación %	20,14	± 0,92 ^b	14,40	± 0,81 ^a	13,96	± 1,20 ^a	14,43	± 0,42 ^a	13,94	± 0,31 ^a	11,67	± 0,57 ^a
Polimerización %	29,09	± 0,12 ^a	30,14	± 0,47 ^{a,b}	31,66	± 1,87 ^{a,b}	37,77	± 0,41 ^c	33,59	± 1,92 ^b	41,78	± 0,47 ^d

HCAD: derivados de ácidos hidroxicinámicos.

Los valores con superíndices diferentes en la misma fila indican diferencias significativas según el test de Student-Newman-Keuls con $p < 0,05$

3.4.2. Efecto de los tratamientos de envejecimiento con maderas de castaño en los compuestos fenólicos no antociánicos

Varios tipos de compuestos fenólicos no antociánicos se han identificado, tales como ácidos hidroxicinámicos, estilbenos, ácidos benzoicos, flavan-3-oles y flavonoles en las muestras de vinos analizadas (Tabla 3.10). Estos compuestos suelen estar presentes en los vinos y su presencia ha sido descrita anteriormente (GÓMEZ-ALONSO et al., 2007).

Los principales **ácidos hidroxicinámicos** encontrados fueron el ácido cafeico y el ácido *p*-cumárico, que se detectaron tanto en sus formas libres como en sus formas esterificadas con ácido tartárico (ácido caftarico y ácido cutárico) o con otros componentes del vino, tales como etanol (cafeoato de etilo y cumarato de etilo). Sólo pequeñas diferencias estadísticas fueron encontradas respecto a los derivados de ácidos hidroxicinámicos entre el vino control y los vinos envejecidos. Según los datos encontrados en bibliografía, la madera de castaño posee tanto ácido cafeico como ácido *p*-cumárico encontrándose éste último en cantidades considerablemente mayores que en las especies de madera de roble comúnmente utilizadas en tonelería (ALAÑÓN et al., 2011). Por lo tanto, podría esperarse un aumento de la concentración de estos ácidos, especialmente la de ácido *p*-cumárico, procedente de su liberación desde la madera hacia el vino durante en el proceso de envejecimiento. Sorprendentemente, se detectó una menor concentración de este ácido en aquellos vinos envejecidos en barricas durante seis meses. Este hecho, probablemente, puede estar relacionado con la intervención de ácidos hidroxicinámicos libres en la formación de nuevos compuestos, como las hidroxifenil-piranoantocianinas, produciendo una disminución de la concentración esperada de ácido *p*-cumárico procedente de la madera de castaño. Este hecho se describirá más adelante en la sección 4.3.

En cuanto al contenido de **estilbenos**, el tratamiento de envejecimiento con madera de castaño tuvo un efecto significativo. Este hecho se encuentra en discrepancia con las observaciones realizadas por otros autores que estimaron que,

en un sistema modelo, la tasa promedio de desaparición del *trans*-resveratrol era cerca de un 50% debido a los procesos de adsorción en presencia de madera de roble (BARRERA-GARCÍA et al., 2007). Sin embargo, los mismos autores también observaron que la concentración de *trans*-resveratrol se mantenía constante en presencia de un extracto de elagitaninos extraídos. Es bien sabido que el castaño es una madera especialmente rica en elagitaninos en comparación con las especies de roble utilizados con frecuencia en tonelería (ALANÓN et al., 2011). Este hecho podría explicar el que no se encontraran diferencias en el contenido de estilbenos cuando los tratamientos de envejecimiento fueron llevados a cabo con madera de castaño. Este hecho es especialmente relevante si tenemos en cuenta las propiedades saludables demostradas por los estilbenos, especialmente en el caso del *trans*-resveratrol (FERNÁNDEZ-MAR et al., 2012).

Los **ácidos benzoicos** tales como, ácido protocatéquico, ácido gálico y ácido elágico fueron detectados tanto en el vino control como en los vinos envejecidos. Sin embargo, las concentraciones de estos compuestos se vieron incrementadas considerablemente debido a los tratamientos de envejecimiento con madera de castaño (Tabla 3.10). Las mayores cantidades de ácido protocatéquico fueron detectadas en los vinos envejecidos en barricas tostadas. Este hecho podría ser atribuible a la generación de este compuesto durante el proceso de tostado a consecuencia de la degradación térmica de la lignina.

Tabla 3.10. Concentración media y desviación estándar de los compuestos fenólicos no antocianicos de diferentes familias: derivados de ácidos hidroxicinámicos (* mg L⁻¹ equivalentes de ácido cafeico y ^δ mg L⁻¹ equivalentes de ácido cumárico), estilbenos (μmoles L⁻¹), derivados de ácidos benzoicos (μmoles L⁻¹), flavan-3-oles (μmoles L⁻¹), y flavonoles (μmoles L⁻¹) identificados en los vinos Tempranillo con y sin envejecimiento con madera de castaño (n = 2)

	<i>Vino control</i>	<i>Virutas de Castaño</i>	<i>Barricas de Castaño sin tostar</i>		<i>Barricas de Castaño tostadas</i>	
			<i>3 meses</i>	<i>6 meses</i>	<i>3 meses</i>	<i>6 meses</i>
Ácidos hidroxicinámicos						
<i>trans</i> -ácido caftárico*	179,65 ± 1,95	161,64 ± 4,06	157,8 ± 10,51	173,36 ± 1,86	168,48 ± 20,73	166,88 ± 0,63
<i>trans</i> -ácido cutárico ^δ	142,14 ± 2,53	128,73 ± 3,68	127,4 ± 10,62	138,8 ± 2,39	136,46 ± 15,93	134,82 ± 2,05
<i>cis</i> -ácido cutárico ^δ	6,25 ± 0,08 ^{a,b}	6,69 ± 0,60 ^{a,b}	5,32 ± 0,84 ^a	7,76 ± 0,48 ^b	6,60 ± 0,82 ^{a,b}	7,31 ± 0,22 ^{a,b}
ácido cafeico*	32,66 ± 0,32	29,4 ± 1,01	26,34 ± 3,91	33,76 ± 0,86	30,87 ± 3,16	32,36 ± 0,54
<i>p</i> -ácido cumárico ^δ	22,08 ± 0,55 ^a	20,13 ± 0,57 ^{a,b}	18,43 ± 2,28 ^{a,b}	16,58 ± 0,25 ^b	21,16 ± 1,82 ^a	16,12 ± 0,64 ^b
cafeato de etilo*	8,86 ± 0,28	8,74 ± 0,72	8,61 ± 0,17	9,67 ± 0,83	9,11 ± 1,31	9,53 ± 0,32
cumarato de etilo ^δ	5,51 ± 0,13	6,04 ± 1,35	5,37 ± 0,48	6,02 ± 0,90	5,93 ± 1,52	6,21 ± 0,38
<i>Total</i>	<i>397,15</i>	<i>361,38</i>	<i>349,32</i>	<i>385,94</i>	<i>378,60</i>	<i>373,24</i>
Estilbenos						
<i>trans</i> -piceido	2,51 ± 0,06	2,88 ± 0,15	2,41 ± 0,43	2,97 ± 0,06	2,64 ± 0,39	2,91 ± 0,10
<i>trans</i> -resveratrol	16,51 ± 0,31	15,39 ± 0,32	14,35 ± 2,24	16,50 ± 2,06	15,74 ± 1,28	16,50 ± 0,31
<i>cis</i> -resveratrol	42,53 ± 2,29	43,60 ± 4,61	39,25 ± 0,49	48,73 ± 0,12	46,39 ± 8,69	49,58 ± 6,60
<i>Total</i>	<i>61,54</i>	<i>61,87</i>	<i>56,00</i>	<i>68,20</i>	<i>64,77</i>	<i>68,99</i>
Ácidos benzoicos						
ácido protocatéquico	11,26 ± 2,76 ^a	25,00 ± 1,73 ^b	24,19 ± 1,89 ^b	24,24 ± 2,50 ^b	33,83 ± 2,53 ^c	34,87 ± 2,92 ^c
ácido gálico	71,92 ± 1,56 ^a	290,82 ± 9,12 ^c	242,03 ± 27,12 ^b	359,35 ± 22,55 ^d	205,69 ± 21,36 ^{b,c}	297,75 ± 17,73 ^c
ácido elágico	1,15 ± 0,38 ^a	12,44 ± 0,09 ^d	6,72 ± 1,30 ^b	13,98 ± 0,34 ^d	9,30 ± 0,69 ^c	17,76 ± 1,01 ^e
<i>Total</i>	<i>98,07</i>	<i>328,26</i>	<i>272,94</i>	<i>397,56</i>	<i>248,82</i>	<i>350,37</i>

Tabla 3.10. Continuación

	<i>Vino control</i>	<i>Virutas de Castaño</i>	<i>Barricas de Castaño sin tostar</i>		<i>Barricas de Castaño tostadas</i>	
			<i>3 meses</i>	<i>6 meses</i>	<i>3 meses</i>	<i>6 meses</i>
Flavan-3-oles						
catequina	177,00 ± 13,30	159,95 ± 17,21	145,63 ± 22,31	172,08 ± 9,49	175,94 ± 10,29	164,30 ± 2,62
epicatequina	14,79 ± 0,89 ^b	6,77 ± 1,53 ^a	7,81 ± 0,01 ^a	9,32 ± 3,30 ^a	12,31 ± 0,51 ^{a,b}	12,24 ± 0,47 ^{a,b}
procianidina B1	43,92 ± 0,80	40,52 ± 6,60	30,48 ± 6,03	33,80 ± 0,48	34,68 ± 1,17	33,78 ± 1,47
procianidina B2	14,37 ± 0,85	21,80 ± 3,96	19,18 ± 1,34	15,97 ± 1,30	18,19 ± 2,79	21,55 ± 0,21
<i>Total</i>	<i>250,08</i>	<i>234,54</i>	<i>203,10</i>	<i>231,17</i>	<i>241,12</i>	<i>231,88</i>
Flavonoles						
miricetina-3-glucuronido	12,29 ± 0,01	8,30 ± 0,09	9,34 ± 0,96	11,71 ± 0,17	9,99 ± 2,73	11,36 ± 0,56
miricetina-3-galactósido	4,6 ± 0,15	3,43 ± 0,09	3,65 ± 0,49	4,2 ± 0,25	3,99 ± 0,71	4,14 ± 0,28
miricetina-3-glucósido	65,82 ± 0,73	50,04 ± 0,99	54,23 ± 4,91	58,14 ± 0,89	58,47 ± 9,12	55,62 ± 1,26
quercetina glucurónido	35,16 ± 0,36	26,51 ± 0,59	29,00 ± 2,31	33,15 ± 0,13	30,39 ± 6,42	31,63 ± 0,73
quercetina glucósido	11,71 ± 0,17 ^c	8,48 ± 0,10 ^{a,b}	9,09 ± 0,37 ^b	7,03 ± 0,20 ^a	9,39 ± 1,37 ^b	6,99 ± 0,11 ^a
isorhamnetina glucósido	2,38 ± 0,03	1,86 ± 0,01	2,11 ± 0,05	2,34 ± 0,44	2,00 ± 0,20	1,85 ± 0,06
siringetina glucósido	7,99 ± 0,01	6,28 ± 0,07	6,99 ± 0,55	8,61 ± 0,55	7,02 ± 1,01	7,38 ± 0,13
miricetina	39,17 ± 1,04 ^b	20,88 ± 0,51 ^a	31,37 ± 1,02 ^b	39,2 ± 1,68 ^b	29,21 ± 7,88 ^b	35,97 ± 0,01 ^b
quercetina	39,15 ± 0,35 ^c	13,59 ± 0,27 ^a	25,21 ± 1,16 ^b	37,68 ± 2,25 ^c	24,83 ± 7,83 ^b	31,36 ± 1,11 ^{b,c}
laricitrina	7,67 ± 0,11 ^e	2,83 ± 0,03 ^a	5,40 ± 0,10 ^b	6,50 ± 0,43 ^d	4,68 ± 0,55 ^{b,c}	5,72 ± 0,19 ^c
isorhamnetina	3,36 ± 0,01 ^c	2,18 ± 0,01 ^a	2,99 ± 0,21 ^{b,c}	3,19 ± 0,14 ^{b,c}	2,53 ± 0,41 ^{a,b}	2,52 ± 0,14 ^{a,b}
<i>Total</i>	<i>229,30</i>	<i>144,38</i>	<i>179,38</i>	<i>211,75</i>	<i>182,5</i>	<i>194,54</i>

Los valores con superíndices diferentes en la misma fila indican diferencias significativas según el método de Student-Newman-Keuls en P < 0,05

El aumento de la concentración de ácido gálico en los vinos envejecidos en madera de castaño fue el cambio más pronunciado que se produjo en la composición fenólica de los vinos. Este hecho está en buena consonancia con la gran cantidad de ácido gálico que presenta la madera de castaño y que ya había sido anteriormente descrita en bibliografía (ALANÓN et al., 2011). Las concentraciones de ácido elágico también aumentaron considerablemente a consecuencia del contacto del vino con la madera de castaño aunque este aumento no fue tan pronunciado como el observado en el ácido gálico. Es importante tener en cuenta que tanto el ácido gálico como el ácido elágico son compuestos importantes debido a su ya demostrada capacidad antioxidante, incluso a concentraciones muy bajas (SROKA & CISOWSKI, 2003). Las concentraciones liberadas a partir de la madera de castaño de estos compuestos, no sólo depende del tipo de envejecimiento usado (virutas/barricas; tostado/no tostado), sino también del tiempo de envejecimiento (Tabla 3.10). La concentración de ácido gálico y ácido elágico en los vinos envejecidos en barricas durante seis meses aumentó notablemente comparadas con aquellas concentraciones detectadas en los vinos envejecidos en barricas durante sólo tres meses. Por lo tanto, es evidente que durante el proceso de envejecimiento en barricas de castaño se va produciendo una extracción continua de estos compuestos. Es importante señalar que el uso de virutas como alternativa a la crianza tradicional, acelera la extracción de los compuestos de la madera debido a su mayor superficie de contacto. En efecto, las concentraciones de ácidos benzoicos encontradas en los vinos envejecidos con virutas de castaño fueron más altas que las detectadas en los vinos envejecidos mediante el empleo de barricas no tostadas durante tres meses.

Centrando nuestra atención en el tratamiento térmico aplicado a las barricas, podemos ver como éste también es un parámetro importante en cuanto al contenido de ácidos benzoicos presentes en el vino. En la Tabla 3.10 podemos ver como la mayor concentración de ácido gálico se encontró en los vinos envejecidos durante seis meses con barricas no tostadas. Es importante tener en cuenta que el ácido gálico es

un compuesto sensible a la degradación térmica, sin embargo, la disminución del contenido de ácido gálico en los vinos envejecidos con barricas de castaño tostadas no fue demasiado pronunciada. Este hecho puede deberse a que la madera de castaño contiene galotaninos, los cuales durante el proceso de tostado se degradan térmicamente liberando ácido gálico (SANZ et al., 2012). Contrariamente, el proceso de tostado de las barricas llevo consigo un aumento muy significativo en el contenido de ácido elágico de los vino, debido probablemente, a la liberación de este a consecuencia de la degradación térmica de los elagitaninos (VIRIOT et al., 1993).

Respecto a las concentraciones de los **flavan-3-oles**, éstas se mantuvieron prácticamente constantes durante los diferentes tratamientos de envejecimiento con madera de castaño. Sólo una ligera reducción en el contenido de epicatequina fue observada en los vinos tratados con madera de castaño no tostada tanto en forma de chips como en forma de barricas (Tabla 3.10). En cuanto a los flavonoles, el contacto con la madera de castaño produjo una disminución significativa en la mayoría de los flavonoles libres (quercetina, laricitrina y isoramnetina) y también en el 3-glucósido de quercetina (Tabla 3.10), el cual es fácilmente hidrolizable (CASTILLO-MUÑOZ et al., 2007). Especialmente notables fueron los bajos valores de flavonoles libres (miricetina, quercetina, laricitrina e isoramnetina) que se encuentran en los vinos envejecidos mediante virutas de castaño. Esta disminución tan pronunciada podría deberse a fenómenos de adsorción entre estos compuestos y la superficie de las virutas de madera. La habilidad de la madera en adsorber diversos compuestos de distinta índole (ocratoxina A, compuestos fenólicos, componentes del aroma...) ya había sido descrita en literatura (JARAUTA et al., 2005; BARRERA-GARCÍA et al, 2007; SAVINO et al., 2007; CASTRO-VÁZQUEZ et al., 2011). Sin embargo, los resultados mostraron un importante efecto de adsorción de flavonoles libres cuando se utilizaron virutas en lugar de barricas, debido probablemente, a la mayor superficie de contacto de las virutas comparadas con las barricas, incluso empleando períodos de envejecimiento más cortos.

Los flavonoles son pigmentos amarillos y su disminución podría haber compensado parcialmente el aumento esperable de la componente del color amarillo de los vinos tintos, atribuible a la formación de pigmentos poliméricos durante el envejecimiento. De hecho se observó un menor valor de los parámetros de color b^* y h^* en el caso de los vinos envejecidos con virutas de castaño aunque las diferencias encontradas no fueron significativas (Tabla 3.9).

3.4.3. Efecto de los tratamientos de envejecimiento con castaño sobre la composición de antocianos y piranoantocianos del vino

Los **antocianos** monómeros encontrados en los vinos Tempranillo no sólo fueron los ya esperados 3-glucósidos de delphinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina, sino que también sus derivados acetilados y cumaroilados fueron encontrados. De entre ellos, los 3-glucósidos no acilados fueron los antocianos más abundantes, siendo la malvidina 3-glucósido el compuesto más abundante (Tabla 3.11). El contenido de antocianos se vio notablemente afectado por los tratamientos de envejecimiento aplicado a los vinos con madera de castaño, especialmente los derivados no acilados, sufriendo una reducción importante no sólo a nivel de los compuestos individuales sino también en el total de antocianos si los comparamos con el vino control. Este hecho también ha sido descrito en bibliografía cuando la madera utilizada para llevar a cabo los procesos de envejecimiento era la madera de roble. En este caso, la reducción del contenido de los monómeros de antocianos parece deberse a diversos factores. Por un lado, el contacto con la madera de roble podría provocar la adsorción de algunos compuestos fenólicos (AMATI & ARFELLI, 2001). Por otro lado, la madera podría liberar algunos aldehídos fenólicos que podrían contribuir a la condensación de los antocianos de los vinos tintos (SINGLETON, 1995). Además, los elagitaninos de la madera de roble al liberarse, podrían tomar parte en las reacciones de condensación con los monómeros de antocianos (ORTEGA-HERAS et al., 2004). Estos mismos factores observados cuando se emplea madera de roble,

parecen también estar implicados cuando los procesos de envejecimiento son llevados a cabo con madera de castaño.

Por otro lado, el proceso de tostado no mostró tener mucha influencia en el contenido final de antocianos de los vinos envejecidos con madera de castaño ya que, prácticamente, no se encontraron diferencias entre la madera de castaño tostada y no tostada. Con respecto al efecto del tiempo, sólo se encontraron algunas diferencias entre los vinos envejecidos durante tres y seis meses de crianza. El cambio más notable fue la disminución de los derivados no acilados, acetilados y *p*-cumaroilados de malvidina 3-glucósido, no sólo con respecto al tiempo de envejecimiento, sino también respecto a los tratamientos de tostado. En base a los resultados obtenidos, se puede apuntar que la evolución de los monómeros de antocianos durante el proceso de envejecimiento es un proceso lento aunque progresivo. Además, parece ser que la malvidina 3-glucósido y sus derivados son las especies más implicadas en la formación de nuevos pigmentos (ALCALDE-EON et al., 2006) siendo que la malvidina 3-glucósido la especie más reactiva.

La formación de nuevos pigmentos durante el envejecimiento en los que intervienen derivados antociánicos, podría explicar la pérdida de la intensidad del color de los vinos tintos envejecidos en madera de castaño (Tabla 3.9). Algunos de estos pigmentos son de naturaleza polimérica que pueden ser insolubles precipitando en forma de depósitos de materia colorante en función de su grado de polimerización (por ejemplo, los aductos de antocianos con taninos, mediados o no por acetaldehído). Sin embargo, ha de ser señalado que la formación de pigmentos poliméricos es deseable ya que ésta conduce a la estabilización del color de los vinos tintos de crianza, ya que las pérdidas de color debido al blanqueo por bisulfito y a los cambios del pH son atenuados (ZAMORA, 2003).

En cuanto a la utilización de virutas, hay que destacar las bajas concentraciones significativas de todos los monómeros antocianos cumaroilados en comparación con las detectadas cuando se emplearon barricas. Este hecho parece

deberse a los fenómenos de adsorción en la superficie de las virutas de castaño a los cuales parece ser más sensibles estos compuestos cumaroilados.

Otras reacciones en las que se ven involucrados los antocianos son aquellas en las que se origina un anillo pirano en la estructura del antociano por la adición de diferentes compuestos presentes en el vino, dando lugar a los llamados **piranoantocianos** (ALCALDE-EON et al., 2006). En los vinos analizados, se detectaron varios piranoantocianos, todos ellos derivados del principal antociano, malvidina 3-glucósido, y de algunas de sus formas aciladas.

A lo largo del período de envejecimiento en barricas de castaño, fue posible observar un ligero aumento del contenido de piranoantocianos tipo hidroxifenil en los vinos, aunque sólo se encontraron diferencias significativas en los niveles de 10-catequil-piranomalvidin-3-glucósido y 10-hidroxi-piranomalvidin-3-acetil-glucósido. Este hecho concuerda con la discusión realizada en la sección anterior referente al comportamiento observado de los ácidos hidroxicinámicos durante el envejecimiento (Tabla 3.10). Como ya se ha indicado, los ácidos hidroxicinámicos pueden intervenir en la formación de hidroxifenil-piranoantocianos debido a la combinación de los ácidos hidroxicinámicos con los antocianos (RENTZSCH et al., 2007).

Tabla 3.11. Concentración media (mg L⁻¹) y desviación estándar de los antocianos y piranoantocianos identificadas por HPLC-MSⁿ en el vino control y en los vinos envejecidos con madera de castaño (n = 2)

	<i>Vino control</i>	<i>Virutas de Castaño</i>	<i>Barricas de Castaño no tostadas</i>		<i>Barricas de Castaño tostadas</i>	
			<i>3 meses</i>	<i>6 meses</i>	<i>3 meses</i>	<i>6 meses</i>
delfinidina 3-glucósido	31,40 ± 0,30 ^a	18,85 ± 0,53 ^b	21,14 ± 1,00 ^b	20,86 ± 0,56 ^b	19,72 ± 1,41 ^b	20,05 ± 1,14 ^b
cianidina 3-glucósido	3,52 ± 0,06 ^a	2,60 ± 0,11 ^b	3,00 ± 0,02 ^b	3,02 ± 0,12 ^b	2,91 ± 0,14 ^b	2,89 ± 0,27 ^b
petunidina 3-glucósido	37,16 ± 1,46 ^a	23,73 ± 1,14 ^b	26,28 ± 1,46 ^b	25,71 ± 0,43 ^b	24,82 ± 2,03 ^b	23,09 ± 0,83 ^b
peonidina 3-glucósido	11,97 ± 0,12 ^c	8,55 ± 0,43 ^{a,b}	9,34 ± 0,20 ^b	8,60 ± 0,07 ^{a,b}	8,92 ± 0,33 ^{a,b}	8,11 ± 0,13 ^a
malvidina 3-glucósido	140,63 ± 1,73 ^d	94,52 ± 4,25 ^{b,c}	100,46 ± 3,57 ^c	88,02 ± 1,21 ^b	92,67 ± 3,63 ^{b,c}	78,25 ± 2,27 ^a
delfinidina 3-(6"-acetil)-glucósido	6,99 ± 0,11 ^c	4,77 ± 0,22 ^a	5,44 ± 0,34 ^{a,b}	5,84 ± 0,15 ^b	5,45 ± 0,06 ^{a,b}	5,75 ± 0,53 ^{a,b}
cianidina 3-(6"-acetil)-glucósido	4,86 ± 0,13 ^b	3,99 ± 0,14 ^a	4,53 ± 0,17 ^{a,b}	5,03 ± 0,04 ^b	4,13 ± 0,44 ^a	4,97 ± 0,21 ^b
petunidina 3-(6"-acetil)-glucósido	6,77 ± 0,29 ^b	5,10 ± 0,22 ^a	5,74 ± 0,27 ^a	5,79 ± 0,14 ^a	5,40 ± 0,20 ^a	5,43 ± 0,38 ^a
peonidina 3-(6"-acetil)-glucósido	3,61 ± 0,18 ^{b,c}	2,97 ± 0,11 ^a	3,27 ± 0,08 ^{a,b}	4,01 ± 0,17 ^c	3,35 ± 0,25 ^{a,b}	3,94 ± 0,19 ^c
malvidina 3-(6"-acetil)-glucósido	14,94 ± 0,08 ^d	10,50 ± 0,43 ^{b,c}	11,33 ± 0,40 ^c	9,90 ± 0,13 ^b	10,59 ± 0,50 ^{b,c}	9,02 ± 0,10 ^a
delfinidina 3-(6"-cumaroil)-glucósido	10,08 ± 0,15 ^c	4,94 ± 0,21 ^a	7,32 ± 1,32 ^{a,b}	7,84 ± 0,98 ^b	6,08 ± 0,25 ^{a,b}	6,40 ± 0,02 ^{a,b}
cianidina 3-(6"-cumaroil)-glucósido	3,28 ± 0,09 ^c	2,02 ± 0,07 ^a	2,42 ± 0,00 ^b	2,61 ± 0,03 ^b	2,44 ± 0,25 ^b	2,51 ± 0,02 ^b
petunidina 3-(6"-cumaroil)-glucósido	7,15 ± 0,12 ^c	3,95 ± 0,19 ^a	4,96 ± 0,29 ^b	5,07 ± 0,02 ^b	4,78 ± 0,28 ^b	4,61 ± 0,21 ^b
peonidina 3-(6"-cumaroil)-glucósido	4,67 ± 0,56 ^c	2,77 ± 0,34 ^{a,b}	3,67 ± 0,11 ^b	3,65 ± 0,09 ^b	3,07 ± 0,12 ^{a,b}	2,44 ± 0,02 ^a
malvidina 3-(6"-cumaroil)-glucósido	22,33 ± 0,53 ^d	12,13 ± 0,67 ^{a,b}	14,67 ± 0,61 ^c	12,83 ± 0,13 ^{b,c}	13,43 ± 1,16 ^{b,c}	10,65 ± 0,49 ^a
<i>Total</i>	<i>309,36</i>	<i>201,39</i>	<i>223,57</i>	<i>208,78</i>	<i>207,76</i>	<i>188,11</i>
10-catequil-piranomalvidin-3-glucósido	2,61 ± 0,17 ^a	2,40 ± 0,15 ^a	2,95 ± 0,43 ^{a,b}	3,35 ± 0,24 ^b	2,59 ± 0,24 ^a	4,27 ± 0,03 ^c
10-catequil-piranomalvidin-3-(6"-acetil)-glucósido	1,04 ± 0,04	0,73 ± 0,27	0,87 ± 0,08	1,02 ± 0,12	0,90 ± 0,13	1,12 ± 0,04
10-hidroxi-piranomalvidin-3-glucósido	0,82 ± 0,12	0,64 ± 0,17	0,65 ± 0,32	0,94 ± 0,02	0,70 ± 0,16	1,01 ± 0,22
10-catequil-piranomalvidin-3-(6"-cumaroil)-glucósido	1,26 ± 0,06	1,03 ± 0,15	1,13 ± 0,12	1,45 ± 0,13	1,19 ± 0,21	1,44 ± 0,06
10-hidroxi-piranomalvidin-3-(6"-acetil)-glucósido	0,34 ± 0,01 ^b	0,26 ± 0,03 ^a	0,25 ± 0,01 ^a	0,43 ± 0,00 ^c	0,29 ± 0,02 ^{a,b}	0,42 ± 0,02 ^c
10-hidroxi-piranomalvidin-3-(6"-cumaroil)-glucósido	0,21 ± 0,00	0,19 ± 0,04	0,21 ± 0,07	0,23 ± 0,03	0,20 ± 0,03	0,21 ± 0,02

Tabla 3.11. Continuación

	<i>Vino control</i>	<i>Virutas de Castaño</i>	<i>Barricas de Castaño no tostadas</i>		<i>Barricas de Castaño tostadas</i>	
			<i>3 meses</i>	<i>6 meses</i>	<i>3 meses</i>	<i>6 meses</i>
<i>Total</i>	6,28	5,25	6,06	7,42	5,87	8,47
vitisina A	13,91 ± 0,45 ^a	12,02 ± 0,57 ^a	13,51 ± 0,41 ^a	15,41 ± 0,01 ^b	13,09 ± 0,10 ^a	16,29 ± 1,16 ^b
vitisina B	12,45 ± 0,18 ^b	10,24 ± 1,35 ^{a,b}	11,03 ± 0,26 ^{a,b}	10,27 ± 0,09 ^{a,b}	11,29 ± 0,21 ^{a,b}	9,58 ± 0,43 ^a
<i>Total</i>	26,36	22,26	24,54	25,68	24,38	25,87

Los valores con superíndices diferentes en la misma fila indican diferencias significativas según el test estadístico de Student-Newman-Keuls en $p < 0,05$

Los procesos de envejecimiento con madera de castaño también afectaron el contenido de **vitisinas** detectado en los vinos (Tabla 3.11). Como era de esperar, la vitisina A, formada por el aducto de la malvidina 3-glucósido con el ácido pirúvico, fue la vitisina más abundante detectada en los vinos. La cantidad más alta se alcanzó en aquellos vinos envejecidos durante más tiempo en bodega (seis meses). Parece que durante el periodo de envejecimiento en bodegas se forman las vitisinas del tipo A. Sin embargo, cuando el envejecimiento se llevó a cabo por medio de virutas los niveles disminuyeron ligeramente. Los resultados estaban de acuerdo con las observaciones anteriores realizadas por Asenstorfer et al., (2003) que demostraron que la formación de la vitisina A está controlada, más que por los niveles de malvidina 3-glucósido y ácido pirúvico (producido durante la fermentación alcohólica), por la existencia en el vino de un oxidante concreto ya que la formación de este piranoantociano requiere de una etapa de reacción de oxidación. Dichos autores también apuntaron que algunos componentes del vino, tales como los elagitaninos de la madera, podrían convertir el oxígeno en una especie reactiva y que por consiguiente, podría favorecer la formación de vitisina A. Por lo tanto, la síntesis de vitisina A parece ser estimulada durante el periodo de envejecimiento en bodegas a consecuencia de la micro-difusión del oxígeno sufrida a través de los poros de la madera de castaño. Mientras que en el proceso de envejecimiento con virutas, no se produce ningún contacto con el aire y por tanto no se estimularía la formación de vitisina A.

En contraste, la vitisina B apenas mostró diferencias significativas a pesar de que su contenido parece disminuir a medida que el periodo de envejecimiento es mayor. Este hecho también ha sido observado por otros autores lo cuales detectaron una rápida disminución de vitisina B en los vinos envejecidos durante ocho meses en madera de roble, alcanzando niveles mucho más bajos de vitisina B que los encontrados en un principio en los vinos más jóvenes (ALCALDE-EON et al., 2006). Recientemente, el seguimiento de la formación de vitisina B en vino modelo ha mostrado que el acetaldehído reacciona rápidamente con los antocianos para dar

lugar a una formación inicial de vitisina B, que más tarde derivará a la formación de pigmentos poliméricos (BLANCO-VEGA et al., 2011). Por lo tanto, aunque el periodo de envejecimiento en barricas podría promover la formación de acetaldehído por la oxidación del etanol, no se observó ningún aumento en la concentración de vitisina B durante el tiempo de envejecimiento, sino que incluso se pudo apreciar una ligera disminución.

La formación de todos estos piranoantocianos también contribuye a la estabilización del color de los vinos de crianza, ya que poseen una gran resistencia a la decoloración por bisulfito y a por los cambios del pH. Además, los piranoantocianos permanecen en disolución y por lo tanto, casi nunca precipitan perdiéndose parte de la materia colorante.

Con el fin de resaltar las diferencias entre los distintos tratamientos de envejecimiento con madera de castaño, se llevó a cabo un análisis de componentes principales (PCA) el cual fue aplicado a los datos de los compuestos fenólicos que fueron significativos. Los componentes principales 1 y 2 (PC1 y PC2) representaron el 86,6% de la varianza total explicada. Los compuestos que mostraron las mejores correlaciones con cada componente principal se exponen en la Tabla 3.12, mientras que la distribución de las muestras en el plano formado por PC1 y PC2 se muestra en la Figura 3.8.

El componente principal 1 separó el vino control de los vinos envejecidos en madera de castaño, debido a las menores concentraciones de antocianos monómeros y a la mayor cantidad de ácidos benzoicos que se detectaron en los vinos que habían estado en contacto con la madera de castaño. Mientras tanto, el componente principal 2 se correlacionó principalmente con las cantidades de algunos piranoantocianos y flavonoles. De esta forma, los vinos envejecidos con castaño durante seis meses se concentraron, gráficamente, en la región definida por el extremo negativo del eje que representa al PC1 y el extremo positivo del eje que representa al PC2, diferenciándose de aquellos vinos envejecidos durante un período de tiempo menor.

Tabla 3.12. Resultado del análisis de los Componentes Principales aplicados a los compuestos fenólicos significativos del vino control y de los vinos envejecidos.

Componente Principal	% Variancia Explicada	Compuestos	Coefficiente de Correlación
PC1	53,2	malvidina 3-(6"-cumaroil)-glucósido	0,99
		peonidina-3-glucósido	0,99
		malvidina 3-(6"-acetil)-glucósido	0,98
		petunidina-3-glucósido	0,97
		malvidina-3-glucósido	0,97
		delfinidina-3-glucósido	0,95
		petunidina 3-(6"-cumaroil)-glucósido	0,93
		ácido elágico	-0,93
		peonidina 3-(6"-cumaroil)-glucósido	0,90
		quercetina glucósido	0,89
		cianidina-3-glucósido	0,87
		petunidina 3-(6"-acetil)-glucósido	0,86
		ácido gálico	-0,85
PC2	33,4	peonidina 3-(6"-acetil)-glucósido	0,97
		10-hidroxi-piranomalvidin-3-(6"-acetil)-glucósido	0,94
		vitisina A	0,93
		cianidina 3-(6"-acetil)-glucósido	0,93
		miricetina	0,87
		quercetina	0,85

Por otro lado, si bien el uso de virutas mostró algunas diferencias cuantitativas en el contenido de compuestos fenólicos, el análisis de componentes principales no

logró discriminar los vinos envejecidos con virutas de castaño de aquellos envejecidos en barricas durante tres meses en base a este tipo de compuestos.

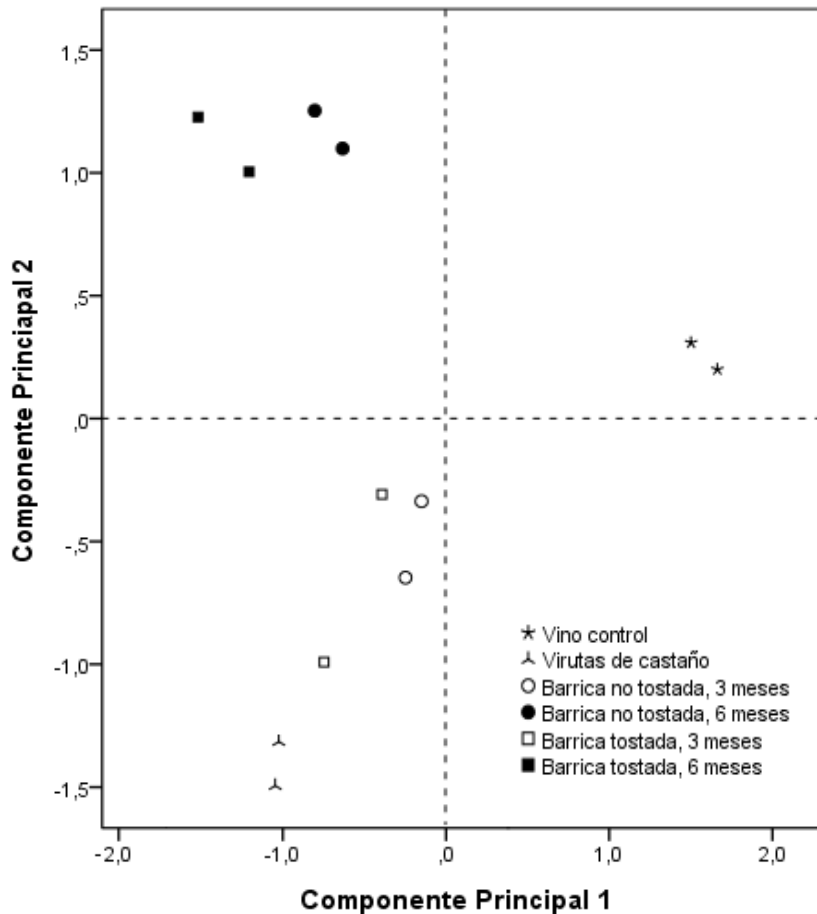


Figura 3.8. Distribución de las muestras de vino control y de los vinos envejecidos con madera de castaño en el plano definido por las componentes principales PC1 y PC2, con respecto a los ácidos hidroxicinámicos, ácidos benzoicos, flavan-3-oles, flavonoles, antocianos y piranoantocianos.

En resumen, los resultados de este estudio revelaron que el efecto del proceso de tostado de la madera no tuvo mayor relevancia en la composición fenólica final de los vinos envejecidos con madera de castaño. Por el contrario, el efecto del tiempo fue un parámetro crucial en la composición fenólica de los vinos envejecidos en barricas de madera de castaño. Este hecho se puede atribuir no sólo a la evolución y/o transformación lenta de los compuestos fenólicos del vino, sino también al proceso

lento, pero continuado, de microoxigenación sufrido a través de los poros de la madera de castaño durante el período de envejecimiento.

3.5. BIBLIOGRAFÍA

Abbott, N., Puech, J.L., Bayonove, C., Baumes, R. (1995). Determination of the aroma threshold of the *cis* and *trans* racemic forms of β -methyl- γ -octalactone by gas chromatography-sniffing analysis. *American Journal of Enology and Viticulture*, 496, 292-294.

Alañón, M. E., Castro-Vázquez, L., Díaz-Maroto, M. C., Hermosín-Gutiérrez, I., Gordon, M. H., Pérez-Coello, M. S. (2011). Antioxidant capacity and phenolic composition of different woods used in cooperage. *Food Chemistry*, 129, 1584-1590.

Alañón, M. E., Castro-Vázquez, L., Díaz-Maroto, M. C., Pérez-Coello, M. S. (2012). Aromatic potential of *Castanea sativa Mill.* compared to *Quercus* species to be used in cooperage. *Food Chemistry*, 130, 875-881.

Alañón, M.E., Ramos, L., Díaz-Maroto, M.C., Peréz-Coello, M.S., Sanz, J. (2009). "Extraction of volatile and semi-volatile components from oak wood used for aging wine by miniaturised pressurised liquid technique". *International Journal Food Science and Technology*, 44, 1825-1835.

Arfelli, G., Sartini, E., Corzani, C., Fabiani, A., Natali, N. (2007). Impact of wood barrel storage on the volatile composition and sensorial profile of red wine. *Food Science and Technology International*, 13, 293-299.

Alcalde-Eón, 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. *Analytical Chimica Acta*, 563, 238-254.

Amati, A., Arfelli, G. (2001). Vino nel legno o legno nel vino? I risultati delle esperienze di uso di chips in Itali. *L'Enologo*, 37, 57-66.

Amerine, M. A. Ough, C. S. *Methods for Analysis of Musts and Wines*; Wiley: New York, 1980.

Asenstorfer, R. E., Markides, A. J., Iland, P. G., Jones, G. P. (2003). Formation of vitisin A during red wine fermentation and maturation. *Australian Journal of Grape Wine Research*, 9, 40-46.

Ayala, F., Echávarri, J. F., Negueruela, A. I. (2001). MSCV. Grupo de Color, Universidad de La Rioja, Universidad de Zaragoza, Spain.

Bakker, J., Timberlake, C. F. (1997). Isolation, identification and characterization of new color-stable anthocyanins occurring in some red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45:35-43.

Barrera-García, V. D., Gougeon, R. D., Di Majo, D., De Aguirre, C., Voilley, A., Chassagne, D. (2007). Different sorption behaviour for wine polyphenols in contact with oak wood. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 7021-7027.

Beart, J. E., Lilley, T. H., Haslam, E. (1985). Polyphenol interactions. Part 2. Covalent binding of procyanidins to proteins during acidcatalysed decomposition; observations on some polymeric proanthocyanidins. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transaction*, 2, 1439-1443.

Blanco-Vega, D., López-Bellido, F. J., Alía-Robledo, J. M., Hermosín-Gutiérrez, I. (2011). HPLC-DAD-ESI-MS/MS Characterization of Pyranoanthocyanins Pigments Formed in Model Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 9523-9531.

Boidron, J. N., Chatonnet, P., Pons, M. (1988). Influence du bois sur certaines substances odorantes des vins. *Connaissance de la Vigne et du Vin*, 22, 275-294.

Caldeira, I., Belchior A. P., Clímaco, M. C., Sousa, R. B. (2002). Aroma profile of Portuguese brandies aged in chestnut and oak Woods. *Analytica Chimica Acta*, 458, 55-62.

Caldeira, I., Mateus, A. M., Belchior A. P. (2006a). Flavour and odour profile modifications during the first five years of Lourinhã brandy maturation on different wooden barrels. *Analytica Chimica Acta*, 563, 264-273.

Caldeira, I., Clímaco, M. C., Sousa, R. B., Belchior A. P. (2006b). Volatile composition of oak and chestnut woods used in brandy ageing: Modification induced by heat treatment. *Journal of Food Engineering*, 76, 202-211.

Callejón, R. M., Tesfaye, W., Torija, M. J., Mas, A., Troncoso, A. M., Morales, M. L. (2009). Volatile compounds in red wine vinegars obtained by submerged and surface acetification in different woods. *Food Chemistry*, 113, 1252-1259.

Callejón, R. M., Torija, M. J., Mas, A., Morales, M. L., Troncoso, A. M. (2010). Changes of volatile compounds in wine vinegars during their elaboration in barrels made from different woods. *Food Chemistry*, 120, 561-571.

Canas, S., Conceição, L., Spranger, M. I., Belchior, A. P. (1999). Low molecular weight organic compounds of chestnut wood (*Castanea sativa* L.) and corresponding aged brandies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 5023-5030.

Canas, S., Leandro, M.C., Spranger, I., Belchior, P. (2000). Influence of botanical species and geographical origin on the content of low molecular weight phenolic compounds of woods used in Portuguese cooperage. *Holzforschung*, 54, 255-261.

Castellari, M., Piermattei, B., Arfelli, G., Amati, A. (2001). Influence of aging conditions on the quality of red Sangiovese wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 3672-3676.

Castillo-Muñoz, N., Gómez-Alonso, S., García-Romero, E., Hermosín-Gutiérrez, I. (2007). Flavonol profiles of *Vitis vinifera* red grapes and their single-cultivar wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 992-1002.

Castillo-Muñoz, N., Gómez-Alonso, S., García-Romero, E., Gómez, M. V., Velders, A. H., Hermosín-Gutiérrez, I. (2009). Flavonol 3-O-glycosides series of vitis vinífera cv. Petit Verdot red wine grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 209-219.

Castro-Vázquez, L., Alañón, M. E., Calvo, E., Cejudo, M. J., Díaz-Maroto, M. C., & Pérez-Coello, M. S. (2011). Volatile compounds as markers of ageing in Tempranillo red wines from La Mancha D.O. stored in oak wood barrels. *Journal of Chromatography A*, 1218, 4910-4917.

Chatonnet, P. (1998). Volatile and odoriferous compounds in barrel-aged wines. Impact of cooperage techniques and aging conditions. *Chemistry of wine flavour*. (Ed) A.L. Waterhouse & S.E. Ebeler. American Chemical Society, Washington, D.C.

Chatonnet, P. (1999). Discrimination and control of toasting intensity and quality of oak wood barrels. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50, 479-494.

Chatonnet, P. (2001). De l'utilisation du bois de chêne pour l'elaboration des grans vins. II Conferência Revista de Vinhos. Porto.

Chatonnet, P., Boidron, J. N., Pons, M. (1989). Incidence du traitement thermique du bois de chêne sur sa composition chimique. (2^a Ed.), Partie: Évolution de certains composés en fonction de l'intensité de brûlage. *Conn. Vigne Vin*, 23 (4), 223-250.

Chatonnet, P., Boidron, J. N., Pons, M. (1990). Élevage des vins rouges en fûts de chêne: evolution de certains composés volatils de leur impact aromatique. *Science Aliments*, 10, 565-587.

Chatonnet, P., Dubourdiou, D. (1998). Comparative study of the characteristics of American white oak (*Quercus alba*) and European oak (*Quercus petraea* and *Q. robur*) for production of barrels used in barrel ageing of wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 49, 79-85.

Chatonnet, P., Dubourdieu, D. (1998b). Identification of substances responsible for the 'Sawdust' aroma in oak wood. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76, 179-188.

Chatonnet, P., Dubourdieu, D., Boidron, J. N., Pons, M. (1992). The origin of ethylphenols in wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 165-178.

Cerezo A. B., Tesfaye, W., Torija, M. J., Mateo, E., Garcia-Parrilla, M. C., Troncoso, A. M. (2008). The phenolic composition of red wine vinegar produced in barrels made from different woods. *Food Chemistry*, 109, 606-615.

Cerezo A. B., Tesfaye, W., Sória-Díaz, M. E., Torija, M. J., Mateo, E., Garcia-Parrilla, M. C., Troncoso, A. M. (2010). Effect of wood on the phenolic profile and sensory properties of wine vinegars during ageing. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23, 175-184.

Clarke, R. J., Bakker, J. (2004). *Wine Flavour Chemistry*. Blackwell. pp 339.

Cutzach, I., Chatonnet, P., Henry, R., Dubourdieu, D. (1997). Identification of volatile compounds with a "toasty" aroma in heated oak used in barrelmaking. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 2217-2224.

Cutzach, I., Chatonnet, P., Henry, R., Dubourdieu, D. (1999). Identifying new volatile compounds in toasted oak. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 1663-1667.

Darias-Martin, J., Carrillo, M., Díaz, E., & Boulton, R. B. (2001). Enhancement of red wine colour by pre-fermentation addition of copigments. *Food Chemistry*, 73, 217-220.

Del Álamo, M., Fernández, J.A., Castro, R. (2004). Changes in Phenolic Compounds and Colour Parameters of Red Wine Aged with Oak Chips and in Oak Barrels. *Food Science and Technology International*. 10 (4), 233-241.

De Rosso, M., Cancian, D., Panighel, A., Dalla-Vedova, A., Flamini, R. (2009b). Chemical compounds released from five different woods used to make barrels for aging wines and spirits: volatile compounds and polyphenols. *Wood Science and Technology*, 43, 375-385.

De Rosso, M., Panighel, A., Dalla-Vedova, A., Stella, L., Flamini, R. (2009a). Changes in chemical composition of a red wine aged in acacia, cherry, chestnut, mulberry and oak wood barrels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 1915-1920.

Díaz-Maroto, M. C., Guchu, E., Castro-Vázquez, L., de Torres, C., Pérez-Coello, M. S. (2008). Aroma-active compounds of American, French, Hungarian and Russian oak woods, studied by GC–MS and GC–O. *Flavour and Fragrance Journal*, 23, 93-98.

Dubois P. (1989). Apports du fût de chêne neuf à l' arôme des vins. *Revue Française des Œnologues*, 120, 19-24.

Dubois P., Dekimpe J. (1982). Constituants volatils odorants des vins de Bourgogne élevés en fûts neufs de chêne. *Revue Française des Œnologues*, 88, 51-53.

Doussot, F. D. J., Quideau, B., Pardon, P. (2002). Extractive content in cooperage oak wood during natural seasoning and toasting: influence of tree species, geographical location and single-tree effects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 5955-5961.

Escribano-Bailon T, Alvarez-Garcia M, Rivas-Gonzalo JC, Heredia FJ, Santos-Buelga C (2001) Color and stability of pigments derived from the acetaldehyde mediated condensation between malvidin 3-O-glucoside and (+)-catechin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(3), 1213–1217.

Etiévant, P. X. (1991). Volatile compounds of food and beverages. In H. Maarse (Eds.), *Wine* (pp. 483-546). New York: Marcel Dekker.

Fernández de Simón, B., Cadahía, E. (2007). Tratamiento de la madera de roble para tonelería. *Revista Enología*, 4, 1-21.

Fernández de Simón, B., Cadahia, E., Conde, E., García-Vallejo, M. C. (1999). Evolution of phenolic compounds of Spanish oak wood during natural seasoning. First results. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 1687–1694.

Fernández de Simón, B., Cadahía, E., Jalocho, J. (2003). Volatile compounds in a Spanish red wine aged in barrels made of Spanish, French and American oak wood. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 51, 7671-7678.

Fernández de Simón, B., Cadahía, E., Sanz, M., Poveda, P., Pérez-Magariño, S., Ortega-Heras, M., Gonzáles-Huerta, C. (2008). Volatile compounds and sensorial characterization of wines from four Spanish denominations of origin aged in Spanish rebollo (*Quercus pyrenaica* Willd.) oak wood barrels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 9046-9055.

Fernández de Simón, B., Esteruela, E., Muñoz, A. M., Cadahía, E, Sanz, M. (2009). Volatile compounds in acacia, chestnut, cherry, ash, and oak woods, with a view to their use in cooperage. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 57, 3217-3227.

Fernández-Mar, M. I., Mateos, R., García-Parrilla, M. C., Puertas, B., Cantos-Villar, E. (2012). Bioactive compounds in wine: Resveratrol, hydroxytyrosol and melatonin: A review. *Food Chemistry*, 130, 797-813.

Fernández de Simón, B., Sanz, M., Cadahía, E., Poveda, P., Broto, M. (2006). Chemical characterization of oak heartwood from Spanish forest of *Quercus pyrenaica* Willd. Ellagitannins low molecular weight phenolic and volatile compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 8314-8321.

Feuillat, F., Huber, F. Y Keller, R. (1992) Mise au point sur: "LA notion du grain utilisée pour le classement des merrains de chêne" *Rev. Fran. Oenol.*, 32 65-69.

Feuillat, F., Huber, R., Keller, R. (1993). La porosité du bois de chêne (*Quercus robur* L.; *Quercus petraea* Liebl.) utilisé en tonnellerie. Relation avec la variabilité de quelques caractéristiques physique et anatomiques du bois. Rev. Fr. Oenol. 142, 5-19.

Feuillat, F., Keller, R., Masson, G. y Puech, J.L. (1998). Bois de chêne. En "Œnologie: Fondements scientifiques et technologiques". Ed Claude Flancy, Lavoisier, Paris. pp 1002-1027.

Feuillat, F., Moio, L., Guichard, E., Marinov, M., Fournier, N., Puech, J. L. (1997). Variation in the concentration of ellagitannins and cis and trans- β -metil- γ -octalactone extracted from oak wood (*Quercus robur* L., *Quercus petraea* Liebl.) under model wine cask conditions. American Journal of Enology and Viticulture, 48, 509-515.

Gambutì, A., Capuano, R., Lisanti, M. T., Stollo, D., Moio, L. (2010). Effect of aging in new oak, one year used oak, chestnut barrels and bottle on color, phenolics and gustative profile of three monovarietal red wine. European Food Research and Technology, 231, 455-465.

Garde-Cerdán, T., Ancín-Azpilicueta, C. (2006). Effect of oak barrel type on the volatile composition of wine: storage time optimization. LWT-Food Science and Technology, 39, 199-205.

Garde-Cerdán, T., Lorenzo, C., Carot, J. M., Esteve, M. D., Climent, M. D., Salinas, M.R. (2010). Effects of composition, storage time, geographic origin and oak type on the accumulation of some volatile oak compounds and ethylphenols in wines. Food Chemistry, 122, 1076-1082.

Glabasnia, A., Hofmann, T. (2006). Sensory-directed identification of taste-active ellagitannins in American (*Quercus alba*, L.) and European oak wood (*Quercus robur* L.) and quantitative analysis in bourbon whiskey and oak-matured red wines. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54, 3380-3390.

Glories, Y. (1984). La couleur des vins rouges. 1re. Partie: les equilibres des anthocyanes et des tanins. *Connaissance de la Vigne et du Vin*, 18, 195-217.

Gómez-Alonso, S., García Romero, E., Hermosín-Gutiérrez, I. (2007). HPLC analysis of diverse grape and wine phenolics using direct injection and multidetection by DAD and fluorescence. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, 618-626.

Guchu, E., Díaz-Maroto, M.C., Díaz-Maroto, I.J., Vila-Lameiro, P., Pérez-Coello, M.S. (2006). Influence of the species and geographical location on volatile composition of Spanish oak wood (*Quercus petraea* Liebl. and *Quercus robur* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 3062-3066.

Guchu, E., Díaz-Maroto, M.C., Pérez-Coello, M.S., González-Viñas, M.A., Cabezudo, M.D. (2006b). Volatile composition and sensory characteristics of Chardonnay wines treated with American and Hungarian oak chips. *Food Chemistry*, 99, 350-359.

Hermosín-Gutiérrez, I. (2003). Influence of ethanol content on the extent of copigmentation in a Cencibel young red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 4079-4083.

Hufnagel, J. C., Hofmann, T. (2008). Orosensory-directed identification of astringent mouthfeel and bitter-tasting compounds in red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 1376-1386.

Jackson, R. S. (2008). *Wine Science : principles and application*. (3ª Ed). Elsevier, pp 789.

Jarauta, I., Cacho, J., Ferreira, V. (2005). Concurrent phenomena contribution to the formation of the aroma of wine during aging in oak Wood: an analytical study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 4166-4177.

Maga, D. P. (1984). Flavour contribution of wood alcoholic beverages. In J. Adda, (ed.), Progress in flavour Research, Proceedings of the 4th Weurman Flavours Research Symposium, Dourdan, France, pp. 409-416.

Martínez, J., Santos, C., Bilbao, A., Martínez, J., Lorente, M., Pérez, J., Suberviola, J., Matías, I., Aznárez, J. (1998). Estudio del envejecimiento en barrica de roble de los vinos tintos de calidad. CIDA (La Rioja). SIA (Aragón). Departamento de Agricultura, Ganadería y Alimentación (Navarra).

Masson, E., Baumes, R., Moutounet, M., Puech, J. L. (2000). The effect of kiln drying on the levels of ellagitannins and volatile compounds of European oak (*Quercus petraea* Liebl.) stave wood. American Journal of Enology and Viticulture, 51, 201-214.

Masuda, M., Nishimura, K. (1971). Branched nonalactones from some *Quercus* species. Phytochemistry, 10, 1401-1402.

Mazza, G., Brouillard, R. (1990). The mechanism of co-pigmentation of anthocyanins in aqueous solutions. Phytochemistry, 29, 1097-1102.

Mazza, G., Fukumoto, L., Delaquis, P., Girard, B., & Ewert, B. (1999). Anthocyanins, phenolics, and color of Cabernet Franc, Merlot and Pinot Noir wines from British Columbia. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47, 4009-4017.

Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente de España. (2009). Gobierno de España. Encuesta Base de Viñedos, <http://publicacionesoficiales.boe.es/>

Mosedale, J. R., Puech, J. L., Feuillat, F. (1999). The influence on wine flavor of the oak species and natural variation of heartwood components. Presented at International Symposium on Oak in Winemaking. American Journal of Enology and Viticulture, 50, 503-512.

Nykanen, L. (1986). Formation and occurrence of flavor compounds in wine and distilled alcoholic beverage. American Journal of Enology and Viticulture, 37, 84-96.

Ortega-Heras, M., González-Huerta, C., Herrera, P., González-Sanjosé, M. L. (2004). Changes in wine volatile compounds of varietal wines during ageing in wood barrels. *Analytica Chimica Acta*, 513, 341-350.

Parker, M., Smith, P. A., Birse, M., Francis, I. L., Kwiatkowski, M. J., Lattey, K. A., et al. (2007). The effect of pre- and post-ferment additions of grape derived tannin on Shiraz wine sensory properties and phenolic composition. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 13, 30–37.

Peng, S., Scalbert, A., Monties, B. (1991). Insoluble ellagitannins in *Castanea sativa* and *Quercus petraea* woods. *Phytochemistry*, 30(3), 775-778.

Pérez-Coello, M. S., Díaz-Maroto, M. C. (2009). Volatile compounds and wine aging. In: M. Victoria Moreno-Arribas, M. Carmen Polo (Eds.), *Wine Chemistry and Biochemistry*, Springer, pp. 295-311.

Pérez-Coello, M. S., Gonzales-Viñas, M. A., García-Romero, E., Cabezudo, M. D., Sanz, J. (2000). Chemical and sensory changes in white wines fermented in the presence of oak chips. *International Journal of Food Science and Technology*, 35, 23-32.

Pérez-Coello, M. S., Sanz, J., Cabezudo, M. D. (1999). Determination of volatile compounds in hydroalcoholic extracts of French and American oak Woods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50, 162-165.

Pérez-Prieto, L. J., Martínez-Cutillas, A., Pardo-Mínguez, F., Gomez-Plaza, E. (2003). Extraction and Formation Dynamic of Oak-Related Volatile Compounds from Different Volume Barrels to Wine and Their Behavior during Bottle Storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 5444-5449.

Polgue, H., Keller, R. (1973) Qualité du bois et longueur d'acrosissement en forêt de Tronçais. *Annals of Science Forest*, 30 91-125.

Pollnitz, A. P., Jones, G. P., Sefton, M. A. (1999). Determination of oak lactones in barrels-aged wines and in oak extracts by stable isotope dilution analysis. *Journal of Chromatography A*, 875, 239-246.

Pollnitz, A., Pardon, K. H., Sefton, M. A. (2000). Quantitative analysis of 4-ethylphenol and 4-ethylguaiacol in red wines. *Journal of Chromatography A*, 874, 101-109.

Prida, A., Puech, J. L. (2006). Influence of geographical origin and botanical species on the content of extractives in American, French, and East European oak woods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 8115-8126.

Puech, J. L., Moutounet, M. (1988). Liquid chromatographic determination of scopoletin in hydroalcoholic extract of oak wood and in distilled alcohol beverages. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 71, 512-517.

Quideau, S., Jourdes, M., Lefeuvre, D., Montaudon, D., Saucier, C., Glories, Y., Pardon, P., Pourquier, P. (2005). The chemistry of wine polyphenolic C-glycosidic ellagitannins targeting human topoisomerase II. *Chemistry – A European Journal*. 11(22):6503–6513

Rapp, A, Marais, J. (1993). The shelf life of wine: changes in aroma. Substances during storage and ageing of white wines. In *Selflife Studies of Food and Beverages*, ed. G. Charalambous. Elsevier, Amsterdam, pp. 891-921.

Rentzsch, M., Schwarz, M., Winterhalter, P., Hermosín-Gutiérrez, I. (2007). Formation of hydroxyphenyl-pyranoanthocyanins in Grenache wines: precursor levels and evolution during aging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 4883-4888.

Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., Dubourdeau D. (1999). Phenolic compounds. *Handbook of enology*, Vol. 2. The chemistry of wine, stabilization and treatments. John Wiley and Sons, Ltd, Chichester.

Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Donèche, B., Lonvaud, A. (2000). Biochemistry of alcoholic fermentation and metabolic pathways of wine yeast. In: Handbook of Enology, Vol. I (edited by P. Ribéreau-Gayon). New York, NY: Wiley. Pp. 51-74.

Ribéreau-Gayon, P., Stonestree, E. (1996). Dosage des tanins du vin rouge et détermination de leur structure. *Chimie Analytique*, 48, 188-196.

Rivas-Gonzalo, J. C., Bravo-Haro, S. E., Santos-Buelga, C. (1995). Detection of compounds formed through the reaction of malvidin 3-monoglucoside and catechin in presence of acetaldehyde. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 1444-1449.

Salagoity-Auguste, M. H., Tricard, C., Marsal, F., Sudraud, P. (1987). Preliminary investigation for the differentiation of enological tannins according to botanical origin: determination of gallic acid and its derivatives. *American Journal of Enology and Viticulture*, 37, 301-303.

Sánchez-Palomo, E., Pérez-Coello, M. S., Díaz-Maroto, M. C., González-Viñas, M. A., Cabezudo, M. D. (2006). Contribution of free and glycosidically-bound volatile compounds to the aroma of muscat "a petit grains" and effect of skin contact. *Food Chemistry*, 95, 279-289.

Sanz, M., Cadahía, E., Esteruelas, E., Muñoz, A.M., Fernández de Simón, B., Hernández, T., Estrella, I. (2010). Phenolic compounds in chestnut (*Castanea sativa* Mill.) heartwood. Effect of toasting at cooperage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 9631-9640.

Sanz, M. L., Martínez-Castro, I., Moreno-Arribas, M. V. (2008). Identification of the origin of commercial enological tannins by the analysis of monosaccharides and polyalcohols. *Food Chemistry*, 11, 778-783.

Sarni, F., Moutounet, M., Puech, J. L., Rabier, P. (1990). Effect of Heat Treatment of Oak Wood on Extractable Compounds. *Holzforschung*, 44, 461-466.

Saucier, C., Jourdes, M., Glories, Y., Quideau, S. (2006). Extraction, detection and quantification of flavano-ellagitannins and ethylvescalagin in a Bordeaux red wine aged in oak barrels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 7349-7354.

Savino, M., Limosani, P., & García-Moruno, E. (2007). Reduction of ochratoxin A contamination in red wine by oak wood fragments. *American Journal of Enology and Viticulture*, 58, 97-101.

Scalbert, A., Monties, B., Janin, G. (1989). Tanins in wood: comparison of different estimation methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 37, 1324-1329.

Sefton, M. A., Francis, I. L., Williams, P. J. (1990). Volatile norisoprenoid compounds as constituents of oak woods used in wine and spirit maturation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38, 2045-2049.

Singleton, V. L. (1995). Maturation of wines and spirits: comparisons, facts and hypotheses. *American Journal of Enology and Viticulture*, 46, 98–115.

Somers, T. C. (1971). The polymeric nature of wine pigments. *Phytochemistry*, 10, 2175-216.

Sousa, C., Mateus, N., Pérez-Alonso, J., Santos-Buelga, C., de Freitas, V. (2005). Preliminary study of oaklins, a new class of brick-red catechinpyrylium pigments resulting from the reaction between catechin and wood aldehydes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 9249-9256.

Spillman, P. J. (1997). Oak wood contribution to wine aromas. Thesis, University of Adelaide

Spillman, P. J., Iland, P. G., Sefton, M. A. (1998). Accumulation of volatile oak compounds in a model wine stored in American Limousin oak barrels. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 4, 67-73.

Sroka, A., & Cisowski, W. (2003). Hydrogen peroxide scavenging, antioxidant and antiradical activity of some phenolic acids. *Food and Chemical Toxicology*, 41, 753-758.

Timberlake, C. F., Bridle, P. (1976) Interactions between anthocyanins, phenolic compounds, and acetaldehyde and their significance in red wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 27, 97-105.

Towey, J. P., Waterhouse, A. L. (1996). The extraction of volatile compounds from French and American oak barrels in Chardonnay during three successive vintages. *American Journal of Enology and Viticulture*, 47, 163-172.

Versini, G., Orriols, I., Dalla Serra, A. (1994). Aroma components of Galician Albariño, Loureira and Godello wines. *Vitis*, 33, 165-170.

Viriot, C., Scalbert, A., Herve du Penhoat, C. L. M., Moutounet, M. (1994). Ellagitannins in woods of sessile oak and sweet chestnut. Dimerization and hydrolysis during wood aging. *Phytochemistry*, 36, 1253-1260

Viriot, C., Scalbert, A., Lapierre, C., Moutounet, M. (1993). Ellagitannins and lignins in aging of spirits in oak barrels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41, 1872-1879.

Vivas, N. (1995). The notion of grain in cooperage. *Journal of Science Technology. Tonnellerie*, 1, 17-32.

Vivas, N. (1997). Recherches sur la qualité de chêne français de tonnellerie (*Q. petraea* Liebl., *Q. robur* L.) et sur les mécanismes d'oxidoréduction des vins rouges au cours de leur élevage en barriques. Thèse Université Bordeaux.

Vivas, N. (2002). Manuel de tonnellerie À L'usage Des Utilisateurs De Futaille, 2ème édition; Féret Éditions ; France.

Vivas, N., Absalon, C., Benoist, F., Vitry, C., Grazillier, S., De Revel, G., Bertrand, A. (2001) Les chênes européens Q. Robur et Q. Petraea: Analyse des potentialités oenologiques des différents massifs forestiers. En "Connaissances actuelles & Avenir de l'élevage en barriques. Burdeos, pp 31-37.

Vivas, N., Glories, Y. (1996). Role of oak wood ellagitannins in the oxidation process of red wines during aging. *American Journal of Enology and Viticulture*, 47, 103–107.

Waterhouse, A. L., Towey, J. P. (1994). Oak lactone isomer ratio distinguishes between wines fermented in American and French oak barrels. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 42, 1971-1974.

Wilker, K. L., Gallander, J.F., (1988). Comparison of Seyval Blanc wine aged in barrels and stainless steel tanks with oak chips. *American Journal of Enology and Viticulture*, 39, 38-43.

Zamora, F. (2003) *Elaboración y crianza del vino tinto: Aspectos científicos y prácticos*. Eds. Mundi Prensa. Madrid, A. Madrid Vicente. Madrid, España.

CONCLUSIONES GENERALES

Los subproductos del esquisto pirobituminoso como alternativa al uso de fertilizantes tradicionales en el abonado de viñedos brasileños. Estudio de la composición polifenólica, aromática e nitrogenada de los vinos.

- En ambas experiencias de abonado (con caliza de esquisto y caliza convencional y con las distintas matrices MBR) se encontraron pocas diferencias estadísticamente significativas entre las muestras con distintos tratamientos, considerando los datos globales de composición química. Aunque algunas muestras presentaron puntualmente valores superiores a los del vino control estos resultados no se repitieron en las dos vendimias.
- En ambas experiencias de abonado se observó un efecto importante del año de vendimia, constatando que las condiciones climáticas condicionan fuertemente la composición química de la uva y del mosto y por lo tanto del vino resultante. En el año 2010 caracterizado por más lluvias y por tanto menor insolación se observaron los efectos de una menor maduración de la uva como son: un menor contenido de compuestos fenólicos y de compuestos volátiles (excepto de los compuestos de seis átomos de carbono).
- La influencia de factores ligados al suelo y las prácticas culturales también se han puesto de manifiesto a través de las diferencias encontradas entre los vinos de la experiencia del abonado con caliza de esquisto y matrices MBR. Dichas experiencias se realizaron en parcelas diferentes y utilizando distintos sistemas de conducción de las viñas, constatando que los vinos procedentes de los tratamientos con matrices MBR tuvieron mayores concentraciones de antocianos, aminoácidos y volátiles mayoritarios que los vinos de la experiencia con caliza de esquisto.
- Se puede concluir que los tratamientos de abonado con las nuevas matrices utilizando subproductos del esquisto pirobituminoso puede utilizarse como

alternativa al abonado tradicional sin modificar negativamente la composición química de los vinos procedente de las uvas tratadas.

Aprovechamiento de los subproductos de vinificación para incrementar la calidad de vinos blancos obtenidos de variedades neutras

- Los subproductos generados por la industria enológica (orujos), concretamente los de vinificación en blanco, son una importante fuente de aromas y compuestos fenólicos.
- El importante incremento de compuestos furánicos producido durante el secado en horno de los subproductos de vinificación, junto con la disminución de terpenos y alcoholes y aldehídos de 6 átomos de carbono, pone en evidencia el gran potencial de la liofilización para el secado de dichos subproductos.
- La liofilización no produjo ningún cambio en las concentraciones de compuestos fenólicos de los orujos, lo que corrobora las ventajas de la liofilización para obtener un producto desecado de similar calidad al original. Esto es de especial interés en el caso de los orujos procedentes de uvas tintas, debido a su alto contenido en compuestos fenólicos.
- La utilización de orujos de uvas blancas liofilizados para llevar a cabo maceraciones prefermentativas en una vinificación en blanco, permite incrementar la calidad de los vinos obtenidos, no encontrándose diferencias con los vinos macerados con orujos frescos.

Potencial enológico de la madera de castaño como alternativa a la madera de roble tradicional. Estudio de la composición fenólica, volátil y sensorial de los vinos tintos.

- La madera de castaño resulto ser una excelente madera para llevar a cabo los procesos de envejecimiento no solo debido a sus buenas propiedades aromatizantes sino también a su adecuada composición fenólica.
- La microoxigenación sufrida a través de los poros de la madera de castaño es mayor que en el caso de la madera de roble, lo que parece estimular el crecimiento microbiológico y por tanto una mayor producción de 4-etilguaiacol y 4-etil fenol. Por tanto se aconseja el empleo de la madera de castaño para periodos de envejecimiento no muy largos.
- Los vinos envejecidos en barricas de castaño tostado, principalmente durante seis meses, fueron las más apreciadas por los panelistas.
- Contrariamente, los vinos envejecidos mediante el uso de las virutas de castaño fueron los menos valorados debido a la gran acidez y notas descritas a serrín que presentaron. Además, la variabilidad encontrada en la composición volátil de los vinos envejecidos por el uso de virutas puso de manifiesto la desventaja de este método para la obtención de un producto homogéneo.
- El proceso de tostado de la madera de castaño no mostro ser un parámetro crucial en la composición fenólica de los vinos, contrariamente al tiempo de envejecimiento debido a la evolución y/o transformación lenta de los compuestos fenólicos del vino.