

**Departamento de Química Agrícola y Edafología**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA**



**ESTUDIO DEL  
ENVEJECIMIENTO OXIDATIVO  
PARA LA OBTENCIÓN DE  
VINOS TIPO OLOROSO**

**ANTONIO FERNANDO ORTEGA IZQUIERDO**



**Departamento de Química Agrícola y Edafología**

**FACULTAD DE CIENCIAS  
UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA**

**ESTUDIO DEL ENVEJECIMIENTO  
OXIDATIVO PARA LA OBTENCIÓN DE  
VINOS TIPO OLOROSO**

***ANTONIO FERNANDO ORTEGA IZQUIERDO***

ESTUDIO DEL ENVEJECIMIENTO OXIDATIVO PARA LA  
OBTENCIÓN DE VINOS TIPO OLOROSO

Trabajo presentado para optar al  
Grado de Doctor en Ciencias Químicas.

Córdoba, Marzo de 2003

Fdo.: Antonio Fernando Ortega Izquierdo

LOS DIRECTORES

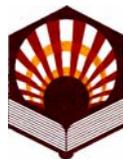
Fdo. Manuel Medina Carnicer  
Prof. Catedrático de Universidad

Fdo. Manuel Mayén Riego  
Prof. Titular de Universidad

Fdo. Julieta Mérida García  
Profa. Titular de Universidad

*A Marina*

*A Maria Jesús y Marina*



Departamento de Química Agrícola y Edafología  
Universidad de Córdoba

---

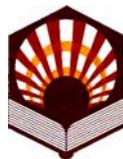
MANUEL MEDINA CARNICER, Director del Departamento de Química Agrícola y Edafología de la Universidad de Córdoba,

INFORMA:

Que el presente Trabajo de Investigación, titulado *Estudio del envejecimiento oxidativo para la obtención de vinos tipo oloroso* y que constituye la Memoria presentada por D. Antonio Fernando Ortega Izquierdo para optar al Grado de Doctor en Ciencias Químicas, ha sido realizado en los laboratorios de este Departamento y cuya presentación ha sido autorizada por el Consejo de Departamento el veintitrés de Enero de 2003 mediante el procedimiento de asuntos urgentes o de trámite.

Y para que así conste y a petición del interesado se expide el presente informe en Córdoba, a treinta de Enero de dos mil tres.

Fdo. Prof. Dr. D. Manuel Medina Carnicer



Departamento de Química Agrícola y Edafología  
Universidad de Córdoba

---

MANUEL MEDINA CARNICER, MANUEL MAYÉN RIEGO Y JULIETA MÉRIDA GARCÍA, como Directores de la Memoria de Tesis Doctoral presentada por D. Antonio Fernando Ortega Izquierdo y titulada “*Estudio del envejecimiento oxidativo para la obtención de vinos tipo oloroso*”, para aspirar al grado de doctor,

INFORMAN que la citada Memoria de Tesis Doctoral se ha realizado utilizando la metodología adecuada y haciendo uso de las técnicas idóneas para culminar los objetivos previstos. Asimismo, el licenciado D. Antonio Fernando Ortega Izquierdo ha mostrado en todo momento una alta dedicación e interés por el tema de trabajo, superando con creces los niveles de calidad científica exigibles para la obtención del Grado de Doctor.

Y para que conste a los efectos de tramitación para la obtención del citado Grado de Doctor, se firma el presente informe.

Fdo. Manuel Medina Carnicer

Fdo. Manuel Mayén Riego

Fdo. Julieta Mérida García

Llevada a buen término la presente Memoria, mi intención no es otra que manifestar mi más sincero agradecimiento y reconocimiento a todas aquellas personas que de algún modo u otro me han ayudado y estimulado para que se hiciera realidad este momento.

En primer lugar a mis directores: D. Manuel Medina Carnicer, al cual debo expresar mi gratitud por acogerme en el Departamento y por la gran dedicación, interés y confianza permanentemente mostrados; D. Manuel Mayén, persona para mi fundamental en la realización de este trabajo y sin la cual hubiera sido extremadamente difícil llevarlo a cabo, y Dña Julieta Mérida por su gran colaboración y ayuda prestada a lo largo de todo este tiempo.

A D. Juan Moreno, D. Luis Zea y Dña. Lourdes Moyano por las objeciones precisas realizadas en momentos muy oportunos, así como por el ánimo constante que me han dispensado.

A Azahara y Begoña por la gran ayuda y amistad que siempre me ofrecieron, y cómo no, a Paco Bonilla, que desde el comienzo colaboró desinteresadamente para que este trabajo empezara a funcionar cuanto antes.

A Carmen, Chiqui y Luis Parra, con quienes pasé muy buenos momentos en los instantes previos al quehacer diario y que siempre me alentaron.

A David, José Antonio, Rafa y Concha, que me echaron una mano cuando hizo falta, y también, a Manolo Molina por su inestimable ayuda en determinados momentos.

Al resto de profesores y colaboradores del Departamento de Química Agrícola y Edafología.

A Bodegas Alvear S.A y, en particular, a D. Bernardo Lucena, que siempre estuvo presto para facilitar las muestras de vinos necesarias para llevar a cabo esta investigación.

Por último, a mis padres y hermanos, a mis hijas y, muy especialmente, a Marina, mi mujer, apoyo y estímulo constante que siempre me facilitó en gran medida las cosas para que al final pudiera ver la luz en este tortuoso pero agradable camino.

	Pág.
<b>I. OBJETIVOS</b>	1
<b>II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b>	5
1. INTRODUCCIÓN	7
2. LOS COMPUESTOS FENÓLICOS EN LOS MOSTOS DE VINO.	9
2.1. Pardeamiento enzimático.	9
2.2. Influencia de las operaciones prefermentativas sobre los compuestos fenólicos.	17
3. EVOLUCIÓN DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS DURANTE LA FERMENTACIÓN.	22
4. COMPORTAMIENTOS DE LOS FENOLES DURANTE EL ENVEJECIMIENTO DE VINOS GENEROSOS.	25
4.1. Crianza oxidativa.	25
4.2. Aporte de la madera sobre la composición fenólica.	34
<b>III. MATERIAL Y MÉTODOS EXPERIMENTALES</b>	49
<b>MATERIAL EXPERIMENTAL</b>	51
1. ESTUDIO DE DOS ESCALAS DE VINOS TIPO “OLOROSO” EN BODEGA.	51
2. ESTUDIO DE VINOS OLOSOS COMERCIALES.	52
3. EXPERIENCIAS DE OXIDACIÓN QUÍMICA CONTROLADAS EN LABORATORIO.	52
3.1. Oxidación en madera	52
3.2. Oxidación en depósitos metálicos.	53
<b>MÉTODOS EXPERIMENTALES</b>	55
1. DETERMINACIONES ENOLÓGICAS GENERALES.	55
2. DETERMINACIONES DE COLOR	56
Espectros de absorción UV-V.	56
Absorbancias UV-V.	57
3. ANÁLISIS DE COMPUESTOS FENÓLICOS.	57
Extracción y fraccionamiento de compuestos fenólicos.	57
Identificación y cuantificación de compuestos fenólicos por HPLC.	59
4. TRATAMIENTOS ESTADÍSTICOS.	63
<b>IV. RESULTADOS, DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES</b>	65
1. ESTUDIO DE DOS ESCALAS DE VINO TIPO “OLOROSO” EN BODEGA	67
1.1. Resultados y discusión.	67
1.2. Conclusiones.	89

2. ESTUDIO DE PARÁMETROS ENOLÓGICOS DE VINOS OLOROSOS COMERCIALES.	91
2.1. Resultados y discusión.	91
2.2. Conclusiones.	109
2.3. Aproximación de un método para determinar la edad de vinos tipo “oloroso”	110
3. ESTUDIO DEL PROCESO DE OXIDACIÓN QUÍMICA DEL VINO EN BOTAS DE MADERA DE ROBLE.	117
3.1. Resultados y discusión.	117
3.2. Conclusiones.	159
4. ESTUDIO COMPARATIVO DEL PROCESO DE OXIDACIÓN QUÍMICA DEL VINO EN BOTAS DE MADERA DE ROBLE Y DE LOS VINOS PROCEDENTES DE LAS ESCALAS DE TIPO OLOROSO.	161
4.1. Resultados y discusión.	161
4.2. Conclusiones.	168
5. ESTUDIO DEL PROCESO DE OXIDACIÓN QUÍMICA DEL VINO EN DEPÓSITOS DE ACERO INOXIDABLE.	171
5.1. Resultados y discusión.	171
5.2. Conclusiones	194
6. ESTUDIO COMPARATIVO DEL PROCESO DE OXIDACIÓN QUÍMICA DEL VINO EN DEPÓSITOS DE ACERO INOXIDABLE Y DE LOS VINOS PROCEDENTES DE LAS ESCALAS DE TIPO “OLOROSO”.	197
6.1. Resultados y discusión	197
6.2. Conclusiones.	204
 <b>V. CONSIDERACIONES FINALES</b>	 205
 <b>VI. BIBLIOGRAFÍA</b>	 209
 <b>VII. ANEXO</b>	 229

## **I. OBJETIVOS**

*La historia de los conocimientos acerca de la composición y propiedades de los alimentos está salpicada de contradicciones conforme ha avanzado su investigación. Un buen ejemplo de ello, por reciente y estar muy relacionado con esta memoria de Tesis Doctoral, lo constituye la consideración en la bondad de consumo de los compuestos fenólicos. Considerada hoy su ingestión como saludable en varios aspectos fisiológicos y, por ello, merecedores de conservación, es preciso recordar que hasta hace algo más de una década, este tipo de sustancias ha sido algo contra lo que luchar, a fin de conseguir un mayor grado de estabilidad durante el almacenamiento y conservación de los alimentos de origen vegetal. En efecto, la acusada sensibilidad de los fenoles a procesos oxidativos, enzimáticos o no, con generación de productos coloreados, ha limitado en muchos casos la vida útil o de consumo de algunos alimentos, al menos en lo que se refiere a su aspecto, lo que ha conducido al desarrollo de procesos que minimicen esos efectos indeseables, desde bloqueos en el mecanismo oxidativo fenólico hasta el más radical de su eliminación parcial.*

*No obstante lo anterior, es difícil encontrar una regla general que no muestre excepciones. En este caso del pardeamiento de origen fenólico, precisamente los vinos blancos sometidos a envejecimiento oxidativo pueden citarse como ejemplo de aprovechamiento favorable de lo que es en realidad un proceso de alteración. Este tipo de vinos se distinguen por su color oscuro debido al incremento de macromoléculas pardas procedentes de la oxidación de fenoles. Sin embargo, en ausencia de actividad enzimática específica, la progresión del color transcurre por vía exclusivamente química, caracterizada esta última por una cinética lenta, lo que obliga a largos tiempos de envejecimiento para alcanzar el color deseado, con el paralelo incremento en los costes de producción.*

*El objetivo central de la presente memoria es la búsqueda de condiciones que permitan acortar la duración de la etapa de envejecimiento de vinos tipo Oloroso, sin merma de calidad. A fin de alcanzarlo, al menos en una primera aproximación, este objetivo base se ha parcelado al objeto de estructurar mejor los conocimientos. De esta forma, partiendo del estudio de la realidad industrial en el primer capítulo, se llega al último muy alejado de ella, como vía de exploración de posibilidades que, con sus ventajas e inconvenientes, pueden dibujar más nítidamente alternativas en la forma de producir este tipo de vinos.*

## **II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

## 1. INTRODUCCIÓN.

Uno de los aspectos más interesantes y estudiados en el campo de la Enología es la caracterización de vinos. Los vinos tipo Sherry pueden agruparse en dos tipos dependiendo de su proceso de envejecimiento<sup>1</sup> en barriles de roble. Por un lado, se encuentran los denominados vinos tipo fino, caracterizados por tener un color muy pálido y obtenidos por envejecimiento biológico (García-Maiquez, 1988; Domecq, 1989) cuyo rasgo distintivo es la aparición de forma natural y espontánea de una capa de velo, constituida por levaduras, en la superficie del vino. Estas levaduras, llamadas comúnmente levaduras de “flor”, comienzan a desarrollarse en la superficie del vino al término de la fermentación alcohólica en una fase de vida aerobia, consumiendo algunos componentes y originando otros que aportan las características finales y particulares de estos vinos (Casas, 1985). Este tipo de envejecimiento se caracteriza, asimismo, por el mantenimiento del color pálido del vino durante un largo periodo de tiempo, como consecuencia de efectos de protección ejercidos por las levaduras de velo (Casas, 1985; Barón *et al*, 1997).

Por otro lado, un segundo tipo de vinos Sherry son los denominados olorosos, obtenidos incrementando los contenidos en etanol del vino previamente al envejecimiento (Díaz y López, 1989), impidiendo de esta forma el crecimiento de levaduras de velo y, por tanto, permitiendo únicamente un envejecimiento de tipo oxidativo, el cual transcurre durante un largo periodo de tiempo, mínimo de cuatro a siete años, que conduce a vinos de color ámbar a caoba, con aroma muy acusado y con mucho cuerpo. El conjunto de transformaciones que ocurren durante el envejecimiento se puede clasificar en un limitado número de fenómenos, como son la oxidación, evolución de la materia colorante y modificación del aroma. La crianza de los vinos tiene lugar en barriles de roble, en cuyo interior el vino está sometido a dos procesos: por una parte una oxigenación facilitada por la penetración de aire en el interior de la bodega, bien por el agujero del tapón, entre las duelas y, probablemente, de forma directa a través de la madera, y, por otra parte, una disolución en el propio vino de constituyentes extraíbles de la madera.

La oxigenación es importante, sobre todo en este tipo de vinos, incidiendo prioritariamente sobre el potencial polifenólico (Amerine, 1982; Singleton, 1987). A este respecto han sido señalados como buenos sustratos de este pardeamiento los derivados monómeros y oligómeros del flavan-3-ol (Singleton, 1982), como ya veremos en un capítulo posterior, sin olvidar otros componentes importantes del vino también susceptibles de oxidación, que aportan compuestos coloreados. La velocidad de este proceso de oxidación depende de factores como la acidez del

---

<sup>1</sup> Envejecimiento o, mejor dicho, crianza, es someter el vino después de la fermentación a ciertas operaciones y cuidados que permiten eliminar o reducir el carácter punzante y verde de un vino nuevo, apareciendo en su lugar el bouquet asociado a las bebidas alcohólicas envejecidas.

vino, contenido en SO<sub>2</sub>, contenido en algunos metales como Fe, disponibilidad de oxígeno y temperatura. Desde un punto de vista técnico, tanto el nivel de oxidación como la disolución de algunos componentes de la madera son función, no sólo del tipo de vino, sino también de las características de la madera utilizada para la fabricación del tonel. A este respecto hay que indicar que existen varias especies de robles, como veremos en capítulos posteriores, y dentro de ellas distintas calidades que, según los lugares de procedencia y el tipo de crecimiento, repercuten en la estructura de la madera y en los porcentajes de los componentes secundarios de la pared celular.

Una vez el vino en las barricas se producen cambios que inciden sobre el color, el bouquet y el gusto del vino, de forma que un incremento de estas características está correlacionado con un mayor tiempo de envejecimiento o crianza oxidativa. Sin embargo, a partir de vinos de menor grado de envejecimiento se pueden obtener vinos más oscuros añadiendo productos de caramelización de azúcares, incrementando de forma no justificada su precio.

Por otra parte, independientemente de su contribución al color, la propiedad más destacada de los compuestos fenólicos es su carácter reductor que, por un lado, les lleva a provocar el pardeamiento de los vinos con la consiguiente evolución de la materia colorante y, por otro, a actuar como antioxidantes (antiradicalarios), mostrando un efecto protector frente a enfermedades cardiovasculares, primera causa de muerte en los países occidentales (Richard *et al.*, 1981; Richard, 1987; Ducimetiere, 1995). Así, los fenoles flavonoides del vino, y/o sus metabolitos fenólicos circulantes, podrían prevenir el desarrollo de las lesiones vasculares mediante la protección contra la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) (Parthasarathy and Rankin, 1992). En la actualidad, son numerosos los estudios tanto *in vitro* como *in vivo*, que han conseguido demostrar la capacidad de distintos vinos de inhibir la oxidación de las LDL.

Además de la prevención de enfermedades cardiovasculares, también se les ha atribuido otras propiedades, como son la actividad anti-hipertensiva, anti-inflamatoria, anti-microbiana y/o anti-trombógenos, explotadas a veces en la farmacopea (Anton, 1988; Gabor, 1988; Anton and Beretz, 1990; Middleton and Kandaswami, 1992; Brun, 1995). Destacan igualmente propiedades fisiológicas encontradas para algunos flavonoides específicos abundantes en la uva y el vino. Así, el flavonol quercetina reduce marcadamente el daño renal en modelos de isquemia-reperfusión y las secuelas inflamatorias que allí ocurren (Shoskes, 1998). Además, junto con la miricetina y la epicatequina logra evitar la proliferación de células leucémicas humanas *in vitro* (Uddin and Choudhry, 1995) y mejora el comportamiento biológico de las células humanas de cáncer de mama (Rodgers and Grant, 1998).

Entre los mecanismos que habitualmente se tienen en consideración para explicar estas propiedades destacan los efectos antioxidantes manifestados *in vitro*, por lo que otra familia de fenoles, los ácidos fenólicos, al poseer una capacidad antioxidante parecida (sobre todo los ortodifenoles) podrían igualmente exhibir algunas de las propiedades mencionadas (Griffiths, 1982).

## 2. LOS COMPUESTOS FENÓLICOS EN LOS MOSTOS DE VINO.

### 2.1. PARDEAMIENTO ENZIMÁTICO

El pardeamiento enzimático consiste en la transformación de los compuestos fenólicos en polímeros coloreados (Cheftel and Cheftel, 1979; Macheix *et al.*, 1990), a través de las siguientes fases:



La principal enzima responsable de los mecanismos de degradación oxidativa de los compuestos fenólicos en los mostos es la catecoloxidasa, conocida frecuentemente como polifenoloxidasa (PPO), que cataliza la hidroxilación de los monofenoles a *o*-difenoles (actividad cresolasa) y oxidación de estos últimos a *o*-quinonas (actividad catecolasa). La lacasa es otra enzima que, debido a su origen fúngico, puede estar presente en los mostos procedentes de vendimias atacadas de podredumbre (*Botrytis cinerea*). A diferencia de la PPO admite un mayor número de sustratos (*o*-difenoles y *p*-difenoles) (Dubernet, 1974) y se mantiene en los vinos, donde su actividad produce un pardeamiento intenso que, eventualmente, da lugar a una precipitación (quiebra oxidásica), si hay exposición al aire.

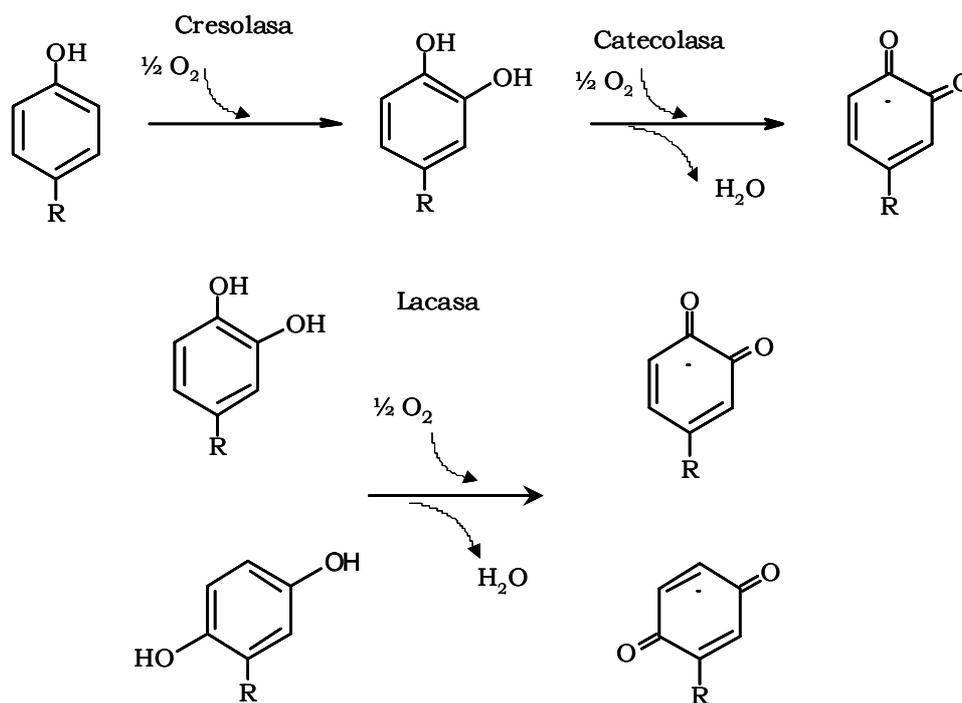
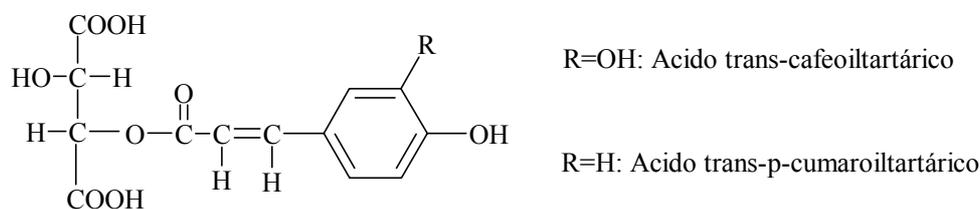


Figura 1. Reacciones catalizadas por polifenoloxidasas (cresolasa y catecolasa) y por lacasa.

Entre los ácidos fenólicos de la uva, los ácidos hidroxicinámicos se encuentran en las vacuolas de las células del hollejo y pulpa (Ribéreau-Gayon, 1965), en parte formando ésteres tartáricos, tales como los ácidos cafeoiltartárico (ácido caf-tártico), *p*-cumaroiltartárico (ácido cutárico) y feruloiltartárico (ácido feftárico), siendo la forma natural la *trans*, aunque la *cis* está presente en pequeña cantidad (Singleton *et al.*, 1978).

Entre los compuestos fenólicos del mosto, los substratos preferentes de la PPO son el ácido caf-tártico y, en menor medida, su homólogo monohidroxilado, el ácido cutárico, cuyas estructuras (Gunata *et al.*, 1987) son:



Tanto la oxidación enzimática del ácido caftárico como la del ácido cutárico conducen a ácido caftárico-*o*-quinona, el cual tiene un papel principal en los mecanismos de degradación oxidativa de los mostos de uva debido a su alta concentración y gran reactividad, puesto que el alto potencial redox del par ácido caftárico/*o*-quinona permite oxidar otros muchos componentes del mosto, entre los que cabe citar el ácido ascórbico y los sulfitos (Rigaud *et al.*, 1991) y también otros *o*-difenoles no substratos de la PPO, como los derivados del flavan-3-ol. Estos fenoles, reaccionan con las *o*-quinonas del ácido caftárico (*o*-quinonas primarias) en exceso, regenerando el ácido caftárico y transformándose por oxidación acoplada en *o*-quinonas secundarias que, junto a las primarias, reaccionan espontáneamente con las moléculas nucleófilas del mosto formando diversos agregados que a su vez pueden estar implicados en nuevas reacciones de degradación con formación de pigmentos pardos (Figura 2) (Wesche-Ebeling and Montgomery, 1990; Sarni-Manchado *et al.*, 1995).

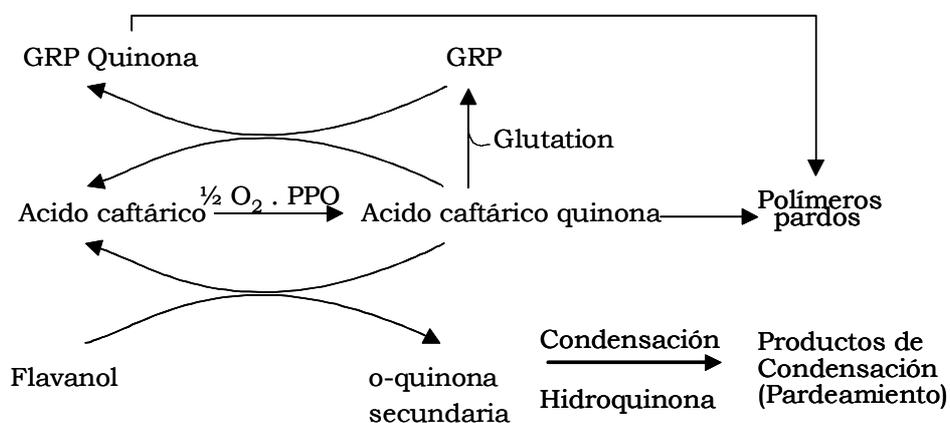


Figura 2. Mecanismo de oxidación de ácido caftárico y un flavanol.

De este modo se han estudiado soluciones modelo binarias de flavanos y ácido caftárico en presencia de PPO y se ha observado que la degradación de todos los flavanos es más rápida en presencia de ácido caftárico a causa de la oxidación acoplada. En mezclas catequina-ácido caftárico, la *o*-quinona del ácido caftárico también puede reaccionar con la catequina para dar lugar al producto de condensación ácido caftárico-catequina. Este también se puede formar a partir de la adición del ácido caftárico con la catequina *o*-quinona producida enzimáticamente o por oxidación acoplada, con regeneración de ácido caftárico. Por otro lado, las procianidinas y la epicatequina-3-*o*-galato son más fácilmente oxidadas, siendo más rápida la condensación de su quinona y más oscuros los productos producidos (Fig. 3) (Cheynier *et al.*, 1988); del mismo modo pueden ser oxidados estos productos y polimerizarse más adelante (Cheynier *et al.*, 1989b). Asimismo, las procianidinas

galoiladas experimentan reacciones de condensación más rápidas que las correspondientes no galoiladas (Cheynier and Ricardo da Silva, 1991).

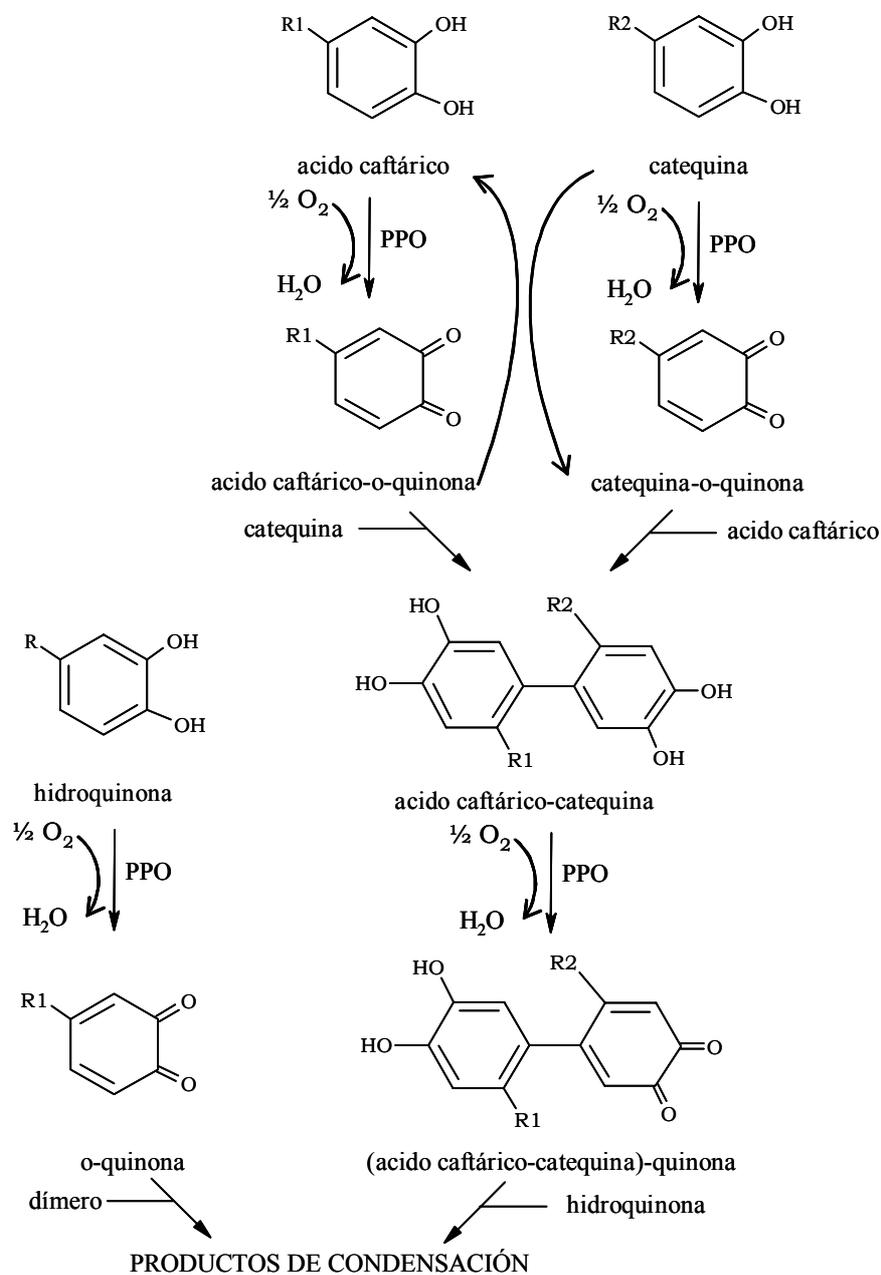
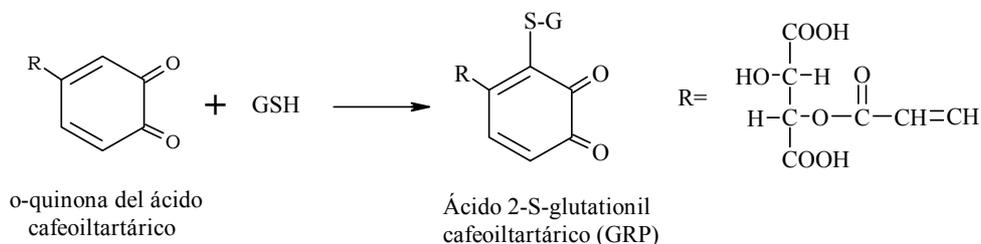


Figura 3. Secuencia de reacciones propuestas para la oxidación enzimática de mezclas catequina-ácido caftárico, formación de copolímeros y su oxidación.

La *o*-quinona del ácido caftárico también reacciona con el glutatión, tripéptido abundante en la uva, mediante adición nucleófila, formando el ácido 2-S-glutationil-cafeoiltartárico o GRP (Grape Reaction Product) que es el principal agregado encontrado en los mostos de uva (Singleton *et al.*, 1985; Cheynier *et al.*, 1986).



La formación de este compuesto, que es incoloro y no es sustrato de la PPO, supone un proceso de paralización de la quinona frente a las reacciones, anteriormente mencionadas, que dan lugar a la formación de pigmentos pardos. El ácido caftárico atrapado como GRP es inerte, o casi, para fomentar la oxidación por PPO, y la reacción llega a su fin con la desaparición del ácido caftárico (Singleton *et al.*, 1985). No obstante, el GRP puede ser oxidado por las quinonas del ácido caftárico en exceso, después de haberse agotado el glutatión, con el resultado de un pardeamiento intenso. La adición de ácido caftárico a soluciones PPO-GRP inducen la degradación completa del derivado glutatiónil, debido a un fenómeno de cooxidación, implicando la oxidación enzimática del ácido caftárico a la correspondiente *o*-quinona, seguida de la oxidación del GRP por dicha quinona (Figura 2) (Cheynier and Van Hulst, 1988).

Considerando lo anteriormente expuesto, hay que decir que la susceptibilidad del mosto al pardeamiento no depende del contenido inicial de ácidos hidroxicinámicos sino de su riqueza relativa en glutatión y dichos ácidos (Cheynier *et al.*, 1990). La cuantificación de los ácidos cafeoiltartárico y *p*-cumaroiltartárico (ambos hidroxicinámicos), del GRP y de sus *o*-quinonas respectivas durante la oxidación de una serie de mostos blancos obtenidos de diversos viñedos, junto con el análisis del color de los mostos oxidados (Cheynier *et al.*, 1990), han permitido establecer tres clases de mostos, que se diferencian en su relación molar ácidos hidroxicinámicos/glutatión (AH/GSH):

- A: mostos poco sensibles al pardeamiento (AH/GSH<1)
- B: mostos sensibles al pardeamiento (1<AH/GSH<3)
- C: mostos muy sensibles al pardeamiento (AH/GSH>3)

En la clase A, después de una corta fase de retardo, la oxidación de los ácidos hidroxicinámicos es muy rápida y las *o*-quinonas del ácido caftárico formadas son rápidamente atrapadas como GRP, siendo pequeño el consumo de oxígeno (menos de 7 mL/L) y la variación de color muy pequeña; siguiendo a esta fase de oxidación rápida, la oxidación acoplada de GRP a su *o*-quinona, la cual es instantáneamente convertida a GRP2 (ácido 2,5-di-S-glutationil caftárico, formado por reacción de la *o*-quinona de GRP con una segunda molécula de glutatión), compete con la formación de GRP. En la clase B, la concentración de GRP alcanza un máximo después de algunos minutos y entonces disminuye continuamente. Siguiendo al agotamiento del glutatión, las *o*-quinonas del ácido caftárico y GRP dan lugar a productos de condensación; se forma una pequeña cantidad de GRP2 que desaparece rápidamente, presumiblemente por oxidación acoplada. En la clase C, los niveles máximos de GRP y *o*-quinona de GRP son mucho más bajos y el de la *o*-quinona del ácido caftárico más alto; ningún GRP2 es detectado, lo cual quiere decir que el glutatión es agotado antes de que comience la oxidación del GRP. En las clases B y C, la regeneración del sustrato inicial (ácidos hidroxicinámicos) a partir de su quinona en la reacción de oxidación acoplada, bien con *o*-difenoles o el GRP, es seguida inmediatamente de una nueva oxidación; esto se traduce en un gran consumo de oxígeno. Efectivamente, sólo la primera etapa de la oxidación enzimática consume oxígeno, de modo que este consumo depende a la vez del contenido de sustratos de la PPO en el mosto y del número de sus reciclados, es decir, de la cantidad de moléculas oxidadas por oxidación acoplada. Además, la adición de glutatión en exceso a un mosto de la clase C limita el pardeamiento (Rigaud *et al.*, 1991), lo cual confirma el papel del mecanismo que lleva al GRP a la prevención de este fenómeno, ya que todas las quinonas del sustrato inicial son atrapadas por el glutatión para formar el GRP, con lo cual no hay posibilidad de que tenga lugar la oxidación acoplada que conduce al pardeamiento.

No obstante, la comparación de las cinéticas de oxidación en mostos y soluciones modelo indican que hay otros componentes del mosto que reaccionan con la quinona del ácido cafeoiltartárico, compitiendo así con el glutatión. Por una parte, están los reductores fuertes como el ácido ascórbico a los cuales se les atribuye en los mostos un periodo de latencia anterior a la acumulación del GRP debido a que regeneran el ácido cafeoiltartárico a partir de su quinona. En efecto, la adición de ácido ascórbico a los mostos retarda la degradación del ácido caftárico y la formación del GRP (Rigaud *et al.*, 1991). Por otra parte, están algunos compuestos fenólicos que pueden intervenir como reductores o nucleófilos en las reacciones con la *o*-quinona del ácido cafeoiltartárico y a los cuales se les atribuye que las concentraciones de quinonas y GRP encontradas en los mostos sean sistemáticamente inferiores a las de las soluciones modelo correspondientes.

Por otra parte, el pardeamiento es debido, como anteriormente se ha indicado, a las reacciones de polimerización que siguen a la formación de las *o*-quinonas de diversos flavanoles, ya que estas quinonas resultan muy inestables,

dando lugar rápidamente a productos de condensación por reacción, bien con sus formas reducidas o bien con el ácido cafeoiltartárico (Figura 4).

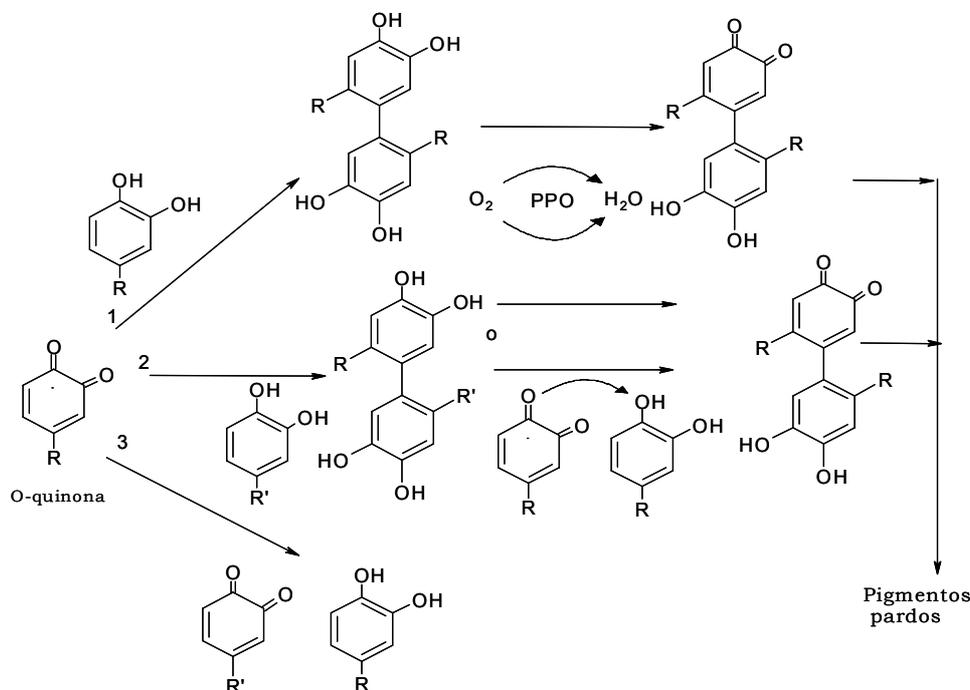


Figura 4. Reacción de la *o*-quinona con compuestos fenólicos; las reacciones 2 y 3 son capaces de regenerar el fenol original.

Se han identificado en soluciones modelo productos de condensación procedentes de la oxidación enzimática de diferentes sustratos. Los principales productos encontrados en soluciones de (+)-catequina oxidadas vía enzimática son dímeros formados por la reacción de una *o*-quinona de (+)-catequina con una (+)-catequina o por unión de dos semiquinonas de (+)-catequina (Figura 5) (Guyot *et al.*, 1996); algunos de éstos, formados en mayor cantidad cuando el pH aumenta, tienen una intensa coloración amarilla. También se han identificado dímeros del ácido cafeico (Fulcrand *et al.*, 1994). Además, las cinéticas de oxidación en soluciones que contienen al mismo tiempo ácido caftárico y (+)-catequina (Cheynier *et al.*, 1989a) parecen indicar la formación de productos de condensación entre estas dos moléculas similares a los encontrados en medios modelo del tipo mosto de manzana (Oszmiansky and Lee, 1990; Richard-Forget *et al.*, 1995).

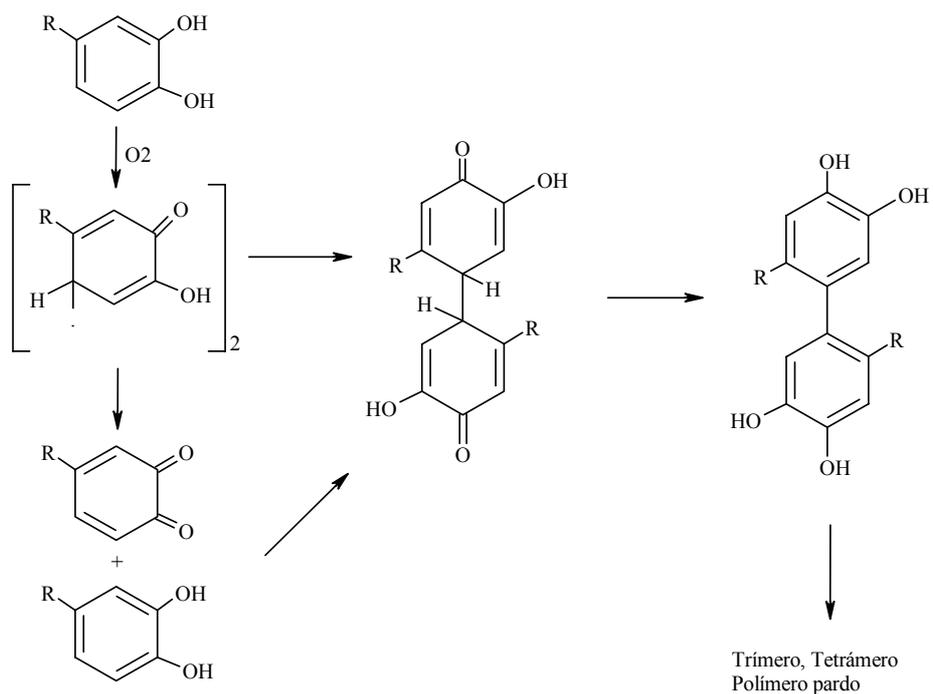


Figura 5. Ejemplo simplificado de la generación de oligómeros oxidables por reacción entre dos semiquinonas o una quinona y un fenol

## 2.2. INFLUENCIA DE LAS OPERACIONES PREFERMENTATIVAS SOBRE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS

La mayor parte de los compuestos fenólicos se encuentran en las partes sólidas de la uva (raspón, hollejo y pepitas). La cantidad y composición de estos compuestos que pasan al mosto dependen de las distintas operaciones prefermentativas.

Así, el estrujado y prensado tienen una gran influencia en la composición fenólica de los vinos blancos puesto que casi toda la oxidación tiene lugar durante el prensado. De hecho, la cantidad de ácidos hidroxicinámicos degradada durante el estrujado y prensado realizado con una prensa rotativa equivale a la mitad de los substratos disponibles para la PPO, en el caso de los mostos de clase B, citados en el punto anterior, y a más del 90% en los de clase A, llegando esta proporción al 70% para los de la clase B en una prensa tradicional champenoise (Cheynier *et al.*, 1993) en la cual el mosto fluye lentamente en contacto con el aire. El consumo de oxígeno durante esta operación de prensado es del orden de 7 a 10 mL por litro de mosto, que equivale a la capacidad total de consumo de oxígeno en los mostos de clase A y a la mitad de esta capacidad en los de clase B, mientras que los de clase C pueden consumir hasta 40 mL de oxígeno por litro de mosto.

El empleo de dióxido de azufre antes del prensado tiene por objeto evitar el pardeamiento enzimático de los mostos al inhibir la acción de la PPO, aunque favorece la extracción de compuestos fenólicos del hollejo al provocar rápidamente la muerte de sus células y aumentar así la permeabilidad celular, lo cual se traduce en un aumento significativo de la transferencia de compuestos fenólicos al mosto (Singleton *et al.*, 1980; Singleton and Trousdale, 1983). El sulfitado realizado después del prensado reduce una parte de las quinonas formadas, regenerando aproximadamente la mitad del ácido cafeoiltartárico existente al principio y limitando los efectos de la oxidación. Por el contrario, en las cubas no sulfitadas, continúan las reacciones de oxidación acoplada y condensación que dan lugar al pardeamiento, sin consumo suplementario de oxígeno.

La intensidad del prensado influye grandemente en la transferencia de compuestos fenólicos al mosto. Dumazert (1974) y Kinzer and Schreier (1980) indican que el contenido de polifenoles totales es mayor en los mostos de prensa que en los de yema, si bien el primero señala que hay diferencias entre los diferentes tipos de compuestos fenólicos. Los mostos de yema, según Dumazert (1974), son más ricos en ácidos hidroxicinámicos y dépsidos de éstos que los de prensa, mientras que estos últimos contienen mayor cantidad de flavonoles, leucoantocianos y taninos que los de yema. Gómez *et al.* (1990) observan que al aumentar la presión de 1 Kg/cm<sup>2</sup> a 2 Kg/cm<sup>2</sup>, los fenoles flavonoides y tánicos aumentan al doble, en tanto

que los flavanos se triplican, recomendando, por tanto, presiones máximas para la obtención del mosto de 1 Kg/cm<sup>2</sup>. Del mismo modo, Peri *et al.* (1971) indican que un aumento de la presión provoca un aumento en el contenido de todos los grupos de compuestos fenólicos, excepto de los no flavonoides, que no varían apreciablemente en las diferentes fracciones, lo cual confirma que provienen del mosto y no de las partes sólidas. Por último, el tipo de prensada influye también en la extracción y transferencia de compuestos fenólicos al mosto.

El tiempo que transcurre entre el estrujado y prensado, durante el cual las partes sólidas y el mosto se encuentran en íntimo contacto, influye de manera considerable en el contenido de compuestos fenólicos de los vinos blancos. Wucherp-fenning (1967) indica que el contenido de leucoantocianos en ellos es mayor al aumentar el tiempo transcurrido entre ambas operaciones. Singleton *et al.* (1980) consideran que el tiempo transcurrido entre dichas operaciones debe ser función de la variedad y tipo de vino que se desea elaborar. En este sentido, los ensayos de Du Plessis (1973) muestran claramente que la influencia ejercida por la variedad es determinante.

Asimismo, en general, el contenido de compuestos fenólicos en el mosto aumenta cuando se pasa de la recolección manual a la mecanizada (Amati *et al.*, 1984; Dubourdieu *et al.*, 1986) y del prensado al desvinado mecánico.

Así pues, el enriquecimiento de los mostos en compuestos fenólicos y, sobre todo, en flavonoides, resultado de una maceración con partes sólidas o de un prensado muy fuerte, favorece el pardeamiento. Por el contrario, la presencia de un exceso de glutatión (mostos de clase A) o la adición de este compuesto a los mostos de las clases B y C, limita las alteraciones de color y protege a los flavonoides, lo cual confirma la función de la quinona del ácido cafeoiltartárico en sus mecanismos de degradación.

Sin embargo, el mantenimiento del color observado en mostos ricos en glutatión es un fenómeno temporal. Efectivamente, la sensibilidad de los vinos blancos al pardeamiento está relacionada con su contenido en flavanoles (catequinas y procianidinas) (Simpson, 1982; Cheynier *et al.*, 1989a), ya que estos compuestos, incluso en ausencia de aire, presumiblemente se polimerizan durante el almacenamiento, contribuyendo al desarrollo de color adicional en los vinos. Así, el mantenimiento de cantidades elevadas de flavonoides en mostos ricos en glutatión o protegidos contra la oxidación puede dar lugar a un pardeamiento más intenso en los vinos. Además, el GRP acumulado en los mostos podría constituir una reserva de compuestos oxidables a largo plazo durante la conservación de los vinos. Este fenómeno está particularmente comprobado en los vinos procedentes de vendimias botritizadas a causa de la actividad de la lacasa sobre estos substratos (Dubernet, 1974; Salgues *et al.*, 1986). Así, la lacasa oxida el ácido 2-S-glutationil caftárico (GRP) a su correspondiente *o*-quinona que, en ausencia de glutatión, se polimeriza

aumentando el pardeamiento; sin embargo, este aumento no se produce si hay glutatión en exceso, puesto que entonces, la *o*-quinona del GRP es atrapada por el glutatión formándose el ácido 2,5-di-S-glutationil caftárico (GRP2) (Figura 6) (Salgues *et al.*, 1986).

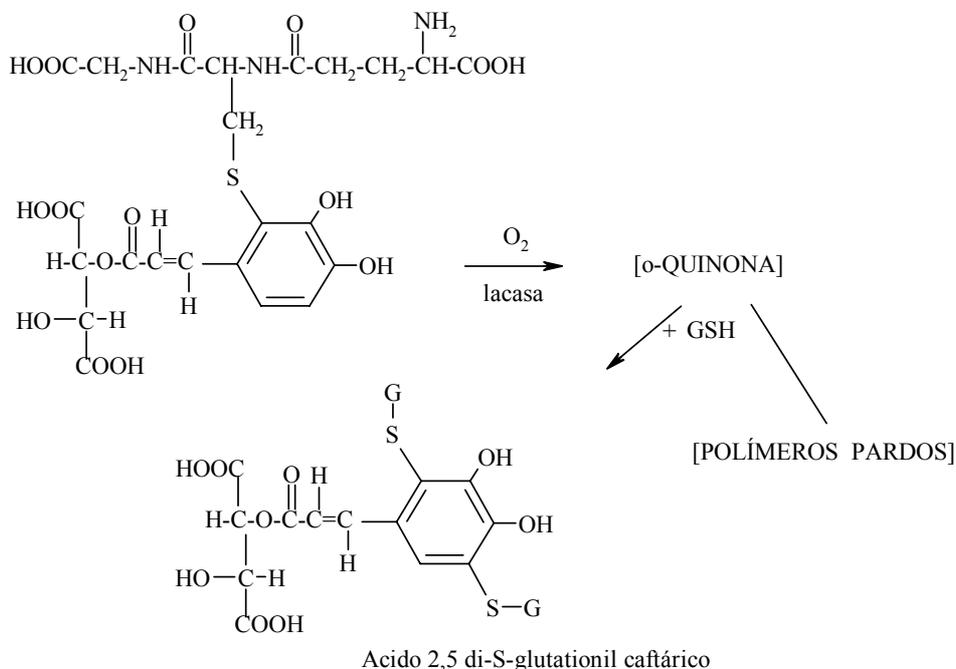


Figura 6. Secuencia de reacciones propuestas para la oxidación del ácido 2-S-glutationil caftárico por lacasa y la formación del ácido 2,5-di-S-glutationil caftárico. GSH=glutatión.

Debido al pardeamiento enzimático, existe un interés creciente en la eliminación de compuestos fenólicos durante la etapa prefermentativa de los mostos, ya que si se consigue eliminar la gran mayoría de ellos antes de la fermentación, es lógico pensar que el vino resultante tenga una menor susceptibilidad a la oxidación, siendo más resistente, por tanto, al pardeamiento posterior. Uno de los tratamientos que se realiza junto con el desfangado es la hiperoxidación de los mostos, la cual es una técnica que consiste en insuflar oxígeno a los mostos antes de la fermentación, permitiendo disminuir la concentración de compuestos fenólicos residuales y, por tanto, mejorar la estabilidad de los vinos. Efectivamente, los productos de condensación formados en la etapa prefermentativa evolucionan rápidamente dando formas insolubles que son eliminadas fácilmente con el desfangado (Cheynier *et al.*, 1989c). La hiperoxidación es una técnica especialmente interesante en el caso de mostos que han tenido una maceración con las partes sólidas o un prensado fuerte,

los cuales tienen un contenido elevado en flavanoles. No obstante, resulta ineficaz en los mostos ricos en glutatión (clase A), en los que las reacciones de oxidación acoplada y condensación están bloqueadas (Cheynier *et al.*, 1989a), debiendo el enólogo, por tanto, mejorar estos mostos con un cuidado especial para evitar al máximo la extracción de flavonoides, perjudicial para la calidad final del producto. Mediante la hiperoxidación se ha logrado disminuir el contenido de los compuestos fenólicos mayoritarios en mostos de Jerez, como son los ácidos cafeico y *p*-cumárico (hidroxicinámicos) y los ácidos *cis* y *trans* cutárico y caftárico (Castro, 1994).

Por el contrario, Mayén *et al.* (1996) encuentran que el contenido de ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos, así como el de procianidinas, aumentan en mostos hiperoxidados, disminuyendo, sin embargo, a la mitad el contenido de ésteres hidroxicinámicos, lo que puede ser debido a su mayor susceptibilidad a la oxidación. Asimismo, la adición de oxígeno no causa ningún cambio significativo en catequinas y flavanoles, admitiéndose que su posible oxidación puede estar solapada con el efecto de extracción de las impurezas. Por otra parte, estos mismos autores no observan variaciones significativas en los contenidos de catequinas, procianidinas o flavanoles cuando el mosto hiperoxidado es sulfitado. Además, la adición de dióxido de azufre a un mosto no oxidado da lugar a un aumento notable de las concentraciones de ésteres hidroxicinámicos y, más moderadamente, de las de ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos, incrementándose sólo de forma moderada los niveles de ácidos hidroxibenzoicos en los mostos oxidados y sulfitados.

La hiperoxidación reduce el contenido total en compuestos fenólicos, pero los resultados sensoriales dependen principalmente de la eliminación de fenoles flavonoides, ya que éstos son los principales responsables del desarrollo del amargor, astringencia, pardeamiento y alteraciones del aroma durante el envejecimiento oxidativo de vinos blancos. Sin embargo, los fenoles no flavonoides son incapaces de generar este deterioro, no contribuyendo así al amargor, a las concentraciones encontradas en el vino (Schneider, 1998).

Moutounet *et al.* (1988) señalan que el aporte de oxígeno antes de la fermentación disminuye la concentración de los compuestos fenólicos cuantificados; ya que desde el momento en que se rompen los granos de uva, la PPO y la lacasa producen transformaciones en los compuestos fenólicos, los cuales experimentan reacciones de condensación y polimerización a través de sus correspondientes quinonas, dando productos insolubles que se eliminan con facilidad en la etapa pre-fermentativa mediante el desfangado. Cheynier *et al.* (1989c), siguiendo la evolución de los distintos compuestos fenólicos durante el prensado y la fermentación, encuentran que la mayor parte de las oxidaciones tienen lugar durante el prensado. Cheynier *et al.* (1989a) sometieron mostos Chardonnay y Grenache a maceración y/o hiperoxidación durante el prensado y la fermentación, observando que los mostos macerados contenían más compuestos fenólicos y eran más susceptibles al par-

deamiento que los vinos de control, mientras que la hiperoxidación redujo el contenido de fenoles e indujo resistencia al pardeamiento sin modificar las propiedades sensoriales.

Por otra parte, el empleo de enzimas pectolíticas modifica el contenido polifenólico del mosto, habiéndose observado que, generalmente, supone un aumento de las cantidades de leucoantocianos (Seider and Datunashuili, 1973), taninos (Montedoro and Bertuccioli, 1975) y catequinas (Segal and Grager, 1967).

Asimismo, ciertas preparaciones pectolíticas pueden dar lugar en el mosto a un contenido elevado en vinil-fenoles, origen de olores y gustos indeseables en los vinos blancos. En este sentido, numerosas preparaciones enzimáticas de *Aspergillus niger* contienen una actividad de tipo cinamoil-esterasa capaz de hidrolizar los ésteres tartáricos de los ácidos hidroxicinámicos del mosto en el transcurso de la fase prefermentativa, liberando ácidos trans-*p*-cumárico y ferúlico, los cuales, bajo la acción de la actividad cinamato-decarboxilasa de *Saccharomyces cerevisiae*, son transformados en los vinil-fenoles correspondientes en el transcurso de la fermentación alcohólica. De este modo, la elección de una cepa de levadura de pequeña actividad cinamato-decarboxilasa o la utilización de una preparación pectolítica de pequeña actividad cinamoil-esterasa limita muy significativamente la síntesis de vinil-fenoles de los vinos y, por tanto, evita la aparición de un carácter fenol desagradable, sin afectar el potencial clarificante de la preparación enzimática (Chatonnet et al., 1992a).

La Figura 7 resume el conjunto de mecanismos de las reacciones que intervienen durante las operaciones prefermentativas y sus efectos en el pardeamiento de los mostos.

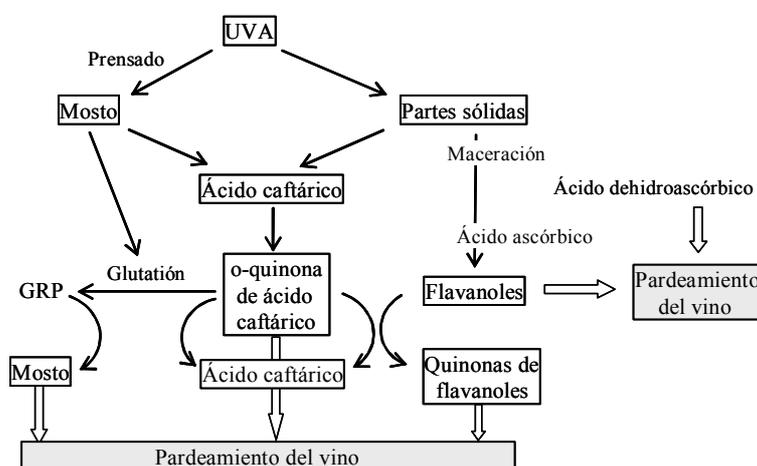


Figura 7. Esquema de los mecanismos de pardeamiento oxidativo en los mostos y vinos blancos.

### **3. EVOLUCIÓN DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS DURANTE LA FERMENTACIÓN.**

Las levaduras que intervienen en la fermentación dan lugar a que la composición polifenólica del vino sea marcadamente diferente a la del mosto del que procede, originando modificaciones cualitativas y cuantitativas.

La hidrólisis de los polifenoles glicosilados y acilados durante la fermentación se ha interpretado como un proceso químico, consecuencia de la acción simultánea del pH y la temperatura del medio durante un tiempo considerable. Sin embargo, no debe descartarse la existencia de una hidrólisis catalizada por sistemas enzimáticos de la uva o de las levaduras, al menos durante el tiempo en que el grado alcohólico no sea suficientemente elevado como para desactivarlos. Nagel and Wulf (1979) consideran que las levaduras pueden jugar un papel activo en la degradación de los ésteres tartáricos de los ácidos cafeico y *p*-cumárico, pues su contenido desciende a la mitad durante la fermentación. Asimismo, Gunata *et al.* (1986) indican que los derivados hidroxicinámicos e hidroxibenzoicos del mosto experimentan importantes procesos hidrolíticos y oxidativos en el transcurso de la vinificación, lo que da lugar a una mayor proporción en el vino de sus formas libres. Por otro lado, sólo se observa una ligera pérdida en ácidos hidroxicinamoiltartáricos durante la fermentación (Vrhovsek and Wendelin, 1998).

El metabolismo de las levaduras origina compuestos fenólicos que aparecen en el vino tras la fermentación, como los alcoholes triptofol y tirosol, que proceden principalmente del metabolismo de los aminoácidos tirosina y triptófano (Sapis and Ribéreau-Gayon, 1969). Junto a esto, debe indicarse que en las condiciones de fermentación las levaduras pueden realizar reacciones de reducción de aldehídos de naturaleza fenólica a los correspondientes alcoholes (Singleton and Esau, 1969).

Estrella *et al.* (1983) y Kontek and Kontek (1984) describen la actividad de las levaduras sobre los polifenoles no flavonoides. Barcenilla *et al.* (1989) comparan el efecto que tres levaduras distintas ejercen sobre el contenido de compuestos fenólicos. Igualmente, Almela *et al.* (1991) comparan el contenido en ácidos fenólicos en el mismo vino fermentado con dos levaduras distintas.

Nagel and Wulf (1979) y Nagel *et al.* (1979) observan durante la fermentación de mostos de variedades de uvas blancas, Muscat y Riesling, un descenso muy pronunciado de los ésteres caftárico y cutárico, y ninguna variación significativa en la concentración del éster feftárico. Esta tendencia descendente no es universalmente aceptada, puesto que algunos autores consideran que durante el proceso fermentativo se produce el fenómeno contrario, es decir, una mayor concentración de estos ésteres (García Barroso *et al.*, 1994 y Mayén *et al.*, 1996), posiblemente como resultado de su extracción de las fracciones sólidas residuales, las

cuales son características de la vinificación industrial de los mostos Sherry (Mayén *et al.*, 1996).

Bengoechea *et al.* (1992) han seguido la variación de los ésteres hidroxicinámicos y sus correspondientes ácidos libres en el transcurso de cuatro procesos de fermentación diferentes (espontánea e inducida con y sin dióxido de azufre), encontrando que entre los ácidos libres, el ácido cafeico es el que alcanza la más alta concentración, siendo la de su éster tartárico la menos importante de entre todos los ésteres desde el comienzo de las distintas fermentaciones. Asimismo, la presencia de dióxido de azufre condiciona la concentración de los ácidos cinámicos y sus ésteres tartáricos, siendo la fermentación inducida la que da lugar a una mayor variación de las concentraciones de estos compuestos. Por otro lado, la simple hidrólisis no parece ser la reacción principal del proceso de fermentación, por el hecho de que los ésteres y sus ácidos libres tienen una evolución paralela.

Durante la fermentación de mostos de uvas blancas con maceración de hollejos, se observa un gran aumento para el ácido cafeoiltartárico, mientras que los isómeros del ácido *p*-cumaroiltartárico tienen un menor aumento; también se encuentra aumento para los ácidos siríngico y vanílico y para el tirosol y triptofol (Di Stefano *et al.*, 1990).

Somers *et al.* (1987) identifican en el vino diez componentes, entre ácidos hidroxicinámicos y sus ésteres, destacando los ésteres tartáricos de los ácidos cafeico, *p*-cumárico y ferúlico, además de los ésteres etílicos de los dos primeros ácidos anteriores. Aunque ausentes en los mostos, los ácidos cafeico y *p*-cumárico libres sí son encontrados en el vino debido a que en el transcurso de la fermentación tiene lugar una hidrólisis parcial de sus correspondientes ésteres tartáricos hacia dichos ácidos. Tanto esta hidrólisis como la formación de los ésteres etílicos se deben probablemente a la actividad enzimática de las levaduras. Por otro lado, todos los compuestos identificados tienen configuración *trans*. Okamura and Watanabe (1981) encuentran en distintos vinos blancos comerciales que la mayor parte de los ácidos hidroxicinámicos están en forma combinada con el ácido tartárico.

García Barroso *et al.* (1994) detectan los ácidos gálico, vanílico y protocatequico en vinos Amontillado de la zona de Jerez, mientras que en vinos Finos de la misma zona determinan los ácidos *p*-cumárico, cafeico y 3,4,5-trimetoxicinámico y, en menor cantidad, los ácidos ferúlico, *o*-cumárico y sinápico, observando que las cantidades de estos últimos aumentan durante la fermentación (García-Barroso *et al.*, 1986; Pérez-Juán, 1995). Asimismo, se ha encontrado el ácido *m*-cumárico en muestras de vino Fino (Lázaro *et al.*, 1990). Por otro lado, durante la fermentación, la extracción de los ácidos hidroxicinámicos de las células del hollejo depende principalmente de fenómenos de difusión y en menor medida del grado alcohólico (Di Stefano, 1993).

Se han realizado estudios de una serie de compuestos fenólicos de bajo peso molecular (aldehídos y ácidos fenólicos) y flavonoides (catequinas y agliconas de flavonoles) en vinos blancos de las Denominaciones de Origen Rioja, Valdepeñas y La Mancha, sin que hayan sido objeto de envejecimiento en madera, encontrándose que los principales componentes son los ácidos *cis-p*-cumárico y *p*-hidroxibenzoico, aunque el tirosol se cuantifica junto con este último. De acuerdo con los resultados obtenidos, parecen existir ciertas diferencias según sea el origen de las muestras. Los vinos blancos de Rioja son, en general, más pobres en compuestos fenólicos de bajo peso molecular que los de Valdepeñas y La Mancha, los cuales muestran un comportamiento muy homogéneo; así, el *p*-hidroxibenzaldehído y los ácidos *p*-hidroxibenzoico y *cis* y *trans-p*-cumárico son mucho menos abundantes en las muestras de Rioja, lo que también ocurre con algunos compuestos de mayor peso molecular, tales como (-)-epicatequina y quercetina. Estas diferencias podrían ser debidas en buena medida a la distinta variedad de uva empleada en la elaboración de estos vinos. Otros componentes, como la (+)-catequina y los ácidos protocatéquico, vaníllico y ferúlico, apenas sufren variaciones, por lo que es posible que su contenido en estos vinos no esté relacionado con caracteres varietales; sin embargo, los ácidos gálico y cafeico muestran una distribución errática, siendo difícil, por tanto, relacionar su contenido con diferencias varietales o procesos de elaboración diferentes (Alonso *et al.*, 1988a).

Para algunos autores, las procianidinas mayoritarias en el vino blanco son la B1, B2, B3, B4 y B5 (Lea *et al.*, 1979), mientras que para otros son la B1 y B2 (Haslam, 1980; Bourzeix *et al.*, 1986 y Dallas *et al.*, 1995). Durante la fermentación alcohólica de mostos sometidos a tratamientos prefermentativos de hiperoxidación y adición de dióxido de azufre, hay un gran aumento en la concentración de procianidinas, aunque las catequinas también aumentan pero de manera menos importante, no variando, sin embargo, el contenido de la fracción de flavonoles (Mayén *et al.*, 1996).

Por último, la familia de los flavonoles ha sido mucho menos estudiada. Alonso *et al.* (1988b) estudian la presencia de flavonoles en vinos blancos y tintos de las Denominaciones de Origen Rioja y La Mancha por técnicas cromatográficas (TLC y HPLC), identificando cuatro agliconas (miricetina, quercetina, kampferol e isoramnetina) y varios glicósidos de quercetina. Según los resultados obtenidos, existe una abundancia relativa de quercetina y miricetina en relación a kampferol e isoramnetina, siendo los vinos tintos más ricos en estos componentes que los blancos. En cuanto a los glicósidos, aparece como compuesto mayoritario, en el caso de los vinos blancos, la rutina (quercetín-3-ramnoglucósido), no apareciendo sino vestigios de otros compuestos; con respecto a los vinos tintos, hay diferencias entre ellos (Mayén *et al.* 1995).

## **4. COMPORTAMIENTO DE LOS FENOLES DURANTE EL ENVEJECIMIENTO DE VINOS GENEROSOS**

### **4.1. CRIANZA OXIDATIVA**

Este tipo de crianza, llamada también envejecimiento no biológico o químico, transcurre en ausencia de levaduras, puesto que el vino se encabeza con alcohol vínico antes de ser sometido a este proceso, llegando a tener del orden de 18 a 20 grados alcohólicos. Este contenido elevado en alcohol impide toda actividad vital de la levadura, no siendo posible, por tanto, ningún proceso biológico. Se producen, entonces, fenómenos físico-químicos de tipo oxidativo que dan lugar a un fuerte incremento de color.

Los componentes del vino que parecen estar más implicados en estos fenómenos oxidativos son los polifenoles. En efecto, se ha comprobado que la oxigenación de los vinos da lugar a una pérdida de estos compuestos. Además, la capacidad de los vinos para consumir oxígeno está directamente relacionada con su contenido en polifenoles. Entre éstos, los *o*-difenoles son los que se oxidan con más facilidad, aunque también pueden oxidarse otros tipos de polifenoles cuya adición provoca un aumento del consumo de oxígeno y pardeamiento de los vinos, como es el caso del floroglucinol que, aunque no se oxida solo, incluso bajo condiciones alcalinas, aumenta el consumo de oxígeno y el pardeamiento cuando es añadido a fenoles oxidables, tales como el ácido cafeico (Singleton, 1987).

En cuanto a su mecanismo de acción, el oxígeno molecular ( $O_2$ ) es paramagnético y tiene dos electrones no apareados, que le confieren un estado de triplete y un comportamiento de radical doble. En esta forma, el oxígeno no puede reaccionar con otros compuestos orgánicos, que generalmente se encuentran en estado simple, porque sería un proceso donde no hay cambio de electrones. No obstante, hay algunas excepciones a esta regla, sobre todo cuando el producto de la reacción queda estabilizado por una gran energía de resonancia. Además, la mayoría de los compuestos orgánicos no producen compuestos estables en estado de triplete, y el oxígeno no puede reaccionar más que con moléculas que tengan electrones no apareados, es decir, radicales libres. Esta condición, que es necesaria pero no suficiente, contribuye a formar una barrera cinética que impide la iniciación de la reacción con  $O_2$ , debiendo ser activado el oxígeno o bien otro compuesto para que la reacción se inicie. El oxígeno puede ser excitado y llevado a un estado determinado en el que es capaz de reaccionar bajo la acción de la luz, en presencia de pigmentos fotosensibles (no basta con la luz) (Cheynier and Fulcrand, 2000).

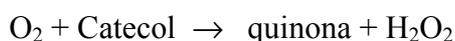
Sin embargo, no parece que este proceso sea importante en la oxidación de los vinos, mientras se produzca generalmente durante la maduración y envejecimiento de los vinos, es decir, en la oscuridad. En este sentido, observamos que el empleo de botellas pigmentadas trata de proteger al vino de la luz para evitar la

oxidación, “sabor a luz” (Boulton *et al.*, 1996). También el oxígeno puede ser activado formando complejos con iones metálicos, sobre todo con el ión ferroso. Incluso aunque la concentración de éste último sea pequeña, parece tener una influencia catalítica importante.

No obstante, parece que los polifenoles intervienen en la principal reacción con el oxígeno en los vinos. A continuación se muestran las reacciones involucradas en la oxidación de los catecoles del vino a *o*-quinonas en las que H<sub>2</sub>Q representa el catecol, HQ<sup>-</sup> el anión fenolato, HQ<sup>•</sup> la semiquinona, O<sub>2</sub><sup>-•</sup> el anión superóxido y Q la *o*-quinona (Singleton, 1987):

1.  $O_2 + HQ^- \rightleftharpoons O_2^{\cdot-} + HQ^{\cdot}$
2.  $O_2^{\cdot-} + H_2Q \rightarrow HQ^- + HO_2^{\cdot}$   
 $HO_2^{\cdot} \rightleftharpoons H^+ + O_2^{\cdot-}$
3.  $O_2^{\cdot-} + H_2Q + H^+ \rightarrow HQ^{\cdot} + H_2O_2$
4.  $O_2 + HQ^{\cdot} \rightarrow Q + O_2^{\cdot-} + H^+$
5.  $O_2^{\cdot-} + HQ^{\cdot} + H^+ \rightarrow Q + H_2O_2$

por lo que, según observamos, la oxidación estaría iniciada por la reacción entre el oxígeno triplete y los aniones fenolato de los catecoles dando semiquinonas y el anión superóxido; a su vez estos radicales estarían implicados en una serie de reacciones en cadena cuyo balance global corresponde a la siguiente ecuación:



siendo la fase limitante de este proceso la producción de semiquinonas, debido principalmente a la débil concentración de aniones fenolato al pH ácido del vino (Singleton, 1987; Cilliers and Singleton, 1989). Otras reacciones podrían llevar al mismo resultado, tales como las hidroxilaciones de tipo Felton, interviniendo el peróxido de hidrógeno y el ión ferroso para dar el radical hidroxilo o un complejo activo del hierro. Finalmente, debe señalarse la formación de moléculas de peróxido de hidrógeno en el balance global de la reacción de oxidación, lo cual puede explicar la presencia de acetaldehído en el medio, resultante de la oxidación del etanol por el mismo peróxido de hidrógeno (Wildenradt and Singleton, 1974).

La autooxidación de los polifenoles en soluciones modelo es un fenómeno muy lento en ausencia de catalizadores. Las velocidades de estas reacciones son más rápidas cuando el pH de las soluciones aumenta debido a la mayor proporción de moléculas en forma fenolato, siendo además la oxidación (pérdida de un electrón) mucho más fácil desde el anión fenolato que desde el fenol protonado. A pH 9-10 o superior, donde el 50% o más de los fenoles existen como aniones fenolato, la autooxidación es extremadamente rápida completándose esencialmente en torno a

los 30 minutos a temperatura ambiente; sin embargo, al pH del vino, hay un muy pequeño porcentaje de aniones fenolato, los cuales se autooxidarían muy fácilmente (Singleton, 1987; Cilliers and Singleton, 1989).

Se han obtenido y clasificado varios productos de autooxidación de los polifenoles. Así, se ha demostrado que la autooxidación del ácido gálico genera ácido elágico. Cuando el ácido gálico se oxida y dimeriza regenerando la forma hidroquinona, ésta se vuelve a oxidar para dar su quinona y peróxido de hidrógeno, estando dicha hidroquinona en equilibrio con su correspondiente dilactona, que es el ácido elágico producido, el cual, en medio alcalino fuerte, se hidroliza al dímero del ácido gálico, mientras que en medio ácido se forma ácido elágico (Figura 8) (Tulyathan *et al.*, 1989). Esto podría explicar la presencia de este compuesto en vinos que no han permanecido en toneles.

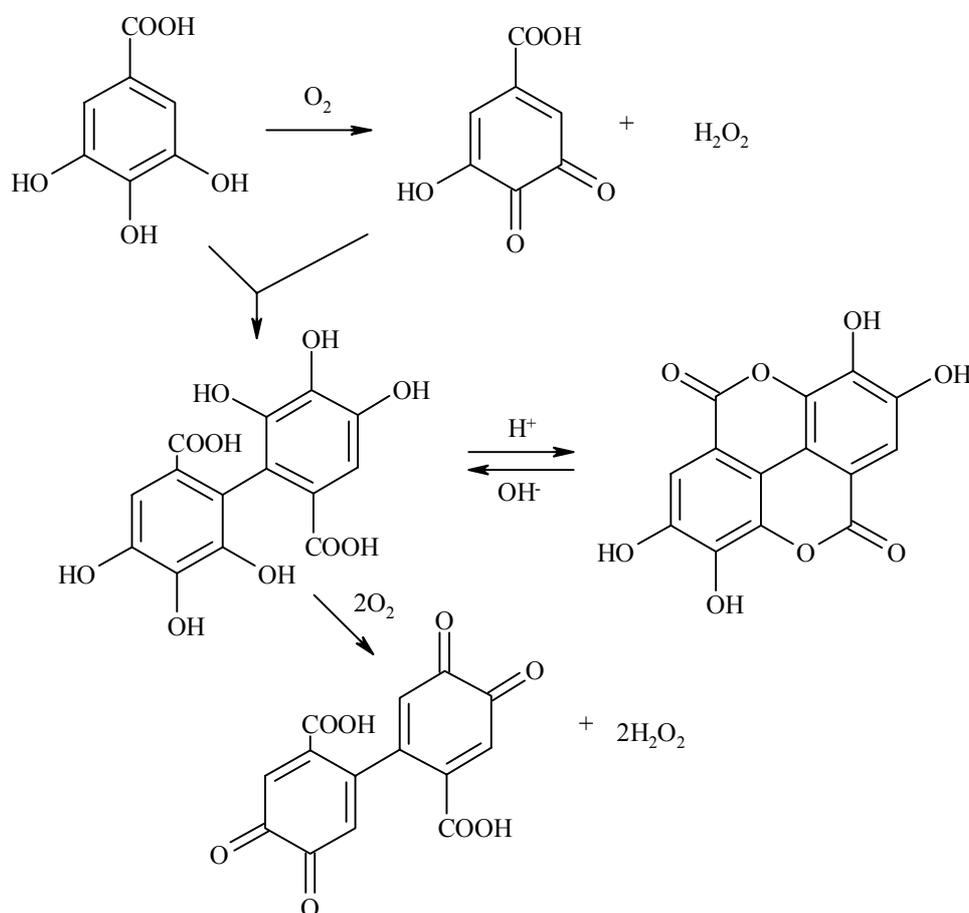


Figura 8. Autooxidación del ácido gálico, dimerización (precursor del ácido elágico) y reoxidación con producción acoplada de peróxido de hidrógeno.

En el caso de la (+)-catequina (Oszmiansky *et al.*, 1996) se han obtenido los mismos productos por autooxidación y oxidación enzimática, aunque a velocidades muy distintas, a los tres meses en la primera de ellas y después de una hora en la segunda, lo cual es debido a que las oxidaciones químicas son extremadamente lentas y pueden requerir semanas o meses para que sean apreciadas, aunque las condiciones de oxidación sean las óptimas en cuanto al contenido en catalizadores metálicos.

En cuanto al ácido cafeico, tanto la autooxidación como la oxidación enzimática conducen al mismo tiempo a productos idénticos y a compuestos aparentemente específicos de uno u otro tipo de oxidación (Cilliers and Singleton, 1991; Cheynier and Moutounet, 1992; Fulcrand *et al.*, 1994). De cualquier modo, es probable que las variaciones de composición observadas entre los distintos modelos estudiados, mencionados anteriormente, sean debidas sobre todo a efectos cinéticos, relacionados con las proporciones relativas de las formas oxidadas (*o*-quinonas) y no oxidadas en las soluciones, y a la influencia del pH sobre las velocidades de las etapas reactivas en las que cada producto se forma o se degrada (Fulcrand *et al.*, 1994; Guyot *et al.*, 1996).

Ninguno de estos productos ha sido encontrado en los vinos, excepto el ácido elágico, debido sin duda a la gran diversidad de reacciones existentes. En efecto, la presencia de catalizadores metálicos (hierro y cobre) en concentraciones que pueden ser habitualmente detectadas en los vinos, da lugar a otros tipos de degradaciones más rápidas que, básicamente, suponen reacciones de polimerización que derivan en compuestos condensados incoloros, pero terminan evolucionando a moléculas incluso más coloreadas que las procedentes de la autooxidación, con el correspondiente pardeamiento del vino (Oszmiansky *et al.*, 1996). Entre las principales rutas de polimerización destaca la condensación de moléculas de flavan-3-ol por medio del acetaldehído (Figura 9) procedente de la oxidación del etanol, reacción esta última que, por otra parte, ya ha sido suficientemente estudiada en enología (Timberlake and Bridle, 1976; Baranowski and Nagel, 1983; Bakker *et al.*, 1993; Dournel, 1995; Fulcrand *et al.*, 1996).

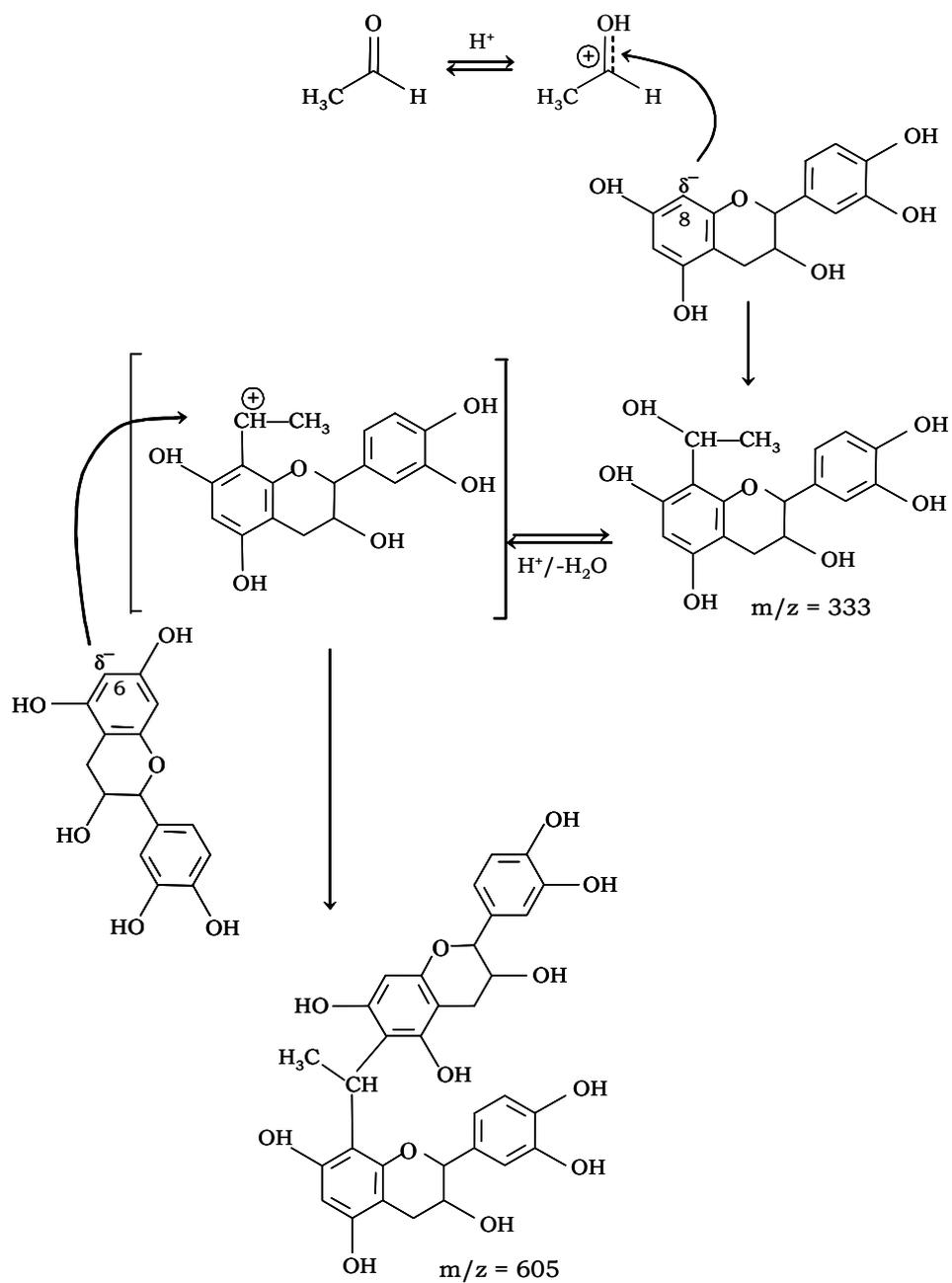


Figura 9. Mecanismo de polimerización de flavan-3-ols inducido por acetaldehído.

El mecanismo de este proceso comienza con la protonación del acetaldehído en medio ácido. Esta etapa limitante, como consecuencia del pH, genera un carbocatión que sufre entonces un ataque nucleófilo de una molécula de flavano ( $C_6$  o  $C_8$  del anillo A). El aducto de etanol así formado da lugar a un nuevo carbocatión por pérdida de una molécula de agua que sufre nuevamente un ataque nucleófilo por parte de una segunda molécula de flavano, generando un dímero. El proceso continuaría con una nueva adición nucleófila de acetaldehído que actuaría nuevamente como puente de unión en la formación del trímero y así sucesivamente.

Otra ruta de polimerización está relacionada con la oxidación del ácido tartárico. Efectivamente, estudios más recientes llevados a cabo con soluciones modelo de (+)-catequina por Fulcrand *et al.* (1997) muestran que un producto residual de la oxidación del ácido tartárico catalizada por hierro, el ácido glioxílico, puede competir de manera importante con el acetaldehído en los procesos de policondensación de los flavan-3-ol. Su participación sería parecida a la del acetaldehído, con una primera etapa de formación del dímero no coloreado de (+)-catequina por medio, en este caso, de un puente etanoico formado por fijación del ácido glioxílico. Según que la unión de las moléculas de (+)-catequina tenga lugar por medio de los carbonos 6 y/o 8, tendremos tres dímeros diferentes: 2a para la unión 8-8, 2b y 2c para las uniones 8-6 ó 6-8 y 2d para la unión 6-6 (Figura 10). El mecanismo completo para la formación del polímero a partir del dímero 2a, se muestra en la Figura 11.

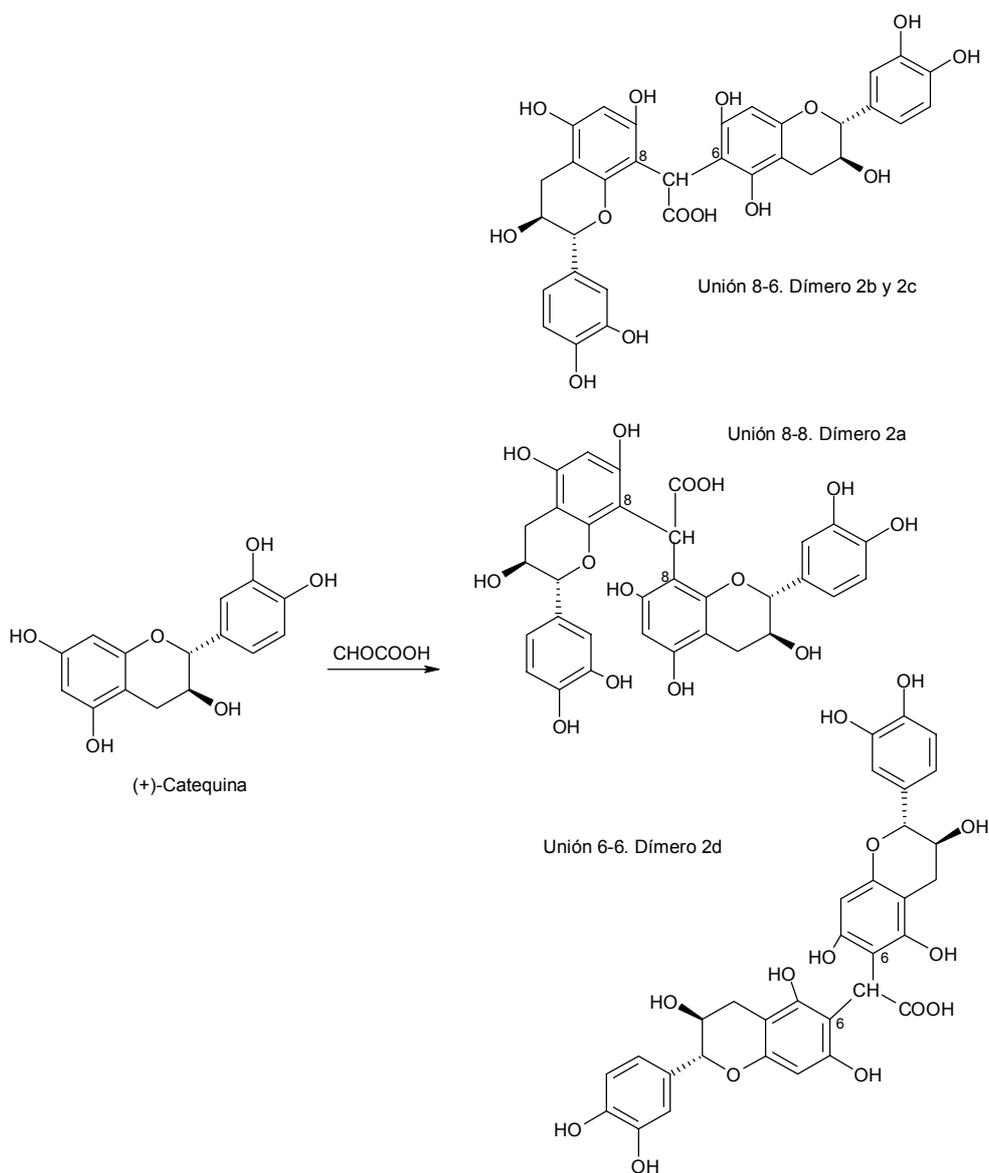


Figura 10. Formación de dímeros de la (+)-catequina a través del ácido glioxílico. Estructuras no coloreadas 2a, 2b, 2c y 2d.

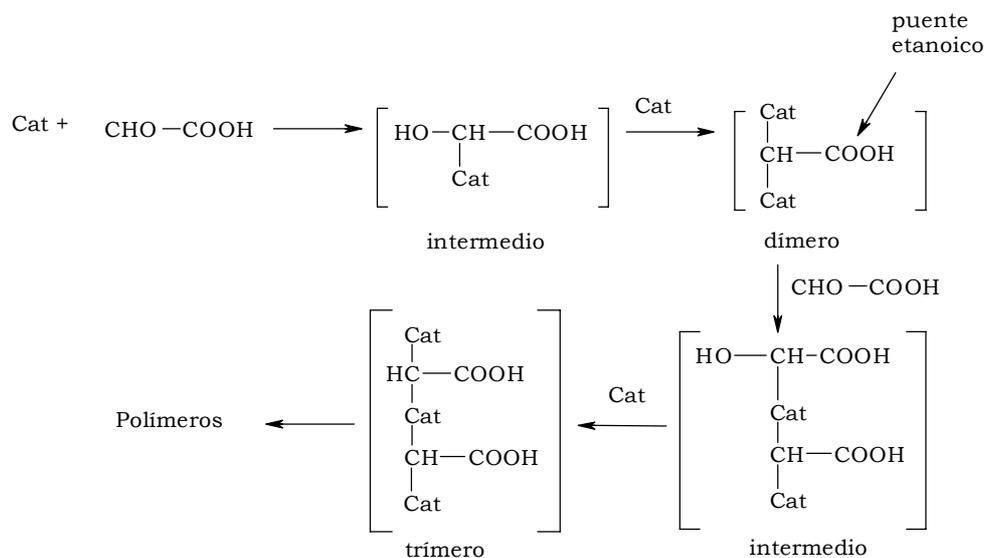


Figura 11. Mecanismo de formación de polímeros de la (+)-catequina por fijación sucesiva de ácido glioxílico.

Con posterioridad, Es-Safi *et al.* (1999) han realizado una serie de estudios que han podido determinar las reacciones mediante las cuales derivados dímeros de la (+)-catequina, formados por el mecanismo anteriormente descrito, derivan en compuestos coloreados. El mecanismo propuesto parte de una interacción del dímero con etanol, metanol o agua, seguida de una deshidratación intramolecular entre dos grupos hidroxilo para generar el éter correspondiente, cuya oxidación da lugar a un compuesto salino coloreado con un máximo de absorbancia situado entre 440 y 460 nm (Figura 12). Estos compuestos coloreados son más intensos que los que resultan de la oxidación enzimática, donde el máximo de absorbancia se sitúa entre 385 y 412 nm.

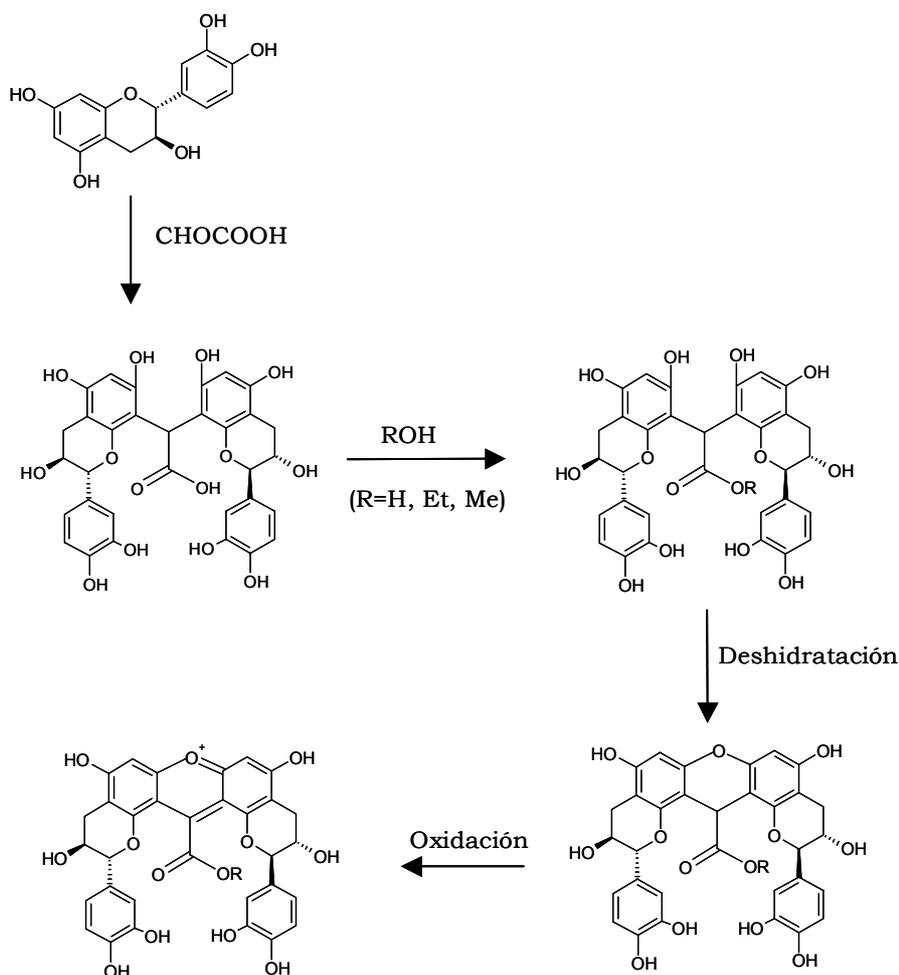


Figura 12. Mecanismo de formación de la estructura xantylum (compuesto coloreado) a partir de un dímero de la (+)-catequina.

Parece, por tanto, que los principales mecanismos oxidativos responsables de estos fenómenos en los vinos, aunque afectan a los compuestos fenólicos y, sobre todo, a los flavanoles, no son reacciones de autooxidación de estas moléculas.

Por último, reseñar que el contenido de flavonoles desciende durante el envejecimiento. Esteves-Pinto (1971) ha comprobado que la pérdida de flavonoles es paulatina, llegando a desaparecer el kampferol y la miricetina. Estrella *et al.* (1987) encuentran en vinos finos de Jerez que los contenidos de agliconas de flavonol libres van descendiendo a lo largo del envejecimiento, mientras que en vinos olorosos y amontillados no se encuentran presentes, probablemente como consecuencia

de las condiciones de oxidación en que se produce la maduración de estos vinos, que aumenta la formación de polímeros coloreados estables y donde dichas agliconas pueden jugar un papel significativo en las reacciones de condensación.

#### 4.2. APORTE DE LA MADERA SOBRE LA COMPOSICIÓN FENÓLICA

La madera de roble ha sido tradicionalmente usada en el envejecimiento de los vinos a causa de sus propiedades mecánicas (dureza y flexibilidad), físicas (densidad, porosidad y permeabilidad) y químicas, debiéndose a sus compuestos extraíbles los cambios producidos en la composición de aquéllos, por lo que la madera de roble contribuye a la formación y desarrollo del color y flavor.

Las especies de roble más comúnmente usadas en el proceso de fabricación de los barriles son los robles blancos de América del Norte (*Quercus alba L.* y especies relacionadas) (Singleton, 1974) y los robles rouvre (*Quercus petraea L.*) y pedunculado (*Quercus robur L.*) de Europa, siendo, de éstos últimos, el más popular el roble francés. Sin embargo, la utilización de barriles de roble americano se está desarrollando cada vez más en la crianza de los vinos.

La madera de roble se compone principalmente de tres grandes polímeros: celulosa, hemicelulosa y lignina, que forman un retículo insoluble (Fengel and Wegener, 1984) y son constituyentes de la pared celular, pero además, la madera contiene diversos compuestos fenólicos extraíbles que representan en torno al 10% de la materia seca, siendo fundamentalmente elagitaninos (Scalbert *et al.*, 1988, 1989; Favre *et al.*, 1993) y estando también formados por lignanos, cumarinas, fenoles simples, taninos condensados y galotaninos (Masson *et al.*, 1996).

La lignina es el tercer constituyente de la madera de roble y representa el 25-30% de la materia seca (Bednar and Fengel, 1974; Wagenführ and Scheiber, 1974; Monties, 1989). Es un polímero insoluble tridimensional de naturaleza polifenólica y se forma principalmente por copolimerización de dos alcoholes fenilpropenílicos, el coniferílico y sinapílico (Monties, 1992). La estructura de estos alcoholes se muestra en la Figura 13.

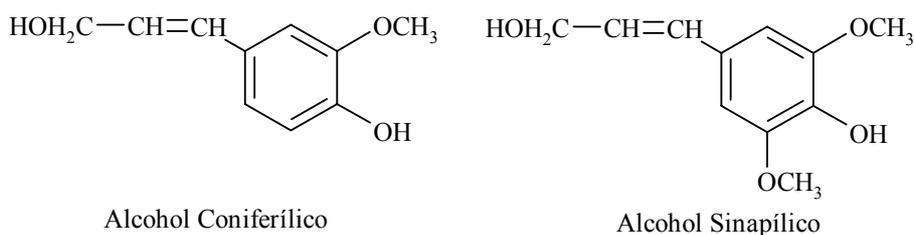


Figura 13. Estructura de dos alcoholes fenilpropenílicos.

Así pues, la lignina de la madera está compuesta por unidades guayacil y siringilpropano (Fengel and Wegener, 1984; Singleton, 1995) (Figura 14), siendo los enlaces intermonoméricos principales enlaces alquil aril éter (Figura 15) (Monties, 1992; Viriot *et al.* 1993). La lignina se incrusta en las fibras de celulosa y ocupa los espacios intercelulares, haciendo así la pared rígida e impermeable. Los trabajos de Puech (1984) ponen en evidencia pequeñas variaciones entre las maderas de robles europeos y americanos.

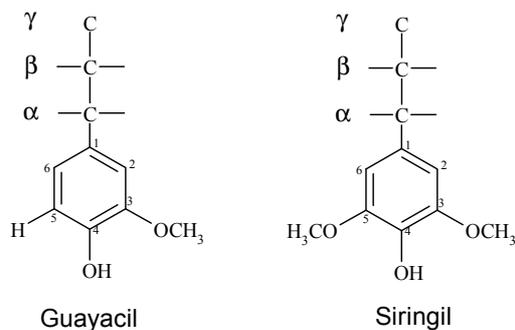


Figura 14. Nomenclatura y estructura fenilpropano de los monómeros guayacil y siringil constitutivos de la lignina de la madera de roble.

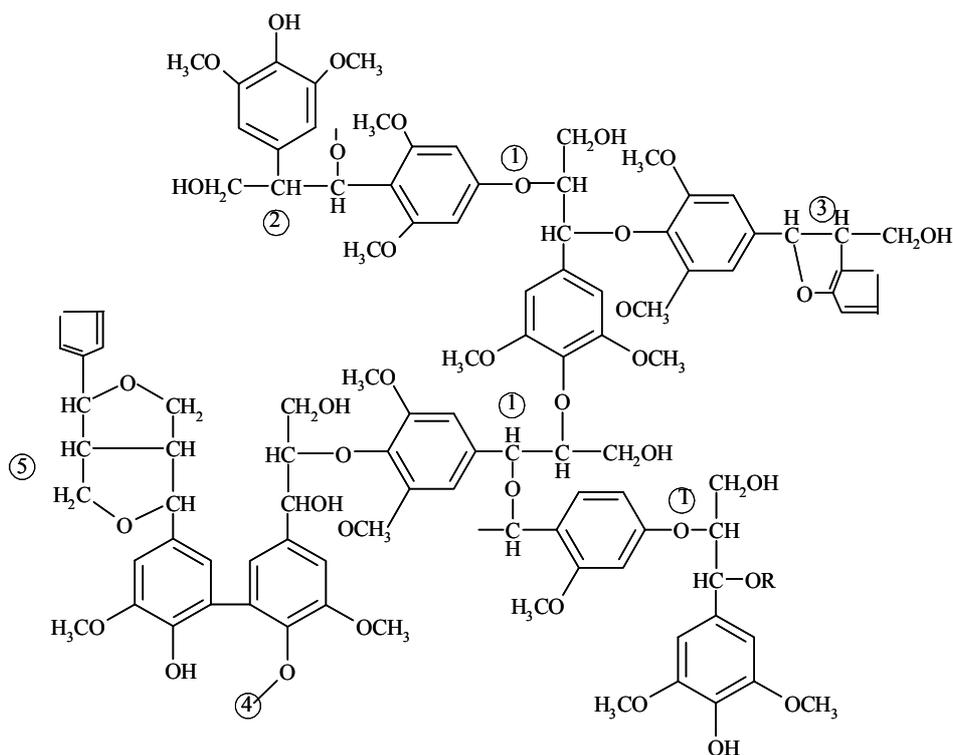


Figura 15. Estructura molecular de los principales tipos de enlaces intermonoméricos descritos en la lignina.

Se han caracterizado tres fracciones diferentes de lignina en la madera de corazón de *Quercus robur* y *Q. petraea*: la primera, soluble en un medio hidroalcohólico y extraíble con diclorometano, es una mezcla de ligninas oligómeras altamente enriquecida en aldehído fenólico libre y lioniresinol, mientras que las dos restantes, extraíbles con etanol y dioxano, respectivamente, son relativamente ligninas puras con diferente relación entre las unidades siringil y guayacil, y cuyos productos de la tioacidolisis contienen ácido elágico (Vivas *et al.*, 1998)

Los lignanos reagrupan un número importante de moléculas que difieren en el tipo de enlace de las dos unidades de fenilpropano y los substituyentes de las posiciones 3, 4 y 5 del ciclo benzoico. Los lignanos son numerosos en la madera de roble y sus concentraciones pueden ser elevadas. Así, el lioniresinol se detecta en la madera de corazón de roble rojo de América, *Quercus rubra* (Seikel *et al.*, 1971). Su presencia se confirma en la madera de roble pedunculado, *Quercus robur* L. (Nabeta *et al.*, 1987). La estructura de este compuesto se detalla en la Figura 16 (Masson *et al.*, 1996).

Las cumarinas son benzo- $\alpha$ -pironas substituidas formadas a partir de ácidos hidroxicinámicos. Guymon and Crowell (1968) y Joseph and Marché (1972) muestran que su presencia en los aguardientes tiene por origen la madera de roble. La escopoletina es la más abundante de las cumarinas identificadas por estos autores y se detecta tanto en la madera de *Quercus rubra* (Seikel *et al.*, 1971) como en la madera de roble de origen europeo (Puech and Moutounet, 1988). La madera de roble americano se caracteriza por contenidos elevados en escopoletina, aportando ésta a los vinos y aguardientes conservados en este tipo de madera (Puech and Moutounet, 1988). Su estructura se muestra asimismo en la Figura 16. (Masson *et al.*, 1996)

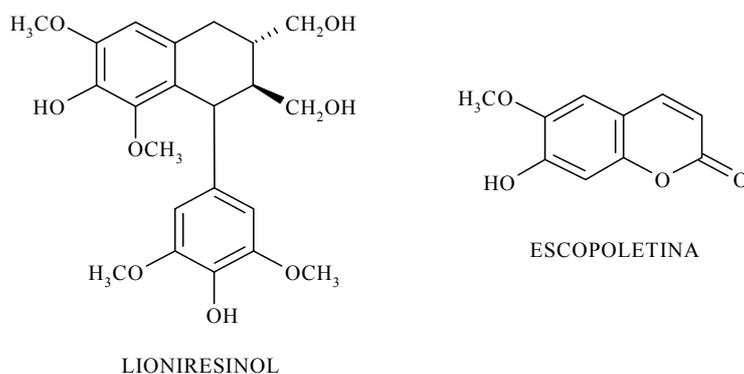


Figura 16. Estructura de dos compuestos fenólicos característicos de la madera de roble: un lignano, el lioniresinol, y una cumarina, la escopoletina.

Los ácidos fenólicos de las series benzoica y cinámica, muy extendidos en el reino vegetal (Harborne and Simmonds, 1964), proceden de la vía del ácido shikímico. Representan un eslabón esencial en la formación de las ligninas, taninos y cumarinas. Numerosos ácidos de las series benzoica y cinámica se identifican en las hojas, raíces y tronco de *Quercus robur L.* (Alibert, 1975). Los ácidos gálico y elágico se describen frecuentemente en la madera del género *Quercus* (Chen, 1970; Seikel *et al.*, 1971; Scalbert *et al.*, 1986; Puech *et al.*, 1988). Los extractos de madera de roble contienen igualmente ácidos vanílico y siríngico (Puech *et al.*, 1988). El ácido ferúlico está presente en la madera de *Quercus alba L.* (Nykanen *et al.*, 1985). En la Figura 17 (Masson *et al.*, 1996) se representan las estructuras de estos ácidos fenólicos.

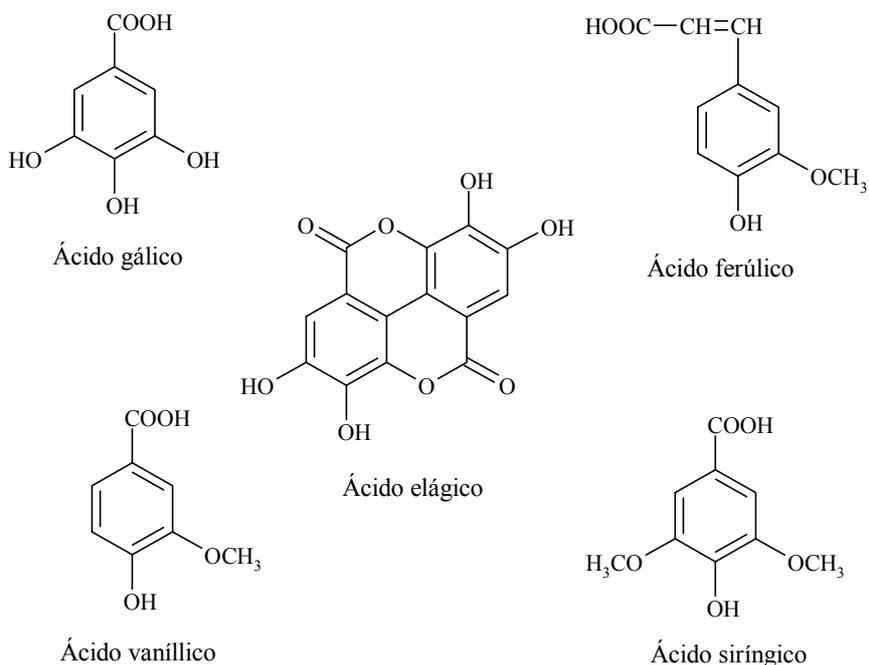


Figura 17. Estructura de los ácidos fenólicos de la madera de roble.

Los dos aldehídos cinámicos presentes en la madera de roble (Black *et al.*, 1953), el sinapaldehído y coniferaldehído (Masson *et al.*, 1996), son productos de degradación de la lignina, al igual que los aldehídos benzoicos, vainillina y sirinгалdehído (Puech, 1987a), identificados en la madera de roble por Pearl *et al.* (1957). En la Figura 16 se muestra la estructura de estos aldehídos fenólicos presentes en la madera de roble.

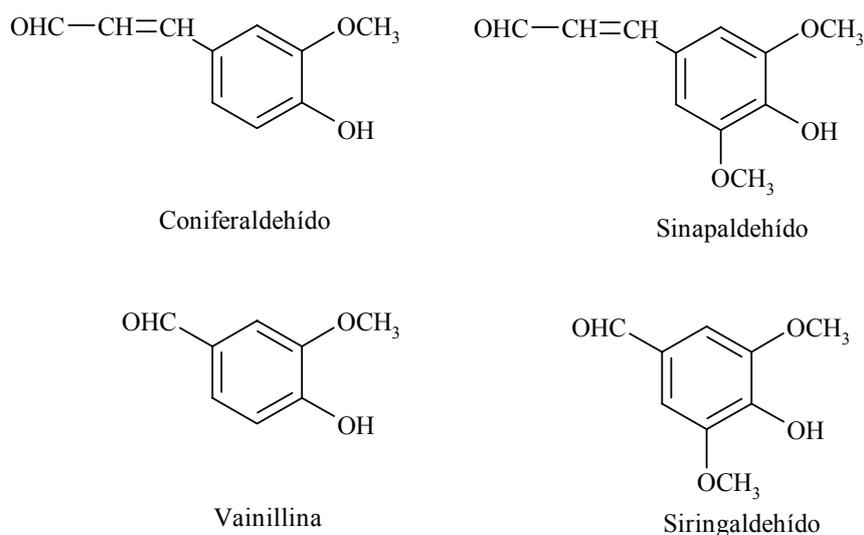


Figura 18. Estructura de los aldehídos aromáticos de la madera de roble.

Los fenoles volátiles, productos de la termodegradación de la lignina, se describen a menudo en la madera quemada y los aguardientes (Ter Heide *et al.*, 1978; Chatonnet, 1989; Puech *et al.*, 1993), siendo más raros en la madera fresca. El eugenol es el más abundante de los fenoles volátiles de la madera de *Quercus alba L.* y *Quercus robur L.* (Nishimura *et al.*, 1983; Nabeta *et al.*, 1986), pero los contenidos en isoeugenol, fenol, cresol, guayacol, propiovanillona y 4-vinil-guayacol no son despreciables en la madera de roble blanco americano (Nishimura *et al.*, 1983). En la Figura 19 se representan las estructuras de todos estos fenoles volátiles.

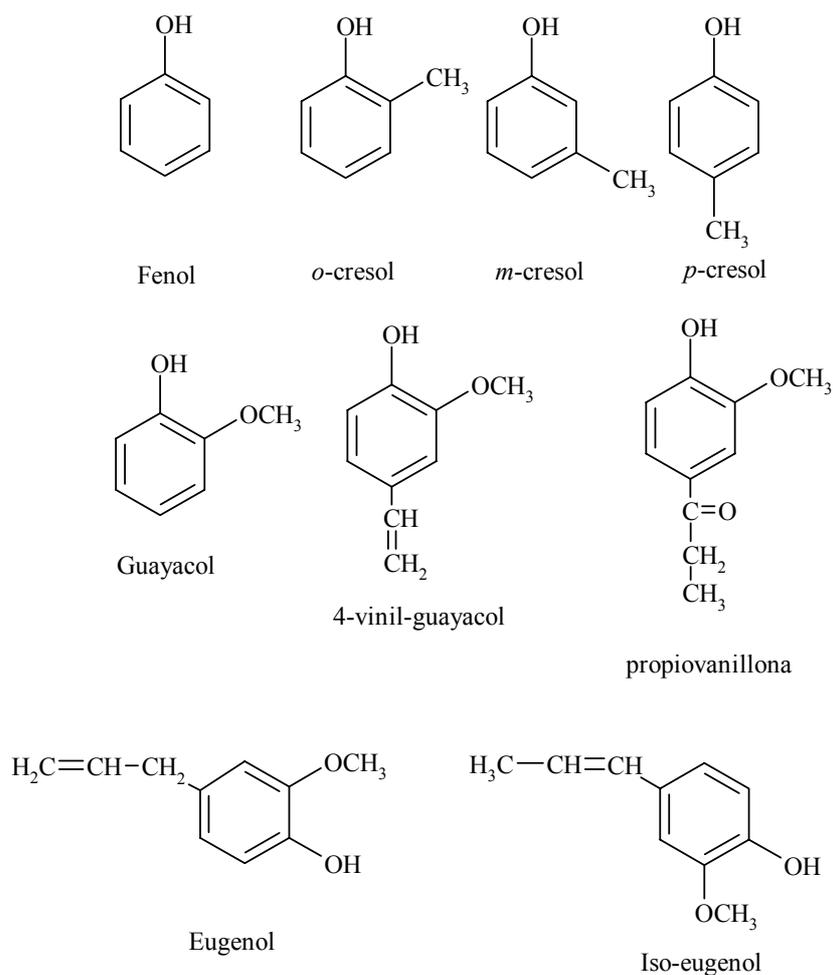


Figura 19. Estructura de los principales fenoles, metilfenoles y metoxifenoles de la madera de roble.

Los taninos son sustancias polifenólicas que presentan la propiedad de precipitar las proteínas; su acción tanante es el origen de su nombre. Los taninos se dividen generalmente en taninos condensados e hidrolizables, subdividiéndose éstos últimos en galotaninos y elagitaninos según liberen, respectivamente, ácido gálico o elágico después de la hidrólisis ácida. La cantidad de ácido gálico formada después de la hidrólisis ácida de los extractos de la madera de roble ha sido estimada en torno al 5% de la cantidad de ácido elágico producido, pudiendo derivar el ácido gálico de los galotaninos, aunque es más probable que proceda de estructuras más complejas que contienen unidades de ácido gálico (Puech *et al.* 1999).

En el género *Quercus*, los taninos condensados o catéquicos se localizan fundamentalmente en la corteza. Las estructuras de los taninos condensados o proantocianidinas presentes en las cortezas de los robles rouvre y pedunculado han sido determinadas por Ahn and Gstirner (1973) y Pallenbach *et al.* (1992). Están formados por oligómeros y/o polímeros de los derivados de flavan-3-ol, mediante uniones de tipo B, es decir, uniones C-C entre el C4 de una de las unidades y el C6 o C8 de la otra. Las uniones de tipo A, con un enlace de tipo éster, no han sido formalmente identificadas en el mundo de la enología. En la Figura 20 se muestra la estructura de las proantocianidinas.

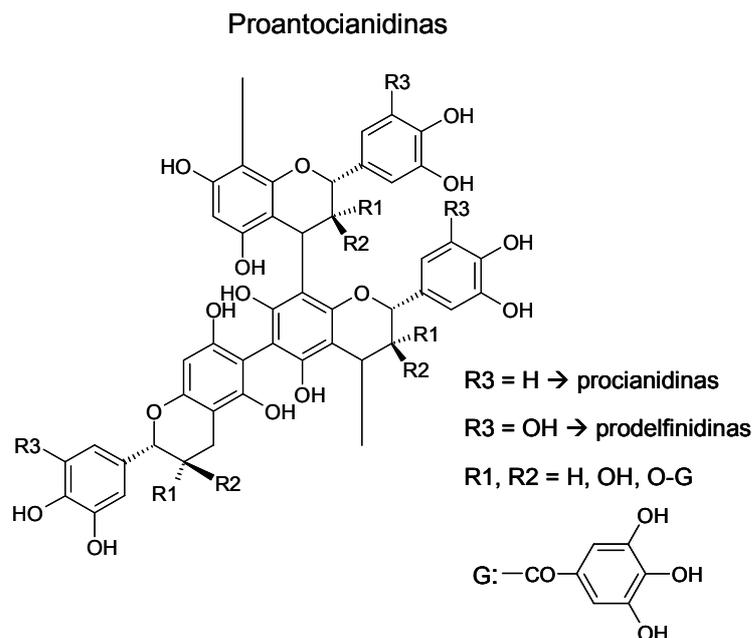


Figura 20. Estructura de las proantocianidinas.

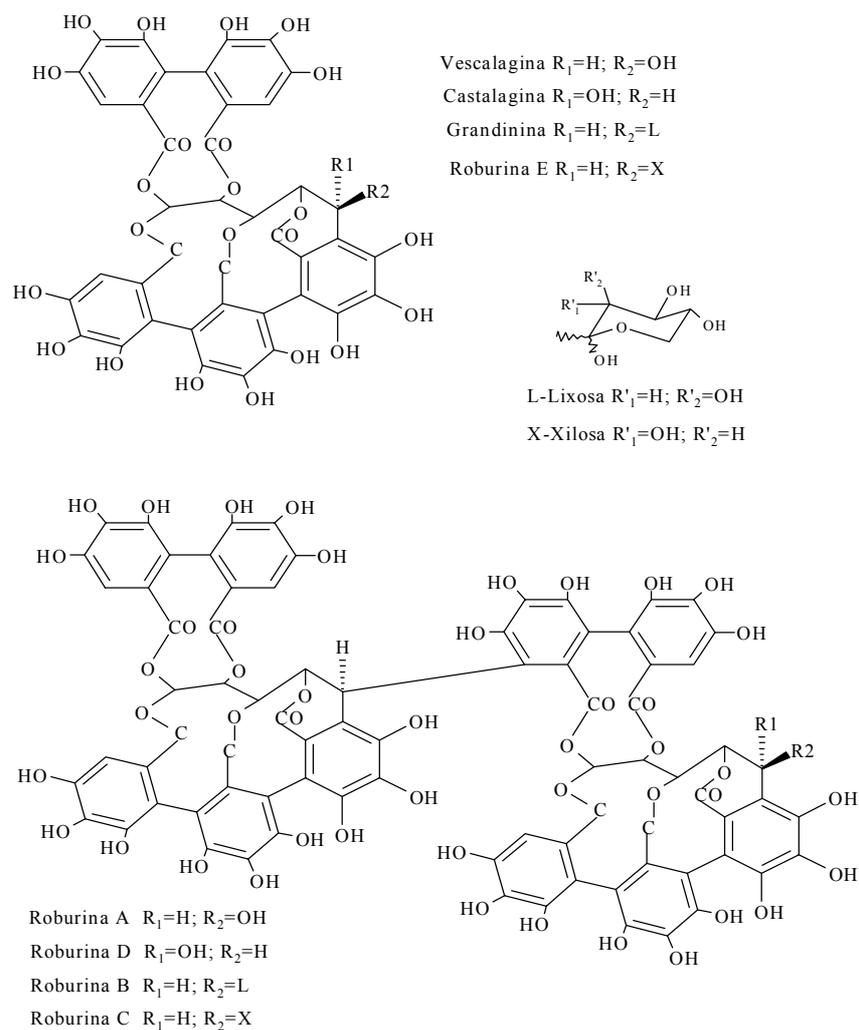
Scalbert *et al.* (1987), basándose en la reacción de Bate-Smith (1972), indican que la corteza del roble pedunculado (*Quercus robur L.*) es al menos diez veces más rica en proantocianidinas que la madera de corazón. Trabajos recientes (Mertz, 1995) han permitido determinar, por el mismo método, los contenidos en proantocianidinas de la madera de corazón de robles pedunculados, rouvres y blancos americanos, no observándose ninguna diferencia sensible entre estas especies.

Chen (1970) y más tarde Seikel *et al.* (1971) señalan la presencia de galotaninos en la madera de corazón de *Quercus alba L.* y *Quercus rubra*. Este dato es recuperado posteriormente en la bibliografía enológica, aunque ninguna estructura de galotaninos ha sido claramente identificada hasta ahora en la madera de roble. Esta familia de taninos sería, sin embargo, cuantitativamente minoritaria en la ma-

dera de corazón respecto a los elagitaninos. Estos últimos son compuestos solubles en agua y constituyen la parte esencial de los compuestos extraíbles de la madera de roble. Son ésteres hexahidroxidifénicos de tipo C-glicosídico muy extendidos en las angiospermas dicotiledóneas, especialmente en el género *Quercus*. Se detectan en la madera de *Quercus alba L.* y *Quercus rubra*. (Chen, 1970; Seikel *et al.*, 1971), pero son objeto de estudios más detallados en la madera de *Quercus robur L.* y *Quercus petraea L.* Se conocen ocho elagitaninos en la madera de roble (Masson *et al.*, 1996). En la figura 21 se muestran las estructuras de estos compuestos. La castalina y vescalina, si bien son compuestos clasificados por Mayer *et al.* (1967) en el grupo de los elagitaninos, no liberan ácido elágico por hidrólisis ácida.

Por otra parte, Chatonnnet and Dubourdieu (1998) estudian comparativamente las características del roble blanco americano y los robles europeos para la producción de barriles usados en el envejecimiento de vinos, señalando que el roble pedunculado europeo tiene el más alto contenido de elagitaninos extraíbles, siendo el roble blanco americano, por el contrario, el de contenido más bajo. Los contenidos de eugenol y vainillina del roble blanco americano se diferencian poco de los del roble europeo. Por último, el roble rouvre europeo y el blanco americano son muy apropiados para el envejecimiento de vino fino, mientras que el pedunculado, con su alto contenido en elagitaninos, lo es más para el envejecimiento de brandies.

Asimismo, se han estudiado los componentes del flavor (ácidos y aldehídos fenólicos) en dos especies de roble blanco, *Quercus alba L.* y *Quercus robur L.*, encontrando en la primera de las especies cantidades significativamente más altas de vainillina, mientras que la segunda las tiene de los ácidos gálico, protocatéquico, cafeico y sinápico, además de ser más alto su contenido total de compuestos fenólicos. Se ha observado que el lugar no es tan importante como las especies pero, no obstante, aquél ejerce una influencia significativa en estos componentes. A este respecto, se ha señalado una significativa interacción lugar/especie para los ácidos siríngico, *p*-cumárico y sinápico (Miller *et al.*, 1992).



Monómeros	Monómeros asociados a la xilosa o lixosa	Dímeros	Dímeros asociados a la xilosa o lixosa
Castalagina (C)	Grandinina (V-Lixosa)	Roburina D (V-C)	Roburina B (V-V- Lixosa)
Vescalagina (V)	Roburina E (V-Xilosa)	Roburina A (V-V)	Roburina C (V-V- Xilosa)

Figura 21. Estructura de los ocho elagitaninos identificados en la madera de roble.

De los componentes orgánicos extraíbles de la madera han de considerarse, además de los compuestos fenólicos anteriormente estudiados, otros componentes igualmente importantes como pueden ser: compuestos alifáticos (hidrocarburos y ácidos grasos), compuestos terpénicos, lactonas, carotenoides y derivados furánicos. Estos últimos son producidos en la madera de roble por termodegradación de las hemicelulosas, siendo el furfural y el 5-hidroximetilfurfural (Figura 22) compuestos mayoritarios de la madera quemada, mientras que están al estado de trazas en la madera no calentada de un roble blanco americano (Sefton *et al.*, 1990).

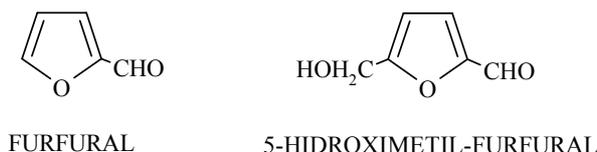


Figura 22. Principales compuestos furánicos de la madera de roble.

En cuanto a la evolución de los compuestos fenólicos durante la crianza de los vinos en madera y la influencia del hombre y de las técnicas, se ha observado que durante el secado al aire libre de la madera de roble se produce una disminución del contenido en elagitaninos, probablemente debido a reacciones de oxidación o hidrólisis en presencia del oxígeno y agua; los productos de hidrólisis de la castalagina y vescalagina conducen a la castalina y vescalina, las cuales pueden sufrir nuevas degradaciones. La lignina es parcialmente degradada dando lugar a la aparición de vainillina y siringaldehído al estado de trazas, y también de compuestos de tipo hidroxicinámico (Chatonnet, 1995; Vivas and Glories, 1996).

Se ha seguido, además, la evolución de compuestos fenólicos en la madera de corazón de robles españoles (*Q. robur L.*, *Q. petraea L.*, *Q. pyrenaica W.* y *Q. faginea L.*) sometidos a “cura natural” durante un año, encontrándose que las concentraciones de polifenoles de bajo peso molecular (ácidos y aldehídos benzoicos y cinámicos, y cumarinas) aumentan y las de elagitaninos (castalagina, vescalagina y roburinas A-E) disminuyen, siendo similar esta modificación de la composición química en las cuatro especies de *Quercus* estudiadas, lo que permite la distinción entre la madera “no curada” y la madera después del primer año de cura (Fernández De Simón *et al.*, 1999). Asimismo, Cadahía *et al.* (2001) estudian los compuestos fenólicos de bajo peso molecular en madera de corazón de robles españoles sometidos a “cura natural” durante tres años, en relación a los de roble francés de *Q. robur L.* (Limousin) y *Q. petraea L.* (Allier), y roble americano de *Q. alba* (Missouri), observando que las concentraciones de ácidos y aldehídos benzoicos y cinámicos de las maderas españolas aumentan del mismo modo que las de las maderas francesas y americanas.

Más allá de su acción de cimbrado, el caldeo de la madera de roble provoca la termodegradación de algunos compuestos polifenólicos. En el transcurso del termoformado de las barricas, los tratamientos térmicos inducen fuertes modificaciones en la composición de los taninos hidrolizables. El cimbrado al fuego directo da lugar a la degradación de la castalagina y vescalagina (Moutounet *et al.*, 1995), y después del caldeo fuerte la capa superficial de las duelas ya casi no contiene elagitaninos. Igualmente, durante los calentamientos se produce un aumento del ácido elágico y, más tarde, una degradación de éste a alta temperatura.

Sin embargo, la formación de sustancias fenólicas a partir de la degradación térmica de la lignina, constituye el aspecto más significativo del tratamiento térmico de las barricas. Estos productos de termodegradación son los fenoles volátiles (guayacol, metil-4-guayacol, eugenol, siringol), aldehídos fenólicos (vainillina, siringaldehído, coniferaldehído y sinapaldehído) y fenilcetonas (vanillonas y siringonas) (Chatonnet *et al.*, 1989a). A 120° C. se forman los aldehídos fenólicos (Moutounet *et al.*, 1995), teniendo lugar el siguiente mecanismo: formación de aldehídos cinámicos  $\Rightarrow$  aldehídos benzoicos  $\Rightarrow$  ácidos benzoicos (Nishimura *et al.*, 1983; Sarni *et al.*, 1990). A temperaturas más elevadas, 180-230° C., se forman los fenoles volátiles. Las fenilcetonas se producen durante el caldeo medio y presentan un máximo en el caldeo fuerte (Chatonnet *et al.* 1989a).

Durante el tostado de maderas de roble españolas, francesas y americanas se produce un gran aumento de la concentración de aldehídos y ácidos fenólicos, especialmente aldehídos cinámicos (sinapílico y coniferílico), seguidos de los aldehídos benzoicos (siringaldehído y vainillina) y ácidos benzoicos (siringico y vaníllico). Estos compuestos evolucionan del mismo modo en las especies de roble español, francés y americano, pero se encuentran diferencias cuantitativas, especialmente importantes en la especie americana con respecto a las otras (Cadahía *et al.*, 2001). Por otra parte, el grado de agotamiento térmico de los principales constituyentes de la madera de roble americano (*Quercus alba*), durante el tostado, llega a ser mayor cuando el tiempo de cura aumenta, incluso cuando la madera es calentada a más baja temperatura, existiendo, además, un gradiente de concentración de compuestos extraíbles a través del espesor de la duela, lo que influye en el desarrollo del flavor durante la maduración del vino. Los contenidos de vainillina y productos de degradación de la lignina relacionados son altos en la superficie tostada, disminuyendo con relativa rapidez hacia el interior de la duela. Sin embargo, la concentración de taninos es más baja en la superficie tostada y el ácido elágico se forma a expensas de los elagitaninos (Hale *et al.*, 1999).

El proceso de tostado de la madera de roble puede estar influido por ciertos factores, tales como la fuente de calor, que también afecta al suministro de aire, y el uso de agua, los cuales tienen grandes efectos sobre la composición de la madera. Así, el uso de agua disminuye la temperatura de tostado y no tiene un gran efecto

to sobre el contenido de compuestos fenólicos extraíbles, pero afecta de manera inconsistente al color de la madera, aumentándolo. Sin embargo, un suministro de aire limitado da por resultado un color más ligero del roble, a pesar de las temperaturas de tostado más altas, y una pérdida casi total de los elagitaninos originales (Matricardi and Waterhouse, 1999).

Las concentraciones de elagitaninos extraídos de la madera de roble en soluciones al 12% de etanol, bajo las condiciones de barricas modelo, muestran una variación muy grande entre árboles del mismo bosque y, en particular, entre las especies *Quercus robur* L. y *Quercus petraea* Liebl., con la más alta concentración media de elagitaninos. Esto contrasta con la baja variación debida a la anatomía de la madera que, en el mejor de los casos, sólo presenta pequeñas correlaciones con la cantidad de extraíbles liberados a la solución (Feuillat *et al.*, 1997).

Por otra parte, se han analizado treinta y nueve sustancias en extractos hidroalcohólicos de roble francés de diferentes orígenes y roble americano, discutiéndose la posibilidad de usar la concentración de algunos de estos compuestos en la madera en orden a distinguir tipos de muestra de madera, y se ha concluido que el siringaldehído, vainillina, eugenol y sus relaciones cuantitativas podrían ser usadas para distinguir entre muestras de robles franceses y americanos e incluso entre muestras de roble de las diferentes regiones de Francia (Pérez Coello *et al.*, 1999).

Asimismo, Towey and Waterhouse (1996) realizan un seguimiento de la extracción de compuestos volátiles de barriles de roble franceses y americanos durante tres vendimias sucesivas y encuentra que los barriles de roble franceses nuevos tienen los fenoles totales significativamente más altos que los de roble americano. Sin embargo, en el segundo año dicho contenido es más bajo que en el primero y no se encuentra ninguna diferencia entre el roble francés y americano. Disminuciones significativas se observan en el guayacol en vinos procedentes del segundo uso de los barriles. El eugenol y 4-metil-guayacol, que se encuentran en pequeñas cantidades en los vinos del primer año, no se detectan en los del segundo año. Estos resultados confirman los encontrados por Rous and Alderson (1983).

Por otro lado, también han sido objeto de estudio el mecanismo y cinética de extracción fenólica durante el envejecimiento, tanto para soluciones modelo como para vinos blancos, en barriles de roble para, así, desarrollar un modelo matemático que represente esta migración. En el caso de las soluciones modelo envejecidas en barriles nuevos y una vez usados, el modelo predice adecuadamente la forma de las curvas de extracción fenólica, además de la extracción fenólica real. Sin embargo, en el caso de los vinos blancos envejecidos en barriles nuevos, el modelo predice satisfactoriamente la forma de la curva de extracción, pero sobreestima la cantidad real de compuestos fenólicos extraídos después de varias semanas de contacto. Esto puede ser debido a diferencias en la penetración de líquido y velocidad de solubili-

zación de compuestos fenólicos entre la solución modelo y el vino blanco (Kadim and Mannheim, 1999).

Spillman *et al.* (1997, 1998) estudian una serie de soluciones modelo, vinos blancos y tintos envejecidos en barril de roble y encuentran que la concentración de vainillina en los vinos blancos, después de la fermentación en barril y maduración sobre lías de levadura, sólo representa aproximadamente la tercera parte de su contenido en soluciones modelo almacenadas durante el mismo período. Sin embargo, una vez eliminadas dichas lías, los vinos blancos alcanzaron la misma proporción de vainillina que las soluciones modelo, lo que indica que la reducción de vainillina sólo tiene lugar en presencia de levaduras. Además, la concentración de vainillina en vinos tintos, después de 93 semanas en barril, es inferior a la mitad de su contenido en soluciones modelo, agotándose posteriormente durante el almacenamiento de estos vinos en botella durante 2 años a temperatura de bodega. Para las soluciones modelo y vinos tintos, la concentración media de vainillina en barriles de roble francés, curados y fabricados en Australia fue significativamente más alta que la de los vinos almacenados en barriles de la misma madera, pero curados y fabricados en Francia, no mostrándose este efecto en vinos blancos, debido a la transformación biológica de la vainillina asociada con la actividad de la levadura durante las semanas iniciales de maduración. Asimismo, el origen del roble no tuvo ninguna influencia significativa sobre la concentración final de vainillina en los vinos. Por otra parte, estos mismos autores también identifican el producto de reducción de la vainillina, el alcohol vanílico, y el éter etílico de éste. El alcohol vanílico sólo se encuentra a baja concentración al final de los períodos de maduración tanto de soluciones modelo como de vinos blancos y tintos. Estudios hidrolíticos en una solución modelo muestran que el vanillil etil éter se forma rápidamente a partir del alcohol vanílico, estabilizándose después ambos compuestos. Por otro lado, el vanillil etil éter es un componente traza de extractos de soluciones modelo de virutas de madera de roble, presumiblemente procedente de la etanolisis de la lignina.

También en este punto Chatonnet *et al.*, (1989b) muestran que los vinos blancos fermentados y conservados en tinaja son pobres en fenoles volátiles, estando sólo presentes el vinil-4-guayacol y el vinil-4-fenol, los cuales pueden influir en el aroma del vino. Sin embargo, la fermentación en bodega entraña un aumento (20-30%) de los contenidos en vinil-4-guayacol a causa de la descarboxilación por la levadura del ácido ferúlico aportado por la madera, siendo este aumento inexistente cuando el vino se ha puesto en bodega después de la fermentación, pues entonces ya no hay posibilidad de transformación del precursor. Este último vino está mucho más marcado por la vainillina que el fermentado y conservado en bodega, pues la fermentación permite una reducción bioquímica del contenido de vainillina (Figura 23) y de su impacto aromático en los vinos; esta misma reducción se produce en soluciones modelo a las que se ha añadido vainillina, experimentando el siringaldehído y los aldehídos cinámicos la misma evolución (Chatonnet *et al.*, 1992b).

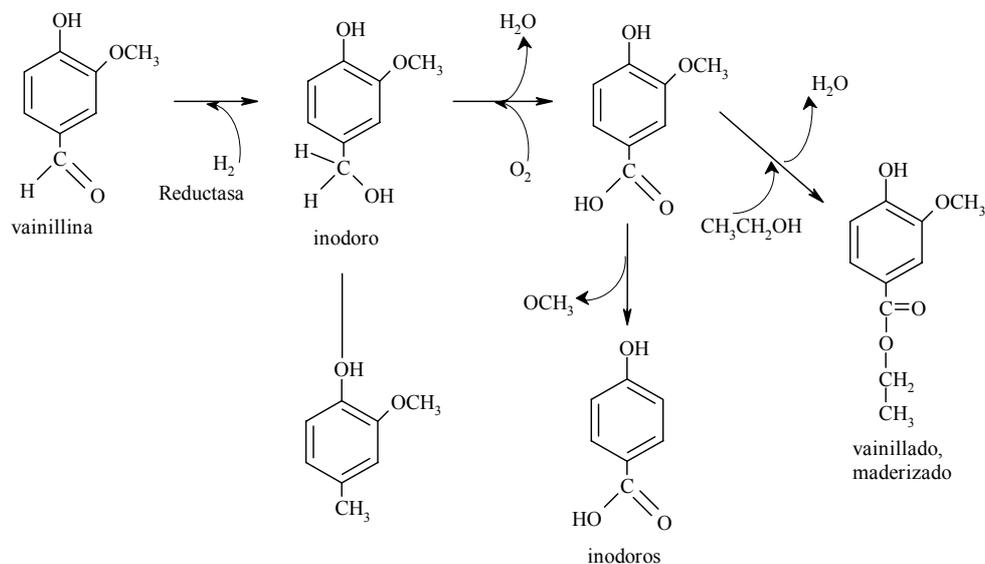


Figura 23. Transformaciones bioquímicas de la vainillina (4-hidroxi-3-metoxibenzaldehído) de la madera de roble en el transcurso de la fermentación alcohólica en barrica.

Por su parte, la concentración de fenoles en los vinos envejecidos en barrica está próxima o por debajo de sus umbrales sensoriales, de modo que los polifenoles de la madera de roble están en el vino a concentraciones demasiado pequeñas como para ejercer un impacto en el plano gustativo, siendo los umbrales sensoriales de los extractos de roble que contienen compuestos volátiles del aroma mucho más bajos que los de los extractos privados de estos compuestos aromáticos, lo cual sugiere que son los compuestos volátiles derivados del roble los que proporcionan la indicación sensorial primaria de que un vino ha estado en contacto con el roble (Somers and Pocock, 1990; Pocock *et al.*, 1994).

Monedero *et al.* (1998,1999) estudian y cuantifican la concentración final de 11 aldehídos y ácidos fenólicos en una serie de macerados de vino de sobretablas preparados con virutas de roble americano sometidos a un sistema de envejecimiento acelerado que, basado en procesos térmicos tradicionalmente usados en tonelería, trata de reducir considerablemente el periodo de envejecimiento oxidativo de vinos olorosos por el sistema de criaderas y soleras de la zona de Jerez. Comparando estas concentraciones con las obtenidas en vinos olorosos comerciales, estos autores muestran que los macerados envejecidos durante 3 meses y preparados con virutas carbonizadas a  $180^{\circ}C$  durante 3 horas, son los que presentan concentraciones de compuestos fenólicos más similares a las encontradas en las muestras comerciales. Sin embargo, algunos compuestos, tales como el ácido gálico

co, siringaldehído y sinapaldehído, se encuentran en estos macerados en concentraciones ligeramente más altas. Así, para reducir la concentración de ácido gálico a niveles cercanos a los de las muestras comerciales, se toma como base el método francés de “franqueado” o tratamiento de la madera anterior a la construcción de la bodega, por el cual se elimina la materia tánica astringente, además de cualquier sustancia que pueda causar aromas desagradables en el vino. Para reducir las concentraciones de siringaldehído y sinapaldehído se lleva a cabo un tratamiento de agotamiento de las virutas después de su carbonizado, basándose dicho tratamiento en estudios de Puech (1987b, 1988).

Finalmente, y en lo que respecta a los aguardientes envejecidos en madera de roble, hay que señalar que los polifenoles originados de esta madera son sus principales solutos, representando en torno a un tercio del extracto seco. Mayoritariamente son compuestos de alto peso molecular, es decir, elagitaninos y oligómeros de lignina, variando sus concentraciones con la duración del envejecimiento. Los elagitaninos son extraíbles que no requieren la apertura de los enlaces covalentes para ser solubilizados, alcanzándose su máxima concentración en los primeros años del envejecimiento. Su solubilización compite con su degradación química, más probablemente a través de la hidrólisis con formación de ácido elágico. Las bajas cantidades de ácido gálico que contiene la madera de corazón de roble no justifican la concentración de ácido gálico en cognacs, generándose probablemente de la hidrólisis de los galoil ésteres. Sin embargo, la solubilización de las ligninas requiere la apertura más probablemente de los enlaces covalentes alquil aril éter. Es una solubilización relativamente lenta y prosigue durante todo el envejecimiento, siendo preferentemente solubilizadas las ligninas ricas en guayacil. Así, un aguardiente joven contiene, de este modo, una alta proporción de elagitaninos, mientras que en uno viejo predominan marcadamente los oligómeros de lignina. La solubilización de las ligninas y la degradación de los elagitaninos son, de este modo, ampliamente explicadas por reacciones hidrolíticas. Las reacciones oxidativas también contribuyen a la transformación de los polifenoles durante el envejecimiento de los aguardientes, puesto que en estos últimos la vainillina y siringaldehído, además de los ácidos vanílico y siríngico, se originan más probablemente de la degradación oxidativa de las unidades guayacil y siringilpropano, respectivamente. No obstante, la contribución de estas reacciones de oxidación a la solubilización de ligninas o degradación de elagitaninos permanece inexplorada (Viriot *et al.*, 1993).

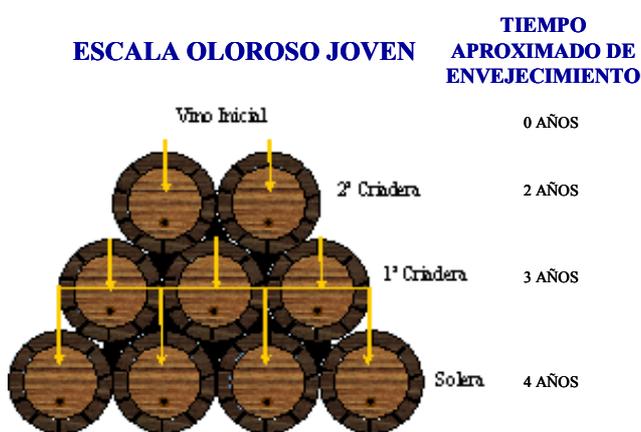
### **III. MATERIAL Y MÉTODOS EXPERIMENTALES**

## MATERIAL EXPERIMENTAL

### 1. ESTUDIO DE DOS ESCALAS DE VINO TIPO “OLOROSO” EN BODEGA.

Para la producción de vinos tipo “oloroso” en bodegas de la D. O. Montilla-Moriles se parte de vino que, procedente de la fermentación de mosto de uva de la variedad Pedro Ximénez, no es destinado a crianza biológica y por ello se encabeza a 18°GL con alcohol vínico. Tras un periodo de permanencia en depósitos inferior a 1 año es clarificado previamente a su utilización, siendo a partir de ahora identificado como “Vino Inicial”.

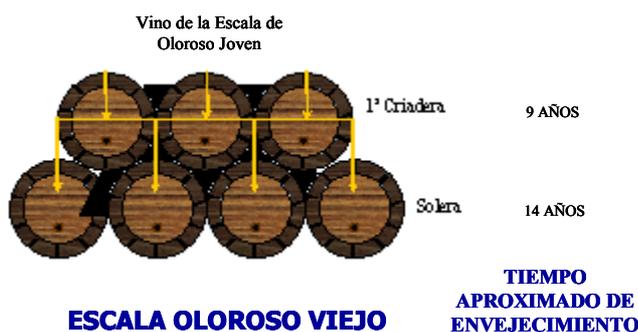
Para el estudio de este primer capítulo se han utilizado dos escalas de vino



tipo “oloroso” procedentes de una bodega de la D.O. Montilla-Moriles que ha sido sometido al sistema de crianza oxidativa. La primera de las escalas es denominada “Escala de Oloroso Joven” y se compone de una solera y dos criaderas (1ª y 2ª), realizándose el proceso de rocío 2-3 veces al año, de forma que la 2ª criadera se “rocía” con el denominado

vino inicial. El vino de la solera adquiere en su plenitud un tiempo de envejecimiento en torno a cuatro años, tres la primera criadera y dos años la segunda criadera.

La segunda de las escalas, denominada “Escala de Oloroso Viejo” esta formada por una solera y una criadera, siendo ésta última rociada con el vino de la Solera de la Escala Joven, efectuándose esta operación 1-2 veces al año. El tiempo de envejecimiento del vino de la solera es de aproximadamente catorce años y nueve el de la primera criadera.



Las tomas de muestras se realizaron por triplicado de la solera y la/s criadera/s para cada una de las escalas, antes de rociar, así como de la muestra del vino inicial. Al triplicado de las muestras se les realizaron determinaciones enológicas generales, medidas de absorbancia a longitudes de onda fijas (280, 420 y 520 nm), espectros en el rango UV-Visible y análisis por HPLC para la determinación de los compuestos fenólicos y su evolución a lo largo de los diferentes niveles de envejecimiento.

## 2. ESTUDIO DE VINOS OLOROSOS COMERCIALES.

Para la realización de este estudio se toman cuatro Marcas Comerciales de vinos tipo “Oloroso” representativos de la zona y existentes en el mercado, procedentes de distintas bodegas de la D.O. Montilla-Moriles. Los



vinos denominados como O2, O3 y O4 tienen precios similares, mientras que el precio del vino denominado O1 fue aproximadamente la mitad de los anteriores. Al igual que en

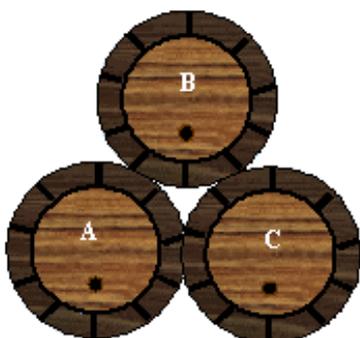
el apartado anterior, estos vinos han sido sometidos al sistema de crianza oxidativa característico de la zona para este tipo de vino. A las muestras por triplicado de cada uno de estos vinos se les realizaron las mismas determinaciones analíticas del apartado anterior, es decir, análisis de parámetros enológicos generales, medidas espectrofotométricas a longitudes de onda fija, registro espectrofotométrico completo en la zona UV-Visible y análisis por HPLC.

## 3. EXPERIENCIAS DE OXIDACIÓN QUÍMICA CONTROLADAS EN LABORATORIO.

Partiendo del denominado “Vino Inicial”, se proponen dos experiencias de oxidación química controlada en laboratorio. La primera de ellas se realiza en botas de madera de roble y la segunda en depósitos metálicos.

### 3.1. OXIDACIÓN EN MADERA

Para llevar a cabo esta parte experimental, se realizan tres experiencias de crianza oxidativa en botas nuevas de madera de roble americano de unos 120 litros de capacidad. Previamente al desarrollo de los ensayos, las botas fueron sometidas a un tratamiento con alcohol vínico (70%) para evitar que cedan al vino sustancias indeseables. Una vez escurridas, se quemó en su interior una pajueta de azufre de forma que el dióxido de azufre generado garantiza la asepsia de la madera.



Las botas se colocan dos de ellas en el suelo dispuestas horizontalmente, una junto a otra, sobre soportes de madera, y la tercera se coloca sobre las dos anteriores, introduciendo en cada una de ellas el vino inicial mencionado en el apartado anterior y dejando una cámara vacía de unos siete litros. A este vino se le añade dióxido de azufre en forma de metabisulfito potásico hasta niveles de  $\text{SO}_2$  total de 100 mg/L. Se han realizado controles periódicos del contenido de  $\text{SO}_2$  libre, combinado y total, manteniendo su nivel en torno a este último valor durante las primeras 40 semanas, para posteriormente disminuirlo hasta 50 mg/L. La habitación, de reducidas dimensiones, se mantuvo a 15°C y 30°C a intervalos de 12 horas, con el fin, por una parte de saturar el vino en oxígeno disminuyendo la temperatura y, por otra, acelerar la cinética de las reacciones de oxidación con una moderada elevación de la misma.

Transcurridas las primeras etapas de oxidación química de compuestos fenólicos, y una vez alcanzado niveles de pardeamiento en torno a 0.6 u.a., medido a 420 nm, a las 71 semanas de comenzada la experiencia se mantuvo la temperatura constante a 30°C hasta el final de la misma, favoreciendo así las sucesivas reacciones de polimerización y condensación con el correspondiente incremento de color de los vinos.

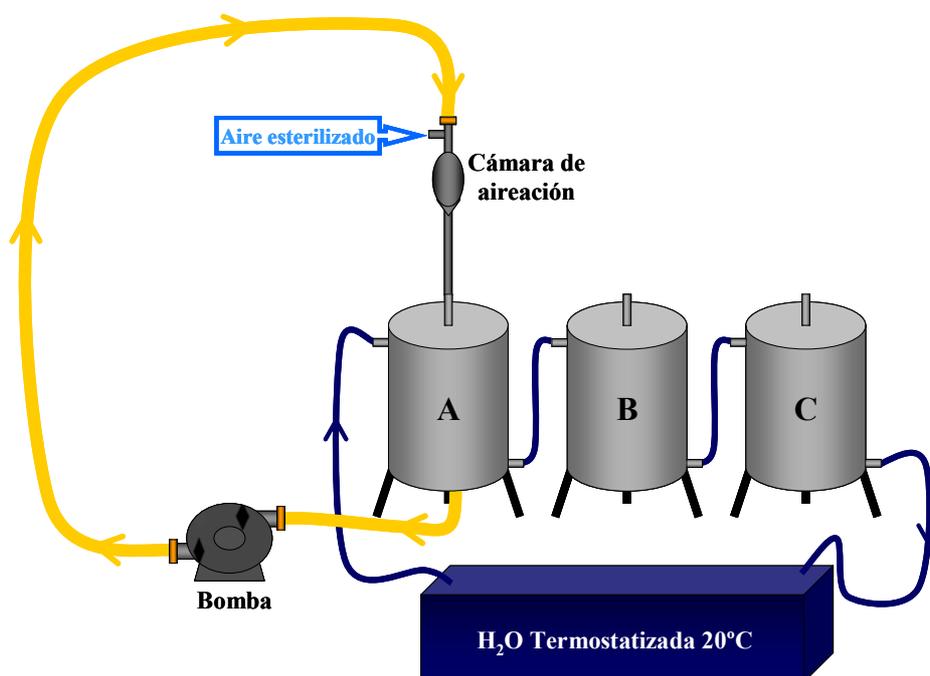
El incremento del pardeamiento fue controlado mediante medidas de absorbancia sobre muestras periódicas de cada bota, denominadas “muestras de seguimiento”. La toma de muestras para el resto de las determinaciones analíticas mencionadas anteriormente se realiza cada vez que la absorbancia del vino se incrementa, como promedio de las tres botas, en aproximadamente 0.08-0.1 u.a.

### 3.2. OXIDACIÓN EN DEPÓSITOS METÁLICOS

Para la realización de la última fase experimental, se dispone de tres depósitos de acero inoxidable de diez litros de capacidad, previamente esterilizados con alcohol vínico del 70%, en cada uno de los cuales se han introducido seis litros del denominado “Vino Inicial” que, previamente a su utilización, se filtró sucesivamente con placas SUPRAMIL, EK y SUPRA EK, para su esterilización. El vino se satura en oxígeno, midiendo su contenido con un oxímetro.

Por las camisas de los depósitos se hace circular agua termostaticada en un baño a 20°C, en el sentido que indica la figura, primero por el depósito A, a continuación por el B y C para pasar de nuevo al baño. Periódicamente se recircula el

vino de cada depósito con una bomba peristáltica, de forma que la salida del mismo se dispone por la parte inferior y se vuelve a introducir por la parte superior, previamente aireado en el interior de un embudo decantador. Dicho embudo lleva en la parte superior una conexión de entrada de vino unido a un dispositivo de entrada de aire, previamente filtrado, que oxigena el vino. Cada recirculación se efectúa durante treinta minutos, midiéndose el estado de saturación del vino en oxígeno al comienzo de la aireación, a los quince minutos y a los treinta, asegurando, de este modo, su total saturación. Una vez alcanzados altos niveles de pardeamiento (0.45-0.55 u.a. medidos como A420 a las 70 semanas del inicio de las experiencias), y por los mismos motivos expuestos en las experiencias con las botas, la temperatura se fija a 30°C hasta el final de las experiencias, realizándose sucesivas operaciones de oxigenación hasta el final.



Para la realización de las operaciones de recirculación, todos los elementos utilizados son previamente esterilizados en autoclave y conectados a los depósitos también en condiciones estériles.

Al igual que en la experiencia en botas, el incremento de absorbancia se controla mediante la toma de muestras de cada depósito después de sus correspondientes aireaciones, las cuales también denominaremos "muestras de seguimiento". La toma de muestras de cada depósito para el resto de las determinaciones analíticas se realiza cada vez que la absorbancia del vino se incrementa, como promedio de los tres depósitos, en aproximadamente 0.08-0.1 u.a.

## MÉTODOS EXPERIMENTALES

### 1. DETERMINACIONES ENOLÓGICAS GENERALES.

#### pH.

Su determinación se realiza mediante un pH-metro digital, de acuerdo con el método tradicional de laboratorio, utilizando para calibrar el instrumento tampones de 7.02 y 4.00 a 25°C.

#### ACIDEZ TITULABLE

Se considera como la suma de los ácidos libres del vino, previa eliminación del anhídrido carbónico por agitación en frío y vacío parcial. Se determina por valoración directa de 20 mL de muestra con una disolución de hidróxido sódico 0.1 N (factorizada con ftalato ácido de potasio) hasta que alcance un pH 7, según el método aprobado por la C.E. en el año 1990.

#### ACIDEZ VOLÁTIL

Se define como el conjunto de ácidos de cadena corta que se encuentran en el vino. Se excluyen los ácidos láctico y succínico, así como el ácido carbónico y el anhídrido sulfuroso libre y combinado.

Se determina mediante destilación por arrastre con vapor de agua, rectificación de los vapores y posterior valoración del destilado, según el método de la Comunidad Europea (1990). Para ello, una muestra de 20 mL de vino exenta de gas carbónico, se acidifica mediante la adición de 5 mL de disolución de ácido tartárico de 100 g/L antes de proceder al arrastre, recogiendo unos 200 mL de destilado que se valoran con una disolución de NaOH 0.1N usando fenolftaleína como indicador. A la acidez del destilado hay que restar el SO<sub>2</sub> arrastrado, ya sea en su forma libre o combinada con el acetaldehído, valorando para ello con disolución de yodo 0.01 N, previamente factorizada con disolución de tiosulfato sódico 0.01 N.

#### DIÓXIDO DE AZUFRE

Se determina mediante el método aprobado por la C.E. (1990), basado en una iodometría triple que permite obtener las formas libre y combinada, considerándose el total como la suma de ambas.

Se parte de 25 mL de muestra, a la que se añaden 3 mL de ácido sulfúrico 0.1 N, 5 mL de engrudo de almidón como indicador y 5 mL de una disolución de AEDT de 6 g/L, valorándose a continuación la mezcla con iodo 0.01 N. Una vez

concluida esta primera valoración, se añaden 8 mL de hidróxido sódico 4 N para aumentar el pH y se deja reposar durante 5 minutos. Posteriormente, se realiza una segunda valoración con iodo 0.01 N, adicionando justamente antes de ésta 10 mL de ácido sulfúrico 0.1 N.

Al finalizar esta segunda valoración se añaden 20 mL de NaOH 4 N y se agita una sola vez dejando reposar 5 minutos. A continuación, se diluye con 200 mL de agua bien fría y se añaden 30 mL de ácido sulfúrico 0.1 N, efectuando una tercera valoración con yodo 0.01 N.

### GRADO ALCOHÓLICO

Para su determinación se ha seguido el método de oxidación con dicromato, propuesto por Crowell and Ough (1979). Se destila el etanol contenido en la muestra mediante arrastre con vapor de agua y a una alícuota del destilado se le adiciona un volumen determinado de dicromato potásico, midiéndose la absorbancia de la mezcla a 600 nm. La cuantificación del etanol se realiza llevando el dato anterior a una recta de calibrado previamente elaborada con disoluciones patrón.

### AZÚCARES REDUCTORES

Son todos aquellos azúcares que por tener funciones aldehído o cetona (glucosa o fructosa) reducen las sales de  $\text{Cu}^{2+}$ . Su determinación se lleva a cabo utilizando el método de Luff-Schoorl que se basa en la reducción del  $\text{Cu}^{2+}$  contenido en una disolución alcalina, valorándose con una disolución de tiosulfato sódico 0.1N el  $\text{I}_2$  que se forma en la reducción del exceso del ión cúprico por parte del  $\text{I}^-$  añadido. Con objeto de eliminar previamente las materias reductoras distintas de los azúcares reductores, esta técnica analítica parte de una muestra defecada mediante los reactivos Carretz I y Carretz II, que no contenga más de 63 mg de azúcares reductores, y a la que se añaden 25 mL del reactivo de LUF-Schoorl. Después de 10 minutos de ebullición a reflujo, se enfría a  $T^a$  ambiente y se adicionan 10 mL de KI al 30% y 25 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  6N para reducir el exceso de  $\text{Cu}^{2+}$ , valorándose el  $\text{I}_2$  formado con  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0.1N, usando almidón como indicador. La cuantificación se realiza mediante el uso de tablas que indican los mg de azúcares que corresponden a la diferencia de los volúmenes de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  consumido por un blanco y la muestra.

## **2. DETERMINACIONES DE COLOR.**

### ESPECTROS DE ABSORCIÓN UV-V.

En todas las muestras de vino se realiza un barrido de longitudes de onda en la zona UV-Visible comprendida entre 250 y 690 nm. Los registros espectrofotométricos se comparan considerando las zonas ultravioleta y visible por separado,

estando comprendidas en los rangos 250-370 nm y 370-690 nm, respectivamente. Las medidas en el rango del ultravioleta se efectúan sobre el vino diluido 1:50, en cubetas de cuarzo de 10 mm de paso de luz, mientras que las medidas de la zona del visible se efectúan sobre el vino diluido 1:2, en cubetas de vidrio de 10 mm de paso de luz.

#### ABSORBANCIAS UV-V.

Se emplea el valor de la absorbancia a 280 nm como índice del contenido total de polifenoles. Si bien existen otros métodos de cuantificación, la gran diversidad química de estos compuestos da lugar a que no puedan ser cuantificados con total exactitud por cualquiera de ellos. El método analítico de Folin-Denis o Folin Ciocalteu, que emplea un estándar de referencia arbitrario, generalmente el gálico, lleva siempre consigo un error intrínseco debido a la reactividad de los compuestos no fenólicos con la mezcla de ácidos fosfotúngstico y fosfomolibdico.

Por otro lado, la determinación del pardeamiento en vinos blancos se realiza por medida de la absorbancia a 420 nm. En este sentido, Simpson (1982) lleva a cabo un estudio de los diversos factores que influyen en el pardeamiento oxidativo del vino blanco y realiza un test de pardeamiento por medida del incremento de A420. Más recientemente, otros autores efectúan diversas medidas espectrofotométricas, tales como la absorbancia a 420 y 520 nm, reflejando la primera la participación de los colorantes amarillo-pardos, y la segunda, la de los colorantes rojos (Jouve *et al.*, 1989).

Las medidas de la absorbancia a 280 nm se efectúan sobre el vino diluido 1:50, en cubetas de cuarzo de 10 mm de paso de luz. Las absorbancias a 420 y 520 nm, se efectúan sobre el vino diluido 1:2, en cubetas de vidrio de 10 mm de paso de luz. Tanto unas como otras, así como el barrido en la zona UV-V, se realizan con un espectrofotómetro Beckman DU-640. Los resultados obtenidos se corrigen con la dilución efectuada.

### **3. ANÁLISIS DE COMPUESTOS FENÓLICOS.**

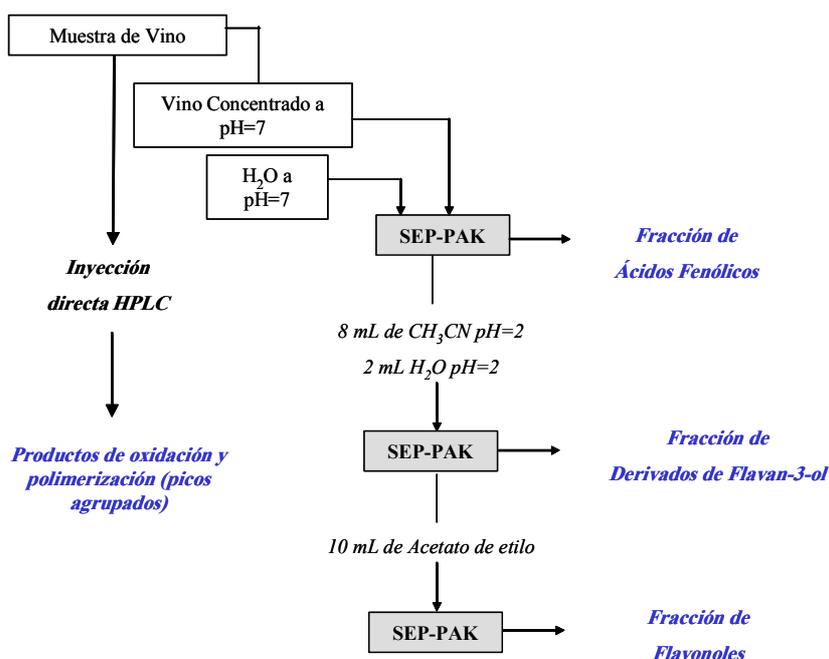
#### EXTRACCIÓN Y FRACCIONAMIENTO DE COMPUESTOS FENÓLICOS.

El desarrollo de la cromatografía líquida de alta eficacia para la identificación y cuantificación de los compuestos fenólicos ha exigido la utilización de procedimientos de separación para las distintas familias con el objeto de eliminar posibles interferencias.

En esta experiencia se ha aplicado un método que permite fraccionar una gran parte de los compuestos fenólicos presentes en vinos blancos (Jaworski and

Lee, 1987). Inevitablemente, algunos de estos compuestos se distribuyen en dos fracciones, cuantificándose como suma de las concentraciones obtenidas en ellas. En este método se utilizan cartuchos SEP-PAK C18 (Water Associates) con un relleno de 820 mg por cartucho.

El método se desarrolla según el esquema que se muestra a continuación:



Se concentran 100 mL de vino a vacío en rotavapor ( $T^a$  en torno a  $40^{\circ}\text{C}$ ) hasta 20 mL aproximadamente. Se llevan a pH neutro por adición de una disolución de NaOH y se hacen pasar rápidamente por un cartucho SEP-PAK previamente acondicionado con metanol, para conseguir el peinado de las cadenas C18, y agua HPLC a pH 7. A continuación, se eluye con agua HPLC a pH 7, recogiendo la fracción de ÁCIDOS. El volumen recogido se lleva a sequedad nuevamente en rotavapor y se recoge en un matraz aforado de 5 mL con ácido acético al 2%, haciéndolo pasar a continuación por un filtro de  $0.45\ \mu\text{m}$  y, por último, se inyecta en HPLC.

Posteriormente, el SEP-PAK se eluye con 2 mL de agua HPLC a pH 2, se recogen en un matraz aforado de 10 mL y se pasan 8 mL de acetonitrilo ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ) al 16% a pH 2, recogiendo junto a lo anterior hasta el enrase. Esta fracción, denominada fracción de DERIVADOS DE FLAVAN-3-OL, contiene los derivados

monómeros (+)-catequina y (-)-epicatequina, dímeros (procianidinas) y otros compuestos fenólicos no flavonoides, como el tirosol y siringaldehído. Al igual que en el caso anterior, se filtra y se inyecta en HPLC.

A continuación, se eluye el SEP-PAK con 10 mL de acetato de etilo, se recoge y se filtran en un filtro separador de fases. La fase orgánica recogida se lleva a sequedad y se redissuelve con 1 mL de metanol, constituyendo la fracción de FLAVONOLES, la cual se pasa través de un filtro de propileno de 0.45  $\mu\text{m}$  y se inyecta en HPLC.

Finalmente, con el objetivo de poder identificar productos de oxidación y polimerización de fenoles que pueden ser retenidos por el SEP-PAK, se efectúa una inyección directa cromatográfica del vino, previamente filtrado por 0.45  $\mu\text{m}$ .

#### IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS POR HPLC.

Las determinaciones cromatográficas se realizaron con un cromatógrafo de líquidos de alta eficacia (Spectra-Physics SP880), con detector UV-V de barrido rápido de onda variable (Spectra-Physics, modelo Focus) y columna Lichrospher 100 (250 mm x 4.6 mm), con relleno C18 y de 5  $\mu\text{m}$  de tamaño de partícula. Las condiciones cromatográficas de elución para las distintas fracciones se indican en la siguiente tabla:

	<i>Ácidos Fenólicos e inyección directa</i>	<i>Flavan-3-ol y otros no Flavonoides</i>	<i>Flavonoles</i>
FASE MÓVIL	A=CH <sub>3</sub> CN B=CH <sub>3</sub> COOH 2%	A=CH <sub>3</sub> CN B=CH <sub>3</sub> COOH 2%	A=CH <sub>3</sub> CN B=CH <sub>3</sub> COOH 2%
FLUJO	2 mL/min	2 mL/min	1.5 mL/min
DETECCIÓN	280 nm	280 nm	365 nm
ELUCIÓN	% CH <sub>3</sub> CN	% CH <sub>3</sub> CN	% CH <sub>3</sub> CN
0 min	0.1	0.1	0.1
5 min	5	5	
15 min	5	15	15
20 min	15	15	15
25 min	15	20	20
30 min	15	30	30
40 min	100	100	40
50 min	100	100	100
60 min			100

En el cromatograma registrado a 280 nm, correspondiente a la fracción de ácidos fenólicos, se identifican, además de los ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos, los ésteres cinámicos, el tirosol y algunos derivados de Flavan-3-ol, tales como (+)-catequina, (-)-epicatequina y las procianidinas B1, B2 y B3.

En el cromatograma correspondiente a la fracción de derivados de Flavan-3-ol se han podido identificar, además de (+)-catequina y (-)-epicatequina, las procianidinas B1, B2, B3 y B4.

En el cromatograma registrado a 365 nm, correspondiente a la fracción de flavonoles, pueden identificarse tres agliconas, Miricetina, Quercetina y Kampferol, además de algunos derivados monoglicosilados.

En el cromatograma correspondiente a la fracción de Ácidos Fenólicos aparecen una serie de picos desconocidos que se han designado como Pico 1, Pico 2, Pico 3, Pico 4, Pico 5, Pico 6, Pico 7 y Pico 8, que por tener espectros de absorción similares a los fenoles sencillos, se han cuantificado como ácido gálico. Asimismo, en el cromatograma de compuestos derivados de Flavan-3-ol aparecen otros picos desconocidos, designados como Pico A y Pico B, que se han cuantificado como (+)-catequina, también por similitud de los espectros de absorción, y que podrían ser, según la bibliografía, procianidinas trimeras y/o tetrámeras.

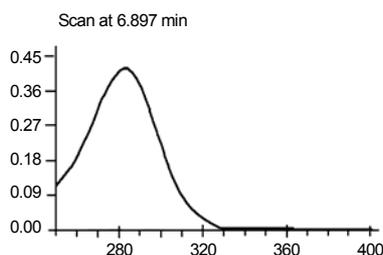


Figura adjunta.

De todos estos picos desconocidos, el más característico por su concentración y variación es el denominado Pico 3, que se ha identificado tanto en la fracción ácida como en la de derivados de Flavan-3-ol, localizado entre los ácidos gálico y protocatéquico en el primero de los cromatogramas y antes de la procianidina B1 en el segundo. El espectro de absorción del mencionado Pico 3 se representa en la

Este compuesto parece estar directamente relacionado con los procesos oxidativos puesto que aparece en aquellos vinos que se someten a envejecimiento. Especialmente significativa es la concentración que alcanza en aquellos vinos sometidos durante un tiempo prolongado a envejecimiento oxidativo, en vinos remontados tras una larga estancia en botellas, así como en vinos sometidos a oxidaciones forzadas (Mayén *et al.*, 1997). Este compuesto, descrito por Spillman *et al.* (1998), puede tratarse de un derivado del furfural. Comparando su tiempo de elución y espectro de absorción con una disolución patrón de 5-hidroxi-metil-2-furaldehído, y teniendo en cuenta los primeros análisis realizados por espectroscopía de masas y H-RMN, parece corresponderse con este último compuesto, produ-

cido por la reacción de Maillard. Sin embargo, en espera de que esta hipótesis sea plenamente confirmada, se ha preferido denominarlo Pico 3, cuantificándose en mg/L de ácido gálico.

Por otro lado, en los cromatogramas obtenidos por inyección directa de las muestras de vinos y registrados a 280 nm, destaca la presencia de un conjunto de picos mal separados a tiempos de elución en torno a 35 minutos. La mayor parte, al menos, de estos picos debe corresponderse con productos de oxidación y polimerización, dada su presencia en los mismos cromatogramas obtenidos a 420 nm y, de forma más acusada, en aquellos vinos que han sido sometidos a envejecimiento oxidativo. La suma de los mismos se ha cuantificado como ácido gálico, denominándolos “picos agrupados”. En la Figura 24 se muestra la zona del cromatograma registrado a 280 nm correspondiente a un vino donde se observa este conjunto de picos.

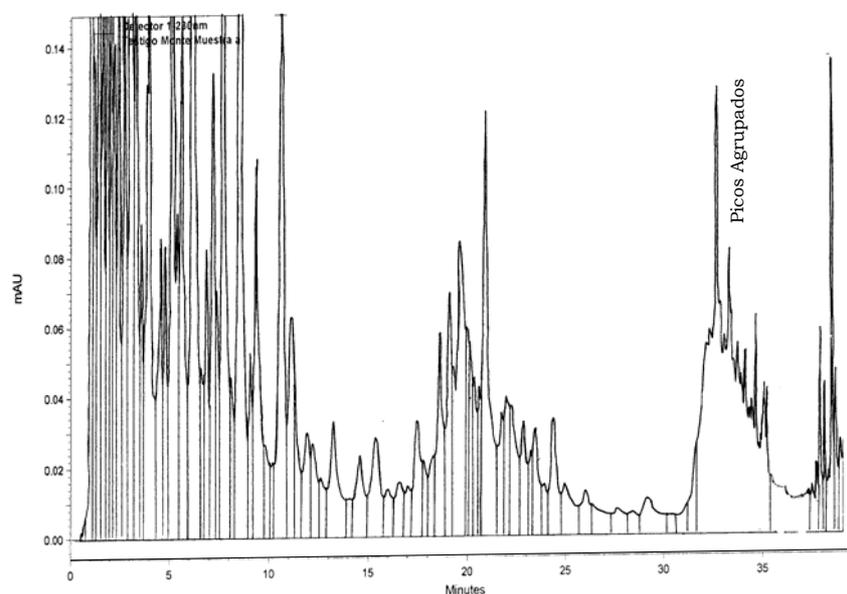


Figura 24. Cromatograma correspondiente a los compuestos productos de oxidación denominados “picos agrupados”.

Como se ha indicado anteriormente, estos compuestos son estructuralmente desconocidos, aunque deben corresponderse, al menos en su mayor parte, con productos de oxidación y/o polimerización, que contribuyen al remontado, ya que a diferencia del resto de compuestos fenólicos presentes, son coloreados. En la Figura 25 se muestra el cromatograma obtenido por inyección directa de la muestra, pero registrado a 420 nm. Como puede observarse, sólo la zona correspondiente a los Picos Agrupados absorbe a esta longitud de onda, lo que parece confirmar que estos compuestos sean productos de pardeamiento.

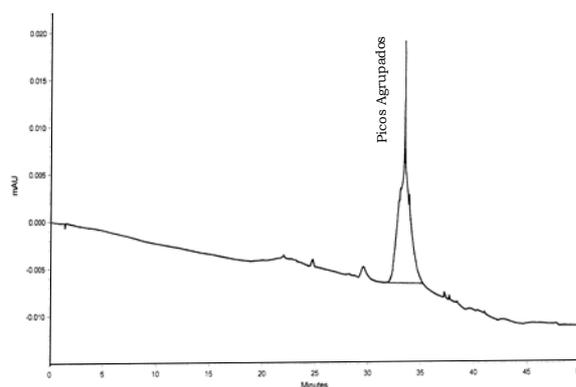


Figura 25. Cromatograma de los “picos agrupados” registrados a 420 nm.

Para cuantificar los polifenoles identificados en cada uno de los cromatogramas, se preparan disoluciones patrón de diversas concentraciones que se someten a igual procedimiento analítico que las muestras y en las mismas condiciones. Con dichas disoluciones se construyen rectas de calibración para cada uno de los compuestos. Para aquellos compuestos de los que no se dispone de sustancia patrón, se cuantifican en función del compuesto mayoritario perteneciente a la misma familia, haciéndolo, de este modo, las Procianidinas B3 y B4 en función de la Procianidina B1. Los ésteres de los ácidos hidroxicinámicos sólo se pueden obtener por síntesis o aislándolos previamente en las muestras que los contienen, basándose la técnica usada por el grupo de investigación para su aislamiento en la desarrollada por Singleton *et al.* (1978), por lo que estos ésteres se cuantifican en función de *c*-cutárico y *t*-caftárico. Las ecuaciones y coeficientes de regresión de las rectas de calibración de todos los compuestos aparecen en la siguiente tabla:

<b><i>Fración de Ácidos Fenólicos</i></b>	<b><i>Ecuación</i></b>	<b><i>R</i></b>
Ácido gálico	$Y=134138.7 x + 19304.77$	0.9983
Ácido protocatéuico	$Y=96388.17 x - 11839.56$	0.9983
Ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico	$Y=164584 x - 1445.2$	
Ácido <i>m</i> -hidroxibenzoico	$Y=23094.12 x - 14839.83$	0.9977
Ácido vanílico	$Y=114937.5 x - 11263.89$	0.9989
Ácido siríngico	$Y=189690 x - 13012.67$	0.9987
Ácido cafeico	$Y=119289.5 x - 20739.3$	0.9995
Ácido <i>p</i> -cumárico	$Y=229854.2 x - 60430.42$	0.9987
Ácido ferúlico	$Y=133207 x - 9846.74$	0.9981
<b><i>Fración de Ésteres Fenólicos</i></b>	<b><i>Ecuación</i></b>	<b><i>R</i></b>
Ácido <i>t</i> -caftárico	$Y=55410.3 x + 65237.58$	0.9978
Ácido <i>c</i> -cutárico	$Y=52816.59 x + 27835.1$	0.9999
Ácido <i>t</i> -cutárico	como <i>c</i> -cutárico	
Ácido feftárico	como <i>t</i> -caftárico	
<b><i>Fración de Alcoholes y Aldehídos Fenólicos</i></b>	<b><i>Ecuación</i></b>	<b><i>R</i></b>
Tirosol	$Y=16709.51 x - 12358.15$	0.9984
Siringaldehído	$Y=56613.3 x + 4796$	0.9955
Vainillina	$Y=197609.6 x + 194516.2$	0.9948
<b><i>Fración de Derivados de Flavan-3-ol</i></b>	<b><i>Ecuación</i></b>	<b><i>R</i></b>
(+)-catequina	$Y=32060.48 x - 13658.33$	0.9984
(-)-epicatequina	$Y=34078.38 x - 25979.2$	0.9989
Procianidina B1	$Y=25846.37 x + 241704.1$	0.9485
Procianidina B2	$Y=30242.33 x + 213026.6$	0.9607
Procianidina B3	como Procianidina B1	
Procianidina B4	como procianidina B1	
<b><i>Fración de Flavonoles</i></b>	<b><i>Ecuación</i></b>	<b><i>R</i></b>
Quercetin-3-Galactósido	$Y=137975.1 x - 191248.5$	0.9998
Quercetin-3-Glucósido	$Y=94891.59 x + 32059.71$	0.9998
Quercetina	$Y=196555.5 - 244921.3$	0.9955

#### 4. TRATAMIENTOS ESTADÍSTICOS.

Se han llevado a cabo diversos análisis estadísticos sobre los resultados del triplicado de las muestras para las diferentes experiencias realizadas en esta memoria. Entre ellos se incluyen análisis de varianza simple y multifactorial, análisis de regresión lineal y múltiple, análisis multivariante de componentes principales, etc., habiéndose realizado todos ellos utilizando Statgraphics Statistical Computer Package (Statistical Graphics Corp.) como software de cálculo.

## **IV. RESULTADOS, DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES**

## 1. ESTUDIO DE DOS ESCALAS DE VINO TIPO “OLOROSO” EN BODEGA.

Para un desarrollo lógico del diseño experimental se ha estructurado el presente trabajo comenzando en este primer capítulo por un análisis de la realidad industrial. Para ello, se lleva a cabo un estudio de los vinos olorosos a diferentes niveles de envejecimiento bajo las condiciones existentes en una bodega de la zona, para así determinar sus características analíticas que servirán de base para el estudio posterior de vinos sometidos a procedimientos de envejecimiento oxidativo acelerado.

### 1.1. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se recogen los valores de las diferentes determinaciones generales realizadas sobre el triplicado de las muestras de vinos procedentes de las dos escalas de vino tipo “oloroso” estudiadas.

La Figura 26 muestra la evolución de la acidez titulable y el pH a lo largo del envejecimiento del vino. Como se puede observar, dentro de la escala de oloroso joven, ambos parámetros tienen un comportamiento parecido desde el vino inicial hasta la segunda criadera. Desde la segunda criadera hasta la solera evolucionan de modo opuesto, disminuyendo el pH y aumentando la acidez titulable. Sin embargo, desde la solera de oloroso joven hasta la de oloroso viejo, la evolución de

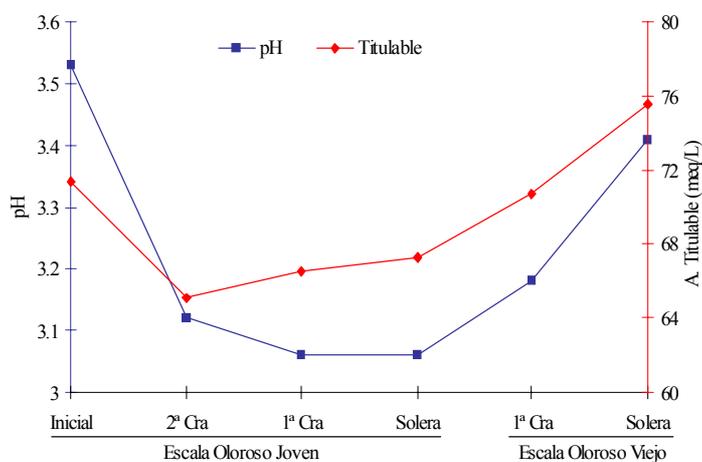


Figura 26. pH y acidez titulable de las muestras de dos escalas de vino tipo “oloroso”.

estos dos parámetros es similar, aumentando tanto el pH como la acidez titulable hasta llegar a valores similares a los del vino inicial.

En la Figura 27 se muestra la variación de la acidez volátil a través, igualmente, de los diferentes niveles de envejecimiento de las dos escalas, observándose un aumento progresivo, debido a la oxidación del etanol con producción de ácido acético. Así, el vino inicial presenta una acidez volátil de 5.81 meq/L y el procedente de la segunda criadera de oloroso joven aumenta en más de un 50%, alcanzándose el valor de 14.4 meq/L a los 14 años de envejecimiento, lo que representa un incremento del 153% con respecto al vino inicial.

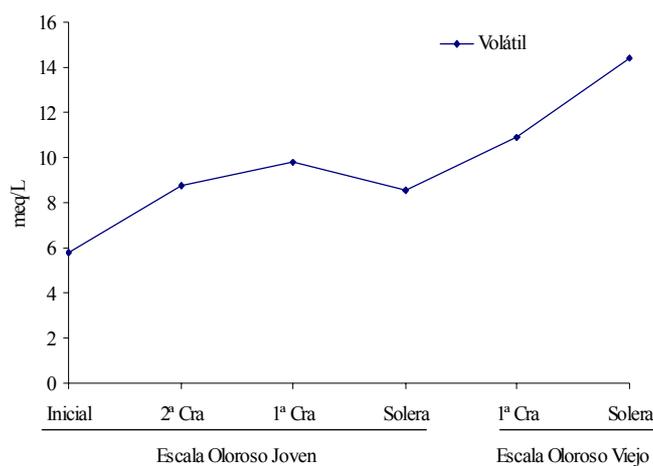


Figura 27. Evolución de la acidez volátil de las muestras de dos escalas de vino tipo “oloroso”.

La evolución de los datos de sulfuroso total, combinado y libre a lo largo del envejecimiento estudiado, se muestra en la Figura 28 (a y b), siendo inferiores en todas las muestras con respecto al vino inicial.

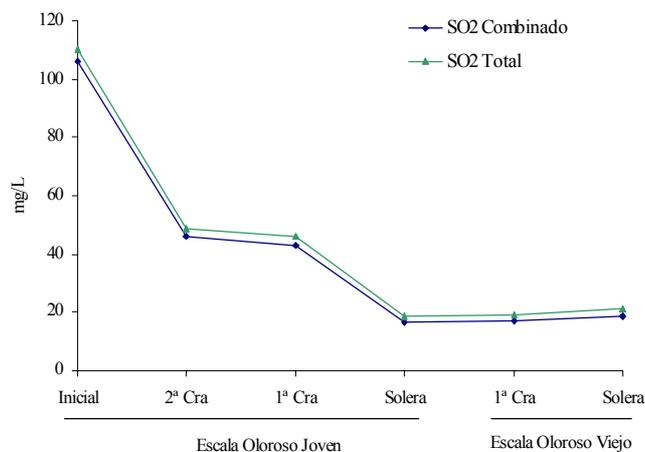


Figura 28a. Evolución de los contenidos de dióxido de azufre combinado y total de las muestras de dos escalas de vino tipo “oloroso”.

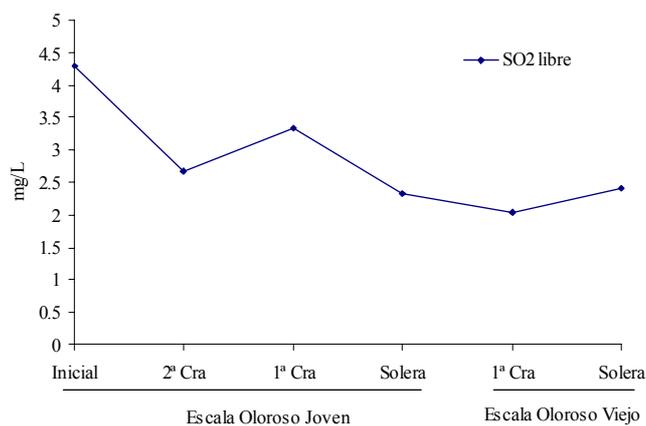


Figura 28b. Evolución de los contenidos de dióxido de azufre libre de las muestras de dos escalas de vino tipo “oloroso”.

La disminución en el nivel de sulfuroso libre desde el vino inicial hasta el primer nivel de envejecimiento se produce como consecuencia de que la forma libre se combina con el acetaldehído producido en la oxidación del etanol, sobre todo en los primeros estadios del envejecimiento. Por otro lado, disminuye significativamente el contenido de sulfuroso total y combinado a lo largo del envejecimiento, como consecuencia probablemente de que la forma combinada va reponiendo a la forma libre, la cual se va perdiendo conforme avanza el envejecimiento, observándose, además, que no hay diferencias significativas entre los vinos de la

solera de la escala de oloroso joven y la primera criadera y solera de la escala de oloroso viejo. Sin embargo, la regresión lineal realizada para el sulfuroso libre no es significativa, debido probablemente a que las pérdidas detectadas en este compuesto son repuestas, tal y como podemos observar en los contenidos de la primera criadera con respecto a los de la segunda en la escala de oloroso joven.

La Figura 29 muestra la evolución del grado alcohólico para los diferentes niveles de envejecimiento, variando entre 18-20 % (v/v). Se observa un continuo aumento de este parámetro puesto que, si bien, experimenta una disminución como consecuencia de la oxidación del etanol, parece que el aumento es mayor que dicha disminución debido probablemente a la concentración que se produce cuando el vino pierde agua a través de los poros de la madera a medida que avanza el envejecimiento.

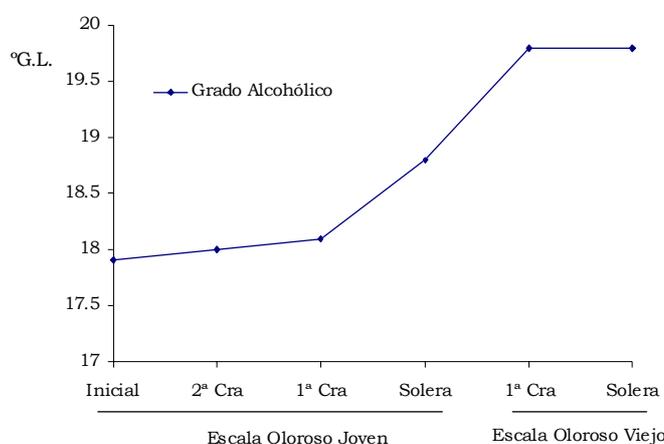


Figura 29. Evolución del grado alcohólico de las muestras de dos escalas de vino tipo "oloroso".

La variación de los contenidos de azúcares reductores a través de los diferentes niveles de envejecimiento se muestra en la Figura 30, observándose que no guardan aparentemente relación con el tiempo de envejecimiento de los vinos. Se puede apreciar un aumento continuo desde el vino inicial hasta la solera de la escala de oloroso joven, disminuyendo después ligeramente. Este aumento parece confirmar la adición habitual al vino, en determinadas fases del envejecimiento, de productos de caramelización y/o mezclado con vinos muy oscuros, además del efecto de evaporación, importante en el envejecimiento a largo plazo.

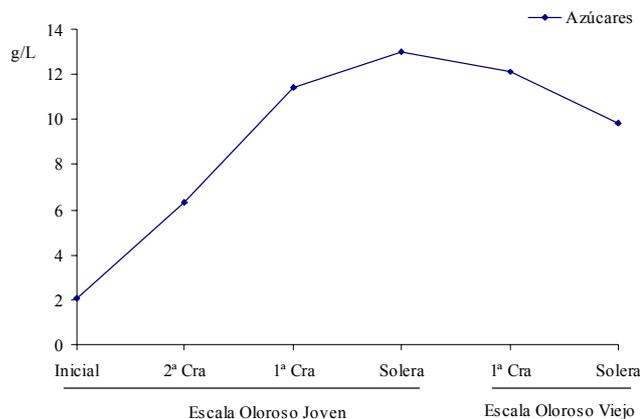


Figura 30. Evolución del contenido en azúcares reductores de las muestras de dos escalas de vino tipo “oloroso”.

La Tabla 2 muestra los valores de absorbancia a 280, 420 y 520 nm del triplicado de las muestras de vinos procedentes de las dos escalas de oloroso a diferentes niveles de envejecimiento, a los cuales se les aplica un análisis de varianza múltiple mediante el método basado en el cálculo del parámetro DSM (diferencia significativa mínima), que permite establecer las muestras significativamente diferentes entre sí. Además, se muestran los grupos homogéneos y el valor de  $p$  del anova de las absorbancias de dichas muestras.

En las Figuras 31, 32 y 33 se representan los datos de la Tabla 2, mostrando los valores medios de las absorbancias a 280, 420 y 520 nm, respectivamente, de los vinos procedentes de las dos escalas estudiadas, así como los incrementos porcentuales de dichas absorbancias con respecto a la del vino inicial.

Los resultados muestran que la absorbancia a 280 nm, como medida del contenido en polifenoles totales, aumenta casi en un 130% desde el vino inicial (9.40 u.a.) hasta el vino solera de la escala de oloroso viejo (21.6 u.a.), que es el de mayor tiempo de permanencia en bota (14 años), apreciándose 6 grupos homogéneos a un nivel de confianza del 99.9%. En la escala de oloroso joven, esta absorbancia aumenta progresivamente con el tiempo de envejecimiento, aunque el mayor incremento se produce entre los vinos de la segunda y primera criadera. El aumento de este parámetro puede explicarse por la extracción de compuestos fenólicos de las botas, fundamentalmente lignina y taninos, a lo largo del envejecimiento, como ponen de manifiesto algunos autores (Puech, 1987 y Viriot *et al.*, 1993), además del efecto de las mermas ya comentadas anteriormente.

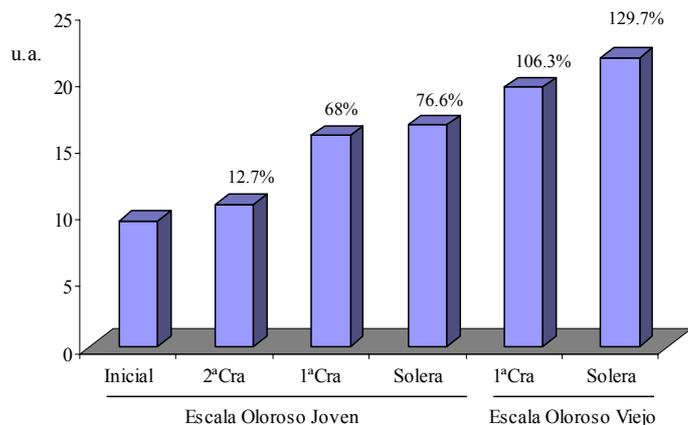


Figura 31. Absorbancia a 280 nm de las muestras de dos escalas de vino tipo “oloroso”.

En lo que respecta a la absorbancia a 420 nm, se puede observar que la muestra de vino de la segunda criadera de la escala de oloroso joven duplica el valor con respecto al vino inicial, llegándose en el vino de la solera, con un tiempo en bota de aproximadamente 4 años, a un nivel de 0.8 u.a., que implica un aumento del 258.3 % sobre el vino inicial. Los resultados obtenidos en las muestras de la escala de oloroso viejo muestran, igualmente, una evolución ascendente de este

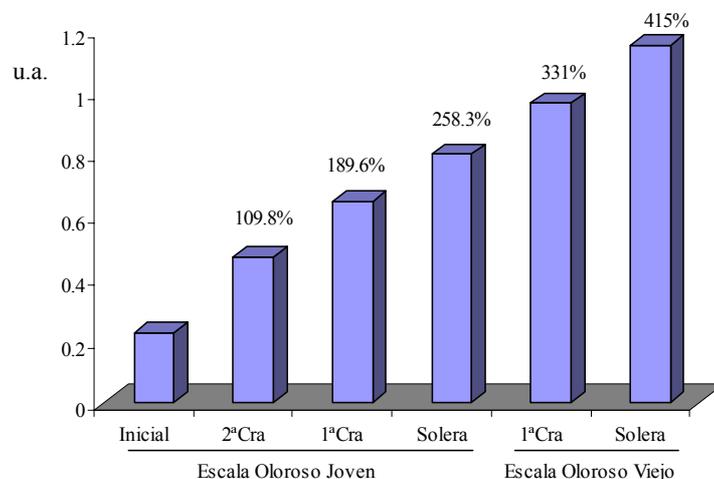


Figura 32. Absorbancia a 420 nm de las muestras de dos escalas de vino tipo “oloroso”.

parámetro, aumentando un 415% desde el vino inicial (0.223 u.a.) hasta el vino solera de ésta última escala (1.15 u.a.), apreciándose 6 grupos homogéneos a un nivel de confianza del 99.9%, al igual que con la absorbancia a 280 nm.

Con los valores obtenidos para la absorbancia a 520 nm podemos realizar similares comentarios, con un incremento de este parámetro del 385% en el vino solera de la escala de oloroso joven (0.291 u.a.) con respecto al vino inicial (0.060 u.a.), llegándose hasta un 511% en la solera de oloroso viejo (0.367 u.a.). A diferencia de los dos casos anteriores, se observan 5 grupos homogéneos a un nivel de confianza del 99.9%, dado que no existen diferencias significativas entre los resultados obtenidos para las muestras de vinos de la solera de la escala de oloroso joven y las muestras correspondientes a la primera criadera de la escala de oloroso viejo.

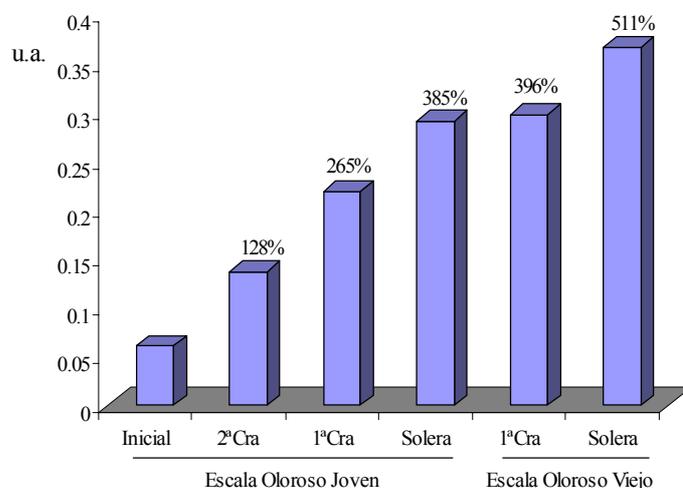


Figura 33. Absorbancia a 520 nm de las muestras de dos escalas de vino tipo “oloroso”.

Por otro lado, el estudio de la evolución de los valores de las absorbancias a 280, 420 y 520 nm a lo largo de los diferentes niveles de envejecimiento nos permite realizar un seguimiento del proceso de envejecimiento. Para ello, se ha realizado un análisis de regresión simple de estas medidas espectrofotométricas frente al tiempo de envejecimiento. En la Tabla adjunta se puede apreciar el modelo matemático obtenido para cada análisis de regresión absorbancia-tiempo que presenta máximo valor de  $R^2$ , apreciándose que todas se ajustan a una ecuación función de la raíz cuadrada de la variable tiempo.

<i>Absorbancia</i>	<i>Modelo Matemático</i>		<i>R<sup>2</sup></i>
	$Absorbancia = A + B \cdot [tiempo]^{1/2}$		
	A	B	
A280	8.63	0.485	89.7
A420	0.2043	0.0353	96.8
A520	0.064	0.01154	90.1

En la Figura 34 se representa el modelo matemático obtenido con máximo coeficiente de determinación ( $R^2$ ) para la A420, por ser ésta la más representativa en los procesos de oxidación química. En dicha figura aparecen, además de la curva de regresión, las líneas correspondientes a los límites de confianza.

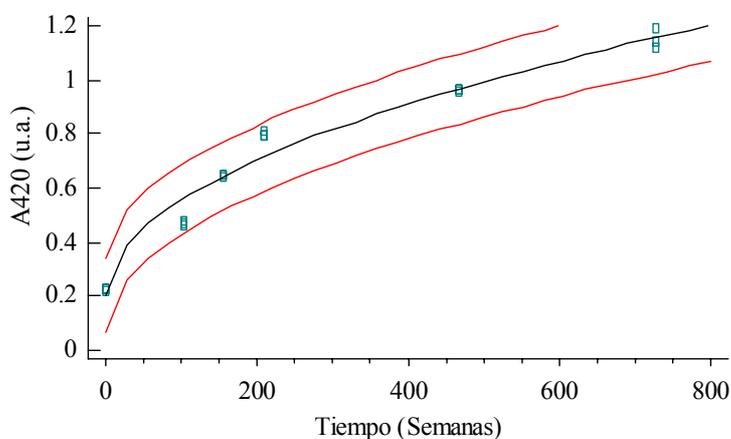


Figura 34. Análisis de regresión entre la absorbancia y tiempo de envejecimiento químico.

Por otra parte, se ha realizado el registro espectrofotométrico completo en el rango UV-Visible (250-600 nm) para todas las muestras de vinos estudiadas. La Figura 35 muestra los resultados obtenidos en la zona del ultravioleta (250-370 nm), observándose en todo el rango que el vino de la solera de la escala de oloroso viejo es el que presenta los mayores valores de absorbancia, disminuyendo éstos conforme lo hace el tiempo de envejecimiento hasta llegar al vino inicial, que es el de menor absorbancia. Como cabe esperar el máximo de absorción se presenta en el rango de longitudes de onda comprendido entre 270-280 nm, zona característica del máximo de absorbancia de los compuestos fenólicos.

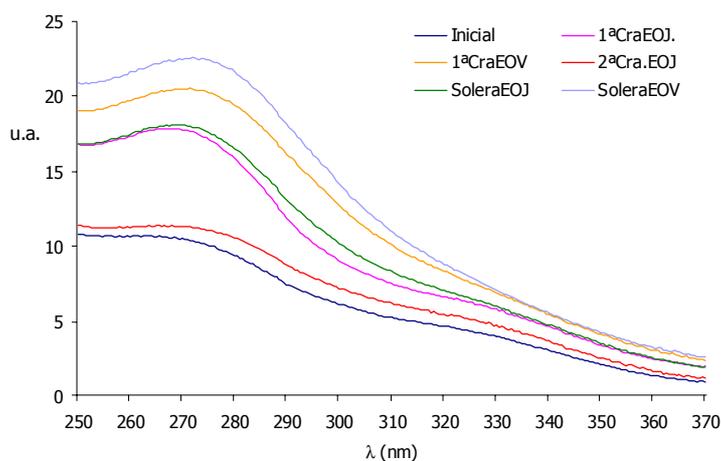


Figura 35. Espectros en el rango del ultravioleta de las muestras de los vinos estudiados.

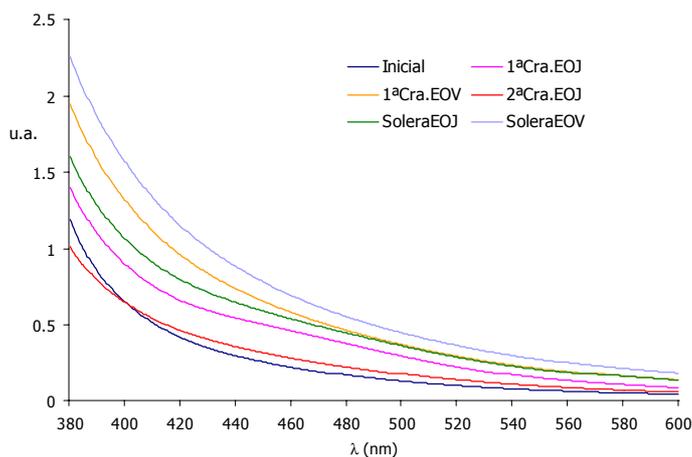


Figura 36. Espectros en el rango del visible de las muestras de los vinos estudiados.

Los espectros correspondientes a la zona del visible (380-600 nm) para las muestras de los vinos estudiados (Figura 36), indican igualmente, que la menor absorbancia la presenta la muestra correspondiente al vino inicial y que las mayores diferencias se aprecian para las muestras que presentan un mayor tiempo de envejecimiento, sobre todo en el rango correspondiente a 400-440, donde absorben

los polímeros de tonalidad amarillo-marrón, siendo el vino de la solera de oloroso viejo el de mayor absorbancia.

Con el fin de comprobar las variables espectrofotométricas y las correspondientes a los parámetros enológicos generales que mejor definen el proceso de envejecimiento al que están sometidos los diferentes vinos olorosos estudiados, se ha realizado un análisis multivariante de componentes principales. La Figura 37 muestra los autovectores correspondientes a las variables estudiadas en el plano definido por las dos primeras componentes, que representan un 90% de la varianza total del proceso. Como puede comprobarse, sobre la primera componente (67.9%) hay ocho variables que presentan un peso similar como son: A280, A420, A520, azúcares reductores, acidez volátil y graduación alcohólica (con signo positivo), dióxido de azufre libre y combinado (con signo negativo), lo que indica una alta correlación entre ellas. Respecto a la componente 2 (22.1%), las variables que tienen mayor peso son la acidez titulable y pH.

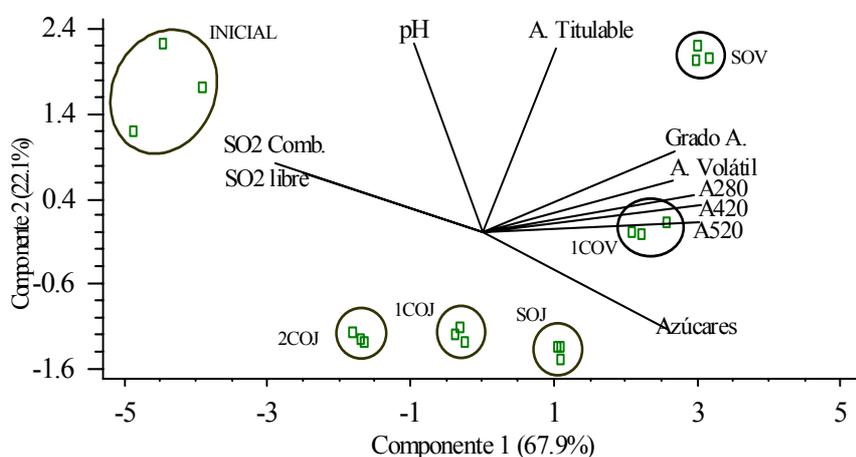


Figura 37. Análisis de componentes principales con las variables espectrofotométricas y parámetros enológicos generales de las muestras de dos escalas de vino tipo "oloroso".

La misma Figura también muestra las puntuaciones de cada uno de los triplicados de las muestras de vinos estudiadas en el plano formado por las dos componentes principales anteriormente mencionadas. En primer lugar se observa la formación de seis grupos que contienen cada uno de ellos a los vinos con diferentes niveles de envejecimiento: vino inicial, "2ª criadera de oloroso joven" (2COJ), "1ª criadera de oloroso joven" (1COJ), "Solera de oloroso joven" (SOJ), "1ª criadera de oloroso viejo" (1COV) y "Solera de oloroso viejo" (SOV). Estos grupos se han separado fundamentalmente respecto a la componente 1, situándose los vinos con mayor tiempo de envejecimiento en los mayores valores de este eje y desplazándose hacia la izquierda y con signo negativo, aquellos con menor tiempo de enveje-

cimiento. Por ello, el vino inicial, con menor tiempo de envejecimiento, y el vino de la Solera de oloroso viejo, con mayor tiempo de envejecimiento (14 años en bota) se sitúan en los extremos con respecto a este eje.

A la vista de los resultados obtenidos para la componente 1, se podría considerar que A280, A420, A520, acidez volátil, graduación alcohólica y azúcares reductores son las variables que más influyen sobre el tiempo de envejecimiento del vino, de forma que un aumento de estos parámetros podría corresponderse con vinos de mayor tiempo de envejecimiento, mientras que una disminución indica vinos con menor tiempo de crianza oxidativa. Por otro lado, los dióxidos de azufre, combinado y libre, también influyen en el proceso pero en sentido inverso, ya que un aumento de estas variables implica menor tiempo de envejecimiento del vino.

Respecto a la componente 2, los grupos de muestras se han separado en función de las variables con mayor peso sobre esta componente, acidez titulable y pH. Así, los grupos de muestras correspondientes al vino inicial y al vino de la Solera de la escala de oloroso viejo, se sitúan con puntuaciones similares y signo positivo en el eje de esta componente, mientras que los grupos de muestras correspondientes a “2<sup>a</sup>” y “1<sup>a</sup>” Criaderas y “Solera” de la escala de oloroso joven se sitúan, asimismo, con puntuaciones similares en el mismo eje, pero con signo negativo.

Los resultados de HPLC de los triplicados de las muestras de vinos procedentes de las dos escalas anteriormente mencionadas para los distintos compuestos fenólicos estudiados se muestran en la Tabla 3. En la Tabla 4 se muestran los compuestos que presentan diferencias significativas en sus contenidos respecto a los correspondientes al “Vino Inicial” para cada nivel de envejecimiento, indicándose asimismo el porcentaje de reducción o aumento y el grado de significación que resulta del estudio estadístico, *t*-Student, realizado entre los triplicados de las muestras del “Vino Inicial” y cada uno de los vinos a distintos niveles de envejecimiento.

En las Figuras 38 a 46 se representan los datos de la Tabla 3, mostrando los contenidos medios de las diferentes familias de compuestos fenólicos estudiados, de manera que las barras que presentan una indicación (·) en la parte superior indica, para cada compuesto, la no-existencia de diferencias significativas entre los contenidos de las muestras a este nivel de envejecimiento y el correspondiente al “Vino Inicial”.

En primer lugar se aprecia que en la fracción de ácidos fenólicos los incrementos más importantes tienen lugar en los ácidos hidroxibenzoicos (Figura 38), llegando a alcanzar el vino de la “Solera” de oloroso joven un aumento del 88.6% para el protocatéquico y cercano al 180% para el vanílico.

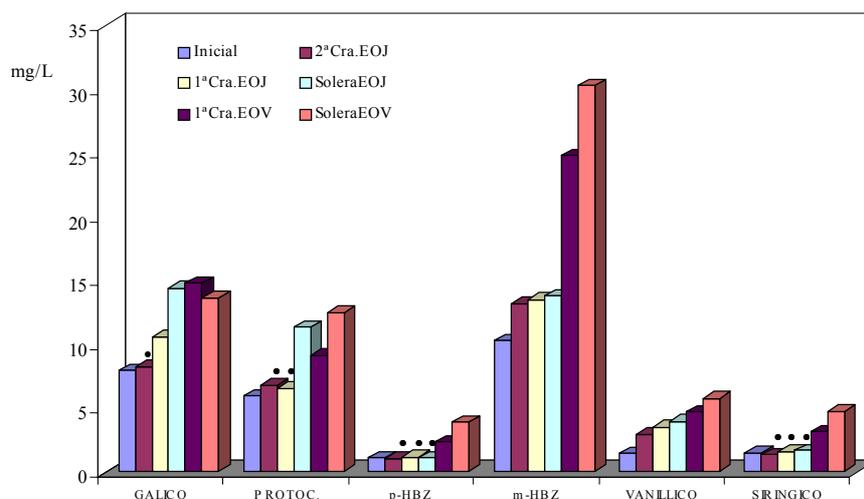


Figura 38. Contenidos en ácidos hidroxibenzoicos de las muestras de dos escalas de vino tipo “oloroso”.

Asimismo, el vino de la “Solera” de oloroso viejo aumenta en torno al 260% en ácido *p*-hidroxibenzoico y 227.6% en siríngico, siendo el vaníllico el que muestra el mayor incremento en la fracción de ácidos fenólicos, con un aumento en torno al 306%. Por otro lado, se observa que los ácidos protocatéquico, *p*-hidroxibenzoico y siríngico no muestran diferencias significativas en las primeras etapas del envejecimiento. En cuanto al contenido de estos ácidos destaca el *m*-hidroxibenzoico que presenta la mayor concentración tanto en el “Vino Inicial” como en los últimos niveles de envejecimiento. En conjunto hay que destacar una tendencia ascendente en el contenido de todos los ácidos hidroxibenzoicos.

En cuanto a los ácidos hidroxicinámicos (Figura 39), se aprecian disminuciones significativas en los contenidos de los ácidos cafeico y ferúlico; por el contrario, el ácido *p*-cumárico, experimenta un incremento en torno al 65% en el vino de la “Solera” de oloroso joven y del 134.3% en el de la “Solera” de oloroso viejo.

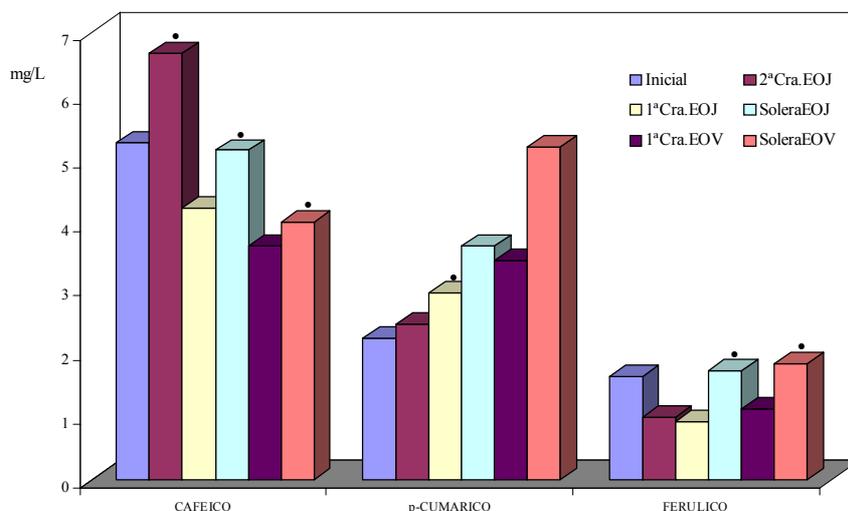


Figura 39. Contenidos en ácidos hidroxicinámicos de las muestras de dos escalas de vino tipo “oloroso”.

La evolución de los ésteres de los ácidos hidroxicinámicos es un tanto dispar (Figura 40), pues mientras que el *feftárico* muestra una tendencia descendente, la evolución del *c-cutárico* y *t-cutárico* es ascendente, teniendo estos últimos un aumento cercano al 60% en la “Solera” de oloroso joven y un 75.2% y 133.9%, respectivamente, en el vino “Solera” de oloroso viejo, que es el de mayor tiempo en bota. Sin embargo, el *t-caftárico* muestra para los vinos de las botas correspondientes a la 2ª criadera de oloroso joven un incremento de más del 60%, para posteriormente disminuir sus contenidos con el tiempo de envejecimiento, llegando incluso a concentraciones significativamente inferiores en las muestras de mayor tiempo de envejecimiento, solera de oloroso viejo. El ácido *feftárico* es el único éster que muestra una clara disminución de sus contenidos iniciales con el tiempo de envejecimiento, en algunos casos en más de un 50%. Por otra parte, se observa que los mayores contenidos en el “Vino Inicial” corresponden al *t-caftárico* (20.4 mg/L) y *c-cutárico* (15.7 mg/L), y en la “Solera” de oloroso viejo al *c-cutárico* (27.6 mg/L), siendo ambos los compuestos mayoritarios en la familia conjunta de los ácidos hidroxicinámicos y sus ésteres tartáricos.

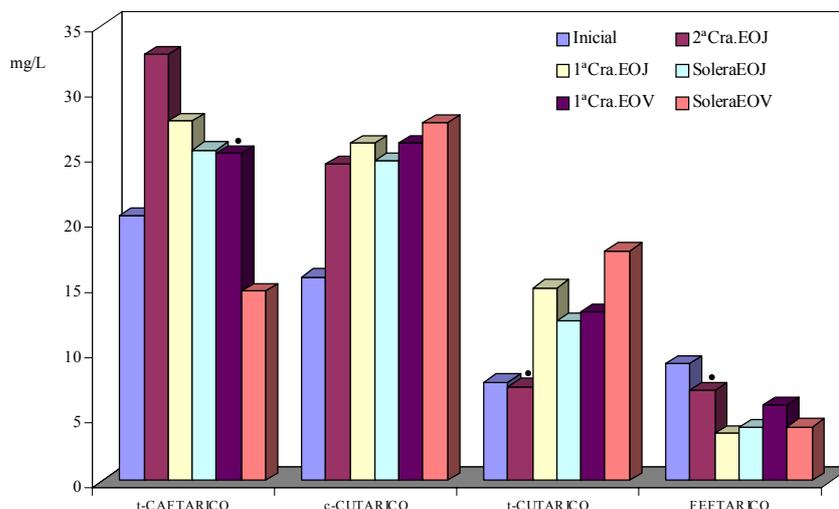


Figura 40. Contenidos en ésteres hidroxicinámicos de las muestras de dos escalas de vino tipo “oloroso”.

En relación a los aldehídos hidroxibenzoicos (Figura 41), se observa que la vainillina, no presente en el “Vino Inicial”, aparece en la “2ª Criadera” de oloroso joven con un contenido de 0.685 mg/L y aumenta progresivamente con el tiempo de envejecimiento, llegando a alcanzar un contenido de 3.93 mg/L en el vino “Solera” de oloroso joven y unos incrementos respectivos en torno al 610% y 24% en la “Solera” de oloroso viejo en relación a los contenidos de la “2ª Criadera” y “Solera” de oloroso joven.

A este respecto hay que señalar que la vainillina es un aldehído hidroxibenzoico que es mayoritariamente identificado y cuantificado en la fracción de ácidos fenólicos pero, a medida que aumenta su concentración en las muestras de vinos, éste queda retenido, al menos parcialmente, en el SEP-PAK, siendo eluído posteriormente en la fracción de catequinas, interfiriendo su identificación y cuantificación con la aparición de un compuesto desconocido al mismo tiempo de retención. Este compuesto presenta un espectro similar a los derivados de flavan-3-ol y, además, su concentración se incrementa en las muestras de vinos con mayor crianza oxidativa, por lo que cabe deducir que debe corresponderse con un derivado oligómero de esta familia. No obstante, dada la importancia de la cuantificación de la vainillina en estos tipos de vinos y, puesto que ha sido imposible la separación de estos dos compuestos en dicha fracción, estos compuestos han sido cuantificados como vainillina y su contenido sumado al obtenido en la fracción de ácidos, quedando así justificado que los más altos contenidos en vainillina para estas muestras

de vinos corresponden realmente a la suma del contenido en vainillina y el compuesto desconocido ya indicado.

Por otra parte, el siringaldehído no está presente en el “Vino Inicial”, pero tampoco en la “2ª” y “1ª Criadera” de oloroso joven, apareciendo finalmente en la “Solera” de la misma escala con un contenido de 7.35 mg/L y aumentando progresivamente con el tiempo de envejecimiento hasta alcanzar un incremento en torno al 93% en la “Solera” de oloroso viejo respecto a la solera anterior. La aparición de concentraciones significativas en el vino durante el proceso de envejecimiento para estos compuestos, vainillina y siringaldehído, corrobora lo anteriormente expuesto para los mismos en el sentido de que son algunos de los compuestos fenólicos extraídos de la madera a lo largo del envejecimiento como consecuencia del proceso de difusión que experimentan dichos compuestos, los cuales se han ido acumulando previamente en la madera debido a la degradación parcial de la lignina durante el secado al aire libre de la madera de roble (Chatonnet, 1995; Vivas and Glories, 1996) y además, por la degradación térmica de la lignina durante el caldeo de la madera (Chatonnet, 1989; Moutounet *et al*, 1995; Nishimura *et al*, 1983; Sarni *et al*, 1990).

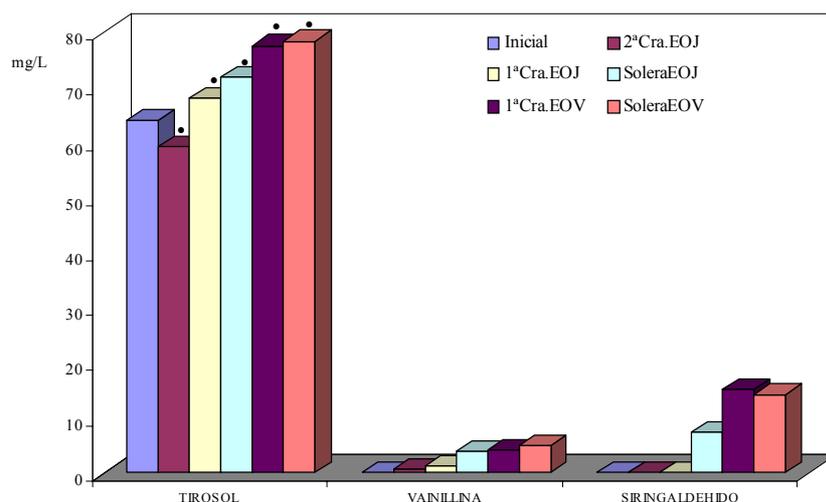


Figura 41. Contenidos en alcoholes y aldehídos hidroxibenzoicos de las muestras de dos escalas de vino tipo “oloroso”.

En relación al alcohol benzoico estudiado, el tirosol es uno de los compuestos mayoritarios en el “Vino Inicial”, formado a partir de la tirosina por la acción de las levaduras durante la fermentación alcohólica. En esta Figura se observa que este compuesto no presenta diferencias significativas a lo largo del envejecimiento,

oscilando su contenido desde 64.1 mg/L en el “Vino Inicial” hasta 78.4 mg/L en la “Solera” de oloroso viejo.

Otra fracción de fenoles, igualmente importante en los procesos de oxidación del vino, está constituida por los flavonoides y, en particular, los derivados monómeros y dímeros de flavan-3-ol. En cuanto a los monómeros, (+)-catequina y (-)-epicatequina (Figura 42), se observa que el primero es el de mayor concentración tanto en el “Vino Inicial” (23.7 mg/L) como en los diferentes niveles de envejecimiento, alcanzando un incremento en torno al 62% en el vino de la “Solera” de oloroso joven y un 35% en la muestra de oloroso viejo, si bien éste no es significativo. Por el contrario, la (-)-epicatequina experimenta un aumento menor en la “Solera” de oloroso joven, en torno al 28%, y un aumento del 68% en el último nivel de envejecimiento. En conjunto, se aprecia para ambos compuestos una tendencia ascendente a lo largo del envejecimiento.

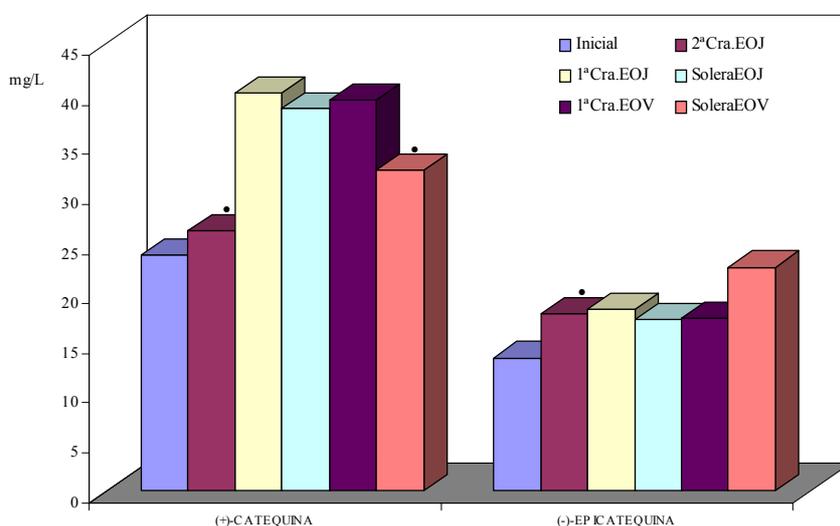


Figura 42. Contenidos en derivados monómeros de flavan-3-ol de las muestras de dos escalas de vino tipo “oloroso”.

Entre los derivados dímeros de flavan-3-ol, son las procianidinas B1 y B2 las mayoritarias (Figura 43). Se observa que la B1 no presenta diferencias significativas en los primeros niveles de envejecimiento, sin embargo, aumenta un 65.1% en la “Solera” de oloroso joven, no mostrando, a continuación, diferencias significativas en el último nivel de envejecimiento. Por el contrario, la B2 muestra una clara tendencia ascendente, experimentando un incremento menor que la B1 en la “Solera” de oloroso joven, de aproximadamente el 34%, pero aumentando significativa-

mente en torno al 85% en la “Solera” de oloroso viejo. Además, se aprecia que mientras la B3 no muestra diferencias significativas a lo largo de los diferentes niveles de envejecimiento, la procianidina B4, que es la de menor concentración, muestra una tendencia significativamente descendente, disminuyendo hasta un 43.4% en la “Solera de oloroso joven y en torno a un 29% en el último nivel de envejecimiento.

En conjunto, podría considerarse que el incremento en los contenidos monómeros de flavan-3-ol a lo largo del envejecimiento podría justificarse, al menos parcialmente, por la hidrólisis de los oligómeros, descrita por diversos autores (Timberlake and Bridle, 1976; Haslam, 1980 y Dallas *et al.*, 1995), así como por el efecto de evaporación indicado anteriormente. Similares razonamientos podríamos argumentar respecto del aumento observado a lo largo del envejecimiento en la procianidina B2. Por otra parte, en la procianidina B4, que disminuye con el tiempo de envejecimiento, podría ser explicada esta disminución por procesos de oxidación, superiores a los incrementos producidos por los efectos de evaporación.

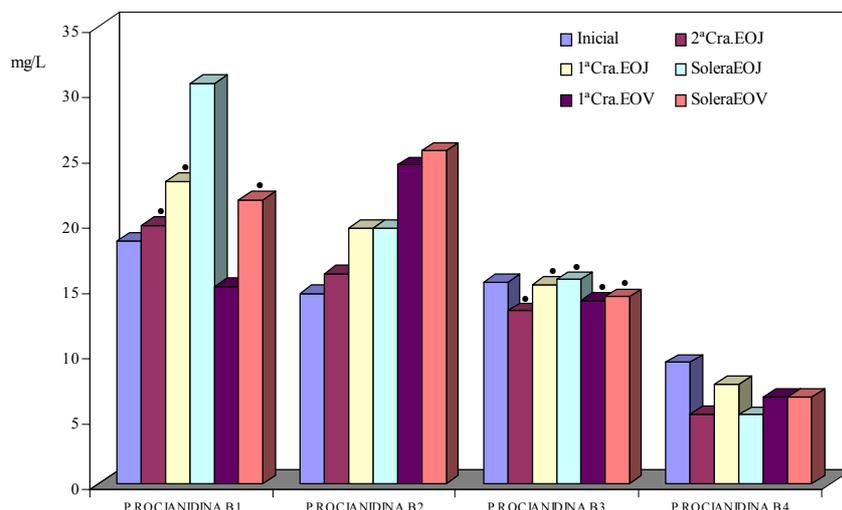


Figura 43. Contenidos en derivados dimeros de flavan-3-ol de las muestras de dos escalas de vino tipo “oloroso”.

En relación al conjunto de compuestos no identificados mencionados anteriormente (Figuras 44 y 45), cabe destacar en primer lugar por su concentración, a los denominados “picos agrupados”, que varían desde 32.6 mg/L en el “Vino Inicial” a 115 mg/L en la “Solera” de oloroso viejo y, en segundo lugar, al pico 3, cuya concentración es de 7.40 mg/L en el “Vino Inicial” y de 52.5 mg/L en el último nivel de envejecimiento.

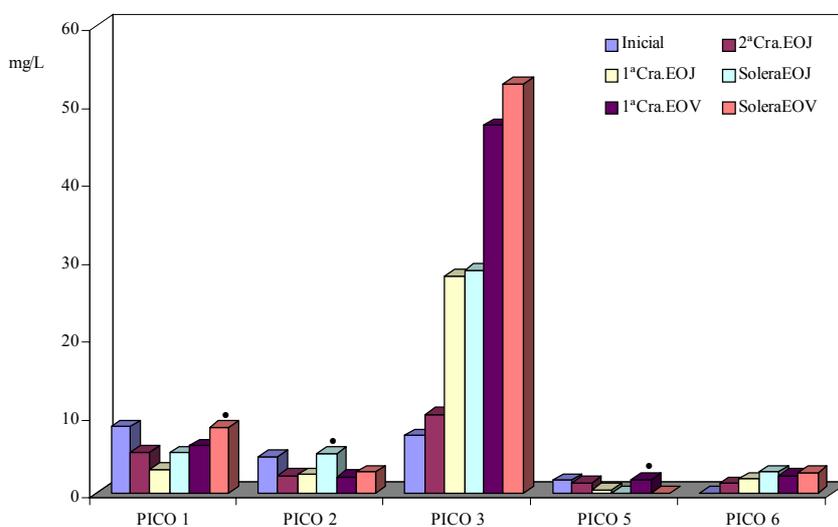


Figura 44. Contenidos en compuestos no identificados de las muestras de dos escalas de vino tipo “oloroso”.

Dada la tendencia claramente ascendente de estos picos, es razonable pensar, tal y como se comentó en apartados anteriores, que están directamente relacionados con los procesos de oxidación y polimerización que tienen lugar durante el envejecimiento del vino, siendo los “picos agrupados” la mayor parte de coloreados y que, por tanto, contribuyen al pardeamiento. Asimismo, destaca por los incrementos producidos, fundamentalmente, el pico 3, llegando a alcanzar un aumento en torno al 285% en la “Solera” de oloroso joven y próximo al 610% en la “Solera” de oloroso viejo. En cambio, los incrementos que tienen lugar en los “picos agrupados” son significativamente menores, siendo sólo de un 121.1% y 252.8%, respectivamente.

Los restantes picos no identificados, según se observa en dichas Figuras, tienen una evolución dispar. Si bien el pico 2 y pico A no muestran diferencias significativas en la “Solera” de oloroso joven, el primero disminuye en torno al 41% en la “Solera” de oloroso viejo, mientras que el pico A experimenta un aumento del 95.5%. Asimismo, el pico 5 disminuye en torno al 100% en la “Solera” de oloroso viejo, mientras que el pico B llega a alcanzar un aumento del 42.3%, no mostrando ninguno de los dos picos diferencias significativas en la “1ª Criadera” de oloroso viejo. Por otro lado, el pico 1 es el único que mantiene prácticamente constante, sin diferencias significativas, su concentración inicial en la “Solera” de oloroso viejo. Por su parte, los picos 6 y 8, no presentes en el “Vino Inicial”, aparecen en la “2ª Criadera” de oloroso joven con unos contenidos respectivos de 1.25 mg/L y 3.69

mg/L, aumentando el pico 6 en torno al 121% en la “Solera” de oloroso joven respecto a la 2ª criadera y experimentando posteriormente una disminución del 5% en la “Solera” de oloroso viejo, respecto a la solera anterior. En cambio, el pico 8 experimenta un fuerte incremento en la “Solera” de oloroso joven, en torno al 254% respecto a la 2ª criadera y una posterior disminución en la “Solera” de oloroso viejo respecto a la solera anterior.

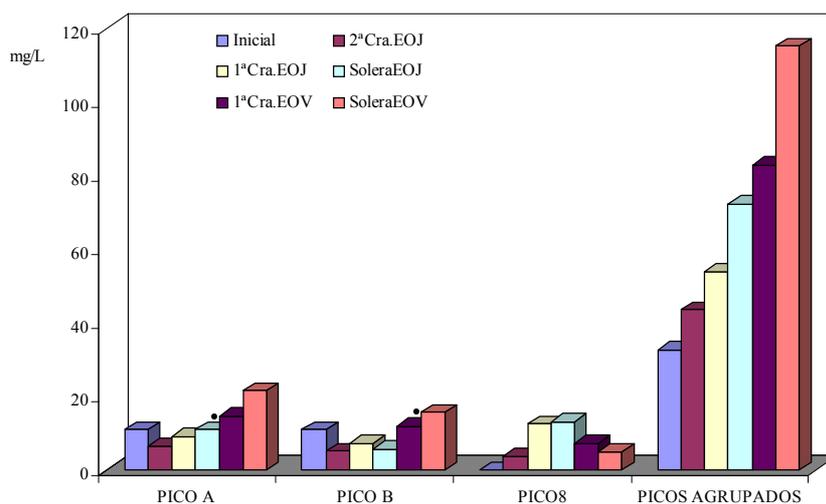


Figura 45. Contenidos en compuestos no identificados (cont.) de las muestras de dos escalas de vino tipo “oloroso”.

En lo que concierne a los flavonoles, se observa en la Figura 46 que no se han detectado cantidades apreciables de quercetín-3-galactósido y quercetín-3-glucósido en el vino inicial, apreciándose por primera vez en la “2ª Criadera” de oloroso joven, con unos contenidos respectivos de 0.417 y 0.749 mg/L. Sin embargo, la quercetina, con una concentración inicial de 0.256 mg/L, experimenta un incremento en torno al 79% en la “2ª Criadera” de oloroso joven, para después disminuir hasta desaparecer en la “Solera” de esta misma escala. Por su parte, el quercetín-3-galactósido disminuye sus contenidos en torno a un 20% en la “Solera” de oloroso joven respecto a la “2ª Criadera”, manteniéndose prácticamente estos valores en la “Solera” de oloroso viejo. Asimismo, el quercetín-3-glucósido presenta diferencias significativas en la “Solera” de oloroso joven, también con respecto a la “2ª Criadera”, siendo la disminución que experimenta en la “Solera” de oloroso viejo en torno al 23%.

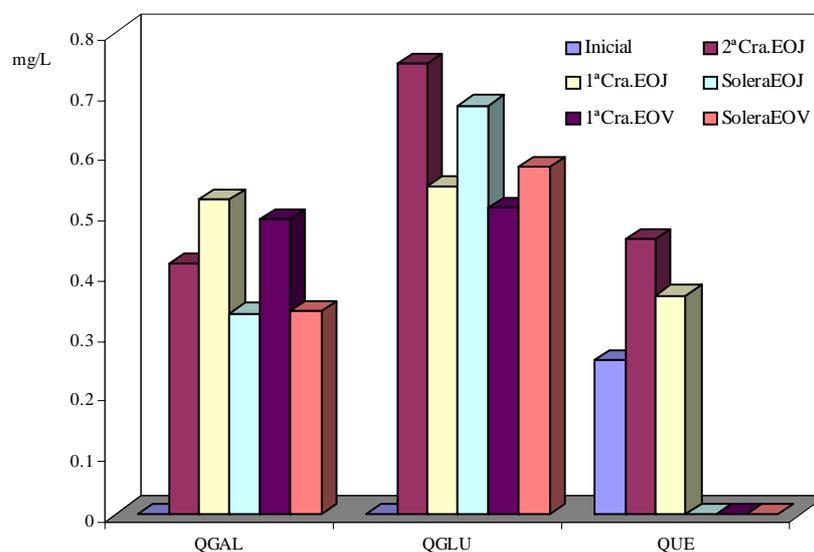


Figura 46. Contenidos en Flavonoles de las muestras de dos escalas de vino tipo "oloroso".

Con el objetivo de observar el comportamiento del conjunto de los compuestos fenólicos flavonoides y no flavonoides (compuestos también identificados como de alta y baja masa molecular, respectivamente) durante el envejecimiento de los vinos procedentes de las escalas estudiadas, se ha realizado un Análisis Multivariante de Componentes Principales. La Figura 47 muestra los autovectores correspondientes a los distintos compuestos fenólicos de baja masa molecular estudiados en el plano definido por las dos primeras componentes que explican conjuntamente el 78.9% de la varianza total del proceso. Como se observa, los compuestos que presentan más peso sobre la primera componente (64.7%) son todos los ácidos hidroxibenzoicos (*p*-hidroxibenzoico, siríngico, protocatéuico, *m*-hidroxibenzoico, gálico y vanílico, todos con signo positivo) y aldehídos hidroxibenzoicos (siringaldehído y vainillina, con signo positivo), además de algunos ácidos hidroxicinámicos (*p*-cumárico, con signo positivo, y cafeico, con signo negativo) y ésteres de estos ácidos (*t*-cutárico, con signo positivo, y feftárico, con signo negativo), lo cual indica la existencia de una alta correlación entre ellos. Respecto a la componente 2 (14.2%), los compuestos con mayor peso son los ácidos ferúlico (con signo positivo), *c*-cutárico y *t*-caftárico (ambos con signo negativo).

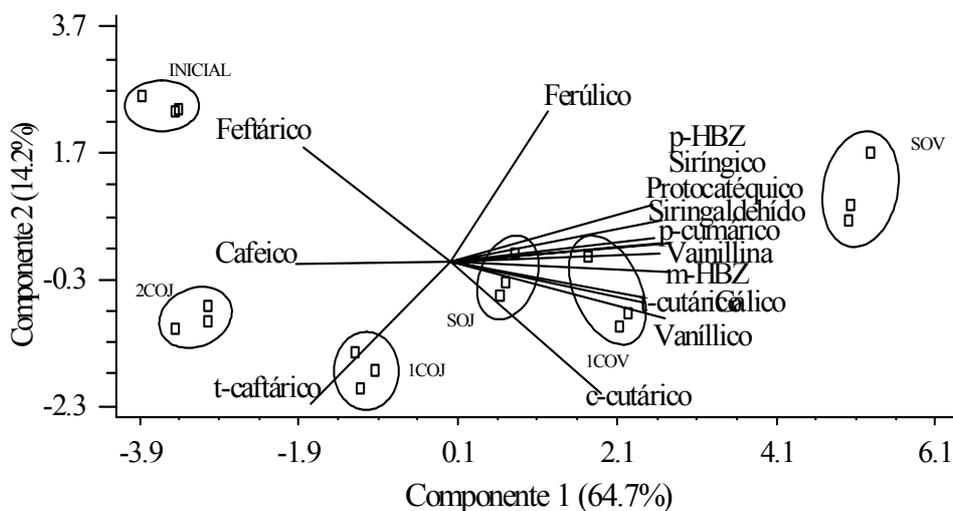


Figura 47. Representación de las puntuaciones de las muestras y los factores de carga de las distintas variables en el plano formado por las dos componentes principales.

La misma Figura muestra, además, las puntuaciones de cada uno de los triplicados de las muestras de vinos estudiados en el plano formado por las dos citadas componentes principales, observándose en primer lugar la aparición de seis grupos que se corresponden cada uno de ellos con un vino de diferente nivel de envejecimiento. Tales grupos se han separado fundamentalmente respecto a la componente 1, de manera que los vinos con mayor tiempo de envejecimiento se sitúan en los valores más altos de dicha componente, y a medida que disminuye el tiempo de envejecimiento, los vinos experimentan un desplazamiento hacia la izquierda en el eje de esta componente, tomando valores negativos. Así, el vino de la “Solera” de oloroso viejo, con mayor tiempo de envejecimiento y el “Vino Inicial”, con menor tiempo, aparecen situados en los extremos respecto a este eje.

Como resultado de los datos obtenidos para la componente 1, se puede interpretar razonablemente que los ácidos y aldehídos hidroxibenzoicos, además del *p*-cumárico y *t*-cutárico, son los compuestos que presentan una variación más acentuada con el tiempo de envejecimiento del vino, de tal manera que un aumento de éste indicaría mayores valores para dichos compuestos, y una disminución, por el contrario, menores valores. Además, el cafeico y feftárico también varían con el tiempo de envejecimiento, pero inversamente, puesto que un aumento de estos compuestos se corresponde con un menor tiempo de envejecimiento.

Respecto a la componente 2, los grupos se han separado en función de los compuestos que tienen más peso sobre esta componente, que son ferúlico, *c*-

cutárico y *t*-caftárico. Destaca, principalmente, la similitud de las puntuaciones correspondientes a los vinos de la “Solera” de oloroso joven y “1ª Criadera” de oloroso viejo, que se sitúan en el eje de esta componente con signo negativo. Asimismo, se sitúan con signo negativo los vinos de la “2ª” y “1ª” Criaderas de oloroso joven, situándose el “Vino Inicial” y el de la “Solera” de oloroso viejo, con signo positivo.

Asimismo, se ha realizado un análisis multivariante de componentes principales para los compuestos fenólicos flavonoides, de alta masa molecular, y algunos compuestos no identificados, en concreto aquellos que, como puede observarse en la Tabla 3, presentan diferencias significativas y, además, muestran una evolución correlacionada con el tiempo de envejecimiento químico. La Figura 48 muestra los autovectores correspondientes a los distintos compuestos estudiados en el plano definido por las dos primeras componentes que en conjunto explican el 76.5% de la varianza total del proceso.

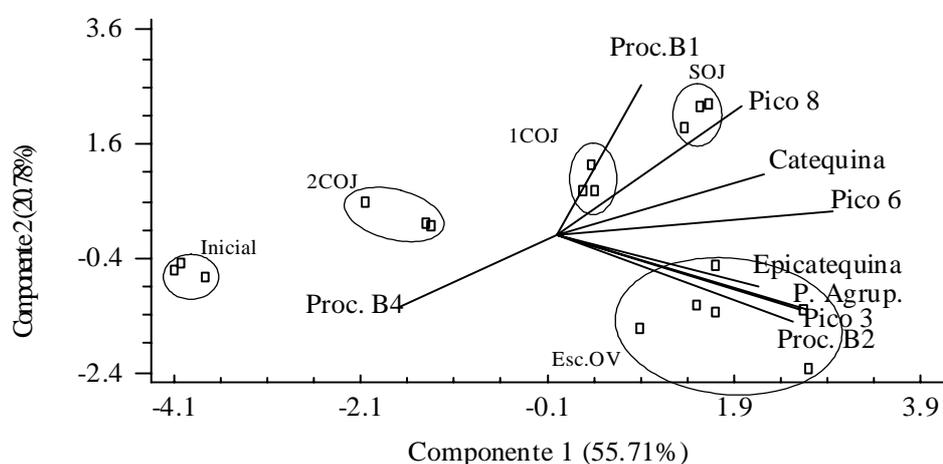


Figura 48. Representación de las puntuaciones de las muestras y los factores de carga de las distintas variables en el plano formado por las dos componentes principales.

Se puede apreciar que los compuestos con más peso sobre la primera componente (55.71%) son la (+)-catequina, (-)-epicatequina, pico 3, pico 6, procianidina B2 y los denominados picos agrupados. Sin embargo, sobre la componente 2 (20.78%) tienen mayor peso la procianidina B1 y el pico 8, con signo positivo, y la procianidina B4 con signo negativo.

En la misma Figura se muestran las puntuaciones de cada uno de los triplicados de las muestras de los distintos vinos estudiados, observándose, en el plano formado por la dos componentes principales, la división de las muestras en cinco grupos homogéneos, tres de los cuales contienen las muestras de vino de la escala

de oloroso joven con diferentes niveles de envejecimiento, separados principalmente respecto a la componente 1, correspondiendo, de nuevo, los valores más altos de dicha componente a los vinos más envejecidos, y los más bajos, a los de menor tiempo de envejecimiento. Los dos grupos restantes pertenecen a las muestras de los vinos de la escala de oloroso viejo (1ª Criadera y Solera), con más tiempo de envejecimiento y las del “Vino Inicial”, que se sitúan en los extremos de la misma componente. Por otro lado, no se observan diferencias destacables, respecto a la componente 1, entre las muestras de los vinos de la “1ª Criadera” y “Solera” de oloroso viejo, debido fundamentalmente al pico 3 y picos agrupados, que hacen que estos dos grupos de muestras se unan formando uno solo.

Considerando los resultados obtenidos respecto a la primera componente es razonable considerar que la (+)-catequina, (-)-epicatequina, pico 3, pico 6, procianidina B2 y los picos agrupados, son los compuestos que más varían con el tiempo de envejecimiento del vino.

En lo que se refiere a la componente 2, los grupos homogéneos se han separado en función de los compuestos procianidinas B1 y B4 y el pico 8. De este modo, los grupos correspondientes al vino de la escala de oloroso viejo y al “Vino Inicial” muestran valores negativos similares sobre el eje de esta componente, mientras que los grupos que corresponden a los vinos de la “2ª” y “1ª” Criaderas de oloroso joven presentan, asimismo, valores similares sobre el mismo eje, pero con signo positivo.

## 1.2. CONCLUSIONES

A la vista de los resultados obtenidos en las diferentes determinaciones para las dos escalas estudiadas de vinos tipo oloroso con diferentes tiempos de envejecimiento, se pueden extraer las siguientes conclusiones:

✓ A medida que aumenta el tiempo de envejecimiento lo hace también la graduación alcohólica y la acidez volátil, mientras que, por el contrario, disminuyen el dióxido de azufre libre, combinado y total. Teniendo en cuenta las inevitables pérdidas por evaporación durante el largo tiempo de envejecimiento, en gran parte, los incrementos observados en estos parámetros, así como del resto de los compuestos medidos, deben atribuirse a este efecto.

✓ Las absorbancias medidas a 280, 420 y 520 nm aumentan progresivamente a lo largo del envejecimiento, lo cual queda confirmado por el registro espectrofotométrico realizado en el rango UV-Visible, donde el vino de la “Solera” de la Escala de Oloroso Viejo presenta los mayores valores de absorbancia y el vino inicial los menores.

✓ Mediante análisis de regresión, se deduce que la máxima velocidad de extracción de compuestos fenólicos y de formación de compuestos coloreados tiene lugar durante las primeras etapas de envejecimiento.

✓ Los incrementos más importantes en la fracción de ácidos fenólicos y ésteres de ácidos hidroxicinámicos corresponden a los ácidos hidroxibenzoicos, siendo el vanílico el que muestra el mayor incremento. Los compuestos fenólicos no flavonoides con más alto contenido son el tirosol, los ésteres *t*-caftárico y *c*-cutárico y el ácido *m*-hidroxibenzoico.

✓ La vainillina y siringaldehído, ausentes en el vino inicial, son extraídos de la madera durante el envejecimiento, debido a la degradación de la lignina, y aumentan progresivamente con el tiempo de envejecimiento.

✓ El incremento en los contenidos, respecto al vino inicial, de los dos monómeros de flavan-3-ol, (+)-catequina y (-)-epicatequina, y de la procianidina B2 se deben probablemente a la hidrólisis de los oligómeros. Respecto a la disminución experimentada por la procianidina B4 parece razonable atribuirla a procesos de oxidación.

✓ Respecto al conjunto de compuestos no identificados, destacan los denominados “picos agrupados” y el pico 3, siendo los primeros los de mayor concentración y el segundo el que experimenta mayor incremento. Dado el carácter coloreado de los primeros, estos compuestos contribuyen en gran medida al aumento de color de los vinos durante el envejecimiento.

✓ Una visión conjunta a través de un análisis multivariante muestra que las variables enológicas que más determinan la crianza oxidativa son la A280, A420, A520, acidez volátil y graduación alcohólica. También influyen los dióxidos de azufre, libre y combinado, pero inversamente. Asimismo, los compuestos de baja masa molecular que varían significativamente con el envejecimiento presentando una correlación con el tiempo de crianza oxidativa son los ácidos y aldehídos hidroxibenzoicos, el ácido *p*-cumárico y el éster *t*-cutárico, variando, asimismo, los ácidos cafeico y feftárico, pero en sentido inverso. Asimismo, la (+)-catequina, (-)-epicatequina, pico 3, pico 6, procianidina B2 y picos agrupados, son los compuestos de alta masa molecular y no identificados que más varían con el tiempo de envejecimiento del vino.

## 2. ESTUDIO DE PARÁMETROS ENOLÓGICOS DE VINOS OLOROSOS COMERCIALES.

Una vez llevado a cabo el estudio de los vinos olorosos de una bodega, el siguiente paso es el análisis de vinos comerciales tipo oloroso disponibles en botellas en el mercado con el objetivo, en primer lugar, de comparar los resultados analíticos de los mismos con los vinos obtenidos en la bodega a diferentes niveles de envejecimiento, y en segundo lugar, determinar lo más aproximadamente posible el tiempo real a que han estado sometidos a envejecimiento oxidativo.

### 2.1. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 5 muestra los valores de las diferentes determinaciones enológicas generales realizadas sobre el triplicado de las muestras de vinos comerciales estudiadas. A los resultados se les aplica un análisis de varianza múltiple en el que se comparan estadísticamente los valores medios de dichas muestras a un nivel de confianza del 99.9% ( $***p<0.001$ ), 99% ( $**p<0.01$ ) y 95% ( $*p<0.05$ ). Este estudio nos permite establecer grupos homogéneos a los niveles de significación antes señalados. En la misma tabla se recoge el valor de  $p$  del análisis de varianza para los parámetros estudiados, así como la clasificación de éstos en los diferentes grupos homogéneos obtenidos.

En las Figuras 49 a 55, se representan los datos de la Tabla 5, donde se muestran para cada marca de vino, la media y la barra de error correspondiente a la desviación estándar del triplicado de la muestra.

El pH muestra valores significativamente diferentes para cada marca, formándose 4 grupos homogéneos a un nivel de confianza del 99.9%. El mayor valor

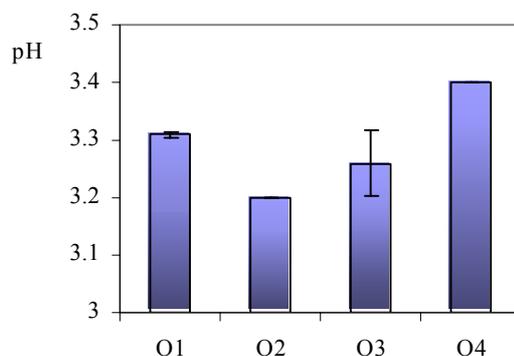


Figura 49. pH de las muestras de vinos comerciales tipo oloroso.

corresponde al vino O4, seguido de O1 y O3, situándose en el menor valor el vino O2. Estos valores oscilan entre 3.40 para la marca O4 y 3.20 para O2.

En cuanto al grado alcohólico, los máximos valores se alcanzan en las marcas O2, O3 y O4, en torno a 19°GL, no mostrando diferencias significativas entre ellas. El mínimo valor corresponde al vino O1 (16.4), que corresponde además al vino de menor precio de mercado.

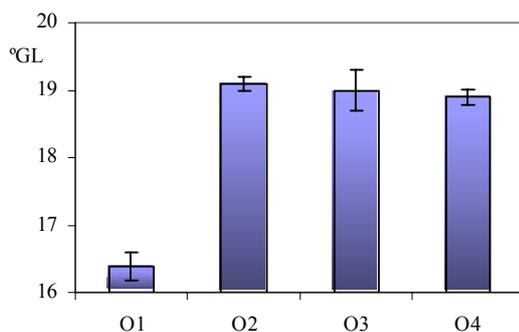


Figura 50. Grado alcohólico de las muestras de vinos comerciales tipo oloroso.

La acidez titulable alcanza su mayor concentración en la marca O2 (81.6 meq/L), a la que corresponde, como hemos visto anteriormente, el menor valor de pH. La menor concentración se alcanza en el vino O1 (66.6 meq/L). Al igual que en el caso del pH, todas las marcas presentan valores significativamente diferentes entre sí, dando lugar a la formación de 4 grupos homogéneos a un nivel de confianza del 99.9%.

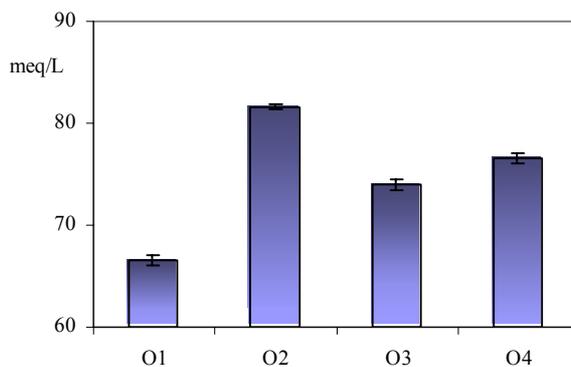


Figura 51. Acidez titulable (meq/L) de las muestras de vinos comerciales tipo oloroso.

En relación a la acidez volátil, nuevamente todas las marcas presentan valores significativamente diferentes, siendo O4 (16.8 meq/L) la marca de mayor concentración y de nuevo O1 la de menor valor (10.7 meq/L). Estas cifras son lógicas si se supone (por precio) que O4 ha sufrido un envejecimiento de mayor dura-

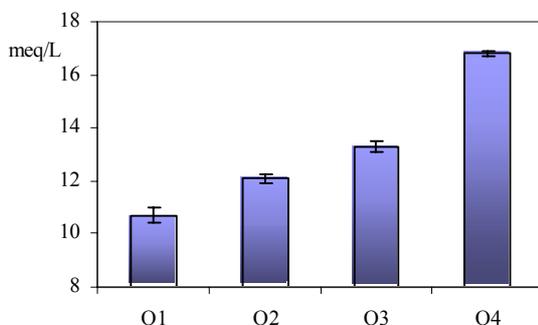


Figura 52. Acidez volátil (meq/L) de las muestras de vinos comerciales tipo oloroso.

ción, ya que los contenidos en acético van aumentando por oxidación del etanol a lo largo del envejecimiento oxidativo (Reazin, 1983).

Las concentraciones de dióxido de azufre libre son mínimas en las marcas O2, O3 y O4, en torno a 1.4-1.8 mg/L, sin diferencias significativas entre ellas. La máxima concentración corresponde a la marca O1 (2.49 mg/L). Los contenidos en

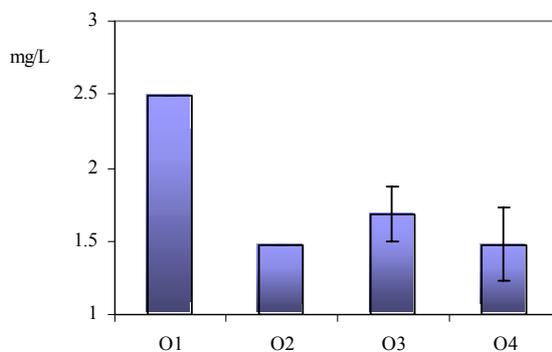


Figura 53. Dióxido de azufre libre (mg/L) de las muestras de vinos comerciales tipo oloroso.

dióxido de azufre combinado y total muestran concentraciones muy parecidas, debido a que la mayor parte del dióxido de azufre presente en el vino está en forma combinada, tal y como se ha comentado en el capítulo anterior. Al igual que en el

caso del dióxido de azufre libre, las concentraciones son mínimas en las marcas O2, O3 y O4, en torno a 19-20 mg/L y donde se alcanza la mayor concentración, con diferencia, es en la marca O1, superior a 28 mg/L.

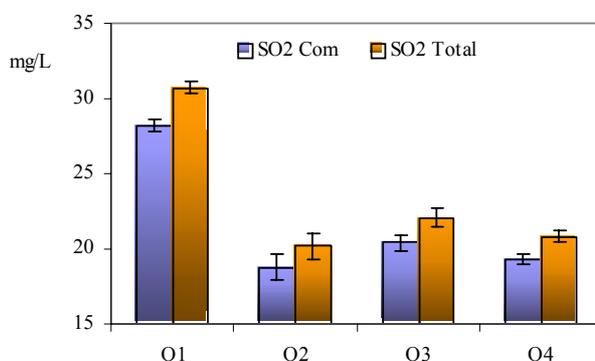


Figura 54. Dióxido de azufre combinado y total (mg/L) de las muestras de vinos comerciales tipo oloroso.

Por último, en lo que respecta a los azúcares reductores, éstos muestran concentraciones crecientes desde la marca O1 (4.42 g/L), que es la de menor concentración, a O3 (22.5 g/L), la de mayor concentración, situándose la marca O4 cerca

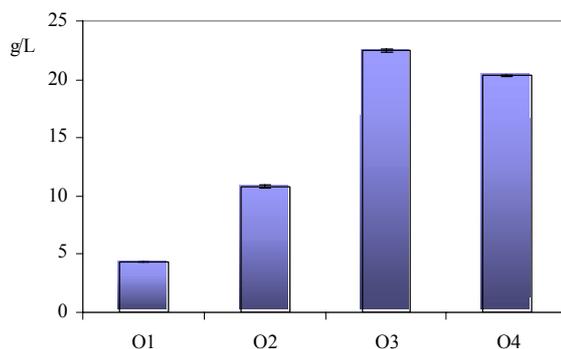


Figura 55. Contenido en azúcares reductores (g/L) de las muestras de vinos comerciales tipo oloroso.

de éste último valor. En este sentido es de resaltar el bajo contenido en azúcares del vino O1, de menor precio de mercado y enmarcado entre los denominados vinos secos. Asimismo es de resaltar la gran diferencia en los contenidos de azúcares en los vinos O2 y O4, marcas pertenecientes al mismo grupo empresarial, de precios de mercado similares, pero enmarcado el primero de ellos, O2, dentro de los abocados y el segundo, O4, como semiseco.

En la Tabla 6 se recogen los valores de absorbancia a 280, 420 y 520 nm del triplicado de las muestras de vinos comerciales sometidas a estudio, aplicándose a los resultados, igualmente, un análisis de varianza múltiple. En la misma tabla se muestran los grupos homogéneos y los valores de  $p$  del ANOVA realizado. En las Figuras 56, 57 y 58 se representan los datos de la Tabla 6, mostrándose los valores medios de las absorbancias a 280, 420 y 520 nm, respectivamente, de las muestras de vinos comerciales, así como las diferencias porcentuales de dichas absorbancias respecto a la menor.

En estos resultados se observa que la absorbancia a 280 nm, como medida del contenido en polifenoles totales, es máxima en la marca O1 (34.0 u.a.) con una diferencia de casi el 40% respecto a la marca O3 (24.3 u.a.), que es la de menor absorbancia y seguida de las marcas O2 (30.5 u.a.) y O4 (29.6 u.a.) con unos incrementos porcentuales del 25.5% y 21.8%, respectivamente, no mostrándose diferencias significativas entre estas dos marcas.

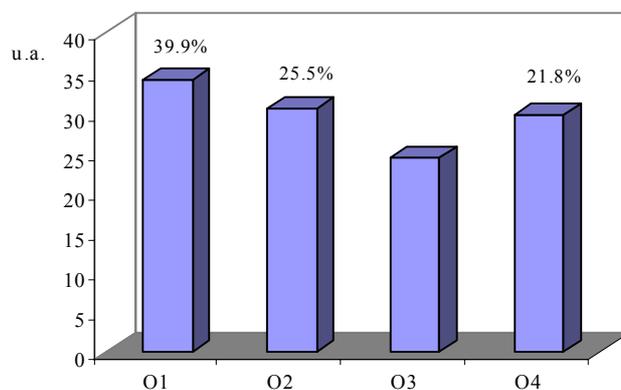


Figura 56. Absorbancia a 280 de los vinos comerciales estudiados y diferencias porcentuales respecto del menor.

En relación a la absorbancia a 420 nm, podemos realizar similares razonamientos, correspondiendo, de nuevo, un mayor valor a la marca O1 (1.97 u.a.) con una diferencia del 55.1% respecto a la de menor absorbancia, O3 (1.27 u.a.). Sin embargo, al contrario que con la absorbancia a 280 nm, la marca O1 es seguida por las marcas O4 (1.57 u.a.) y O2 (1.53 u.a.), con unos incrementos porcentuales respectivos del 23.6% y 20.4%, asimismo, sin diferencias significativas entre ellas dos.

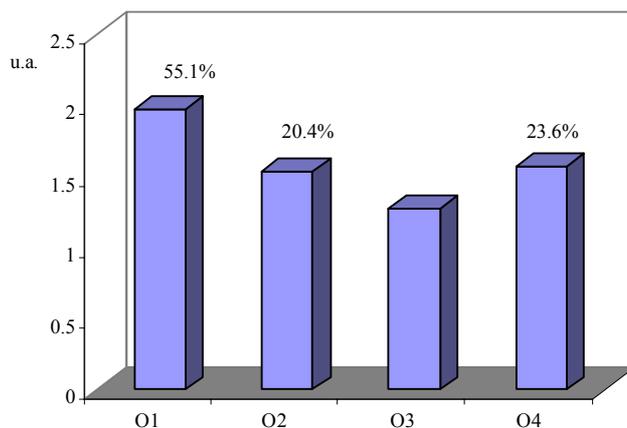


Figura 57. Absorbancia a 420 de los vinos comerciales estudiados y diferencias porcentuales respecto del menor.

La absorbancia a 520 nm muestra valores significativamente diferentes para todas las marcas con la formación de 4 grupos homogéneos a un nivel de confianza del 99.9%. Como se puede apreciar, la marca O1 (0.649 u.a.) es, nuevamente, la que presenta mayor absorbancia, duplicando su valor en relación a la de menor absorbancia, O3 (0.326 u.a.). Le siguen, del mismo modo que con la absorbancia a 420 nm, las marcas O4 (0.438 u.a.) y O2 (0.367 u.a.), pero con unos incrementos porcentuales respectivos muy diferentes, es decir, del 34.3% y 12.5% en relación a O3. Hay que resaltar que el hecho de que las absorbancias a 420 y 520 nm de la marca O4 sean superiores a las de O2, al contrario de lo que ocurre con la absorbancia a 280 nm, probablemente se deba a la práctica, ya comentada con anterioridad, de la adición de productos de caramelización y/o mezclado con vinos muy oscuros (como Pedro Ximénez dulce) a la marca O4 en alguna de las fases del envejecimiento o previamente al embotellado.

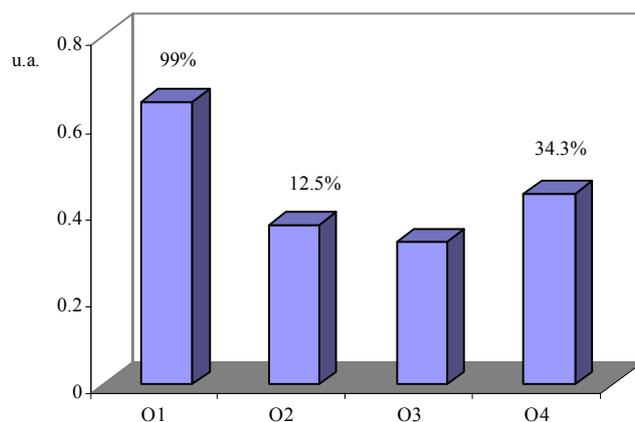


Figura 58. Absorbancia a 520 de los vinos comerciales estudiados y diferencias porcentuales respecto del menor.

Por otro lado el registro del espectro completo (Figuras 59 y 60) puede ayudar a confirmar algunos de los razonamientos realizados para las medidas a longitudes de onda fijas. Efectivamente, como puede comprobarse en la zona ultravioleta, la marca O1 presenta el mayor valor de absorbancia en el rango de longitudes de onda comprendido entre 270-285 nm, zona donde se mide el índice de polifenoles totales, seguida de las marcas O2, O4 y O3. Asimismo, en la zona del visible se aprecia que la marca O3 presenta los menores valores de absorbancia en todo el rango.

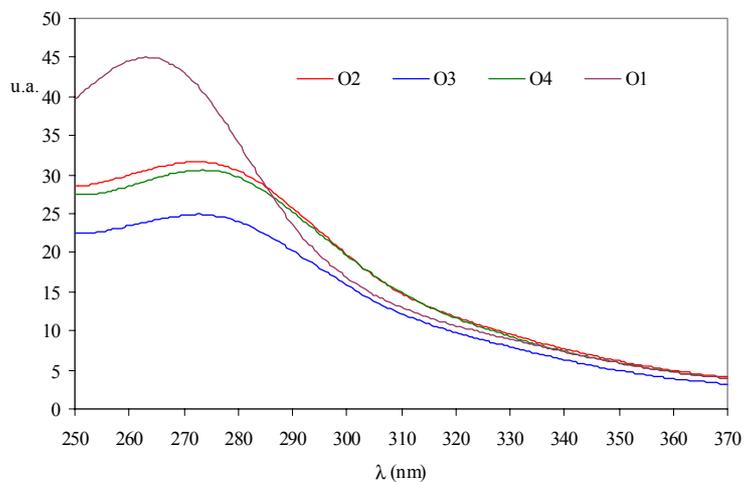


Figura 59. Espectros en el rango del ultravioleta de las muestras de los vinos comerciales tipo “oloroso”.

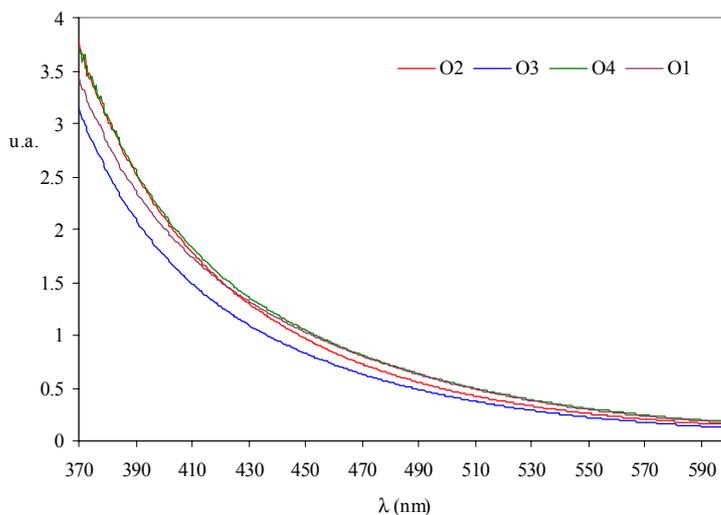


Figura 60. Espectros en el rango del visible de las muestras de los vinos comerciales tipo “oloroso”.

A fin de observar el comportamiento de cada uno de los parámetros enológicos generales y de color respecto a las diferentes marcas de vinos estudiadas, se ha llevado a cabo un análisis multivariante de componentes principales. La Figura 61 muestra, en el plano definido por las dos primeras componentes, los autovectores

correspondientes a las variables consideradas y las puntuaciones de cada uno de los triplicados de las marcas de vinos objeto de estudio. Las dos componentes explican el 88% de la varianza total. Como se puede observar, las variables que presentan mayor influencia sobre la componente 1 (68.9% de la varianza explicada) son la A280, A420, A520, dióxido de azufre libre y combinado, con signo positivo, y la graduación alcohólica, azúcares reductores, acidez titulable y volátil, con signo negativo. Sobre la componente 2 (19.1%) influye en mayor grado el pH, con signo positivo.

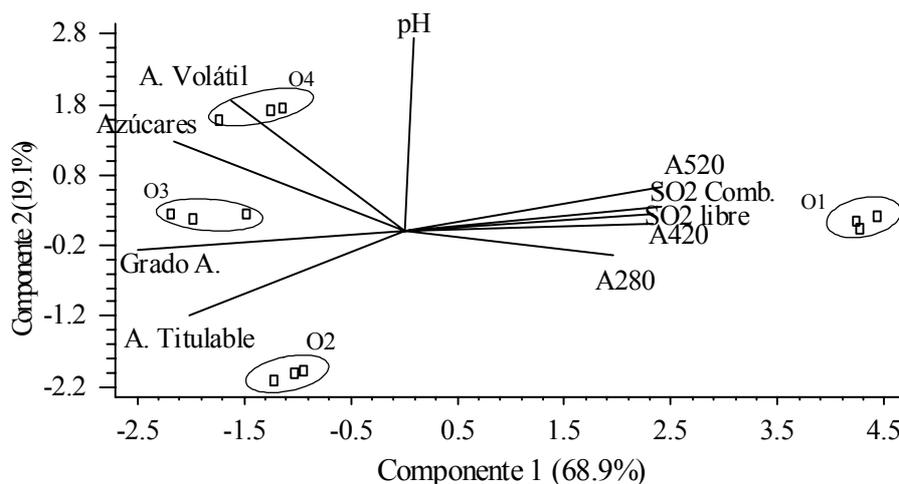


Figura 61. Representación de las puntuaciones de las muestras y los factores de carga de las distintas variables en el plano formado por las dos componentes principales.

En el mismo plano se observa, además, la división de las muestras en cuatro grupos homogéneos, correspondiéndose cada uno de ellos a un vino de diferente marca. Dichos grupos se han separado fundamentalmente respecto a la componente 2, en función de la variable con mayor peso sobre esta componente, que es el pH. Así, el grupo correspondiente a la marca O4 se sitúa con valor positivo sobre el eje de esta componente, al igual que los grupos correspondientes a las marcas O3 y O1, estos últimos con puntuaciones similares. Por el contrario, el grupo que se corresponde con la marca O2 se sitúa con signo negativo sobre el mismo eje.

Sin embargo, en lo que concierne a la componente 1, los grupos correspondientes a las marcas O2, O3 y O4 apenas se han separado, pero sí lo hacen con respecto al grupo de la marca O1, de modo que los autovectores correspondientes a las variables A280, A420, A520, dióxido de azufre libre y combinado, están cercanos al grupo de muestras de la marca O1, lo cual indica que estas variables presentan mayores valores en O1, mientras que los autovectores correspondientes a las variables graduación alcohólica, azúcares reductores, acidez titulable y volátil están

cercanos a los restantes grupos. De aquí, cabe deducir que O1 fue adicionado de productos de caramelización y/o mezclado con vino más oscuro, como el anteriormente citado Pedro Ximénez dulce.

Los resultados de HPLC obtenidos de los triplicados de las muestras de vinos comerciales mencionadas se muestran en la Tabla 7. A diferencia de los vinos de las escalas anteriormente estudiadas, se ha realizado un análisis de varianza múltiple, reflejándose en la Tabla 8 los compuestos que presentan diferencias significativas entre las distintas marcas de vinos, así como los distintos grupos homogéneos formados (para un nivel de significación del 5%).

En las Figuras 62 a 69 se representan, por familias, los contenidos medios de los compuestos fenólicos estudiados para las distintas marcas comerciales. La unión entre barras indica, para cada compuesto, la no-existencia de diferencias significativas entre marcas de vinos.

Puede observarse en primer lugar que en el conjunto de ácidos fenólicos, el *m*-hidroxibenzoico es el ácido de mayor concentración en todas las marcas de vino, excepto en O1, llegando a alcanzar casi 23 mg/L en la marca O4. Sin embargo, el gálico es el ácido fenólico que muestra máxima concentración en la marca O1 (13.3 mg/L) siendo los contenidos de éste ácido muy inferiores en las restantes marcas, sin diferencias significativas entre ellas. Por su parte, hay que destacar que de los ácidos hidroxibenzoicos (Figura 62) sólo el *p*-hidroxibenzoico presenta diferencias significativas en todas las marcas, dando lugar a la formación de 4 grupos homogéneos a un nivel de confianza del 99.9%, siendo, además, el de menor concentración en todas las marcas.

Respecto a los ácidos hidroxicinámicos (Figura 63), se aprecia que el ácido cafeico es el de mayor concentración en las marcas O1 (5.41 mg/L) y O2 (3.45 mg/L), y el *p*-cumárico, en O3 (2.29 mg/L) y O4 (2.74 mg/L), siendo el ferúlico el de menor concentración en todas las marcas. Por otro lado, sólo el cafeico presenta diferencias significativas en todas las marcas, observándose 4 grupos homogéneos a un nivel de confianza del 99.9%.

Respecto a los ésteres de los ácidos hidroxicinámicos (Figura 64), se observa que la marca O1 presenta altas concentraciones de *t*-caftárico (22.6 mg/L), *c*-cutárico (14.4 mg/L) y *t*-cutárico (13.4 mg/L), pero no de feftárico (5.95 mg/L), cuyo contenido es similar al de las restantes marcas. Asimismo, todos los ésteres presentan concentraciones análogas en las marcas O2, O3 y O4, en torno a 4.46-6.64 mg/L.

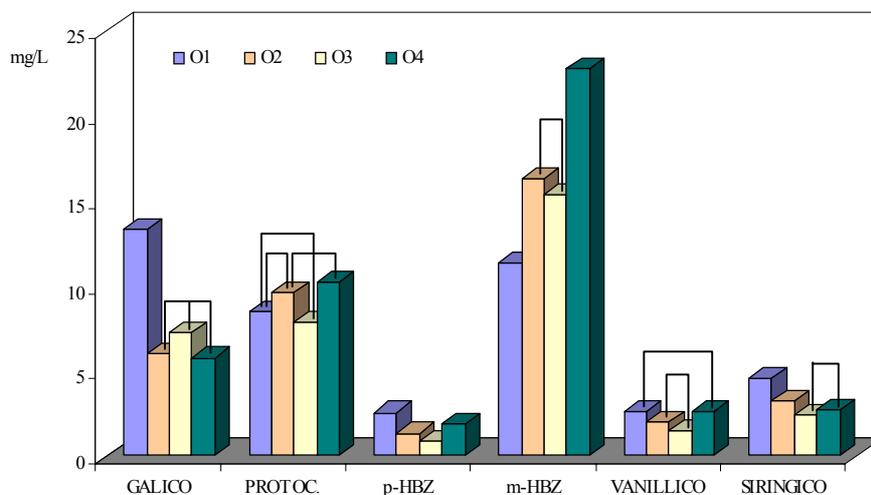


Figura 62. Contenidos en ácidos hidroxibenzoicos de las muestras de vinos comerciales tipo “oloroso”.

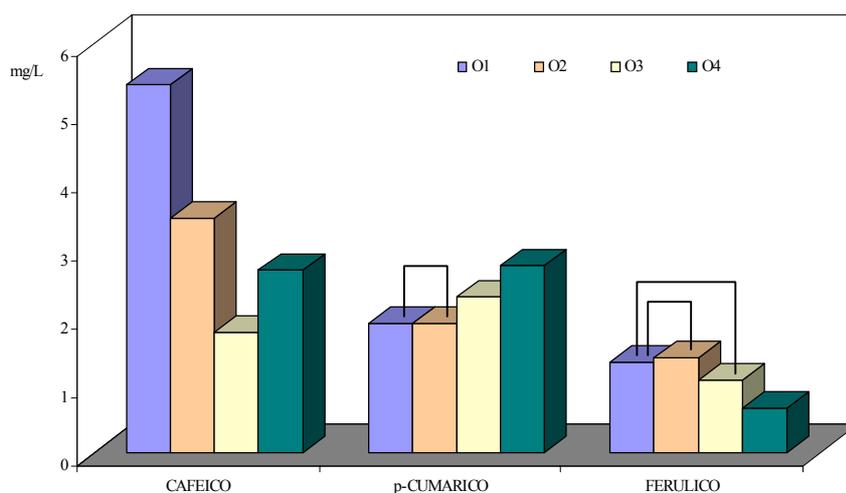


Figura 63. Contenidos en ácidos hidroxicinámicos de las muestras de vinos comerciales tipo “oloroso”.

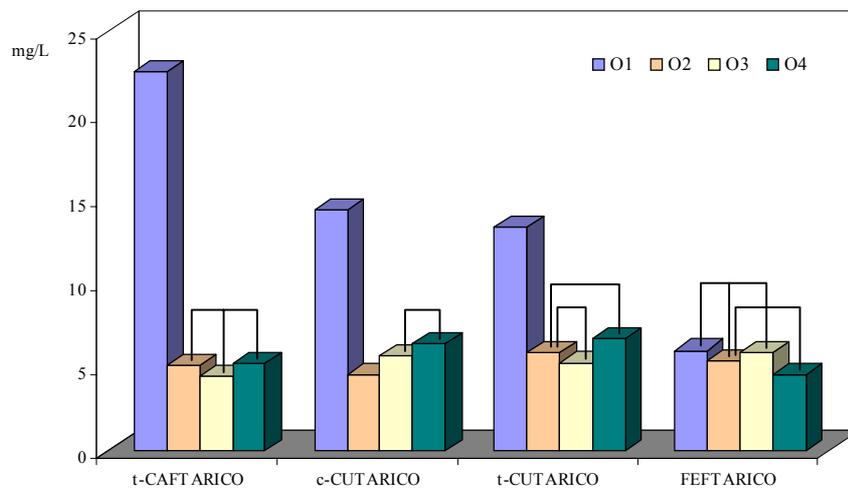


Figura 64. Contenidos en ésteres hidroxicinámicos de las muestras de vinos comerciales tipo “oloroso”.

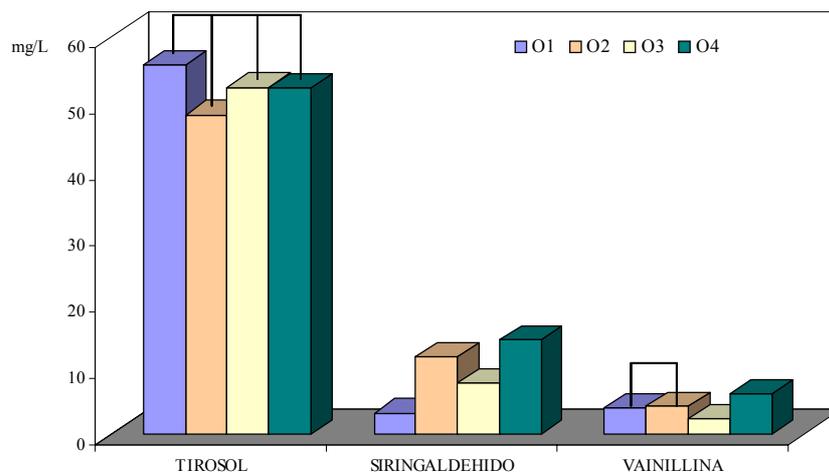


Figura 65. Contenidos en alcoholes y aldehídos hidroxibenzoicos de las muestras de vinos comerciales tipo “oloroso”.

De los aldehídos hidroxibenzoicos (Figura 65), el siringaldehído es el de mayor concentración, excepto en la marca O1, llegando a alcanzar 14.3 mg/L en O4 y, además, presenta diferencias significativas en todas las marcas con la formación de 4 grupos homogéneos a un nivel de confianza del 99.9%. La vainillina es el aldehído que presenta una menor concentración, siendo la marca O3, con un valor de 2.28 mg/L la que presenta los contenidos más bajos. En relación al tirosol, alcohol hidroxibenzoico, éste no presenta diferencias significativas entre ninguna de las marcas, variando su concentración entre 48.2 y 55.9 mg/L, siendo el compuesto mayoritario en todas las marcas de vinos comerciales estudiadas y mostrando con su homogeneidad su origen fermentativo.

Por su parte, en lo que concierne a los derivados monómeros de flavan-3-ol (Figura 66), se puede apreciar que la (+)-catequina es el que presenta mayor concentración en todas las marcas de vino llegando a alcanzar 38.3 mg/L en la marca O1, no mostrando diferencias significativas entre las restantes marcas.

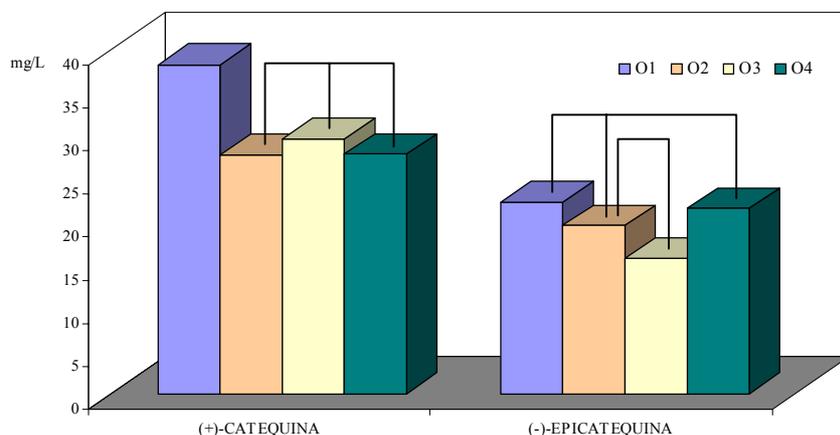


Figura 66. Contenidos en derivados monómeros de flavan-3-ol de las muestras de vinos comerciales tipo “oloroso”.

Respecto a los derivados dímeros de flavan-3-ol (Figura 67), se observa que la procianidina B1 es la mayoritaria en todas las marcas, llegando a alcanzar un contenido en torno a 27 mg/L en las marcas O1 y O4. Por el contrario, la procianidina B4 es la de menor concentración en las distintas marcas, con un contenido de 3.35 mg/L en O2, que es la que presenta menos concentración. Ambas procianidinas tienen la característica común de que forman 2 grupos homogéneos idénticos, uno constituido por las marcas O1 y O4 y, el otro, por O2 y O3, con un nivel de confianza del 99.9%. También se puede apreciar que las procianidinas B2 y B3 presentan concentraciones similares, pero mientras la primera no muestra diferen-

cias significativas entre las distintas marcas, la segunda sólo la presenta en la marca O3, con un contenido algo inferior a las restantes marcas.

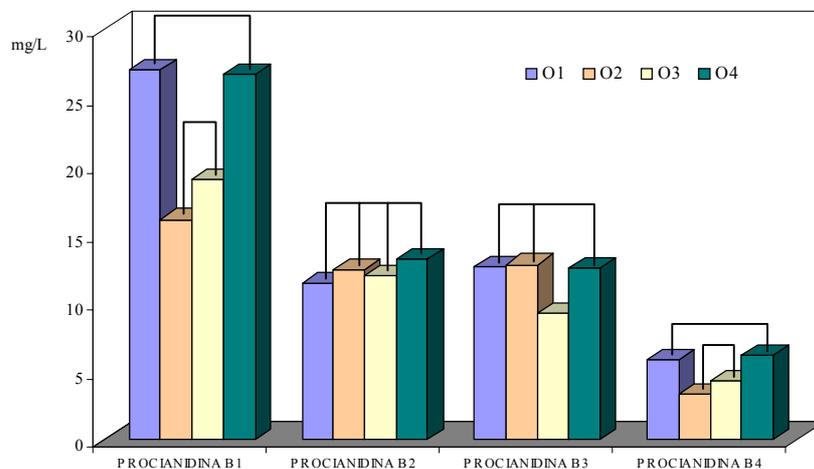


Figura 67. Contenidos en derivados dímeros de flavan-3-ol de las muestras de vinos comerciales tipo “oloroso”.

Entre los compuestos no identificados (Figuras 68 y 69), los “picos agrupados” son los que más sobresalen por su alta concentración en todas las marcas, variando entre 90.8 mg/L en la marca O1 y 133 mg/L en O4 y, a continuación, el pico 3, cuya concentración oscila entre 36.5 mg/L en la marca O2 y 49.7 mg/L en O4. Es de resaltar que tanto los denominados “picos agrupados” como el pico 3 muestran concentraciones elevadas respecto al resto de compuestos fenólicos, lo cual debe explicarse por la relación de estos compuestos con los procesos de oxidación y polimerización que tienen lugar durante la crianza oxidativa del vino. Por el contrario, el compuesto que muestra la concentración más baja, exceptuando la marca O1, es el pico 6, que oscila entre 0.538-0.940 mg/L. Por otro lado, hay que destacar que los “picos agrupados” presentan diferencias significativas entre los contenidos de todas las marcas, con la consiguiente formación de 4 grupos homogéneos a un nivel de confianza del 99.9%, siendo el pico 1 el único que no presenta diferencias significativas entre las diversas marcas, con una concentración en torno a 5 mg/L. Asimismo, destaca que los contenidos en picos agrupados de las marcas O2 y O4 son los mayores de las marcas estudiadas y sólo se diferencian en un 12%. Sin embargo, el pico 3, que también presenta máxima concentración en la marca O4, muestra una diferencia de más del 24% respecto a la de la marca O2.

A este respecto hay que recordar los diferentes contenidos en azúcares reductores presentes en las marcas O2 y O4, mucho más bajos en la O2, y, además, que el pico 3, como hemos indicado anteriormente, puede tratarse de un derivado del furfural, por lo que la adición de productos de caramelización y/o vinos más oscuros a la marca O4 acentúa las diferencias entre ambas marcas, no sólo en el parámetro correspondiente a azúcares reductores, sino también en el contenido del denominado pico 3, no observándose, lógicamente, esta gran diferencia en la A420, ya que éste pico no absorbe a esta longitud de onda, como se ha podido comprobar por su espectro, corroborándose, asimismo, en los cromatogramas realizados cuando se ha llevado a cabo la detección de dicho compuesto a la mencionada longitud de onda.

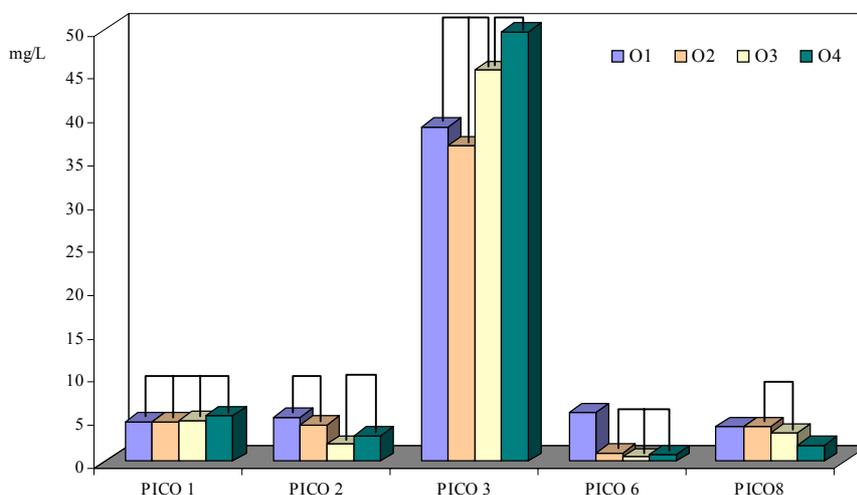


Figura 68. Contenidos en compuestos no identificados de las muestras de vinos comerciales tipo “oloroso”.

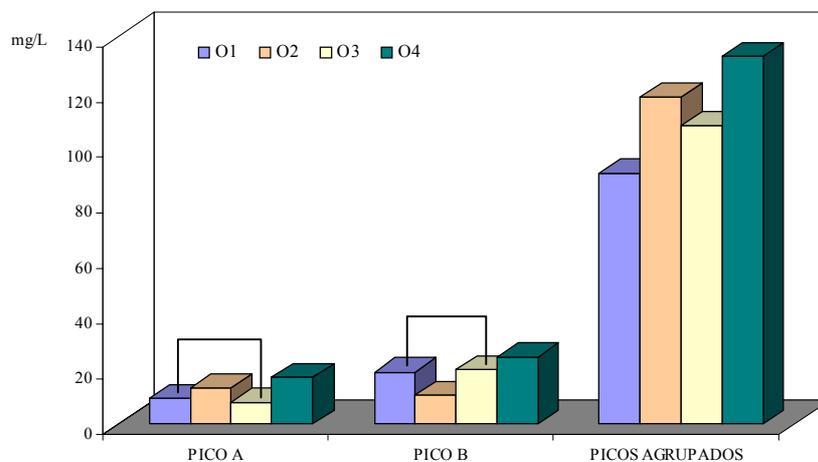


Figura 69. Contenidos en compuestos no identificados (cont.) de las muestras de vinos comerciales tipo “oloroso”.

Con referencia a los flavonoles hay que indicar que no se han detectado cantidades apreciables ni de quercetina, ni de los derivados monoglicosilados de la misma, es decir, quercetín-3-galactósido y quercetín-3-glucósido, en ninguno de los vinos comerciales.

Al igual que se hizo en el capítulo anterior y al objeto de observar el comportamiento de los compuestos fenólicos flavonoides y no flavonoides, por separado, se ha efectuado un nuevo Análisis Multivariante de Componentes Principales a fin de determinar los compuestos fenólicos de baja y alta masa molecular que mejor diferencian las cuatro marcas de vinos sometidas a estudio. La Figura 70 muestra los autovectores correspondientes a los distintos compuestos estudiados (compuestos de estructura no flavonoide) y las puntuaciones de cada uno de los triplicados de las marcas de vinos consideradas en el plano definido por las dos primeras componentes. Estas dos componentes representan el 91.5% de la varianza total.

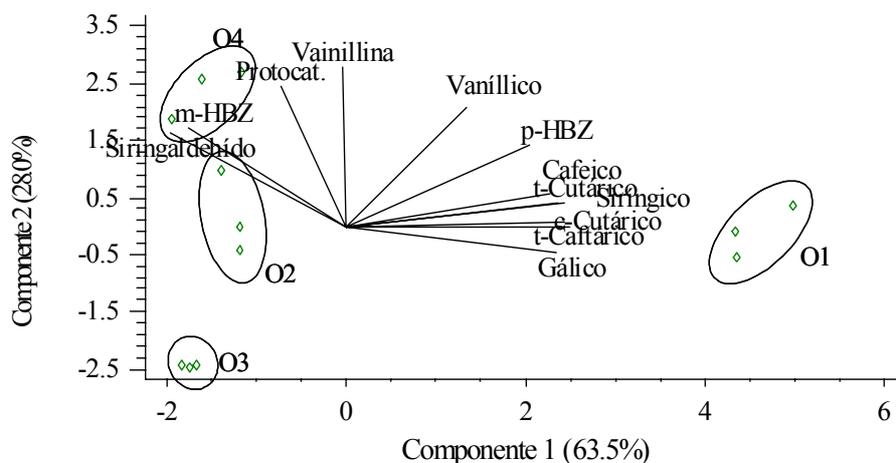


Figura 70. Representación de las puntuaciones de las muestras y los factores de carga de las distintas variables en el plano formado por las dos componentes principales.

Se observa que los compuestos que tienen mayor peso sobre la primera componente (63.5%) son el *c*-cutárico, cafeico, gálico, *p*-hidroxibenzoico, siríngico, *t*-caftárico, *t*-cutárico y vanillico (con signo positivo), así como el *m*-hidroxibenzoico y siringaldehído (con signo negativo). Respecto a la segunda componente (28.0%), tienen más peso el protocatéquico y la vainillina, ambos con signo positivo.

Asimismo, se puede apreciar la formación de cuatro grupos homogéneos en el plano anteriormente definido, que se corresponden cada uno de ellos con una marca de vino diferente. Estos grupos se han separado principalmente respecto a la componente 2, es decir, en función de los compuestos con mayor influencia sobre dicha componente, como son el protocatéquico y la vainillina. De este modo, mientras el grupo correspondiente a la marca O4 se sitúa en el eje de esta componente con valor positivo, el correspondiente a la marca O3 lo hace con valor negativo, situándose los grupos correspondientes a las marcas O1 y O2 con puntuaciones similares sobre el mismo eje.

Respecto a la primera componente, los grupos que se corresponden con las marcas O2, O3 y O4 apenas se han separado, y al igual que en el caso de los parámetros generales y de color, sí lo hacen con respecto al grupo que contiene a la marca O1. Así, los autovectores correspondientes a los compuestos *c*-cutárico, cafeico, gálico, *p*-hidroxibenzoico, siríngico, *t*-caftárico, *t*-cutárico y vanillico están en el mismo sentido al grupo de la marca O1, indicando que estos compuestos tienen mayores valores en O1, y por el contrario, los autovectores correspondientes a *m*-hidroxibenzoico y siringaldehído se orientan a las marcas O2, O3 y O4.

En relación al análisis multivariante de componentes principales para los compuestos fenólicos flavonoides, compuestos de mayor masa molecular, y algunos compuestos no identificados, se han considerado aquéllos que, como puede observarse en la Tabla 8, presentan diferencias significativas entre sus contenidos para algunas de las marcas comerciales y, además, muestran una evolución correlacionada con el tiempo de envejecimiento químico, como ya se puso de manifiesto en el estudio de las escalas en bodega. Por lo tanto, se han elegido para este estudio estadístico los derivados monómeros y dímeros de flavan-3-ol y los compuestos no identificados pico 3 y picos agrupados. La Figura 71 muestra los autovectores correspondientes a los distintos compuestos estudiados en el plano definido por las dos primeras componentes que en conjunto explican el 73.4% de la varianza total del proceso. No obstante esta última cifra, el reparto de varianza similar entre las dos componentes conduce a una observación menos clara de los comportamientos.

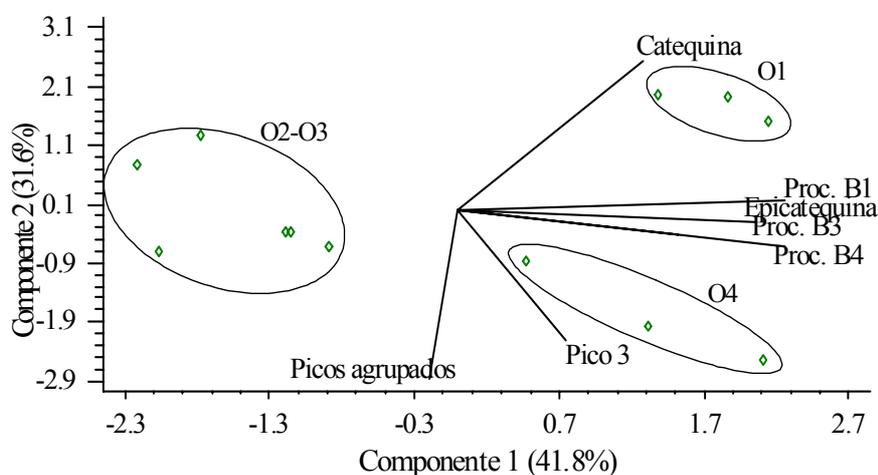


Figura 71. Representación de las puntuaciones de las muestras y los factores de carga de las distintas variables en el plano formado por las dos componentes principales.

Se puede apreciar que los compuestos con más peso sobre la primera componente (41.8%) son las procianidinas B1, B3 y B4, y la (-)-epicatequina, todos con signo positivo. Sin embargo, sobre la componente 2 (31.6%) tienen mayor peso la (+)-catequina (con signo positivo) y los picos agrupados y pico 3 (ambos con signo negativo).

En la misma Figura se muestran las puntuaciones de cada uno de los triplicados de las muestras de los distintos vinos estudiados, observándose, en el plano formado por las dos componentes principales, la división de las muestras en tres grupos homogéneos, uno de los cuales contiene las muestras de los vinos comercia-

les O2 y O3, separado principalmente respecto a la componente 1, de los grupos de muestras que engloban a las marcas de vino O4 y O1, ambos caracterizados por tener los más altos valores en los compuestos (-)-epicatequina, y las procianidinas B1, B3 y B4, mientras que a las muestras correspondientes a los vinos O2 y O3 les corresponden valores pequeños en estos compuestos. Es de resaltar que la separación de los grupos O1 y O4 se da a través de la componente 2, donde los autovectores correspondientes a los compuestos pico 3 y picos agrupados, ambos con signo negativo, están más cercanos a las muestras del vino O4, siendo, por tanto, el vino O4 el de mayores contenidos y O1, por el contrario, el que presenta valores más bajos, mientras que el autovector correspondiente a la (+)-catequina, con signo positivo, se aproxima más a las muestras del vino O1. A este respecto hay que indicar, de nuevo, que los altos contenidos en el pico 3 de las muestras del vino O4 están correlacionados con los altos contenidos en azúcares, hecho que diferencia claramente a las muestras del vino O2, que presenta valores más pequeños en este compuesto.

## 2.2. CONCLUSIONES

El análisis realizado sobre los resultados de las diversas determinaciones que se han efectuado en las marcas de vinos comerciales considerados, permite extraer las siguientes conclusiones:

✓ Todas las marcas de vino presentan valores significativamente diferentes en las medidas de pH, acidez titulable, acidez volátil y azúcares reductores, correspondiendo el mayor valor a la marca O4 en el pH y acidez volátil, y el menor a O1 en la acidez titulable, acidez volátil, azúcares reductores y graduación alcohólica, y sólo presenta ésta última mayor concentración en dióxido de azufre. Asimismo, la marca O1 es significativamente diferente al resto de las muestras de vinos de las diferentes marcas respecto a cada uno de los parámetros generales.

✓ La absorbancia medida a 520 nm es la única que da lugar a la formación de 4 grupos homogéneos y, por tanto, existen diferencias significativas entre todas las marcas de vino. La marca que presenta mayor absorbancia para todas las longitudes de onda es O1, siendo O3 la de menor absorbancia. Las marcas O2 y O4 muestran similares medidas en las absorbancias a 280 y 420 nm.

✓ Respecto a los contenidos de los compuestos fenólicos obtenidos por HPLC, indicar que de la fracción de ácidos fenólicos y ésteres de ácidos hidroxiciánicos, el *m*-hidroxibenzoico es el compuesto de mayor concentración, excepto en la marca O1, cuyo mayor valor corresponde a *t*-caftárico. Sólo los ácidos *p*-hidroxibenzoico y cafeico presentan diferencias significativas en todas las marcas, llegando a formar 4 grupos homogéneos, correspondiendo el mayor contenido a la marca O1, en el cafeico, y el menor a O3, en el *p*-hidroxibenzoico.

✓ La (+)-catequina es el derivado monómero de flavan-3-ol con mayor concentración. Asimismo, entre los derivados dímeros, la procianidina B1 es la de mayor contenido y la procianidina B4, la minoritaria.

✓ De entre los compuestos no identificados destacan por sus contenidos los “picos agrupados” y el pico 3, correspondiendo el contenido máximo a los primeros. Además, las marcas O2 y O4, procedentes del mismo grupo empresarial y con precios similares, presentan los máximos valores en los contenidos en picos agrupados, por lo que se pueden considerar, presumiblemente, como los de mayor crianza oxidativa.

### 2.3. APROXIMACIÓN DE UN MÉTODO PARA DETERMINAR LA EDAD DE VINOS TIPO “OLOROSO”

Una vez realizado el estudio de las escalas de vinos tipo “oloroso”, así como de vinos representativos del mismo tipo disponibles en botellas en el mercado, es interesante la posibilidad de buscar un modelo matemático para calcular lo más aproximadamente posible el tiempo real a que han estado sometidos los vinos comerciales a envejecimiento oxidativo, o en otras palabras, conocer la edad real de estos vinos, basándonos para este estudio en los resultados obtenidos con aquellas determinaciones analíticas no excesivamente complicadas de obtener. De esta forma, y con independencia de los tratamientos “de retoque” que se puedan aplicar, la edad real de envejecimiento debería corresponderse con el precio del mercado.

Así, el análisis de los resultados obtenidos en el primer capítulo de esta memoria determina las variables que más influyen en el proceso de envejecimiento oxidativo. En este sentido es importante recordar que los contenidos en fenoles totales, medidos como A280, así como las medidas de color en la zona del marrón y el rojo, A420 y A520 respectivamente, aumentan de manera importante sus valores a lo largo del envejecimiento. Este incremento también puede apreciarse, aunque no tan claramente, en los contenidos de etanol y, con alguna excepción, en los de acidez titulable y volátil. Estos aumentos pueden, en parte, ser razonablemente atribuidos a una concentración progresiva de los vinos que envejecen, como consecuencia de la pérdida de agua a través de los poros de la madera, debido al menor tamaño de sus moléculas respecto a las de etanol. Adicionalmente, el contenido en fenoles totales puede aumentar mediante el enriquecimiento del vino en compuestos fenólicos procedentes de la madera de roble, mientras que al aumento del color en las zonas del pardo y rojo contribuye, además, la formación de compuestos procedentes de la oxidación de fenoles, típica de la crianza oxidativa. Sin embargo, los contenidos de dióxido de azufre combinado muestran una tendencia a disminuir a lo largo del envejecimiento, como resultado de las habituales pérdidas de este compuesto en envejecimientos prolongados, manteniéndose más estables los contenidos de dióxido de azufre libre.

Con objeto de encontrar el modelo matemático que relacione variables y tiempo de envejecimiento, se realiza un primer análisis de regresión múltiple lineal utilizando como variables independientes todas aquellas determinaciones analíticas que son relativamente fáciles de obtener (A280, A420, A520, azúcares reductores, etanol, acidez volátil, dióxido de azufre libre y combinado, acidez titulable y pH), y como variable dependiente el tiempo de envejecimiento. Del mismo modo, a fin de simplificar el modelo anterior, se efectuaron sucesivos análisis de regresión múltiple, eliminando en cada uno de ellos la variable independiente de mayor valor de  $p$  entre todas las incluidas en la ecuación inmediatamente anterior, cuyo valor de este parámetro sea superior a 0.01, lo que muestra que no existe relación estadísticamente significativa entre dichas variables y la variable dependiente, a un nivel de confianza del 99%.

En la Tabla A de la siguiente página se recogen los valores de  $p$  y los coeficientes multiplicadores de las variables independientes en una ecuación de regresión del tipo:

$$\text{Tiempo} = \text{Cte} + \text{Coef.1} \times \text{Variable1} + \text{Coef.2} \times \text{Variable2} + \dots,$$

así como los valores de  $R^2$  correspondientes a cada ecuación.

A fin de estimar la edad de envejecimiento de los vinos comerciales embotellados estudiados aplicando los distintos modelos de regresión múltiple calculados, se consideran los resultados obtenidos en los vinos comerciales con las mismas variables independientes que en el caso de los vinos envejecidos en madera de roble de donde proceden (Tablas 5 y 6). Los tiempos de envejecimiento calculados mediante las distintas ecuaciones de regresión obtenidas anteriormente se muestran en la Tabla B de la página siguiente.

Los resultados obtenidos para los tiempos de envejecimiento (en años) muestran unos valores elevados con respecto a lo que sería razonable esperar. Ciertamente la edad de vinos comerciales podría ser mayor que la correspondiente a su tiempo real de envejecimiento en botas de roble, puesto que el proceso de envejecimiento continúa durante su permanencia en botella hasta su adquisición por el consumidor. Sin embargo, aún teniendo en cuenta la anterior consideración, los tiempos calculados siguen siendo excesivamente altos. Por otra parte, difícilmente se admite que los tiempos calculados para el vino de más bajo precio (O1) sean iguales o superiores a los correspondientes a algunos de los vinos de más alto precio.

TABLA A. COEFICIENTES MULTIPLICADORES Y VALORES DE  $p$  DE LAS VARIABLES INDEPENDIENTES PARA CADA ECUACIÓN CALCULADA.

		<b>Ecuación 1</b>	<b>Ecuación 2</b>	<b>Ecuación 3</b>	<b>Ecuación 4</b>	<b>Ecuación 5</b>
Constante	Coefficiente	-17.9	-18.2	-16.6	-23.5	-19.6
	$p$	0.0543	0.0375	0.0438	0.0002	0.0000
A420	Coefficiente	17.1	15.9	16.3	21.4	23.2
	$p$	0.0254	0.0102	0.0074	0.0000	0.0000
A520	Coefficiente	-24.2	-22.2	-22.9	-28.0	-27.8
	$p$	0.0184	0.0031	0.0019	0.0000	0.0000
Acidez Titulable	Coefficiente	0.103	0.093	0.085	0.122	0.093
	$p$	0.1118	0.0750	0.0878	0.0035	0.0001
Azúcares Reductores	Coefficiente	-0.355	-0.385	-0.432	-0.173	-0.219
	$p$	0.2164	0.1362	0.0891	0.0181	0.0003
Acidez Volátil	Coefficiente	0.290	0.295	0.255	0.343	0.296
	$p$	0.0376	0.0238	0.0277	0.0003	0.0000
pH	Coefficiente	2.62	2.47	2.16	3.21	2.32
	$p$	0.1168	0.0987	0.1251	0.0071	0.0002
Sulfuroso Combinado	Coefficiente	-0.0255	-0.0266	-0.0305	-0.0117	-
	$p$	0.2667	0.2153	0.1490	0.3224	-
A280	Coefficiente	0.280	0.316	0.350	-	-
	$p$	0.4276	0.3216	0.2669	-	-
Sulfuroso Libre	Coefficiente	-0.101	-0.106	-	-	-
	$p$	0.4161	0.3619	-	-	-
Grado Alcohólico	Coefficiente	-0.084	-	-	-	-
	$p$	0.7362	-	-	-	-
Coeficiente de determinación, $R^2$		0.9996	0.9996	0.9995	0.9994	0.9994

TABLA B. TIEMPO DE ENVEJECIMIENTO CALCULADO (AÑOS)

	<b>Ecuación 1</b>	<b>Ecuación 2</b>	<b>Ecuación 3</b>	<b>Ecuación 4</b>	<b>Ecuación 5</b>
O1	24.4±0.082	24.4±0.079	25.4±0.078	21.8±0.047	24.3±0.054
O2	22.3±0.170	22.1±0.174	22.4±0.181	21.4±0.136	22.1±0.180
O3	12.5±1.36	12.0±1.40	11.5±1.49	14.4±0.707	14.3±0.701
O4	18.9±0.356	18.4±0.340	18.1±0.367	20.0±0.405	20.2±0.470

A pesar de los insatisfactorios resultados obtenidos al aplicar el modelo de envejecimiento en madera a vinos comerciales, la progresiva eliminación de variables en las ecuaciones de regresión calculadas, muestra que las variables más influyentes en el modelo considerado resultan ser las absorbancias medidas a 420 y 520 nm. Además, como hemos considerado anteriormente, en esta zona del espectro absorben productos coloreados, tales como los que resultan de la oxidación de compuestos fenólicos, característicos del envejecimiento oxidativo.

Autores tales como Oszmianski *et al.* (1996) trabajando en la oxidación de catequina-Fe<sup>2+</sup> en disoluciones modelo, muestran la formación de compuestos coloreados eluidos en HPLC a altos tiempos de retención. Asimismo, Fabios *et al.* (2000) encuentran que el envejecimiento oxidativo de vinos olorosos provoca un aumento en la concentración de compuestos que absorben a 420 nm y que eluyen en cromatografía líquida a tiempos de retención similares a los encontrados por los autores anteriormente mencionados. Considerando la posible relación entre tiempo de envejecimiento y la concentración de productos coloreados procedentes de la oxidación de fenoles (a los cuales hemos denominado “picos agrupados”), se realiza el estudio estadístico entre el tiempo de envejecimiento (en años) y el contenido en estos compuestos, los cuales fueron cuantificados en el Capítulo I (para las escalas de vinos olorosos) y en el Capítulo II (para los vinos comerciales) mediante inyección directa en HPLC, tanto en los vinos envejecidos en madera de roble como en los comerciales (Tablas 3 y 7 respectivamente).

Para obtener el modelo matemático que relaciona esta variable con el tiempo de envejecimiento se realiza un análisis de regresión simple entre éste y la concentración de picos agrupados obtenidos a diferentes niveles de envejecimiento, resultando que el modelo que presenta mayor coeficiente de determinación ( $R^2=0.935$ ) corresponde a la siguiente ecuación lineal:

$$Tiempo = -5.76 + 0.1666 \times [Picos Agrupados]$$

lo que da un coeficiente de correlación de 0.967, mostrando además un alto nivel de confianza, >99.9%.

Usando esta ecuación se calculan los tiempos de envejecimiento de los cuatro vinos comerciales estudiados. Los resultados se muestran en la siguiente tabla y se representan en la Figura 72.

	<i>Tiempo calculado (años)</i>
Vino comercial O1	9.36 ± 0.721
Vino comercial O2	13.9 ± 0.769
Vino comercial O3	12.1 ± 1.07
Vino comercial O4	16.3 ± 1.01

Los resultados muestran tiempos de envejecimiento inferiores a los obtenidos con los modelos anteriores de regresión múltiple, con valores para los vinos O2 y O3 similares a los que presentan los últimos estadios de envejecimiento en barriles de roble.

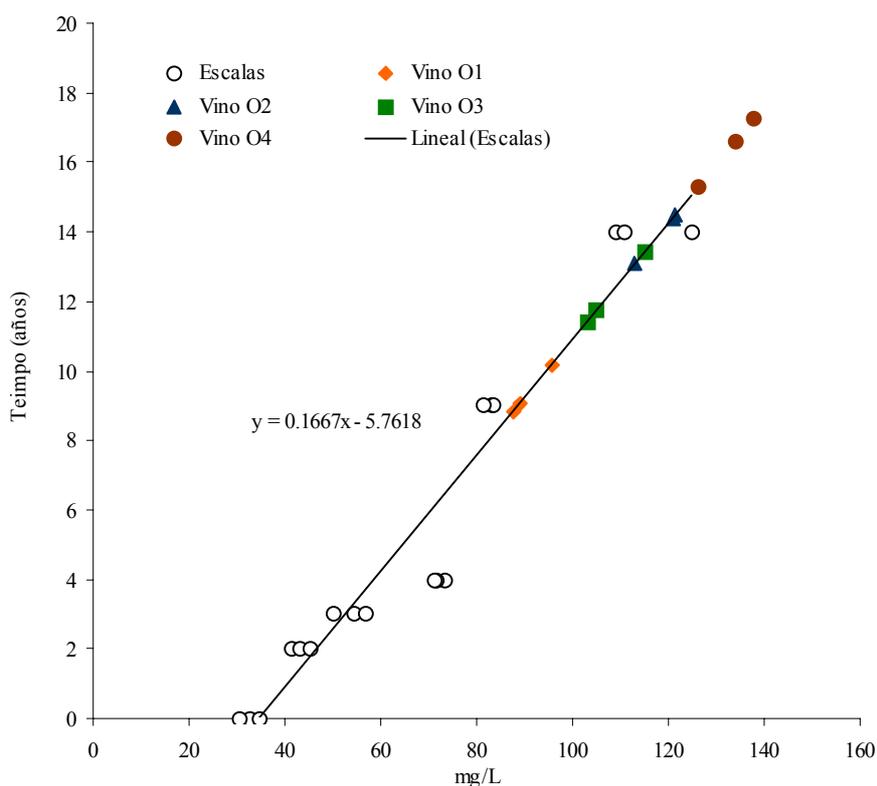


Figura 72. Regresión lineal de Tiempo de envejecimiento-Concentración de Picos Agrupados para las escalas de vinos olorosos y tiempo de envejecimiento de las cuatro marcas comerciales para dicha ecuación.

En vista de los resultados obtenidos, se puede considerar que para vinos olorosos sometidos a envejecimiento oxidativo, la estimación del tiempo de envejecimiento de vinos comerciales utilizando determinaciones enológicas generales no parece ajustarse bien al modelo calculado sobre vinos que envejecen en madera de roble. En parte, la explicación de esta desviación puede ser atribuida razonable-

mente al tiempo de permanencia del vino en el mercado después del embotellado, como anteriormente se ha comentado. Además, debe indicarse que sobre algunos de estos vinos se realiza la práctica industrial, ya indicada con anterioridad, consistente en la adición de productos de caramelización con objeto de comunicarles un ligero sabor dulce. Puesto que estos productos muestran color en la misma zona del espectro que lo hacen los “picos agrupados”, debe esperarse un aumento de las absorbancias medidas en la zona visible que, realmente, no corresponde a tiempos de envejecimiento más prolongados.

Sin embargo, usando el modelo de regresión lineal obtenido a partir de la concentración de los “picos agrupados”, los tiempos estimados deben ser menores porque las absorbancias en el espectro visible no son consideradas en este modelo, siendo, por ello, mucho más específico de los cambios ocurridos durante el envejecimiento oxidativo. Obviamente, este modelo también considera el tiempo de permanencia del vino en el mercado después del embotellado, lo cual puede ser objeto de crítica el hecho de suponer que la evolución de los productos de oxidación durante el tiempo de permanencia del vino en botella es similar a la correspondiente a su envejecimiento en madera, fundamentalmente en lo que respecta a la velocidad del proceso. No obstante, los resultados obtenidos deben considerarse como una primera aproximación al verdadero valor de permanencia en bota, ya que también resultan elevados.

### 3. ESTUDIO DEL PROCESO DE OXIDACIÓN QUÍMICA DEL VINO EN BOTAS DE MADERA DE ROBLE.

En el presente capítulo se estudia la evolución del llamado vino del año, ya encabezado, a través del envejecimiento oxidativo en botas de madera de roble en el laboratorio en condiciones forzadas mediante el control de la temperatura, con el objetivo de intentar acortar el tiempo de envejecimiento de vinos con características analíticas similares a los obtenidos en bodega.

#### 3.1. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A fin de interpretar correctamente los resultados ha de destacarse en primer lugar que como consecuencia de las reducidas dimensiones de la habitación, 2x2x2 m, donde se llevan a cabo las experiencias de oxidación química en las botas de madera, se producen corrientes de convección que hacen que el vino situado a un nivel superior, bota B, se encuentre a una temperatura ligeramente mayor que los situados en nivel inferior, botas A y C, siendo más acentuado este hecho en la segunda fase de la experiencia, es decir, cuando la temperatura del sistema de calefacción se mantiene fija a 30°C, llegándose a medir diferencias de hasta 2°C.

La Tabla 9 muestra los valores de las diferentes determinaciones generales realizadas sobre las muestras de vino de cada una de las botas de roble americano sometidas a estudio, para cada tiempo de envejecimiento. Asimismo, en las Figuras 73 a 80 se representan mediante líneas estos datos, para cada uno de los parámetros generales y botas considerados.

En la Figura 73 se muestra la variación del pH del vino de cada bota a lo largo del envejecimiento, observándose un comportamiento parecido en las tres botas,

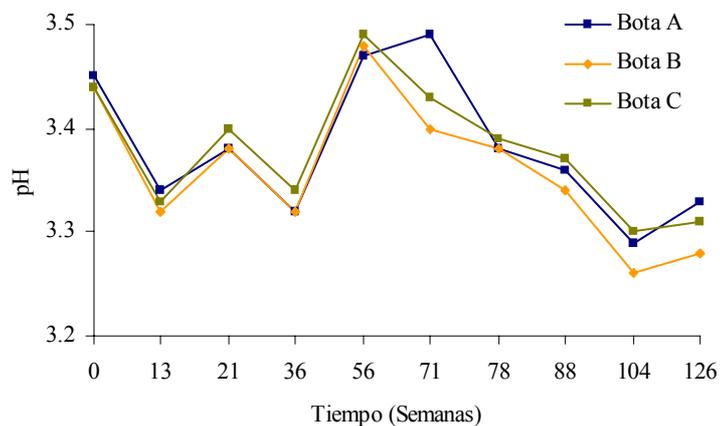


Figura 73. pH de las muestras de vinos sometidos a crianza oxidativa en botas de roble.

si bien en el período comprendido entre las semanas 56 y 78 disminuyen continuamente los valores de las botas B y C, mientras que el valor de la bota A experimenta un aumento a las 71 semanas (3.49) para después disminuir prácticamente al mismo valor (3.38) que las otras dos botas. Esta disminución continúa hasta el final del envejecimiento donde las tres botas presentan valores inferiores, en torno a 3.30, respecto al valor inicial (3.44). Hay que destacar que al final de la 1ª fase de la experiencia (71 semanas), en la que se ha sometido al vino a variaciones de temperatura de 15-30°C, sólo ha aumentado el valor de la bota A (3.49) con respecto al vino inicial, disminuyendo el de la bota B (3.40), mientras que a la conclusión de la 2ª fase (126 semanas), realizada a temperatura constante de 30°C, se observa una disminución de los valores en las tres botas con respecto al final de la fase anterior.

La Figura 74 muestra la evolución de la graduación alcohólica, igualmente, a través del envejecimiento, oscilando entre 18-19.3% (v/v). Se puede observar un

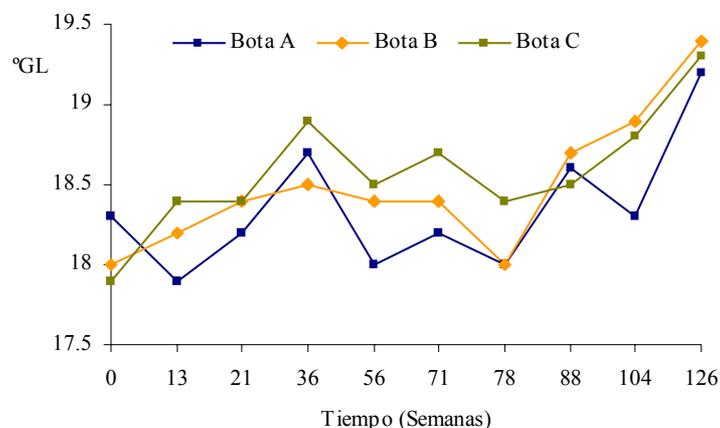


Figura 74. Grado alcohólico de las muestras de vinos sometidos a crianza oxidativa en botas de roble.

aumento en las tres botas respecto al valor inicial (en torno a 18°GL), a las 36 semanas, alcanzando unos valores en torno a 18.7°GL, con una disminución posterior a 18-18.4°GL al cabo de las 78 semanas y llegando a alcanzar un valor en torno a 19.3°GL al final del envejecimiento. Las dos fases de la experiencia se distinguen netamente, con valores ligeramente superiores, en torno a 18.5°GL, al término de la primera fase, mientras que el incremento que se produce en las tres botas a las 126 semanas, es acusadamente más alto, como consecuencia de la mayor evaporación de agua a temperatura constante de 30°C.

La variación de la acidez titulable a lo largo del envejecimiento estudiado, se muestra en la Figura 75. Se aprecia un continuo aumento de los valores de este parámetro en los vinos de las tres botas que, partiendo inicialmente de un valor en torno a 79.2 meq/L, llega a alcanzar un valor en torno a 98.4 meq/L en las botas A

y C, mientras que para la bota B el incremento es más pronunciado con un valor final de 109 meq/L, que representa un aumento del 38% sobre el vino inicial. Como se puede observar, se produce un aumento similar para las tres botas en la 1ª fase de la experiencia, con un valor en torno a 90 meq/L, siendo el incremento prácticamente idéntico en la 2ª fase, excepto para la bota B, que es más pronunciado, presumiblemente de nuevo como consecuencia de la superior temperatura alcanzada en esta bota durante la 2ª fase.

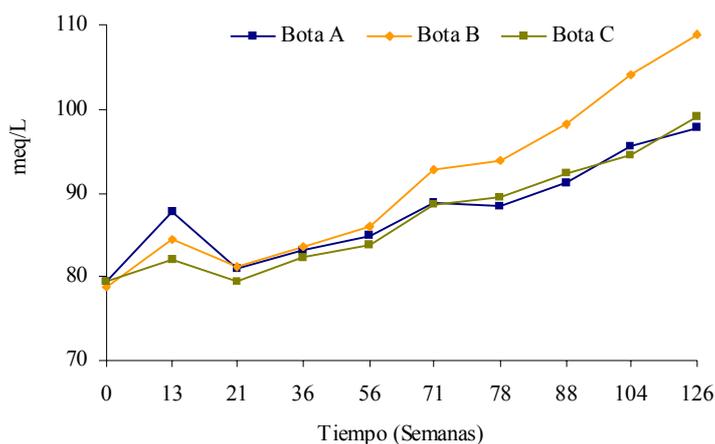


Figura 75. Acidez titulable (meq/L) de las muestras de vinos sometidos a crianza oxidativa en botas de madera de roble.

La Figura 76 muestra la variación de la acidez volátil a través del envejeci-

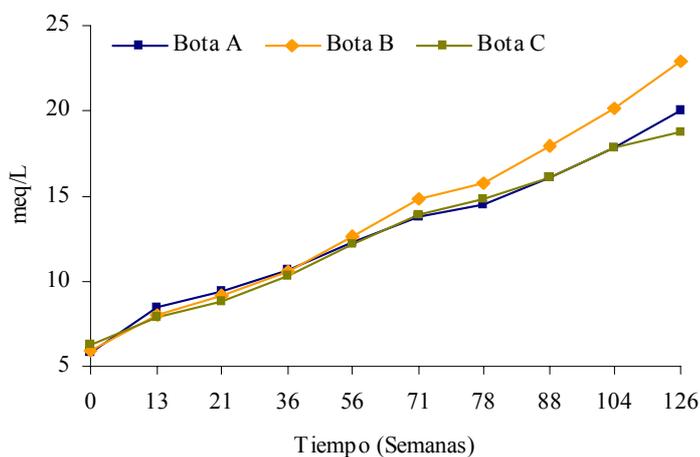


Figura 76. Acidez volátil (meq/L) de las muestras de vinos sometidos a crianza oxidativa en botas de madera de roble.

miento oxidativo, observándose un progresivo aumento de éste parámetro, típico de esta crianza, y ya apuntado en el capítulo de envejecimiento en bodega. Así, a partir de un valor inicial para las tres botas en torno a 6 meq/L, se obtiene un incremento algo superior al 100% a las 56 semanas, con un valor en torno a 12.4 meq/L, teniendo todos los vinos un comportamiento casi idéntico. A partir de aquí, el vino de la bota B se comporta de manera algo diferente, incrementándose su valor casi en un 300% al final del envejecimiento (22.9 meq/L), mientras que los vinos de las botas A y C alcanzan unos aumentos algo inferiores, del 240% (20.0 meq/L) y 200% (18.8 meq/L), respectivamente. También se aprecia que la bota B aumenta sus valores de manera más pronunciada que los de las botas A y C prácticamente a partir del inicio de la 2ª fase de la experiencia, mientras que en la fase anterior, caracterizada por las variaciones de temperatura a las que se somete el vino (15-30°C), las tres botas muestran unos incrementos similares.

La evolución de los valores de dióxido de azufre libre, combinado y total a lo largo del envejecimiento objeto de estudio, se muestra en las Figuras 77, 78 y 79. Como puede comprobarse, estos valores son inferiores en todas las muestras de cada una de las botas con respecto al vino inicial, comportándose de manera prácticamente igual los dióxidos de azufre combinado y total debido a que, como anteriormente se ha comentado, la mayor parte del dióxido de azufre presente en el vino está bajo forma combinada. Por el contrario, el dióxido de azufre libre tiene un comportamiento muy diferente, disminuyendo su valor inicial en torno a un 80% a las 13 semanas, con un contenido de 2.43 mg/L, y manteniéndose prácticamente constante hasta el final del envejecimiento.

Esta disminución tan importante en la concentración de dióxido de azufre libre en las primeras semanas de envejecimiento tiene lugar como consecuencia de que, al igual que en el caso del vino de las escalas de oloroso estudiadas, la forma libre se combina con el acetaldehído obtenido en la reacción de oxidación del etanol. Asimismo, disminuyen progresivamente a lo largo del envejecimiento los valores de los dióxidos de azufre combinado y total, probablemente debido a que la forma combinada repone a la forma libre, perdiéndose aquélla en el transcurso del envejecimiento, por lo que su contenido es repuesto mediante la adición de dióxido de azufre, tal y como se observa en algunas fases del envejecimiento, apreciándose los mayores descensos a partir de las 40 semanas, momento en el cual se reduce la dosis de mantenimiento.

Por otro lado, respecto al dióxido de azufre libre se puede comprobar en la Figura 77 que la mayor disminución respecto al vino inicial (en torno a 12.5 mg/L) se produce durante la 1ª fase de la experiencia, llegándose a alcanzar al término de ésta (71 semanas) un contenido de 2.26 mg/L, mientras que a lo largo de la 2ª fase, dicho valor se mantiene sin diferencias significativas, con un contenido final de 2.49 mg/L a las 126 semanas. Asimismo, los dióxidos de azufre combinado y total disminuyen durante la 1ª fase, en la cual alcanzan al final un valor en torno a 37,5

mg/L para éste último, pero, sin embargo, y al contrario que en el caso del dióxido de azufre libre, los contenidos no se mantienen constantes a lo largo de la 2ª fase, llegándose a alcanzar al final de ésta un valor de 22 mg/L.

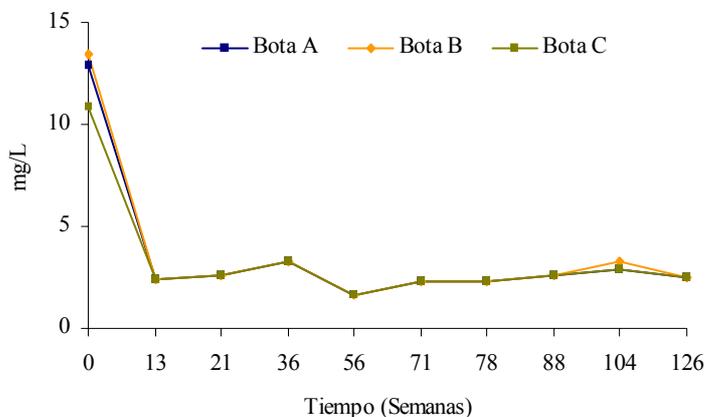


Figura 77. Dióxido de azufre libre (mg/L) de las muestras de vinos sometidos a crianza oxidativa en botas de madera de roble.

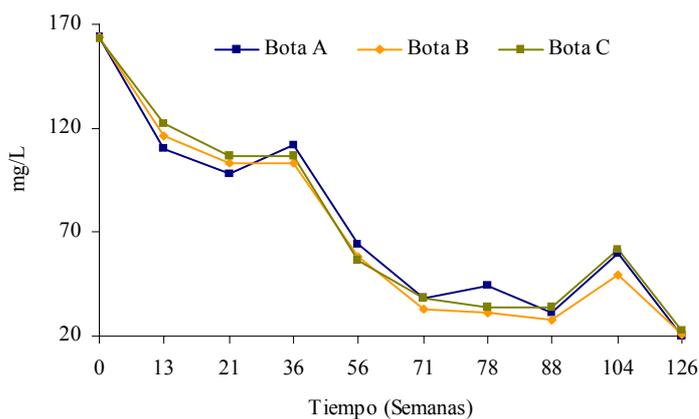


Figura 78. Dióxido de azufre combinado (mg/L) de las muestras de vinos sometidos a crianza oxidativa en botas de madera de roble.

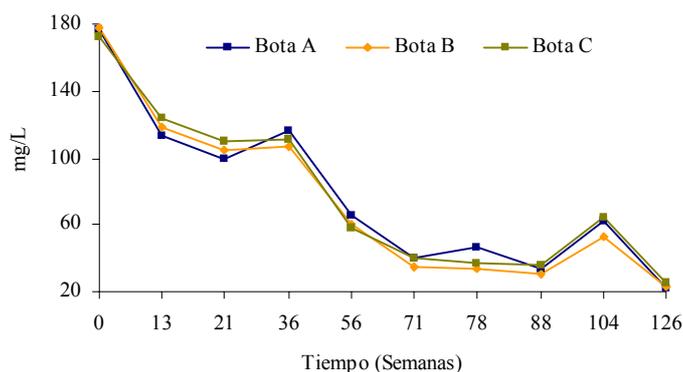


Figura 79. Dióxido de azufre total (mg/L) de las muestras de vinos sometidos a crianza oxidativa en botas de madera de roble.

En la Figura 80 se muestra la variación de la concentración de azúcares reductores en el transcurso del envejecimiento considerado. Se puede observar un comportamiento análogo en las tres botas, mostrando en ciertos momentos la bota

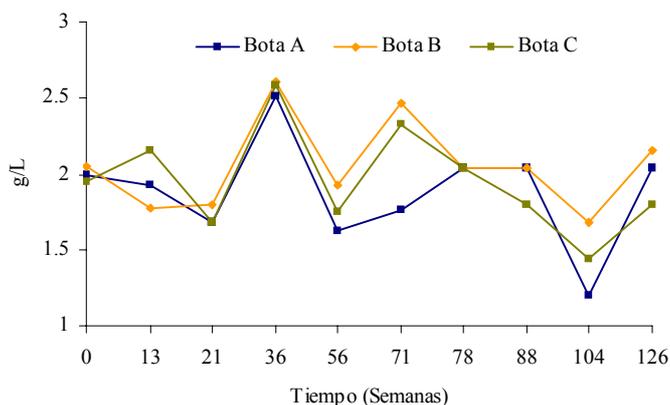


Figura 80. Contenido en azúcares reductores (g/L) de las muestras de vinos sometidos a crianza oxidativa en botas de madera de roble.

A alguna desviación respecto a las dos primeras. Dicho comportamiento muestra cierta irregularidad, probablemente debido al error experimental, aunque partiendo de un contenido inicial en torno a 2 g/L, se llega prácticamente al mismo valor al final del envejecimiento, lo que parece confirmar la ausencia aparente de relación de este parámetro con el tiempo de envejecimiento de cada uno de los vinos estudiados. Asimismo, se aprecia que el contenido al término de la 1ª fase, en torno a 2.2 g/L, no muestra diferencias significativas con respecto al vino inicial y al resultado obtenido a las 126 semanas, fin de la 2ª fase.

En cuanto a las cifras de las medidas espectrofotométricas, las Tablas 10, 11 y 12 muestran los valores de absorbancia a 280, 420 y 520 nm del triplicado de las muestras de vinos sometidos a envejecimiento oxidativo en madera de roble, para cada bota y tiempo de envejecimiento, obteniéndose, además, los valores medios y desviaciones estándar. En las Figuras 81, 82 y 83 se representan los valores medios, para cada bota, de la A280, A420 y A520, respectivamente, indicándose los incrementos porcentuales de las absorbancias de los vinos con un tiempo de envejecimiento de 71 y 126 semanas (fin de la 1ª y 2ª fases de las experiencias respectivamente) con respecto a la del vino inicial.

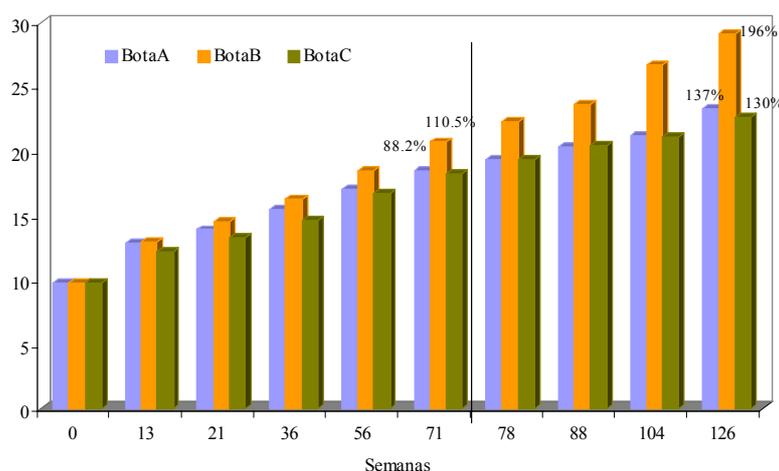


Figura 81. Absorbancia a 280 nm de las muestras de vino durante la oxidación química en botas de madera de roble.

Como se puede observar, la absorbancia a 280 nm, como medida del contenido en polifenoles totales, aumenta progresivamente con el tiempo de envejecimiento para cada una de las botas, siendo la bota B la que experimenta el mayor incremento duplicando su valor con respecto al vino inicial (9.83 u.a.) al término de la 1ª fase de la experiencia (71 semanas), llegando a alcanzar un nivel de 20.7 u.a., lo que implica un aumento del 110.5%. Esta evolución ascendente continúa en la 2ª fase (Tª constante de 30°) hasta llegar al final de la experiencia (126 semanas) con un aumento marcadamente mayor, del 196%, lo que se corresponde con un valor de 29.1 u.a. Por lo que respecta a las botas A y C, los incrementos de sus absorbancias a lo largo de la experiencia son sensiblemente menores en ambas con respecto a los de la bota B, sobre todo durante la 2ª fase, alcanzando al final de la experiencia niveles de 23.3 u.a. para la bota A y 22.6 u.a. para la C, con unos porcentajes respectivos del 137% y 130% con respecto al vino inicial, sensiblemente mayores que en la fase anterior que fueron de 88.2% y 85.2%. Se puede apreciar claramente que las dos fases se diferencian fundamentalmente en que el aumento porcentual producido en la absorbancia del vino de la bota B respecto al de las

botas A y C, durante la 2ª fase, es superior en algo más de un 60% al aumento producido durante la 1ª fase. A este respecto hay que señalar que la mayor extracción de compuestos fenólicos acaecidos en la bota B deben ser achacados a la diferencia de temperatura entre las botas, sobre todo en la 2ª fase de las experiencias. También es importante señalar que a lo largo de la 1ª fase, el mayor incremento tiene lugar a las 13 semanas del inicio del envejecimiento oxidativo con un porcentaje en torno al 30% para las tres botas, lo que parece indicar que es en este período de tiempo donde la velocidad de extracción de compuestos fenólicos es mayor y/o los productos de oxidación que se van formando tienen unos mayores coeficientes de absorptividad molar.

Respecto a la absorbancia a 420 nm (Figura 82), la bota B sigue siendo, al igual que en A280, la que experimenta el mayor incremento, sobre todo a lo largo

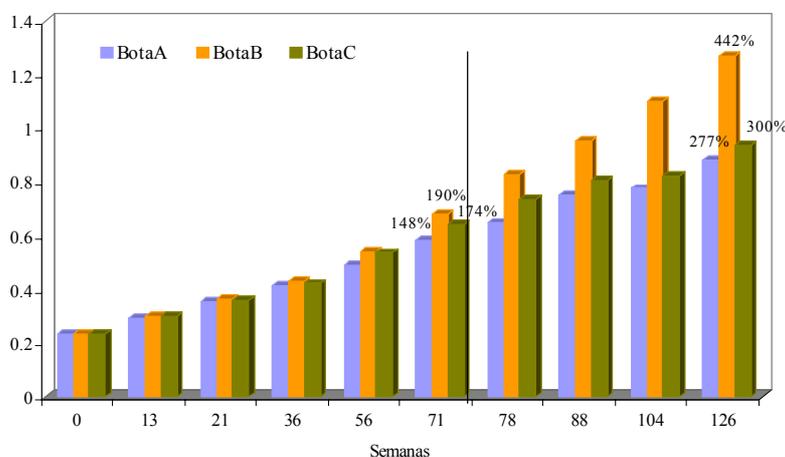


Figura 82. Absorbancia a 420 nm de las muestras de vino durante la oxidación química en botas de madera de roble.

de la 2ª fase de la experiencia, cuando la temperatura de las experiencias se mantiene constante a 30°C. Al cabo de las 126 semanas se alcanza un aumento del 442% respecto al vino inicial (0.234 u.a.), con un valor de 1.27 u.a., siendo los incrementos porcentuales correspondientes a las botas A y C notablemente menores, del 277% y 300% respectivamente, llegándose a alcanzar unos niveles de 0.882 u.a. para la bota A y 0.935 u.a. para la C. Durante la 1ª fase (15-30°C), la absorbancia aumenta progresivamente con el tiempo de envejecimiento, observándose que el mayor incremento tiene lugar, al igual que en el caso de la A280, en las primeras 13 semanas, con un aumento en torno al 27% en las tres botas, llegando a alcanzar a las 71 semanas, de nuevo la bota B, el mayor incremento porcentual respecto al vino inicial con un 190% y un nivel de 0.680 u.a. Las botas A y C experimentan incrementos sensiblemente menores, del 148% y 174%, respectivamente,

a los que corresponde unos valores de 0.582 u.a. para la primera y 0.642 u.a. para la segunda. Estas diferencias porcentuales hay que buscarlas en pequeñas diferencias de temperatura, en torno a décimas de grado durante 12 horas al día, como consecuencia de la disposición de las botas. Por otro lado, el aumento porcentual producido en la absorbancia del vino envejecido en la bota B, respecto al de las botas A y C, durante la 2ª fase de la experiencia (Tª constante de 30°C) vuelve a ser superior al incremento producido durante la 1ª fase (15-30°C), pero en este caso el aumento es mucho más acusado, en torno al 330%, lo cual hace distinguir principalmente estas dos fases, donde además hay que señalar que las diferencias de temperatura entre las botas es aún mayor que en la 1ª fase, en torno a 2°C superior en la bota B respecto a las botas A y C.

Similares razonamientos podemos realizar con los datos obtenidos para la absorbancia a 520 nm (Figura 83), donde el vino de la bota B experimenta el mayor incremento en relación al vino inicial (0.050 u.a.) con un aumento del 260% al final de la 1ª fase (71 semanas), alcanzando un valor de 0.180 u.a., y con un incremento a las 126 semanas del 630%, muy superior al obtenido en la anterior fase,

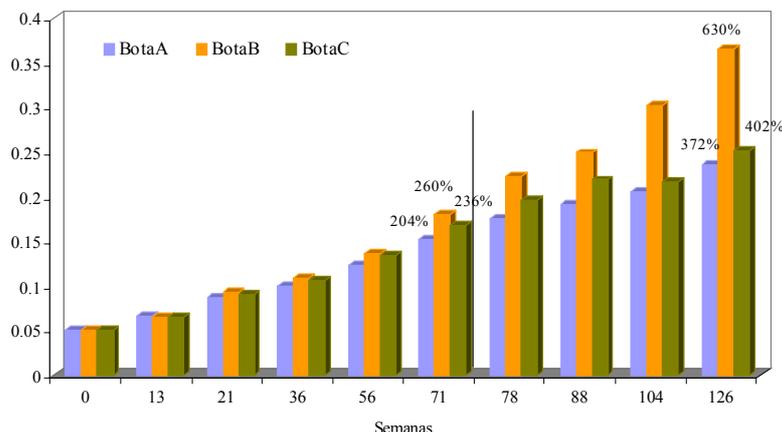


Figura 83. Absorbancia a 520 nm de las muestras de vino durante la oxidación química en botas de madera de roble.

llegando a alcanzar un nivel de 0.365 u.a. Sin embargo, el aumento que se produce en las botas A y C es sensiblemente menor al producido en la bota B, sobre todo en la 2ª fase de la experiencia, donde las diferencias son notablemente mayores. Así, a las 71 semanas la bota A incrementa su valor en un 204% y la bota C en un 236%, correspondiéndoles unos valores de 0.152 y 0.236 u.a., respectivamente, mientras que durante la 2ª fase los valores aumentan hasta alcanzar a las 126 semanas unos niveles de 0.236 u.a. en la bota A y 0.251 u.a. en la C, con unos incrementos porcentuales respectivos del 372% y 402%. Del mismo modo que en los dos casos anteriores, se puede observar una distinción clara entre las dos fases de la experien-

cia, siendo el incremento porcentual que se produce en la bota B respecto de las otras dos, a lo largo de la 2ª fase notablemente superior al producido durante la 1ª, correspondiéndole un aumento del 400%.

Por otra parte, con el objetivo de hacer un estudio mucho más exhaustivo de la evolución de la A280, A420 y A520 durante el envejecimiento oxidativo en las botas de madera de roble estudiadas, se han considerado todos los resultados obtenidos con las denominadas “muestras de seguimiento”, en las cuales sólo se determinaron dichos parámetros de color. Este estudio permite incrementar el nivel de confianza en el análisis estadístico que relaciona las variables espectrofotométricas con el proceso de envejecimiento.

Así, se ha llevado a cabo un análisis de regresión simple con los resultados de todas las muestras para cada bota estudiada de los parámetros de color, A280, A420 y A520 frente al tiempo de envejecimiento, representándose en las Figuras 84, 85 y 86, respectivamente, los modelos matemáticos obtenidos con el máximo coeficiente de determinación,  $R^2$ , que indica el porcentaje de variabilidad de los valores de absorbancia explicado por la variable tiempo. En las Tablas adjuntas a las gráficas se muestran los análisis de regresión efectuados. El cálculo de estos modelos muestra, además, el valor de  $p$ , y como en todos los casos  $p < 0.001$ , resulta una relación estadísticamente significativa entre cada una de las absorbancias estudiadas para cada bota y el tiempo de envejecimiento, a un nivel de confianza del 99.9%.

Como era de esperar, todas las absorbancias aumentan progresivamente con el tiempo de envejecimiento para cada una de las botas, siendo en todos los casos la absorbancia a las distintas longitudes de onda para la bota B notablemente superior a la de las botas A y C, excepto en el vino inicial, del que parten las tres botas. Asimismo se puede observar que la absorbancia a 280 nm para la bota A es muy similar a la de la bota C, mientras que para la A420 y A520, la bota C muestra valores sensiblemente superiores a los de la A.

En estas Figuras se puede observar que la mayoría de los modelos se ajustan a una ecuación lineal respecto a la variable tiempo. Sin embargo, según el análisis de regresión efectuado para la bota B respecto a la A420, el modelo matemático se ajusta mejor a una ecuación exponencial, puesto que su coeficiente de determinación es mayor que en el modelo lineal. Así, en la Figura 85 se representa para la bota B, y a la mencionada absorbancia a 420 nm, el modelo exponencial obtenido, sin embargo, también hemos de reseñar que el modelo lineal también presenta un buen coeficiente de determinación.

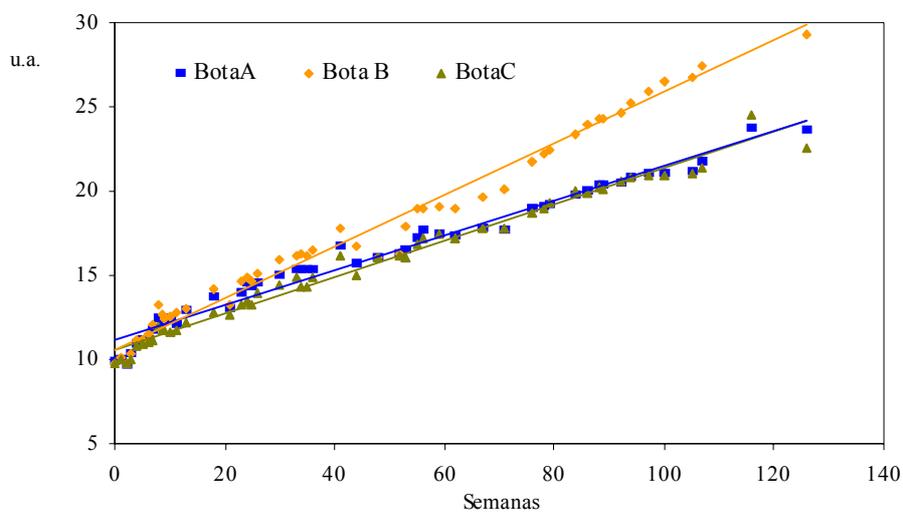


Figura 84. Análisis de regresión lineal entre la absorbancia a 280 nm y tiempo de oxidación químico (semanas) en botas de roble.

<i>Regresión simple: A280 (Y) – Semanas (X)</i>			
<b>Bota</b>	<b>Máximo R<sup>2</sup></b>	<b>p</b>	<b>Ecuación modelo: lineal</b>
A	0.9737	0.000	Y=11.1+0.1035*X
B	0.9801	0.000	Y=10.6+0.152*X
C	0.9822	0.000	Y=10.6+0.1074*X

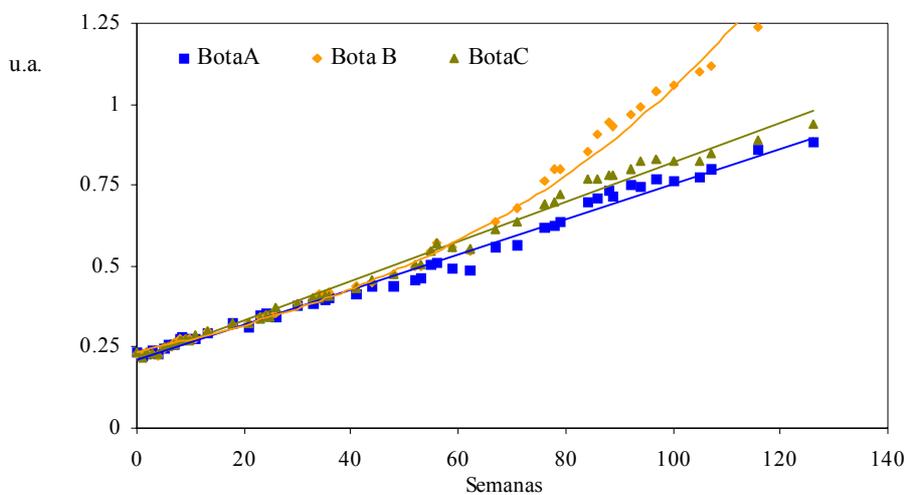


Figura 85. Análisis de regresión simple entre la absorbancia a 420 nm y tiempo de oxidación químico (semanas) en botas de roble.

<i>Regresión simple: A420 (Y) – Semanas (X)</i>					
Bota	R <sup>2</sup>	p	Ecuación modelo: lineal	Máximo R <sup>2</sup>	Ecuación modelo: exponencial
A	0.9889	0.000	Y=0.213+0.005436*X	0.9889	
B	0.9661	0.000	Y=0.157+0.0084*X	0.9917	Y=exp(-1.44+0.0148*X)
C	0.9907	0.000	Y=0.209+0.00611*X	0.9907	

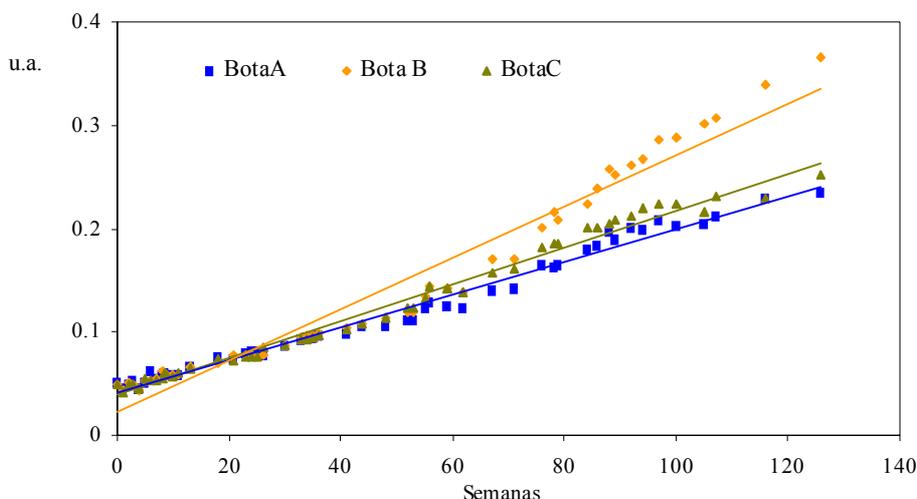


Figura 86. Análisis de regresión lineal entre la absorbancia a 520 nm y tiempo de oxidación químico (semanas) en botas de roble.

<i>Regresión simple: A520 (Y) – Semanas (X)</i>			
<b>Bota</b>	<b>Máximo R<sup>2</sup></b>	<b>p</b>	<b>Ecuación modelo: lineal</b>
A	0.9846	0.000	Y=0.0421+0.00158*X
B	0.9801	0.000	Y=0.0234+0.00247*X
C	0.9822	0.000	Y=0.0388+0.00178*X

Por otra parte, se ha realizado el registro espectrofotométrico completo en el rango UV-Visible, que puede corroborar algunos de los razonamientos anteriormente planteados en relación con las medidas a longitudes de onda fijas. En efecto, se puede observar en todo el rango ultravioleta (Figura 87) que el vino a las 126 semanas de envejecimiento (fin de la 2ª fase de la experiencia) es el que presenta los mayores valores de absorbancia, disminuyendo éstos a medida que también lo hace el tiempo de envejecimiento hasta llegar al vino inicial, que presenta la absorbancia más baja. Asimismo, se aprecia, para un mismo tiempo, que el vino de la bota B muestra valores de absorbancia más altos que los de las botas A y C en todos los tiempos de envejecimiento, excepto en el vino inicial, como hemos comen-

tado anteriormente, confirmando de esta manera las argumentaciones efectuadas para la medida a 280 nm, longitud de onda perteneciente al rango que presenta máxima absorción, característico de los compuestos fenólicos.

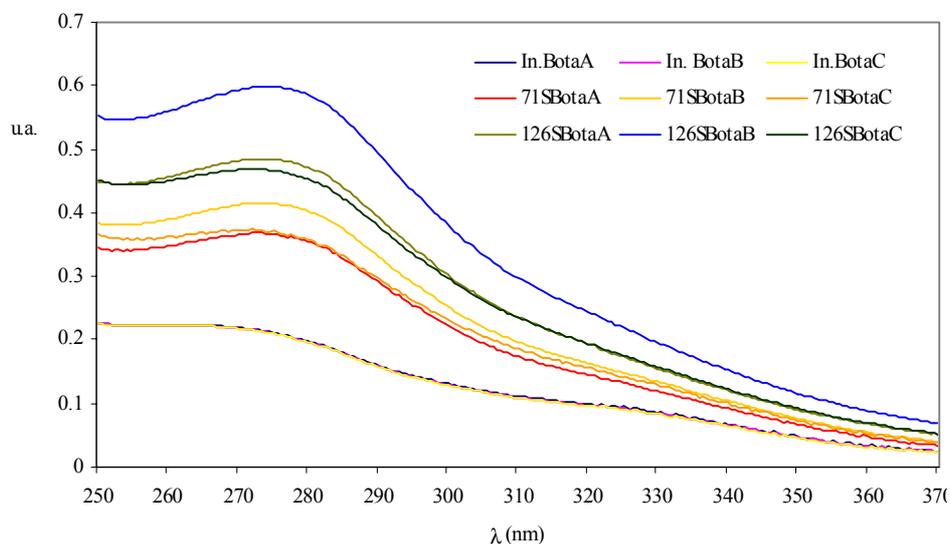


Figura 87. Espectros en el rango del ultravioleta de las muestras de vinos, inicial, a 71 y 126 Semanas, durante la oxidación química en botas de madera de roble.

La zona del Visible muestra, igualmente en todo el rango, que la menor absorbancia corresponde al vino inicial, incrementándose este valor con el tiempo de envejecimiento y siendo el vino que ha envejecido durante 126 semanas el de mayor absorbancia. Del mismo modo, se observa que el vino de la bota B presenta los mayores valores de absorbancia para todos los tiempos de envejecimiento, excepto en el inicio de la experiencia, donde las tres botas muestran el mismo valor. Se puede comprobar también que la absorbancia de la bota C es mayor que la de la bota A.

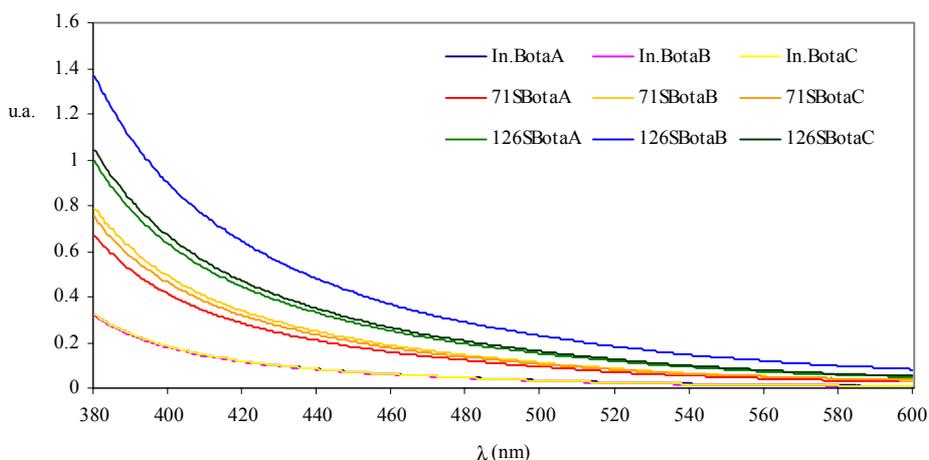


Figura 88. Espectros en el rango del visible de las muestras de vinos, inicial, a 71 y 126 Semanas, durante la oxidación química en botas de madera de roble.

Con objeto de comprobar entre los parámetros hasta ahora estudiados, determinaciones enológicas generales y de color, cuales definen mejor el proceso de envejecimiento del vino estudiado en botas de madera de roble, se efectúa un Análisis multivariante de componentes principales con los resultados obtenidos de las muestras efectuadas en las tres experiencias. En la Figura 89 se muestran los autovectores correspondientes a las variables estudiadas en el plano definido por las dos primeras componentes, que explican el 78.5% de la varianza total del proceso. Se puede apreciar que las variables que tienen más influencia sobre la componente 1 (66.4%) son la A280, A420, A520, acidez titulable, acidez volátil y graduación alcohólica, con signo positivo, y el dióxido de azufre libre y combinado, con signo negativo. Las cinco primeras variables presentan un peso similar, por lo que puede interpretarse como una correlación entre ellas. En lo que se refiere a la segunda componente (12.1%), las variables con mayor peso son los azúcares reductores y pH.

También se muestra en la misma Figura las puntuaciones de cada uno de los triplicados de las muestras de vinos consideradas en el mismo plano ya definido, observándose la formación de 10 grupos homogéneos, que se corresponden cada uno de ellos con un vino de diferente tiempo de envejecimiento. Estos grupos se han separado principalmente respecto a la 1ª componente, por lo que los vinos con mayor tiempo de envejecimiento se desplazan hacia la derecha del eje situándose en los mayores valores de esta componente, mientras que los de menor tiempo de envejecimiento experimentan un desplazamiento hacia la izquierda y toman valores negativos. De este modo, el vino inicial, con menos tiempo de envejecimiento (0 semanas) y el vino más envejecido (126 semanas) aparecen situados en los extremos con respecto a este eje.

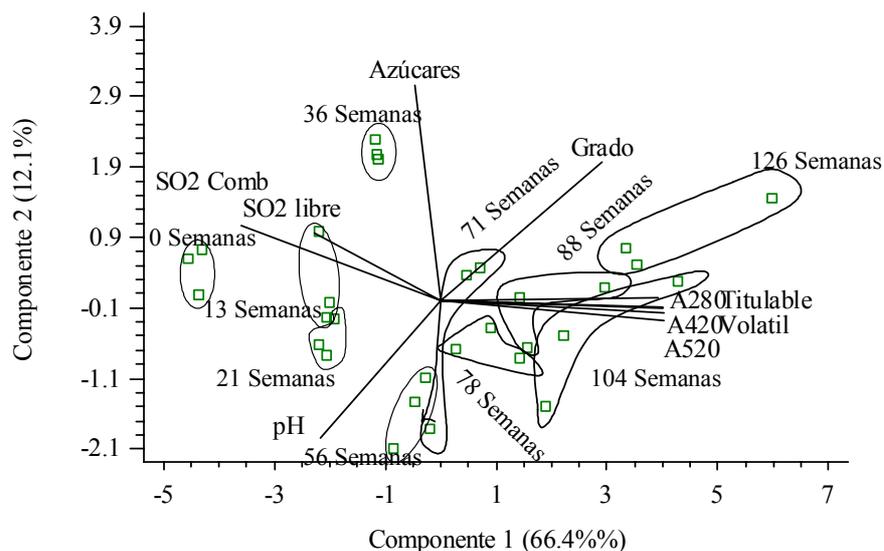


Figura 89. Representación de las puntuaciones de las muestras y los factores de carga de las distintas variables en el plano formado por las dos componentes principales.

Se puede interpretar de forma razonable, en consideración a los resultados obtenidos, que la A280, A420, A520, acidez titulable, acidez volátil y graduación alcohólica son las variables con mayor influencia sobre el tiempo de envejecimiento del vino, de manera que un aumento de éste indicaría valores más altos para dichas variables, mientras que una disminución, valores más bajos. Asimismo, el dióxido de azufre libre y combinado también influyen en el proceso de envejecimiento, pero inversamente, de modo que un aumento de estos parámetros se corresponde con un menor tiempo de envejecimiento.

En relación a la componente 2, los grupos de muestras se han separado en función de las variables que pesan más sobre esta componente, como son los azúcares reductores y el pH, si bien, el porcentaje de varianza explicado no es importante, por lo que la interpretación de los resultados en función de estos parámetros es limitada.

En cuanto a los resultados obtenidos para los análisis cromatográficos, en la Tabla 13 se recogen los resultados de HPLC de las muestras de vino de cada una de las botas estudiadas, para cada tiempo de envejecimiento, representándose gráficamente mediante líneas en las Figuras 90 a 119 para cada compuesto y bota consideradas.

La Figura 90 muestra la evolución de los contenidos de ácido gálico del vino de cada bota a través del envejecimiento. En las botas B y C se observa un aumento

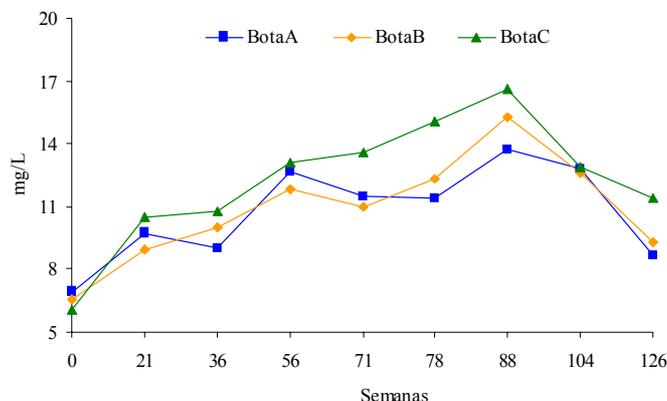


Figura 90. Contenidos en ácido gálico de las muestras de vinos durante la oxidación química en botas de madera de roble.

continuo de los contenidos de dicho ácido con respecto al vino inicial (en torno a 6.5 mg/L), alcanzando unos valores de 15.3 mg/L para la bota B y 16.6 mg/L para la C a las 88 semanas de envejecimiento. Sin embargo, en la bota A, aunque su contenido también aumenta en el mismo período, alcanzando un valor más pequeño (13.7 mg/L), este incremento no es continuo, puesto que se aprecia una disminución entre las 56 y 78 semanas. A partir de las 88 semanas, la disminución es progresiva en las tres botas hasta el final del envejecimiento (126 semanas), aunque más pronunciada en las botas A y B donde se llega a un valor en torno a 9.0 mg/L, mientras que para la bota C el contenido es más elevado (11.4 mg/L). Por otro lado, al término de las dos fases de la experiencia se observa un aumento de los valores de las tres botas respecto al vino inicial, sobre todo para la bota C, aunque en la 1ª fase (15°-30° C) el incremento es más acusado con un valor en torno a 11.3 mg/L para las botas A y B, mientras que en la 2ª fase (Tª constante de 30°C) el contenido alcanzado por éstas es netamente inferior a causa del descenso ya comentado.

En la Figura 91 se muestra la variación de los contenidos de ácido protocaté- quico, para cada bota, a lo largo del envejecimiento. Hay que destacar un comporta- miento parecido en las tres botas, sobre todo en la A y C que, partiendo de unos contenidos de 9.65 y 8.38 mg/L respectivamente, alcanzan su valor máximo (12.8 mg/L) a las 78 semanas, para después disminuir hasta llegar a las 126 semanas a un valor en torno a 8.24 mg/L, inferior a los de partida. Sin embargo, el contenido máximo lo alcanza la bota B a las 56 semanas (13.1 mg/L). A partir de este tiempo la bota B experimenta, del mismo modo, una disminución, pero alcanzando al final del envejecimiento un contenido ligeramente superior al inicial (10.1 mg/L).

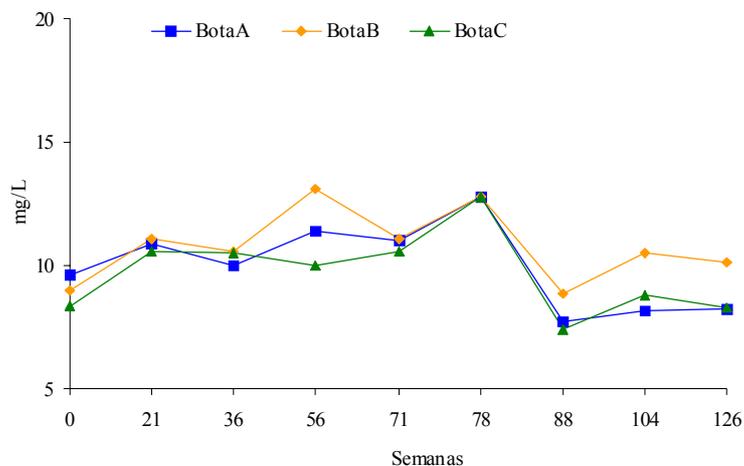


Figura 91. Contenidos en ácido protocatéuico de las muestras de vinos durante la oxidación química en botas de madera de roble.

La evolución del ácido *p*-hidroxibenzoico se muestra en la Figura 92. Se puede observar que los valores de todas las botas varían de una manera un tanto dispar, desde el vino inicial (en torno a 1.5 mg/L), hasta las 88 semanas de envejecimiento, con un valor en torno a 2.3 mg/L. A continuación experimentan una evolución muy similar hasta las 126 semanas, con un máximo para todas ellas en torno a 3.78 mg/L, alcanzando unos contenidos de 3.29 mg/L para la bota B y en torno a 2.65 mg/L para las botas A y C..

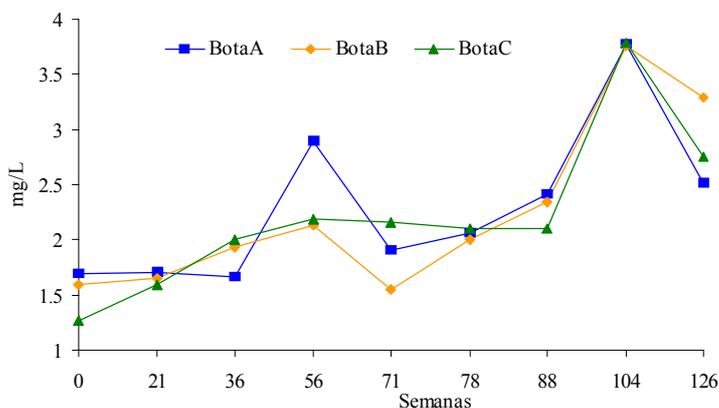


Figura 92. Contenidos en ácido *p*-hidroxibenzoico de las muestras de vinos durante la oxidación química en botas de madera de roble.

La Figura 93 representa la variación de los contenidos de ácido *m*-hidroxibenzoico en cada bota a lo largo del envejecimiento. Se aprecia un progresivo aumento en todas las botas desde el vino inicial, con un valor en torno a 5.2 mg/L hasta las 88 semanas de envejecimiento (en torno a 30.0 mg/L). A partir de este punto, la bota C es la única que muestra una disminución de su valor hasta las

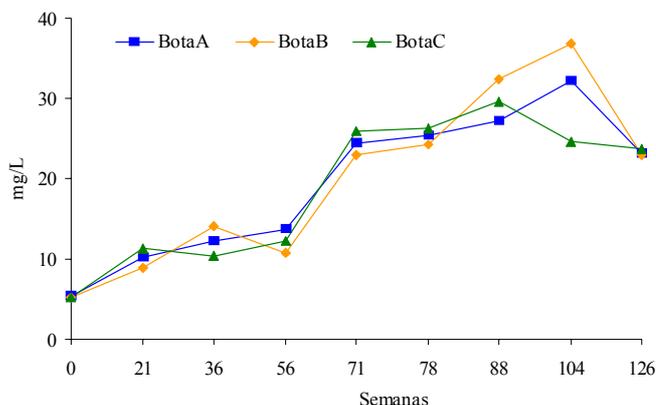


Figura 93. Contenidos en ácido *m*-hidroxibenzoico de las muestras de vinos durante la oxidación química en botas de madera de roble.

126 semanas, mientras que las botas A y B siguen aumentando su contenido hasta las 104 semanas para luego disminuir, llegando al final del envejecimiento prácticamente con el mismo valor que la bota C (en torno a 23.3 mg/L). Hay que hacer notar que los incrementos producidos tanto al término de la 1ª fase como a la conclusión del envejecimiento respecto al vino inicial son muy similares, aunque el aumento producido al término de la 2ª fase es algo menor en las botas A y C, mostrando la bota B prácticamente el mismo valor que a las 71 semanas (22.9 mg/L).

La evolución de los contenidos del ácido vanílico a través del envejecimiento se muestra en la Figura 94. El comportamiento observado en cada una de las botas es análogo hasta alcanzar las 104 semanas de envejecimiento. A continuación, la bota B experimenta un incremento mayor hasta llegar a un valor de 5.95 mg/L al final del envejecimiento, mientras que el aumento llevado a cabo en las botas A y C es algo menor, con un valor en torno a 3.5 mg/L. Por otra parte, el incremento es continuo desde el vino inicial, con un contenido en torno a 2.5 mg/L, hasta las 88 semanas de envejecimiento, llegando a alcanzar las tres botas un valor en torno a 6.4 mg/L, disminuyendo a renglón seguido a un contenido en torno a 3.4 mg/L a las 104 semanas. Asimismo, se aprecia al término de la 1ª fase, un aumento parecido en cada bota, con un valor en torno a 4.6 mg/L, descendiendo los contenidos de las botas A y C al final del envejecimiento respecto a las 71 semanas, mientras que el valor de la bota B aumenta.

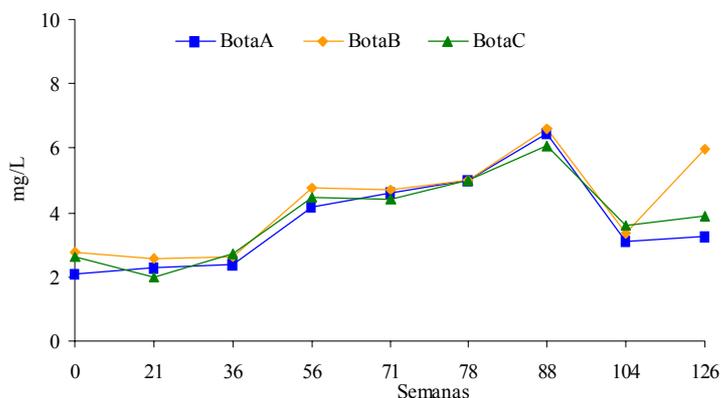


Figura 94. Contenidos en ácido vanílico de las muestras de vinos durante la oxidación química en botas de madera de roble.

La Figura 95 muestra la variación del ácido siríngico, asimismo a lo largo del envejecimiento y para cada bota.

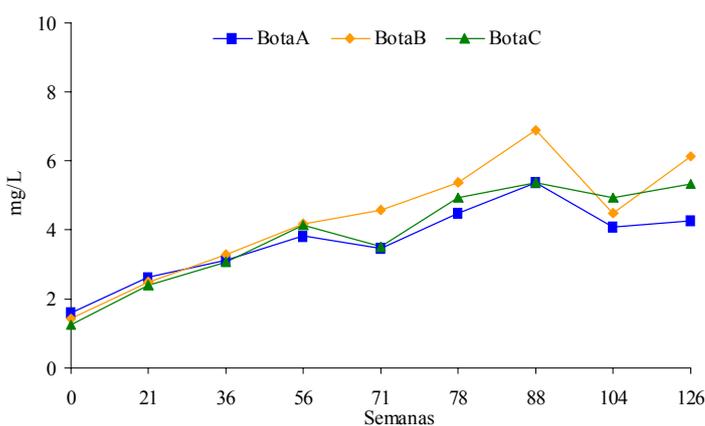


Figura 95. Contenidos en ácido siríngico de las muestras de vinos durante la oxidación química en botas de madera de roble.

Como se puede observar, el crecimiento es progresivo hasta las 88 semanas, con unos valores de 6.87 mg/L para la bota B y en torno a 5.4 mg/L para las botas A y C, aunque hasta las 56 semanas el comportamiento de las tres botas es muy similar, alcanzando un contenido en torno a 4 mg/L. A partir de las 88 semanas de envejecimiento se produce una disminución de los valores hasta alcanzar unos contenidos respectivos de 6.13, 5.34 y 4.27 mg/L para las botas B, C y A, a

las 126 semanas de envejecimiento. Por otra parte, todas las botas presentan al final del envejecimiento valores significativamente superiores a los que muestran a las 71 semanas, sin embargo, el incremento producido en la 1ª fase es superior al experimentado en la 2ª fase, con unos valores de 4.58 mg/L para la bota B y en torno a 3.5 mg/L para las botas A y C a las 71 semanas de envejecimiento.

En la Figura 96 se muestra la evolución del ácido cafeico. Se aprecia para todas las botas que sus contenidos se han mantenido prácticamente constantes hasta

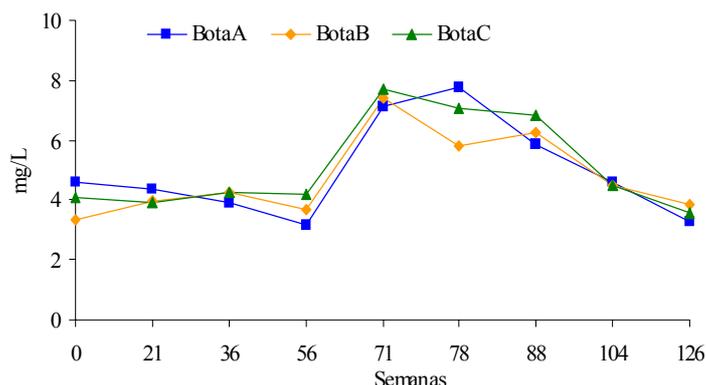


Figura 96. Contenidos en ácido cafeico de las muestras de vinos durante la oxidación química en botas de madera de roble.

las 56 semanas y aumentan considerablemente hasta las 71 semanas, alcanzando un valor en torno a 7.5 mg/L. Posteriormente la bota A sigue incrementando su valor hasta las 78 semanas de envejecimiento, para disminuir a partir de aquí su contenido progresivamente hasta el final del envejecimiento. Sin embargo, las botas B y C comienzan a disminuir sus valores al término de la 1ª fase hasta alcanzar a las 126 semanas (fin de la 2ª fase), junto a la bota A, un contenido en torno a 4 mg/L. Las dos fases de la experiencia se diferencian entre sí en que mientras en la 1ª fase tiene lugar un marcado incremento de los valores de cada una de las botas, producido sólo en el último estadio de esta fase, al término de la 2ª fase se alcanzan unos valores similares a los del vino inicial, que abarca el rango 3.33-4.57 mg/L.

La variación del ácido *p*-cumárico representada en la Figura 97, apunta a un ligero aumento de la bota A al cabo de las 21 semanas de envejecimiento, que alcanza un valor de 2.46 mg/L para luego disminuir a las 36 semanas a 2.05 mg/L y mantenerse prácticamente constante, sin diferencias significativas, hasta las 78 semanas. Sin embargo, las botas B y C, partiendo del mismo contenido inicial que la bota A, en torno a 1.80 mg/L, incrementan su valor hasta 2.45 mg/L a las 36 semanas, disminuyendo a continuación hasta las 71 semanas, con un valor en torno a 2 mg/L, que se mantiene apenas sin variación a las 78 semanas. A partir de este

tiempo destaca en las botas A y B un marcado incremento a las 88 semanas, alcanzando un valor en torno a 3.05 mg/L, mientras que la bota C sólo aumenta su contenido ligeramente, con un valor en torno a 2.4 mg/L, prácticamente el mismo que a las 126 semanas de envejecimiento, disminuyendo la bota B hasta alcanzar un contenido de 2.54 mg/L al final del envejecimiento, siendo, sin embargo, el descenso de la bota A más notable, con un valor final de 1.45 mg/L. Como se puede apreciar, los valores de cada una de las botas son superiores al del vino inicial tanto al término de la 1ª como de la 2ª fase, exceptuando la bota A, cuyo contenido es inferior a la conclusión del envejecimiento.

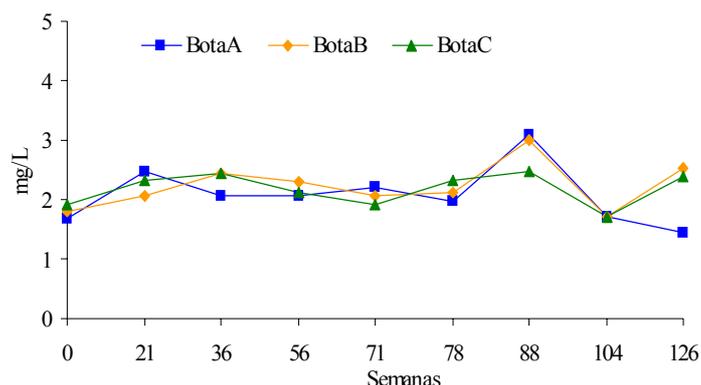


Figura 97. Contenidos en ácido *p*-cumárico de las muestras de vinos durante la oxidación química en botas de madera de roble.

La Figura 98 muestra la evolución del ácido ferúlico, asimismo para cada bota y a los distintos tiempos de envejecimiento.

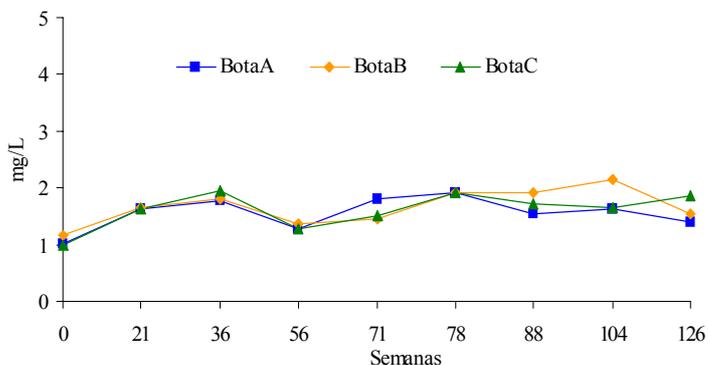


Figura 98. Contenidos en ácido ferúlico de las muestras de vinos durante la oxidación química en botas de madera de roble.

En esta Figura se aprecia un comportamiento similar para las tres botas hasta las 78 semanas de envejecimiento, donde alcanzan un valor de 1.92 mg/L. A partir de aquí, la bota B incrementa ligeramente su contenido a las 104 semanas para después disminuir al final del envejecimiento a 1.54 mg/L, valor cercano al alcanzado por la bota A (1.40 mg/L), mientras que la bota C mantiene prácticamente su valor (1.86 mg/L).

En la Figura 99 se muestra la variación del ácido *t*-caftárico a través del envejecimiento y para cada bota. Como se puede observar, la evolución es un tanto irregular, presentando el vino de las tres botas un valor mínimo, en torno a 13.5 mg/L, a las 36 semanas de envejecimiento, a partir de un contenido inicial en torno a 21 mg/L. A continuación, incrementan sus valores a 32 mg/L para la bota B y en

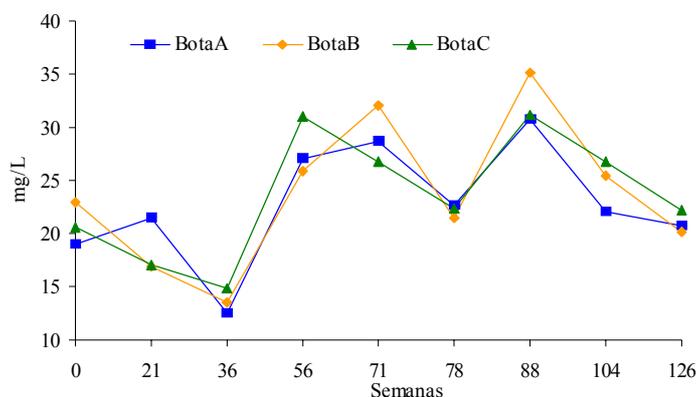


Figura 99. Contenidos en ácido *t*-caftárico de las muestras de vinos durante la oxidación química en botas de madera de roble.

torno a 27.7 mg/L para las botas A y C, a las 71 semanas (fin de la 1ª fase), para después, tras alcanzar los valores máximos a las 88 semanas, disminuir progresivamente hasta el final del envejecimiento, con unos contenidos en torno a 20.5 mg/L para las botas A y B y de 22.2 mg/L para la bota C, muy similares a los del vino inicial. Las dos fases se diferencian claramente, puesto que en la primera las botas muestran los valores más bajos, mientras que durante la 2ª fase de la experiencia presentan los más altos, llegando a alcanzar las botas A y C en torno a 31 mg/L y un contenido de 35.2 mg/L la bota B.

La evolución de los contenidos en ácido *c*-cutárico para cada una de las botas a lo largo del envejecimiento se representa en la Figura 100. Se puede apreciar un aumento progresivo en las tres botas desde el vino inicial (en torno a 16.5 mg/L) hasta las 88 semanas de envejecimiento, donde llegan a alcanzar las botas B y C unos valores en torno a 34.4 mg/L (contenidos máximos) y de 32.7 mg/L la bota A. Desde este momento tiene lugar una disminución de los contenidos de cada una de las botas, más acusada en las botas A y C, que alcanzan unos valores en torno a

18.4 mg/L al término del envejecimiento, mientras que la bota B sólo disminuye a 26.9 mg/L. Hay que destacar que el vino de la bota A incrementa su valor durante la 1ª fase de la experiencia casi en un 100% (28.9 mg/L) y, sin embargo como consecuencia del decremento posterior, a las 126 semanas de envejecimiento sólo muestra un ligero incremento, con un valor de 17.8 mg/L, respecto a su valor inicial.

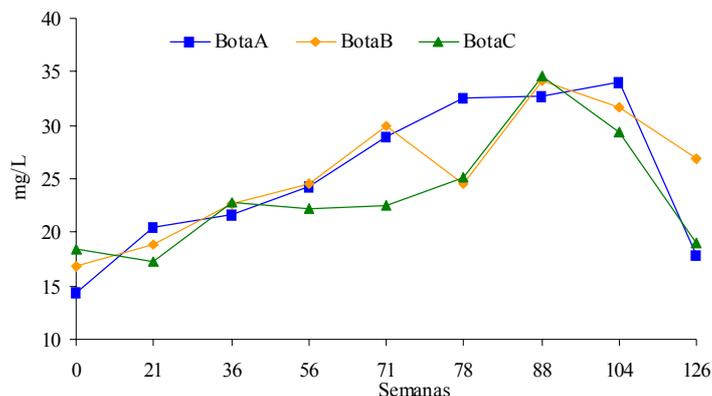


Figura 100. Contenidos en ácido *c*-cutárico de las muestras de vinos durante la oxidación química en botas de madera de roble.

La Figura 101 muestra la variación de los contenidos en ácido *t*-cutárico a lo largo de los diferentes tiempos de envejecimiento en cada una de las botas estudiadas.

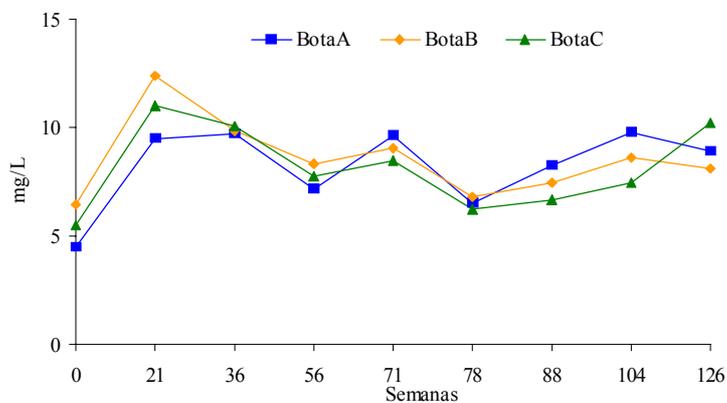


Figura 101. Contenidos en ácido *t*-cutárico de las muestras de vinos durante la oxidación química en botas de madera de roble.

En ésta se observa un comportamiento homogéneo en todas las botas. Así, partiendo de un contenido inicial en torno a 5.5 mg/L, aumentan su valor a las 21 semanas de envejecimiento. A continuación, experimentan una disminución de sus contenidos llegando a alcanzar las tres botas unos valores en torno a 6.5 mg/L a las 78 semanas, aumentando posteriormente hasta llegar a unos valores en torno a 8.5 mg/L para las botas A y B, mostrando la C, no obstante, un contenido algo más elevado (10.2 mg/L). Por otro lado, tanto al término de la 1ª como de la 2ª fase, los valores de las distintas botas son bastante similares, destacando los contenidos máximos alcanzados por las botas B y C durante la 1ª fase de la experiencia (21 semanas).

En la Figura 102 se representa la evolución del ácido feftárico mostrándose un comportamiento similar para las botas A y C, mientras que, por el contrario, la variación correspondiente a la bota B es ciertamente diferente en el tiempo com-

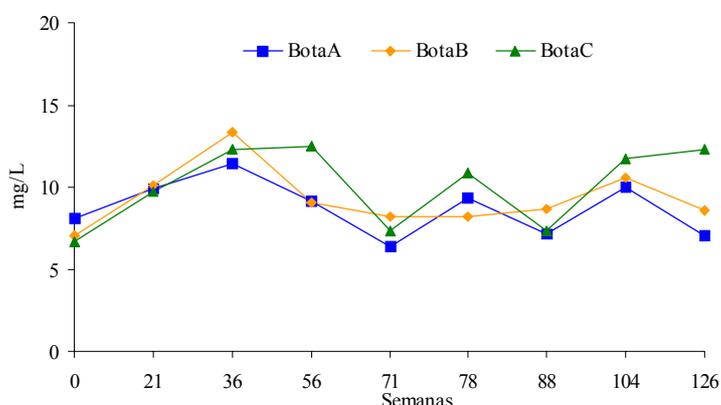


Figura 102. Contenidos en ácido feftárico de las muestras de vinos durante la oxidación química en botas de madera de roble.

prendido entre las 56 y 88 semanas de envejecimiento. Además, se puede observar en todas las botas un incremento a las 36 semanas respecto al vino inicial (en torno a 7.3 mg/L), alcanzando unos contenidos en torno a 12.3 mg/L, y disminuyendo después hasta llegar a unos valores alrededor de 7.3 mg/L a las 71 semanas. Al final del envejecimiento (126 semanas), las botas A y B presentan unos valores ligeramente más altos con respecto al final de la 1ª fase, de 7.05 y 8.53 mg/L, respectivamente, siendo la bota C la que muestra mayor incremento, con un contenido de 12.3 mg/L. Hay que indicar que la bota C experimenta un aumento más acusado en la 2ª fase de la experiencia, mientras que los valores de las botas A y B no sufren grandes variaciones a lo largo del envejecimiento.

La variación que experimenta el tirosol a lo largo del envejecimiento, para cada una de las botas, se muestra en la Figura 103. Se observa a las 21 primeras semanas unos contenidos muy diferentes para cada bota, 75.8 mg/L para la bota A,

65.3 mg/L para la C y 56 mg/L la B, valores que habría que atribuir a errores experimentales ya que la evolución posterior es bastante similar en las tres botas. Así, a

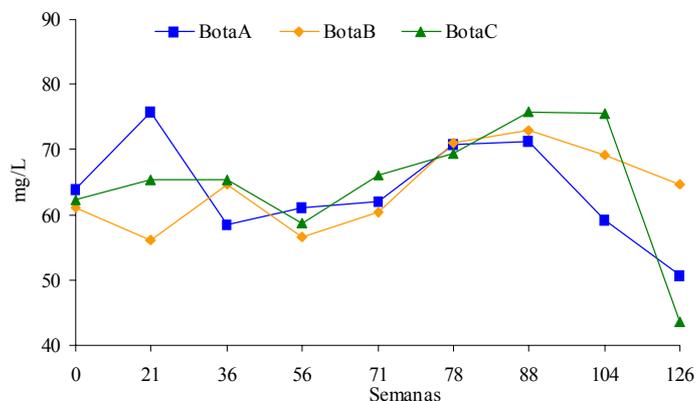


Figura 103. Contenidos en tirosol de las muestras de vinos durante la oxidación química en botas de madera de roble.

las 36 semanas de envejecimiento la bota A presenta un valor de 58.5 mg/L, la B de 64.6 mg/L, permaneciendo constante el contenido de la bota C. De aquí en adelante, las tres botas aumentan progresivamente con unos valores en torno a 73 mg/L a las 88 semanas, atribuible esta concentración a las mermas producidas en las botas. Posteriormente disminuyen los contenidos de las mismas hasta el final del envejecimiento, donde las botas A, B y C llegan a alcanzar unos contenidos de 50.7, 64.7 y 43.5 mg/L, respectivamente.

La Figura 104 muestra la evolución del contenido en el aldehído benzoico si-

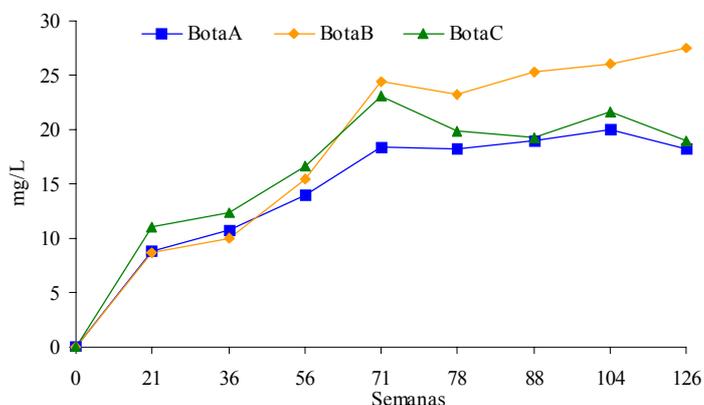


Figura 104. Contenidos en siringaldehído de las muestras de vinos durante la oxidación química en botas de madera de roble.

ringaldehído, para cada bota, a través de los distintos tiempos de envejecimiento. Como vemos, las tres botas varían de un modo muy similar hasta el término de la 1ª fase (71 semanas) y, a partir de aquí, evolucionan de una manera un tanto dispar, sobre todo en lo que se refiere a la bota B. Así, partiendo de un vino inicial en el que no se detecta cantidad alguna de este compuesto, se llega a unos valores en torno a 8.8 mg/L para las botas A y B y de 11.1 mg/L para la bota C en las primeras 21 semanas de envejecimiento, continuando este incremento hasta las 71 semanas donde llegan a alcanzar las botas B y C unos contenidos en torno a 24 mg/L y la A un valor significativamente más bajo (18.4 mg/L). Al final del envejecimiento, la bota B aumenta ligeramente su valor (27.5 mg/L) respecto al final de la 1ª fase, disminuyendo el contenido de la bota C (19.0 mg/L) y manteniéndose constante el de la bota A (18.3 mg/L). La diferencia fundamental entre las dos fases estriba en que la práctica totalidad del contenido de cada bota se acumula a las 71 semanas de envejecimiento (fin de la 1ª fase).

En la Figura 105 se muestra la variación de la vainillina a lo largo del envejecimiento para cada una de las botas, observándose un aumento en torno al 110% (3.2 mg/L) en las tres botas a las 21 semanas, disminuyendo a las 56 semanas de

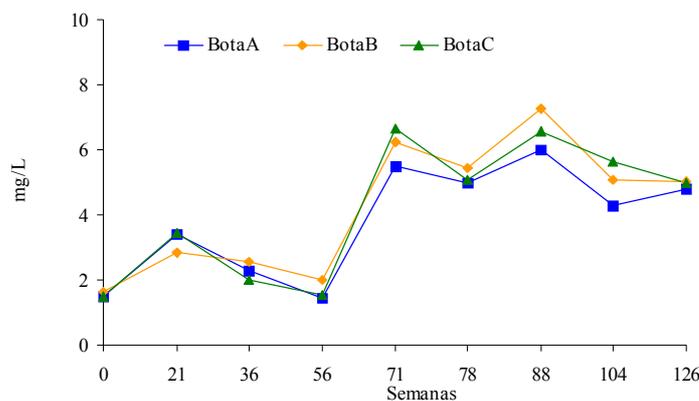


Figura 105. Contenidos en vainillina de las muestras de vinos durante la oxidación química en botas de madera de roble.

envejecimiento a valores en torno a 1.7 mg/L, prácticamente iguales a los del vino inicial (en torno a 1.5 mg/L). A continuación experimentan un incremento llegando a alcanzar valores en torno a 6.6 mg/L a las 88 semanas, disminuyendo entonces para alcanzar al final del envejecimiento valores en torno a 4.9 mg/L. Hay que hacer notar que la mayor parte del contenido ha pasado de las botas al vino al final de la 1ª fase de la experiencia (71 semanas), y principalmente en el último estadio de esta fase.

La evolución del contenido de (+)-catequina para cada bota a través de los tiempos de envejecimiento considerados se muestra en la Figura 106. El compor-

tamiento de las botas A y B durante el envejecimiento es más o menos homogéneo y, sin embargo, la variación que experimenta la bota C difiere de las otras dos. Además, se aprecia en las tres botas un incremento en las primeras 21 semanas, mayor en las botas B y C, con unos valores en torno a 30 mg/L, disminuyendo de forma acusada a las 56 semanas de envejecimiento el contenido de las botas A y B y más ligeramente el de la C. Esta última bota adquiere su mayor valor (32.2 mg/L) a las 78 semanas para después disminuir a 25.6 mg/L al final del envejecimiento, contenido similar a su valor inicial, mientras que las botas B y A llegan a alcanzar sus contenidos más altos a las 88 semanas (41.2 mg/L) y 104 semanas (35.9 mg/L), respectivamente, disminuyendo a continuación hasta el final del envejecimiento, con unos valores de 35.1 mg/L para la bota B y 25.8 mg/L para la A, valor este último prácticamente igual al de la bota C.

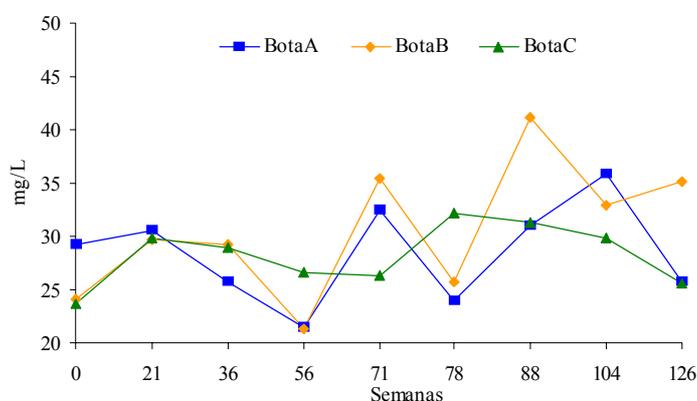


Figura 106. Contenidos en (+)-catequina de las muestras de vinos durante la oxidación química en botas de madera de roble.

La Figura 107 muestra la variación de los contenidos de (-)-epicatequina, para cada bota, a lo largo del envejecimiento. En esta Figura se aprecia una evolución parecida en todas las botas, salvo pequeñas variaciones en algunos períodos de tiempo. A las 36 semanas sólo se observa un aumento de las botas A y C respecto al contenido inicial, que pasan a mostrar unos niveles ligeramente más altos, 14.9 mg/L para la bota A y 17.2 mg/L para la C, manteniéndose prácticamente constante el valor de la bota B (13.1 mg/L). Desde este instante, tiene lugar un progresivo aumento en las tres botas hasta las 71 semanas de envejecimiento, llegando a alcanzar unos valores en torno a 22 mg/L (botas A y B) y de 19.8 mg/L (bota C), aunque la bota B alcanza su máximo valor (23.5 mg/L) a las 78 semanas. A la conclusión de la 1ª fase se produce pues una disminución de los contenidos en cada una de las botas hasta llegar a las 126 semanas, donde la bota A experimenta el decremento mayor, alcanzando un valor de 13.3 mg/L, similar al contenido inicial, mientras que la disminución de las botas B y C es considerablemente menor, con unos valores finales respectivos de 18.4 y 17 mg/L. Por otro lado, hay que signifi-

car que sólo las botas B y C incrementan su valor al final del envejecimiento con respecto al vino inicial, manteniéndose constante el contenido de la bota A.

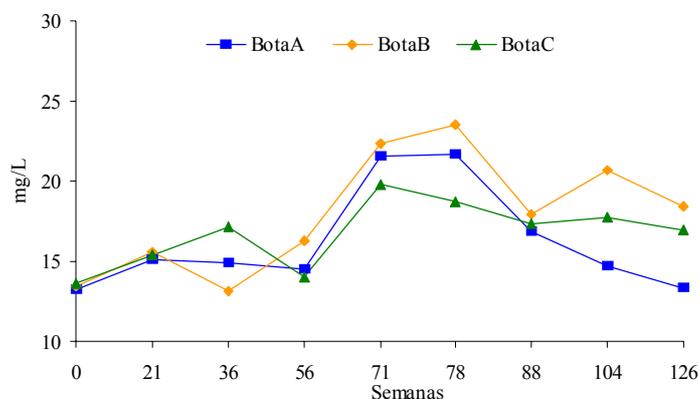


Figura 107. Contenidos en (-)-epicatequina de las muestras de vinos durante la oxidación química en botas de madera de roble.

En la Figura 108 se muestra la evolución de la procianidina B1 a través del envejecimiento, para cada una de las botas estudiadas. Se puede observar que par-

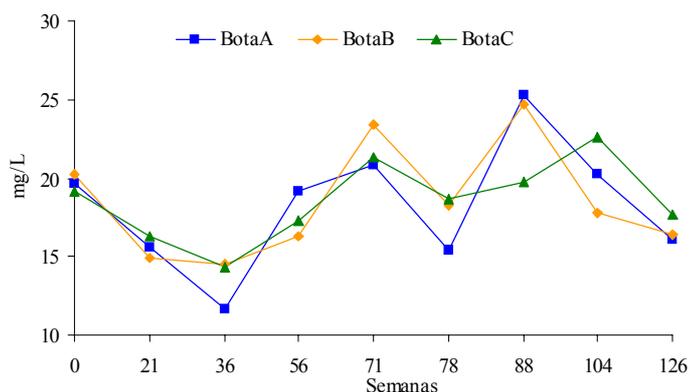


Figura 108. Contenidos en procianidina B1 de las muestras de vino durante la oxidación química en botas de madera de roble.

tiendo de un contenido inicial en torno a 19.7 mg/L para cada bota, éste decrece hasta alcanzar a las 36 semanas los valores más bajos en todas ellas, siendo 11.7 mg/L el contenido de la bota A y ligeramente más alto el de las botas B y C (en torno a 14.4 mg/L). A partir de este momento, las tres botas incrementan sus contenidos hasta las 88 semanas, donde las botas A y B alcanzan los valores máximos (en torno a 25 mg/L), mientras que la bota C lo alcanza a las 104 semanas (22.6

mg/L). Un nuevo decrecimiento se produce a continuación, obteniéndose un valor en torno a 16.2 mg/L para las botas A y B y otro ligeramente más alto en la C (17.7 mg/L). Por otra parte, las dos fases de la experiencia evolucionan de manera distinta, de modo que al término de la 1ª fase cada una de las botas aumenta su contenido respecto al vino inicial, mientras que por el contrario decrecen sus contenidos a la conclusión de la 2ª fase y, por tanto, del envejecimiento considerado durante el periodo de estudio.

La evolución de la procianidina B2 a lo largo del envejecimiento se representa en la Figura 109. Como se puede apreciar, la variación es análoga en cada

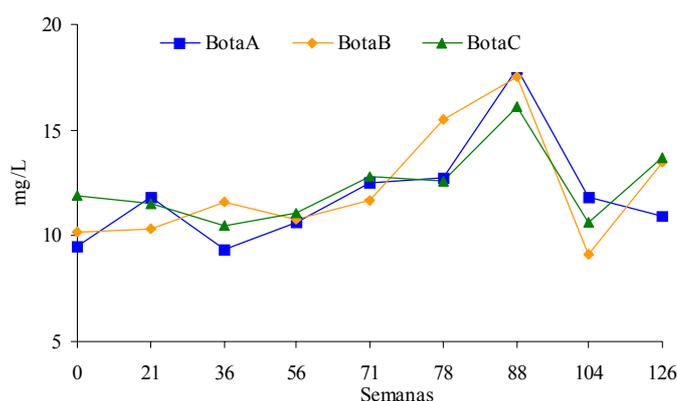


Figura 109. Contenidos en procianidina B2 de las muestras de vinos durante la oxidación química en botas de madera de roble.

una de las botas durante las dos fases de la experiencia. Así, a las 56 semanas, las tres botas alcanzan un valor en torno a 10.8 mg/L, que casi coincide con el contenido inicial (en torno a 10.5 mg/L), no observándose grandes fluctuaciones entre las distintas botas. A continuación, experimentan un fuerte incremento llegando a alcanzar las botas A y B un valor en torno a 17.7 mg/L a las 88 semanas de envejecimiento, siendo 16.1 mg/L el contenido de la bota C. Estos contenidos decrecen marcadamente a las 104 semanas, alcanzando las tres botas un valor en torno a 10.5 mg/L, aumentando posteriormente los valores de las botas B y C a 13.5 mg/L al final del envejecimiento, mientras que el valor de la bota A disminuye ligeramente a 10.9 mg/L.

En la Figura 110 se muestra la variación de los contenidos de la procianidina B3 a través del envejecimiento, para cada bota estudiada. En primer lugar se observa un fuerte incremento de los contenidos de las tres botas en las primeras 21 semanas, con un valor en torno a 26.8 mg/L para las botas A y C, mientras que la bota B aumenta de manera más acusada llegando a alcanzar 31.9 mg/L, es decir, casi un 120% sobre su valor inicial (14.6 mg/L). Estos valores decrecen hasta alcanzar, a las 36 semanas de envejecimiento, unos contenidos en torno a 21.8 mg/L,

para posteriormente aumentar progresivamente hasta las 88 semanas, con valores más altos para la bota B (29.0 mg/L) y algo más bajos para las botas A y C (25.8 mg/L). Finalmente, tiene lugar una fuerte disminución en cada una de las botas, llegándose en las tres a un valor en torno a 14 mg/L, coincidente con el contenido inicial de las botas B y C. Es de destacar que la bota B alcanza su máximo valor durante la 1ª fase, mientras que durante la 2ª son las botas A (12.8 mg/L) y B (13.7 mg/L) las que muestran los mínimos contenidos. Asimismo, cabe indicar que al final de la 1ª fase (71 semanas) todas las botas han incrementado su valor, mientras que al final del envejecimiento (126 semanas) sólo aumenta su valor la bota C con respecto al vino inicial, al menos ligeramente.

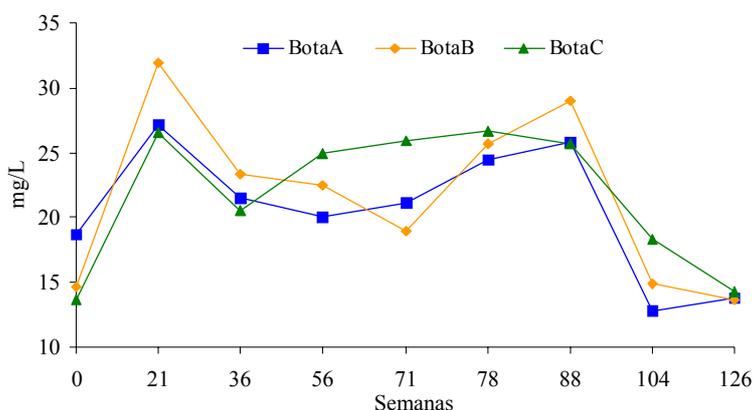


Figura 110. Contenidos en procianidina B3 de las muestras de vinos durante la oxidación química en botas de madera de roble.

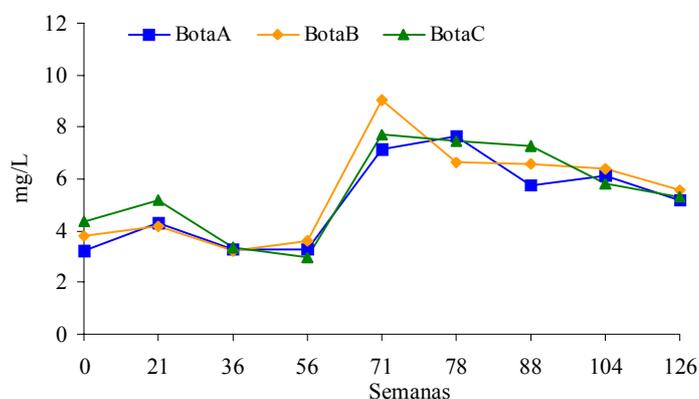


Figura 111. Contenidos en procianidina B4 de las muestras de vinos durante la oxidación química en botas de madera de roble.

La evolución de los contenidos de la procianidina B4 se representa en la Figura 111, observándose una variación muy parecida a través de las dos fases de la experiencia. Así, partiendo las tres botas de un contenido inicial en torno a 3.77 mg/L, al término de la 1ª fase, el aumento producido en cada una de las botas es notable, con un valor de 9.02 mg/L en la bota B y ligeramente inferior para las botas A y C (en torno a 7.5 mg/L). Durante la 2ª fase de la experiencia tiene lugar una continua disminución hasta alcanzar las tres botas un valor en torno a 5.3 mg/L al final del envejecimiento (126 semanas).

La Figura 112 muestra la variación de los contenidos del pico 1, observándose una evolución similar en las tres botas hasta las 78 semanas de envejecimiento. Al final del período de estudio las concentraciones son similares en todas las botas, con valores comprendidos entre 8-9 mg/L, similares a los del vino de partida.

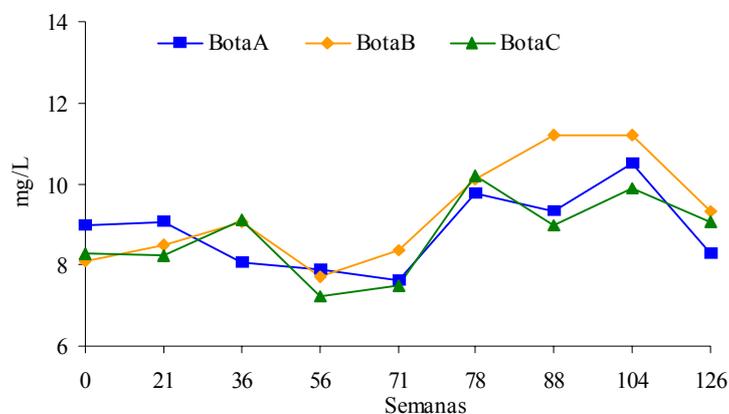


Figura 112. Contenidos en Pico1 de las muestras de vinos durante la oxidación química en botas de madera de roble.

La evolución de los contenidos del pico 2 se representa en la Figura 112. Como se puede apreciar, tras una ligera disminución inicial, las tres botas llevan a cabo un progresivo aumento de sus contenidos hasta las 104 semanas para disminuir ligeramente al final del envejecimiento, siguiendo todas ellas una evolución similar. Así, en las primeras 21 semanas de envejecimiento, el vino inicial (en torno a 4 mg/L) experimenta un descenso del 35%, hasta un valor en torno a 2.6 mg/L para las tres botas, incrementándose, a renglón seguido, estos contenidos continuamente hasta alcanzar a las 104 semanas unos valores respectivos de 8.05, 11.2 y 9.25 mg/L en las botas A, B y C. Estos contenidos decrecen finalmente hasta tomar unos valores, a las 126 semanas de envejecimiento, de 7.25, 10.8 y 8.79 mg/L, respectivamente. Hay que destacar que, si bien se produce un incremento de los

contenidos en las dos fases de la experiencia, corresponde a la 2ª el mayor aumento, sobre todo en las botas B y C (en torno al 100%), que de tener unos valores respectivos al final de la 1ª fase de 5.56 y 4.14 mg/L pasan, a la conclusión del envejecimiento, a tomar unos valores de 10.8 y 8.79 mg/L. Sin embargo, la bota A, con un contenido de 5.37 mg/L, sólo aumenta en un 35%, alcanzando a las 126 semanas un valor de 7.25 mg/L.

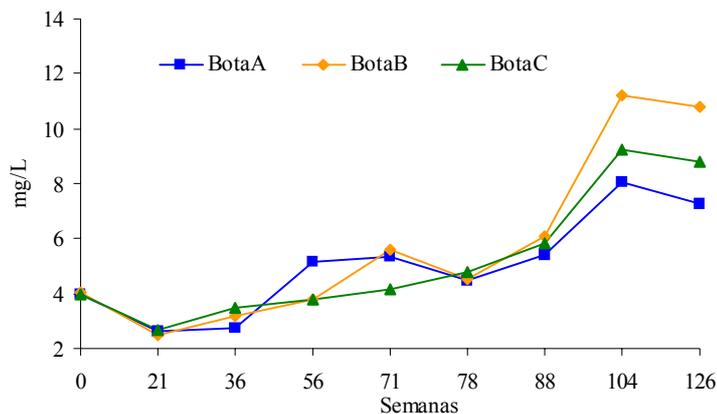


Figura 113. Contenidos en Pico 2 de las muestras de vinos durante la oxidación química en botas de madera de roble.

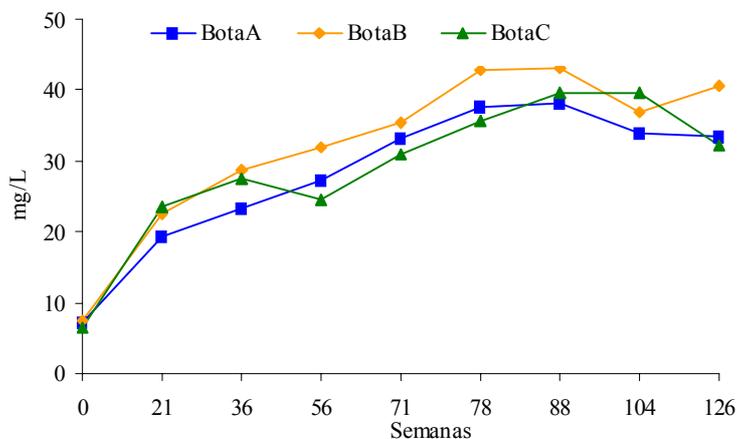


Figura 114. Contenidos en Pico 3 de las muestras de vinos durante la oxidación química en botas de madera de roble.

En la Figura 114 se muestra la variación de los contenidos del pico 3, para cada bota, a lo largo del envejecimiento, observándose un incremento progresivo de los contenidos de cada una de las botas a través de los períodos de estudio, lo que confirma lo comentado en anteriores capítulos acerca de que este compuesto se va acumulando en los vinos sometidos a envejecimiento oxidativo. Así, partiendo de un vino inicial con un valor en torno a 7.05 mg/L, el mayor aumento tiene lugar a las 21 semanas, donde las botas B y C incrementan su contenido en torno a un 230%, pasando a tener un valor en torno a 23 mg/L, mientras que la bota A alcanza 19.3 mg/L, lo que supone un incremento algo inferior (en torno al 170%). A partir de aquí, continúa el aumento hasta llegar a alcanzar las tres botas sus valores máximos a las 88 semanas de envejecimiento, con valores en torno a 38.8 mg/L para las botas A y C y de 43 mg/L para la B, disminuyendo ligeramente los contenidos de las botas A y C a valores en torno a 32.8 mg/L, y algo menos el de la B (40.6 mg/L), al final del envejecimiento. Por otra parte, vemos que las dos fases se distinguen nítidamente, produciéndose el mayor incremento del compuesto en las tres botas al finalizar la 1ª fase (en torno a 33 mg/L), puesto que durante la 2ª sólo aumenta significativamente la bota B, mientras que las botas A y C sólo incrementan ligeramente.

La evolución seguida por el pico A en cada bota y a lo largo del envejecimiento está representada en la Figura 115. Se puede observar un aumento constante

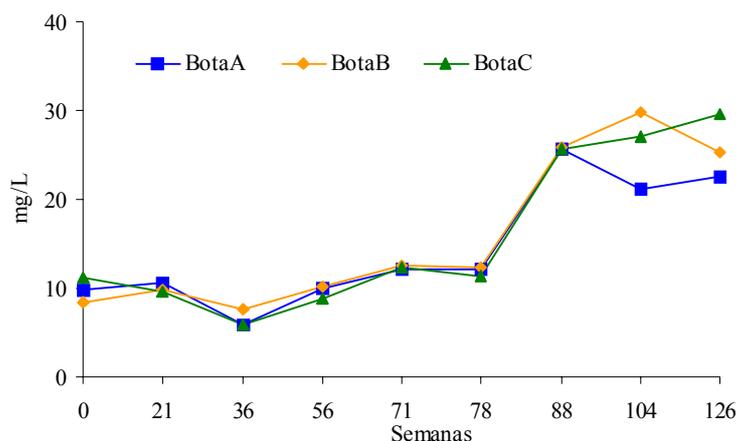


Figura 115. Contenidos en Pico A de las muestras de vinos durante la oxidación química en botas de madera de roble.

en las tres botas, salvo en los períodos inicial y final, en los cuales tiene lugar un decrecimiento de los valores, excepto para la bota C al final del envejecimiento. Así, a las 36 semanas el vino inicial (en torno a 9.8 mg/L) experimenta una notable disminución en las botas A y C, del 40 y 47%, respectivamente, con unos valores

en torno a 5.85 mg/L para las dos botas, mientras que la bota B sólo disminuye ligeramente, pasando de 8.46 mg/L en el vino inicial a 7.74 mg/L. A partir de este tiempo comienza cada una de las botas a incrementar sus valores experimentando el incremento más acusado a las 88 semanas, donde alcanzan un contenido en torno a 25.7 mg/L. Posteriormente, tiene lugar una disminución de dichos valores al final del envejecimiento, excepto para la bota C (29.6 mg/L), que aumenta, llegando a alcanzar las botas A y B unos contenidos respectivos de 22.6 y 25.3 mg/L.

La Figura 116 muestra la variación de los contenidos del pico B a través de los diferentes tiempos de envejecimiento para cada una de las botas estudiadas. Como se ve, salvo un decrecimiento inicial, tiene lugar un marcado incremento de los valores de las tres botas a las 71 semanas, para luego experimentar cada una de ellas una disminución un tanto dispar hasta llegar a las 126 semanas. De este modo, el vino inicial, con un contenido en torno a 5.3 mg/L llega a alcanzar al final del estudio en las botas A y C unos valores en torno a 7 mg/L, mientras que el contenido de la B es ligeramente superior (8.72 mg/L).

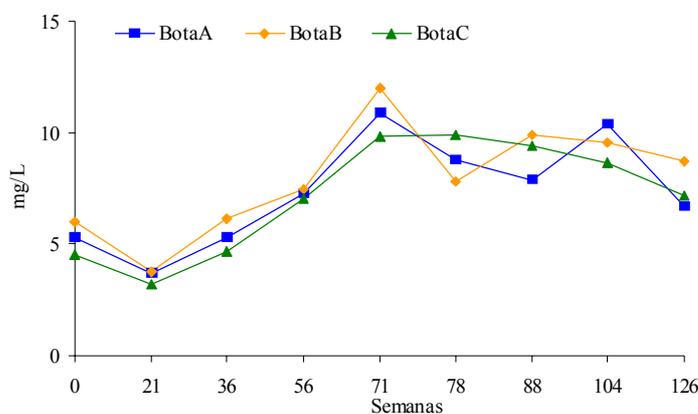


Figura 116. Contenidos en Pico B de las muestras de vinos durante la oxidación química en botas de madera de roble.

En la Figura 117 se muestra la evolución de los contenidos de los picos agrupados para cada bota, a lo largo del envejecimiento, observándose un aumento progresivo hasta las 126 semanas, con variación muy similar para las tres botas. Al final del envejecimiento, las tres botas llegan a alcanzar, con respecto al vino inicial unos niveles mucho más altos, siendo de nuevo las botas B (112 mg/L) y C (102 mg/L) las que presentan los mayores valores, con un incremento en torno al 270%, correspondiendo, asimismo, el valor más bajo a la A (94.6 mg/L), con un incremento en torno al 220%. Este continuo aumento producido desde el vino inicial hasta el final del envejecimiento sienta la hipótesis anteriormente expuesta

sobre los contenidos de estos picos, que se incrementan más acusadamente en los vinos que han sido sometidos a envejecimiento oxidativo.

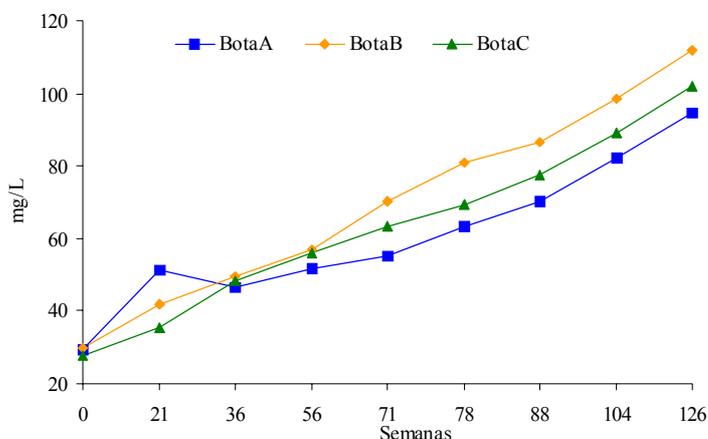


Figura 117. Contenidos en Picos Agrupados de las muestras de vinos durante la oxidación química en botas de madera de roble.

La evolución llevada a cabo por el quercetín-3-galactósido a través de los diferentes tiempos de envejecimiento y en cada una de las botas, se representa en la Figura 118, donde se observa que el comportamiento que siguen las tres botas es muy similar, excepto en el período comprendido entre las 88 y 104 semanas de

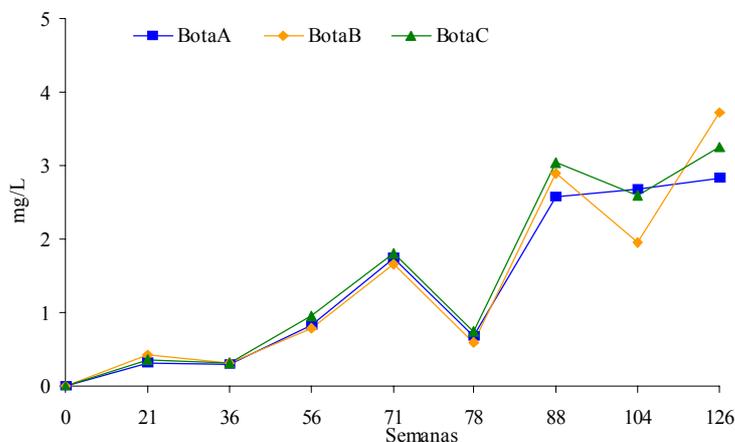


Figura 118. Contenidos en Quercetin-3-Galactósido de las muestras de vinos durante la oxidación química en botas de madera de roble.

envejecimiento en el que la bota A muestra una variación algo diferente. Hay que hacer notar la existencia de un aumento progresivo con el tiempo de envejecimien-

to, destacando que de este compuesto no se detecta cantidad alguna en el vino inicial y, sin embargo, al término de la 1ª fase ya alcanza unos valores en torno a 1.74 mg/L en las tres botas, produciéndose una acusada disminución a las 78 semanas de envejecimiento, con unos contenidos en torno a 0.671 mg/L, para, a continuación, aumentar de manera notable, en torno a un 320%, con unos valores alrededor de 2.8 mg/L, a las 88 semanas. Este incremento continúa hasta el final del envejecimiento, llegando a alcanzar las botas A, B y C unos valores respectivos de 2.84, 3.72 y 3.25 mg/L.

La Figura 119 muestra la variación de los contenidos del quercetín-3- glucósido, para cada bota, a lo largo del envejecimiento, apreciándose, asimismo, un progresivo aumento de las tres botas hasta las 126 semanas, siguiendo todas ellas una evolución muy parecida. Al igual que en el caso anterior, este compuesto no está presente inicialmente en el vino, alcanzando a las 71 semanas un contenido en torno a 2.7 mg/L en las tres botas y al final del estudio valores superiores a 5 mg/L en la bota A y en torno a 6.63 mg/L en las botas B y C.

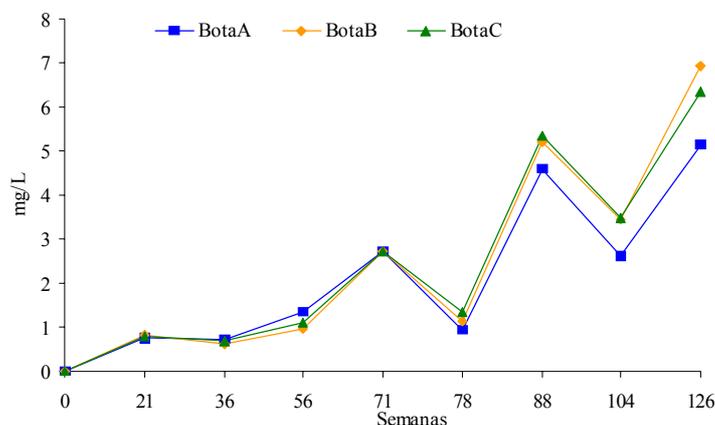


Figura 119. Contenidos en Quercetin-3-Glucósido de las muestras de vinos durante la oxidación química en botas de madera de roble.

Por otro lado, con el objetivo de estudiar la correlación existente entre los contenidos de los distintos compuestos fenólicos y el tiempo de envejecimiento (semanas), se ha realizado un análisis de regresión simple, considerándose para dicho análisis todos los valores obtenidos, para cada compuesto, en cada una de las botas estudiadas. En la Tabla de la página siguiente se muestra, para cada uno de los compuestos fenólicos, el valor de “*p*” del ANOVA realizado, el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de la ecuación lineal, así como la ecuación modelo que se corresponde con el máximo coeficiente de determinación obtenido. A este respecto hay que indicar que todos los compuestos, salvo el pico 1, presentan máximo  $R^2$  con ecuaciones no lineales.

<i>Regresión simple:</i>				
<i>Concentración (mg/L) Comp. Fenólicos (Y) –Tiempo envejecimiento (semanas) (X)</i>				
<b>Compuesto</b>	<b>p</b>	<b>R<sup>2</sup> de la ecuación lineal</b>	<b>Máximo R<sup>2</sup></b>	<b>Ecuación modelo:</b>
Gálico	0.0025	31%	46.7%	Raíz cuadrada X
Protocatéquico.	n.s.			
<i>p</i> -Hidroxibenz.	0.000	55.2%	62.3%	Exponencial
<i>m</i> -Hidroxibenz	0.000	71.5%	77.8%	Exponencial
Vanillico	0.001	35.7%	46.4%	Recíproca Y
Siringico	0.000	73%	77.1%	Raíz cuadrada X
Cafeico	n.s.			
<i>p</i> -Cumárico	n.s.			
Ferúlico	0.021	19.4%	32%	Raíz cuadrada X
<i>t</i> -Caftárico	0.0468	14.8%	16.8%	Recíproca Y
<i>c</i> -Cutárico	0.0014	34.1%	41.4%	Raíz cuadrada X
<i>t</i> -Cutárico	n.s.			
Feftárico	n.s.			
Tirosol	n.s.			
Siringaldehído	0.000	75.9%	85.6%	Raíz cuadrada X
Vainillina	0.000	50.3%	53%	Exponencial
(+)-Catequina	n.s.			
(-)-Epicatequina	0.022	19.2%	25.4%	Raíz cuadrada X
Procianidina B1	n.s.			
Procianidina B2	0.0374	16.2%	17%	Recíproca Y
Procianidina B3	n.s.			
Procianidina B4	0.0038	28.9%	34.6%	Recíproca Y
Pico 1	0.031	17.2%	17.2%	
Pico 2	0.000	65.4%	70%	Exponencial
Pico 3	0.000	71%	85.4%	Raíz cuadrada X
Pico A	0.000	64%	65%	Raíz cuadrada Y
Pico B	0.000	44.7%	48.8%	Exponencial
Picos Agrupados	0.000	92.2%	93.1%	Exponencial
Quercetín-3-Gal	0.000	78.9%	86.3%	Raíz cuadrada Y
Quercetín-3-Glu	0.000	72.5%	82.9%	Raíz cuadrada Y

Como se puede observar, un conjunto de compuestos no presentan una relación estadísticamente significativa con el tiempo de envejecimiento, para el nivel de significación establecido del 5%, como son los ácidos protocatéuico, cafeico y *p*-cumárico, los ésteres *t*-cutárico y feftárico, el alcohol tirosol y los compuestos derivados de flavan-3-ol (+)-catequina y procianidinas B1 y B3. Para los restantes compuestos, se encuentra que sí existe relación estadísticamente significativa a este nivel de significación.

No obstante hay que destacar que, si bien, para el resto de compuestos se encuentra esta relación estadística, los coeficientes de determinación de las ecuaciones modelo obtenidas, lineales o no, no son, en su mayoría, importantes ( $R^2 < 75\%$ ). De aquellos compuestos que muestran relación estadísticamente significativa entre contenido de los mismos y tiempo de envejecimiento, y además presentan un coeficiente de determinación alto destacan principalmente los denominados Picos Agrupados. Así, para este conjunto de compuestos, altamente relacionado con los procesos de oxidación y/o polimerización, se aprecia una correlación entre variables que se ajusta a una regresión lineal con un coeficiente de correlación superior a 0.960, si bien la ecuación modelo con máximo coeficiente de determinación corresponde a una función exponencial, además, estadísticamente significativa a un nivel de confianza superior al 99.9%. En la figura 120 se muestra la representación del modelo exponencial y la ecuación obtenida, en la cual el 93.1% de la variabilidad de los datos en la concentración de estos compuestos queda explicada por la variable tiempo de envejecimiento. Es posible, por ello, efectuar predicciones, en cuanto a este tiempo, para determinados valores de concentración a límites de con-

$$[Picos Agrupados] = \exp\{3.47 + 0.00969 \cdot (tiempo)\}$$

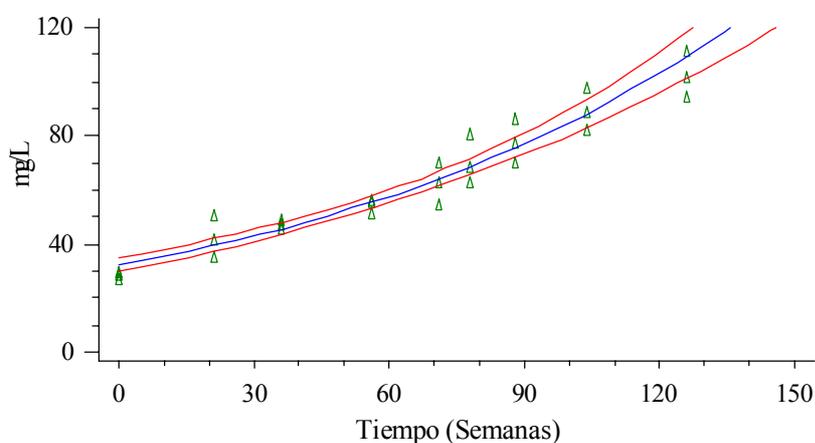


Figura 120 . Modelo de regresión entre concentración de “picos agrupados” y tiempo de envejecimiento.

fianza del 95% y para un promedio de población (línea roja), evidentemente, en un vino similar al estudiado

Otros compuestos que presentan considerables coeficientes de determinación y que, por tanto, permiten deducir que el incremento del contenido de estos compuestos con el tiempo de envejecimiento se ajusta a algún modelo matemático, son el pico 3, cuyo máximo  $R^2$  se presenta en un modelo de raíz cuadrada en X (Figura 121), el siringaldehído, con el mismo tipo de ecuación modelo (Figura 122), los flavonoles quercetín-3-galactósido y quercetín-3-glucósido, ambos con máximo  $R^2$  correspondiente a una ecuación modelo raíz cuadrada en Y (Figuras 123 y 124), y, finalmente, los ácidos *m*-hidroxibenzoico y síringico (Figuras 125 y 126).

El resto de compuestos con relación estadísticamente significativa entre su contenido y el tiempo de envejecimiento presentan valores de  $R^2$  que estadísticamente podemos considerar que no se ajustan a ningún modelo matemático sencillo.

$$[Pico3] = 8.414 + 2.901 \cdot (Tiempo)^{\frac{1}{2}}$$

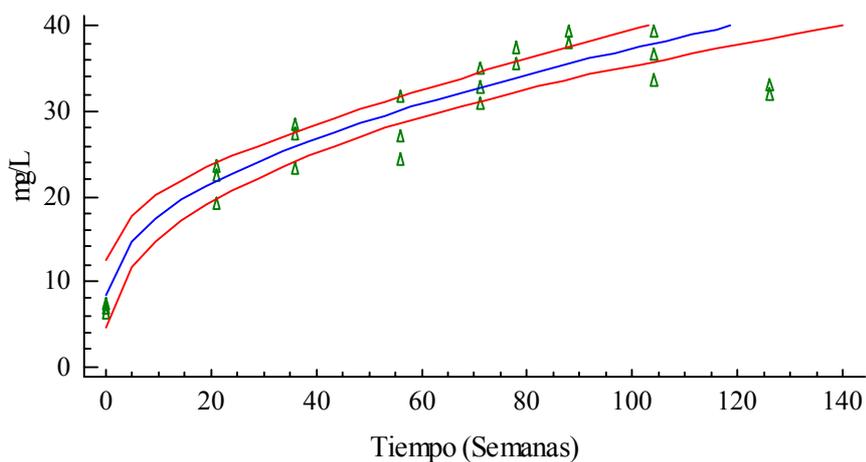


Figura 121 . Modelo de regresión entre concentración del denominado pico 3 y tiempo de envejecimiento.

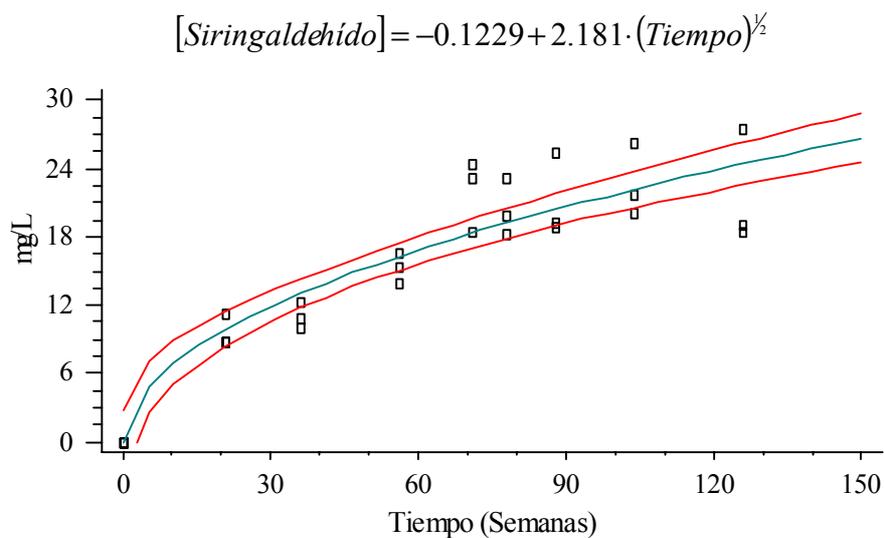


Figura 122. Modelo de regresión entre concentración de siringaldehído y tiempo de envejecimiento.

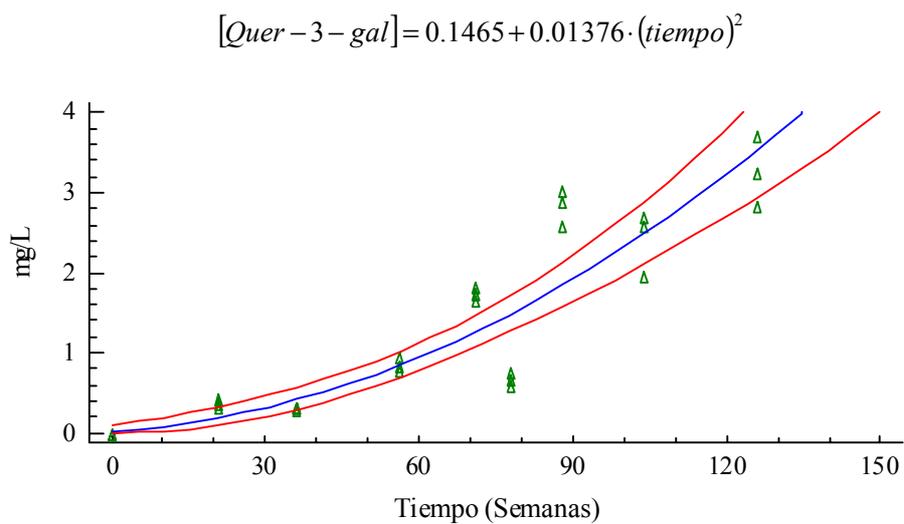


Figura 123. Modelo de regresión entre concentración de quercetina-3-galactósido y tiempo de envejecimiento.

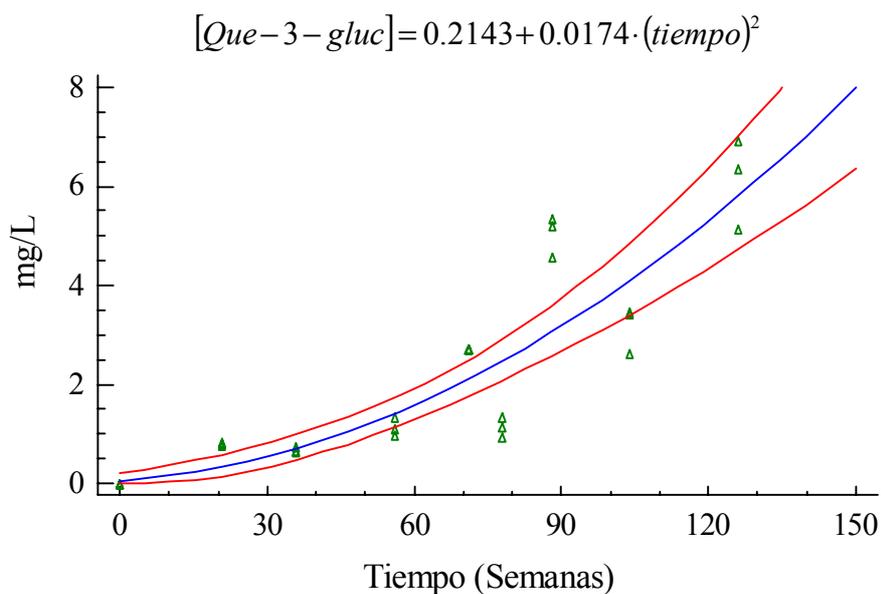


Figura 124. Modelo de regresión entre concentración de quercetín-3-glucósido y tiempo de envejecimiento.

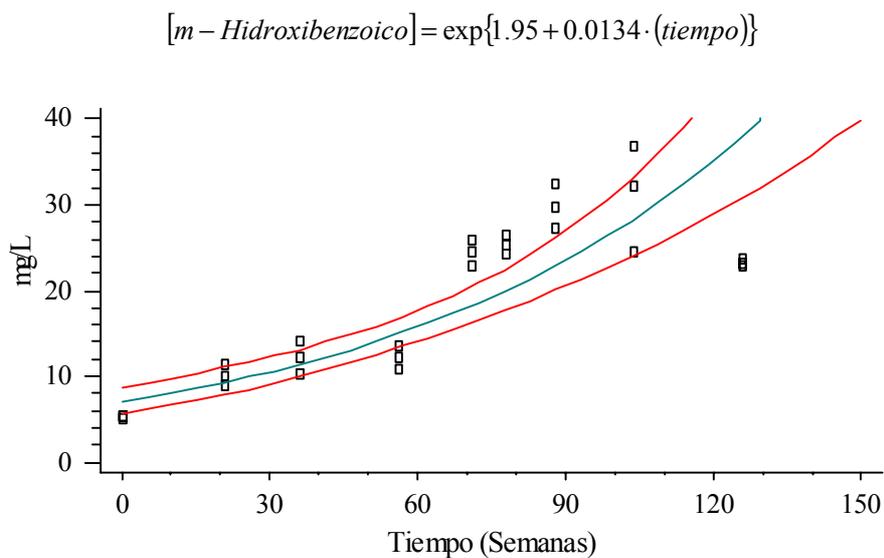


Figura 125. Modelo de regresión entre concentración ácido *m*-hidroxibenzoico y tiempo de envejecimiento.

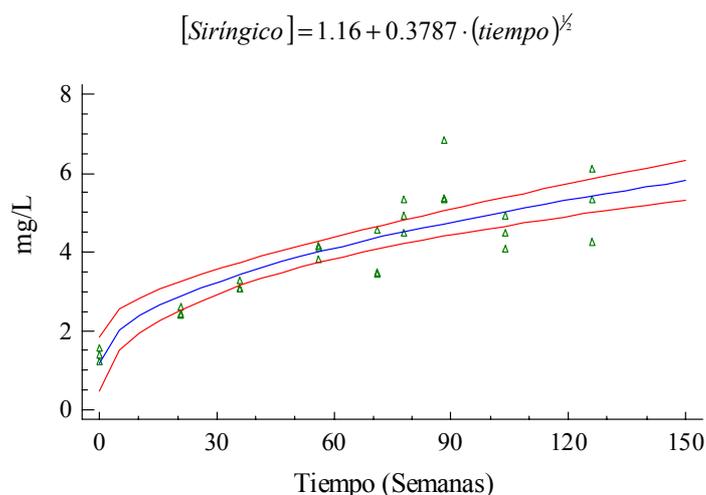


Figura 126. Modelo de regresión entre concentración de ácido siríngico y tiempo de envejecimiento.

### 3.2. CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos para las distintas determinaciones realizadas en sucesivas muestras de vinos sometidos a envejecimiento oxidativo en botas de madera de roble, podemos llegar a las siguientes conclusiones:

✓ La graduación alcohólica, acidez titulable y acidez volátil incrementan sus valores progresivamente conforme avanza el envejecimiento, mientras que, por el contrario, experimentan una disminución el pH y los dióxidos de azufre libre, combinado y total.

✓ Las medidas de absorbancia a 280, 420 y 520 nm aumentan de forma continua con el tiempo de envejecimiento, siendo el vino de la bota B el que muestra los valores más altos de absorbancia al final de la experiencia, razonablemente como consecuencia de las diferencias de temperatura en las tres botas, debido a la disposición de las mismas.

✓ El análisis de regresión simple efectuado para las medidas de absorbancia frente al tiempo de envejecimiento muestra una relación lineal entre ambas variables, con coeficientes de determinación superiores al 96%. En el caso de la A420 y su relación con la variable tiempo, el modelo exponencial muestra un valor de  $R^2$  aún mayor que en el modelo lineal en la Bota B.

✓ Es importante destacar que las velocidades de incremento de las absorbancias fueron del mismo orden de magnitud durante las primeras 71 semanas que en las 55 restantes. Puesto que los regímenes térmicos fueron muy diferentes, pue-

de pensarse en acelerar este tipo de envejecimiento mediante la aplicación de temperatura oscilante, aprovechando de esta forma la mayor solubilidad del oxígeno cuando la temperatura baja y el incremento cinético de la oxidación de fenoles cuando asciende aquella. No obstante, el comportamiento de la bota B fue algo diferente a las otras dos, como consecuencia de las diferencias térmicas entre botas ya comentadas.

✓ Considerando la fracción conjunta de ácidos fenólicos y ésteres de ácidos hidroxicinámicos, los mayores incrementos tienen lugar en los ácidos hidroxibenzoicos, particularmente el vanílico. Los compuestos fenólicos no flavonoides con más alto contenido son, al igual que en la experiencia de las escalas en bodega, el tirosol, los ésteres *t*-caftárico y *c*-cutárico y el ácido *m*-hidroxibenzoico.

✓ Entre los aldehídos hidroxibenzoicos, el siringaldehído, ausente en el vino inicial, de manera análoga al vino envejecido en bodega, incrementa su contenido de forma progresiva y significativa a lo largo del envejecimiento. La vainillina, también aumenta con el tiempo de envejecimiento hasta niveles similares a la “Solera” de oloroso viejo de la experiencia del capítulo precedente.

✓ Se observa una evolución ascendente en el vino de las botas B y C para los monómeros de flavan-3-ol, (+)-catequina y (-)-epicatequina, probablemente debido, tal como se ha comentado en el capítulo anterior, a la hidrólisis de oligómeros. Entre los derivados dímeros presentan mayores contenidos las procianidinas B1, B2 y B3, mientras que la procianidina B4 es la minoritaria.

✓ En lo que se refiere al conjunto de compuestos no identificados, vuelven a destacar los “picos agrupados” y el pico 3, de manera que la concentración más alta corresponde a los primeros, teniendo lugar el mayor incremento porcentual en el segundo. Estos altos incrementos sugieren, de nuevo, que ambos compuestos se relacionan estrechamente con las reacciones de oxidación que se suceden durante la crianza oxidativa, como se ha explicado, igualmente, en el primer capítulo.

✓ Los flavonoles quercetín-3-galactósido y quercetín-3-glucósido, no presentes en el vino inicial, experimentan un progresivo aumento a través del envejecimiento, siendo el segundo compuesto el que llega a alcanzar el mayor contenido de ambos.

✓ Del análisis de regresión llevado a cabo para observar la correlación que existe entre los contenidos de los compuestos fenólicos y la variable tiempo, hay que destacar que todos ellos muestran el máximo coeficiente de determinación con ecuaciones no lineales, salvo el denominado pico 1. Asimismo, los compuestos que presentan el mayor  $R^2$  son los “picos agrupados”, pico 3, siringaldehído, los flavonoles quercetín-3-galactósido y quercetín-3-glucósido y los ácidos *m*-hidroxibenzoico y siríngico.

#### 4. ESTUDIO COMPARATIVO DEL PROCESO DE OXIDACIÓN QUÍMICA DEL VINO EN BOTAS DE MADERA DE ROBLE Y DE LOS VINOS PROCEDENTES DE LAS ESCALAS DE TIPO “OLOROSO”.

##### 4.1. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con el fin de realizar un estudio comparativo del proceso de oxidación química del vino en botas de madera de roble y de los vinos procedentes de las escalas estudiadas, incluida la muestra del vino inicial de las mismas, se ha llevado a cabo, en primer lugar, un análisis multivariante de componentes principales, en el que se consideran las variables espectrofotométricas y las correspondientes a los parámetros enológicos generales, tanto del vino de las distintas escalas como de las tres botas de madera al final de la 1ª fase (71 semanas) y al término del envejecimiento (126 semanas).

La Figura 127 muestra, en el plano definido por las dos primeras componentes, los autovectores correspondientes a las variables estudiadas, así como las puntuaciones de los triplicados de las muestras de vinos correspondientes a los distintos niveles de envejecimiento de cada escala y la puntuación de cada una de las botas al final de la fase correspondiente. Las dos componentes explican, en conjunto, el 85.2% de la varianza total. Se puede apreciar que las variables con más influencia sobre la primera componente (57.6%) son la A280, A420, A520, grado alcohólico y acidez volátil, con signo positivo, y los dióxidos de azufre libre y combinado, con signo negativo. Respecto a la componente 2 (27.6%), las variables que pesan en mayor grado son los azúcares (signo positivo) y el pH y acidez titulable (signo negativo).

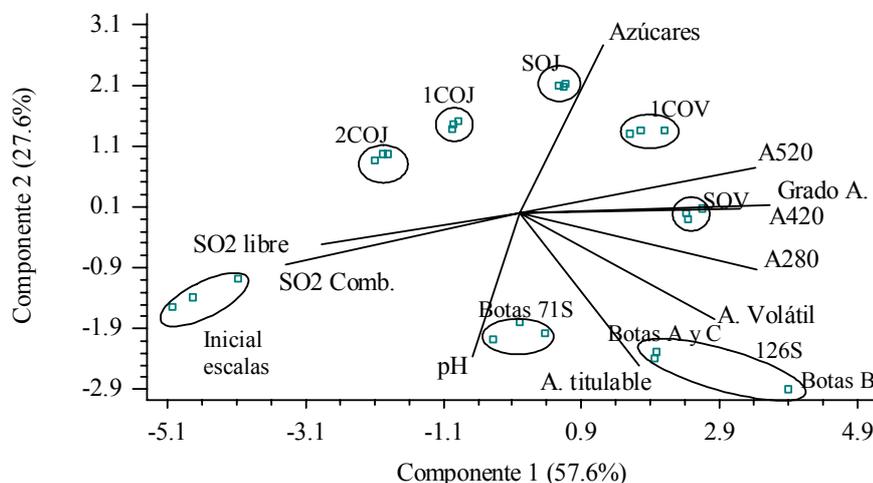


Figura 127. Análisis de componentes principales con las variables espectrofotométricas y parámetros enológicos generales de las muestras de vinos de las botas y las escalas.

En el plano mencionado se observa, asimismo, la formación de ocho grupos homogéneos, seis de ellos conteniendo cada uno los vinos procedentes de los distintos niveles de envejecimiento de las escalas, mientras que los dos grupos restantes comprenden los vinos de las tres botas estudiadas a las 71 y 126 semanas de envejecimiento, respectivamente. Estos grupos, de manera análoga al estudio realizado en el capítulo de las escalas, se han separado fundamentalmente respecto a la componente 1, de forma que los vinos con más tiempo de envejecimiento se sitúan en los valores más altos de dicha componente y conforme disminuye el tiempo de envejecimiento, las muestras de vinos se desplazan hacia la izquierda en el eje, tomando valores negativos. Hay que destacar que el grupo de muestras correspondiente a los vinos de las botas a las 71 semanas se sitúa entre la “1ª Criadera” y “Solera” de oloroso joven, coincidiendo el grupo de las botas a las 126 semanas con el tiempo de envejecimiento de la “1ª Criadera” y “Solera” de oloroso viejo, e incluso dentro de este grupo, a los vinos de las botas A y C les correspondería prácticamente el mismo tiempo que a la “1ª Criadera” de oloroso viejo y a la bota B, en este caso, mayor tiempo de envejecimiento que a la “Solera” de oloroso viejo. Así, el vino inicial de las escalas, con menor tiempo de envejecimiento, y los vinos de la “Solera” de oloroso viejo y de las botas al final de la experiencia, con mayor tiempo de envejecimiento, aparecen situados en los extremos con respecto al eje de esta componente 1.

Del mismo modo que en el caso de las escalas, con la excepción de los azúcares, se puede considerar que la A280, A420, A520, graduación alcohólica y acidez volátil son las variables con más influencia frente al tiempo de envejecimiento del vino, de modo que aumentan progresivamente desde el vino inicial hasta los vinos correspondientes a la “Solera” de oloroso viejo y las botas al término de la 2ª fase, mientras que los dióxidos de azufre libre y combinado también influyen, pero inversamente, es decir, disminuyendo desde el “Vino Inicial” a los vinos con más crianza. Como consecuencia de esto podemos significar que la “Solera” de oloroso viejo muestra los más altos valores para la A420, A520 y graduación alcohólica, mientras que los niveles de A280 y acidez volátil alcanzados por las botas a las 126 semanas son sensiblemente superiores tanto al vino de las escalas como al de las botas al final de la 1ª fase, destacando la bota B sobre las demás. Sin embargo, los contenidos más altos de dióxido de azufre libre y combinado corresponden al “Vino Inicial”. En lo que se refiere al vino de las botas a las 71 semanas de envejecimiento, alcanza unos valores algo inferiores a los de la “1ª Criadera” de oloroso viejo para la A280 y entre la “2ª” y “1ª” Criaderas de oloroso joven para la A520, coincidiendo la A420 con la que muestra la “1ª Criadera” de oloroso joven, mientras que los valores que le corresponden para la graduación alcohólica y acidez volátil son, respectivamente, muy similares a los de la “1ª Criadera” de oloroso joven y “Solera” de oloroso viejo.

Respecto a la componente 2, se observa también una buena separación, aunque la “1ª Criadera” de oloroso joven y “1ª Criadera” de oloroso viejo se sitúan con puntuaciones similares en la parte positiva de su eje. Esta separación se efectúa, asimismo, en función de las variables que muestran un peso más alto sobre esta componente, como son la acidez titulable, pH y azúcares, mostrándose un mayor contenido en azúcares en los vinos procedentes de las escalas, posiblemente debido a la adición, ya mencionada, de productos de caramelización y/o mezcla de vinos más oscuros en alguna etapa, mientras que al “Vino Inicial” corresponde el valor de pH más alto. Sin embargo, el vino de las botas presenta unos valores más acentuados de acidez titulable, presentando a las 71 semanas de envejecimiento unos valores sensiblemente inferiores a los correspondientes al final de la 2ª fase y volviendo a ser la bota B la que presenta los más altos contenidos a las 126 semanas.

En cuanto a los grupos de muestras correspondientes a las botas, se muestra, como hecho a destacar, que las puntuaciones de las botas a las 71 semanas son más similares entre sí que las correspondientes al tiempo de 126 semanas, donde la bota B se diferencia marcadamente de las botas A y C, que presentan entre sí puntuaciones más similares. Estas diferencias entre los vinos correspondientes a estos dos grupos homogéneos se debe al efecto ejercido por la temperatura, constante durante la 2ª fase a 30°C (pero unos 2°C superiores en la Bota B) y con valores de 15°C y 30°C alternados cada 12 horas, durante la 1ª fase, en la cual la diferencia de temperatura entre botas no debe ser tan significativa dado la inercia térmica del vino en ellas almacenado.

En segundo lugar, y para completar el presente estudio comparativo, se han efectuado, igualmente, dos nuevos análisis multivariantes de componentes principales, mostrándose, en el primero, los compuestos fenólicos de baja masa molecular (compuestos fenólicos de estructura no flavonoide), y, en el segundo, los de alta masa molecular (compuestos fenólicos con estructura flavonoide) y algunos no identificados, que tienen una relación estadísticamente significativa con el tiempo de envejecimiento, tal como demostró el análisis de regresión efectuado en la experiencia de oxidación química del vino en las botas de madera de roble. Para dichos análisis estadísticos se han considerado las muestras de vinos de los diferentes niveles de envejecimiento de las escalas de bodega estudiadas en el Capítulo I y las muestras de vinos de las botas en laboratorio al término de las dos fases de la experiencia.

En la Figura 128 se representan los autovectores que se corresponden con cada uno de los compuestos fenólicos de baja masa molecular que se han considerado en el plano definido por las dos primeras componentes, las cuales justifican el 77.3% de la varianza total, siendo los compuestos que más pesan sobre la componente 1 (59.0%) los ácidos gálico, vanílico, *m*-hidroxibenzoico, *p*-hidroxibenzoico y siringico, y los aldehídos siringaldehído y vainillina, todos con signo positivo. Por el contrario, los compuestos que más influyen en relación a la segunda compo-

nente (18.3%) son los ácidos ferúlico, con signo positivo, y *t*-caftárico y *c*-cutárico, con signo negativo.

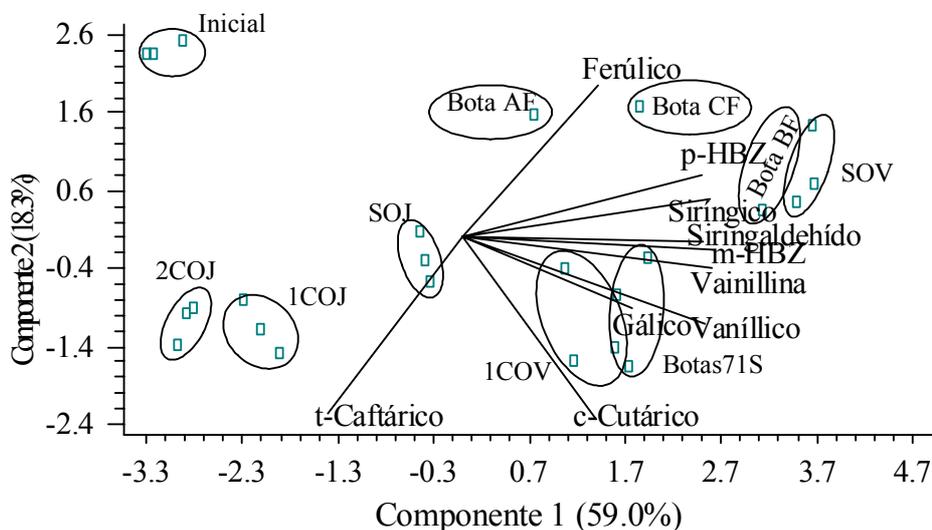


Figura 128. Análisis de componentes principales de compuestos fenólicos de estructura no flavonoide de las muestras de vinos de las botas y las escalas.

Asimismo, dicha Figura muestra las puntuaciones de cada triplicado de los vinos de las escalas y la puntuación de las diferentes botas, formándose siete grupos homogéneos, seis de los cuales contienen cada uno los vinos correspondientes a los distintos niveles de envejecimiento, de manera similar a lo comentado en el capítulo de las escalas y el otro grupo se identifica con las muestras de las botas al término de la 1ª fase (Botas 71S). Dichos grupos, además de las muestras correspondientes a las botas al final del envejecimiento (Botas AF, BF y CF), también se separan principalmente respecto de la componente 1, desplazándose hacia la derecha del eje las muestras de los vinos de mayor tiempo de envejecimiento y hacia la izquierda las de menor tiempo de envejecimiento. Como se puede apreciar, el grupo de muestras que corresponde a las botas a las 71 semanas de envejecimiento se sitúa entre la “1ª Criadera” y “Solera” de oloroso viejo, aunque más lejano de esta última y solapándose algo con la “1ª Criadera” de oloroso viejo. Sin embargo, el vino de las botas a las 126 semanas se corresponde con diferentes niveles de envejecimiento, de manera que la bota A se sitúa prácticamente al mismo nivel que la “1ª Criadera” de oloroso viejo, la C coincide con el tiempo de envejecimiento del vino de las botas a las 71 semanas y, por último, la bota B está comprendida entre la “1ª Criadera” y “Solera” de oloroso viejo aunque mucho más cerca del nivel de la solera de oloroso viejo.

De forma análoga al caso de las escalas en bodega podemos considerar, con la excepción de los ácidos protocatéuico, *p*-cumárico, *t*-cutárico, feftárico y cafeico, que los compuestos que influyen en mayor grado sobre el tiempo de envejecimiento son los ácidos gálico, vanílico, *m*-hidroxibenzoico, *p*-hidroxibenzoico y siringico, y los aldehídos vainillina y siringaldehído, los cuales incrementan sus contenidos a lo largo del envejecimiento. Así, hay que destacar que los ácidos vanílico, *m*-hidroxibenzoico y *p*-hidroxibenzoico presentan mayores contenidos en la “Solera” de oloroso viejo, correspondiendo los niveles más altos de siringico a las botas B y C a las 126 semanas, y de siringaldehído a cada una de las botas tanto al final de la 1ª fase como de la 2ª. Sin embargo, la “1ª Criadera” de oloroso viejo muestra los valores más altos para el ácido gálico. Se puede apreciar que los contenidos en los ácidos *p*-hidroxibenzoico, *m*-hidroxibenzoico, vanílico y siringico del vino de las botas a las 71 semanas de envejecimiento se corresponden prácticamente con los de la “1ª Criadera” de oloroso viejo, mientras que los valores que alcanza en los aldehídos vainillina y siringaldehído son marcadamente superiores a los de la “Solera” de oloroso viejo, correspondiendo el contenido de ácido gálico a la “1ª Criadera” de oloroso joven.

En relación a la segunda componente, la separación no es tan clara y se realiza según los compuestos con mayor peso sobre esta componente, es decir, los ácidos ferúlico, *c*-cutárico y *t*-caftárico, de modo que se observa una similitud en las puntuaciones de los grupos correspondientes a la “2ª” y “1ª” Criaderas de oloroso joven, “1ª Criadera” de oloroso viejo y botas correspondientes a las 71 semanas, que se sitúan en el eje de dicha componente con signo negativo, presentando la “Solera” de oloroso viejo los mayores contenidos en los dos primeros ácidos anteriormente mencionados y la “2ª Criadera” de oloroso joven, los más altos en ácido *t*-caftárico.

Para el análisis realizado con los compuestos fenólicos de mayor masa molecular (compuestos con estructura flavonoide) y algunos compuestos no identificados que muestran relación estadísticamente significativa entre sus contenidos y el tiempo de envejecimiento, han sido considerados los compuestos fenólicos derivados de flavan-3-ol, el pico 3 y picos agrupados, eliminando de este estudio los flavonoles, cuya implicación en los procesos de oxidación no está descrita en bibliografía, y el resto de compuestos no identificados. La Figura 129 muestra los autovectores correspondientes a los compuestos estudiados en el plano definido por las componentes 1 y 2, que dan cuenta, conjuntamente, del 73.8% de la varianza total del proceso, apreciándose que la procianidina B2, (-)-epicatequina, pico 3 y picos agrupados son los compuestos con mayor peso respecto a la primera componente (54.6%), todos ellos con signo positivo, mientras que la procianidina B4, también con signo positivo, es el compuesto que pesa más sobre la componente 2 (19.2%).

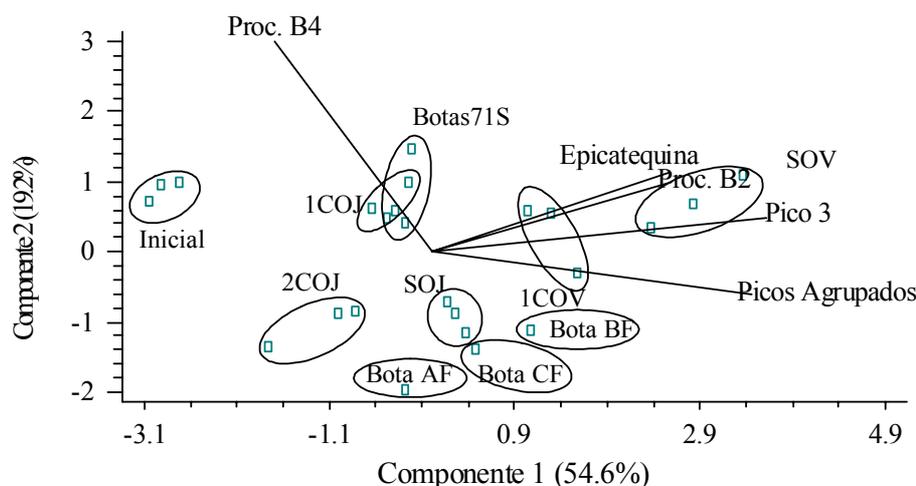


Figura 129. Análisis de componentes principales de compuestos fenólicos con estructura flavonoide de las muestras de vinos de las botas y las escalas.

La misma Figura también muestra las puntuaciones de cada una de las botas y triplicados de las muestras de vinos de las escalas estudiadas, dando lugar, al igual que en el caso de los compuestos de baja masa molecular, a la aparición de siete grupos homogéneos, seis que corresponden a los distintos niveles de envejecimiento de las escalas y el otro restante a los vinos de las botas a las 71 semanas de envejecimiento (Botas 71S), los cuales, junto a los vinos de las botas al término de la experiencia (Botas AF, BF y CF), se vuelven a separar fundamentalmente respecto a la primera componente, cuyos mayores valores se corresponden con los vinos más envejecidos y a la inversa. De esta manera, se observa que el tiempo de envejecimiento de las botas A, C y B a las 126 semanas se corresponde, respectivamente, con el de la “1ª Criadera” de oloroso joven, “Solera” de oloroso joven y “1ª Criadera” de oloroso viejo, mientras que el grupo que contiene el vino de las botas al final de la 1ª fase se solapa en gran parte con la “1ª Criadera” de oloroso joven, por lo que coincide con el nivel de envejecimiento de la bota A al final de la 2ª fase de la experiencia.

A la vista de todo lo comentado en relación a la componente 1, la procianidina B2, (-)-epicatequina, pico 3 y picos agrupados son los compuestos que experimentan una mayor variación con el tiempo de envejecimiento. Así, los mayores contenidos de procianidina B2, (-)-epicatequina, pico 3 y picos agrupados corresponden a la “Solera” de oloroso viejo. Sin embargo, en las muestras de los vinos de las botas en laboratorio los contenidos en procianidina B2 se corresponden, a las 71 semanas de envejecimiento, prácticamente con los del “Vino Inicial”, al igual que a las 126 semanas, y los de (-)-epicatequina son algo inferiores a los de la “Solera” de oloroso viejo, mientras que los valores alcanzados para el pico 3 y picos agru-

pados vienen a coincidir en cierta medida con los de la “Solera” y “1ª Criadera” de oloroso joven, respectivamente. Asimismo, los contenidos de pico 3 a las 126 semanas se corresponderían aproximadamente con los de la “Solera” de oloroso joven y los de picos agrupados, prácticamente, con los de la “Solera” de oloroso viejo.

Respecto a la componente 2, la separación de los grupos homogéneos está en función de la procianidina B4, que es el compuesto que tiene más influencia sobre esta componente. Así, los grupos que se corresponden con los vinos de la “1ª Criadera” de oloroso joven, “1ª Criadera” y “Solera” de oloroso viejo e “Inicial”, muestran valores similares sobre el eje de esta componente y con signo positivo, mientras que, por el contrario, la “2ª Criadera” y “Solera” de oloroso joven toman valores negativos, siendo el “Vino Inicial” el que presenta los mayores contenidos de B4. Por otro lado, los contenidos de procianidina B4 para los vinos a las 71 y 126 semanas vienen a corresponderse, respectivamente, con los de la “1ª” y “2ª” criaderas de oloroso joven.

Finalmente, para terminar este estudio, se ha efectuado un análisis de regresión lineal de la concentración de los picos agrupados frente al tiempo de envejecimiento para las muestras de los vinos sometidos a oxidación forzada en botas y las muestras de vinos correspondientes a las escalas de la bodega, ya que, como se vio en un capítulo anterior, era posible aproximarse en primera instancia a la edad de envejecimiento oxidativo en función de esta variable. Por ello, con el fin de determinar el tiempo que se acortaría en el proceso de oxidación química de los vinos sometidos a envejecimiento acelerado en botas de madera a temperatura controlada respecto a los vinos bajo las condiciones existentes en las mencionadas escalas, se han comparado las regresiones lineales correspondientes a ambas experiencias. En la Figura 130 se representan ambas rectas y sus ecuaciones respectivas, de forma que unos contenidos en picos agrupados de 102.8 mg/L, valor medio de las muestras de los vinos obtenidos de las botas que han sido sometidos a envejecimiento acelerado, se alcanzarían a las 130.8 semanas, mientras que los vinos procedentes de las escalas lo alcanzan a las 612 semanas, lo cual quiere decir que se ha anticipado la crianza oxidativa por este procedimiento en torno a 9.3 años. En la Figura se observa una pendiente en la recta correspondiente a las botas mucho más pronunciada que la de la recta que se corresponde con las escalas, formándose entre tales rectas un ángulo de 23.85 °. Hay que destacar que las ecuaciones lineales calculadas presentan un buen coeficiente de correlación, en torno a 0.96, lo cual corresponde a coeficientes de determinación superiores al 93%.

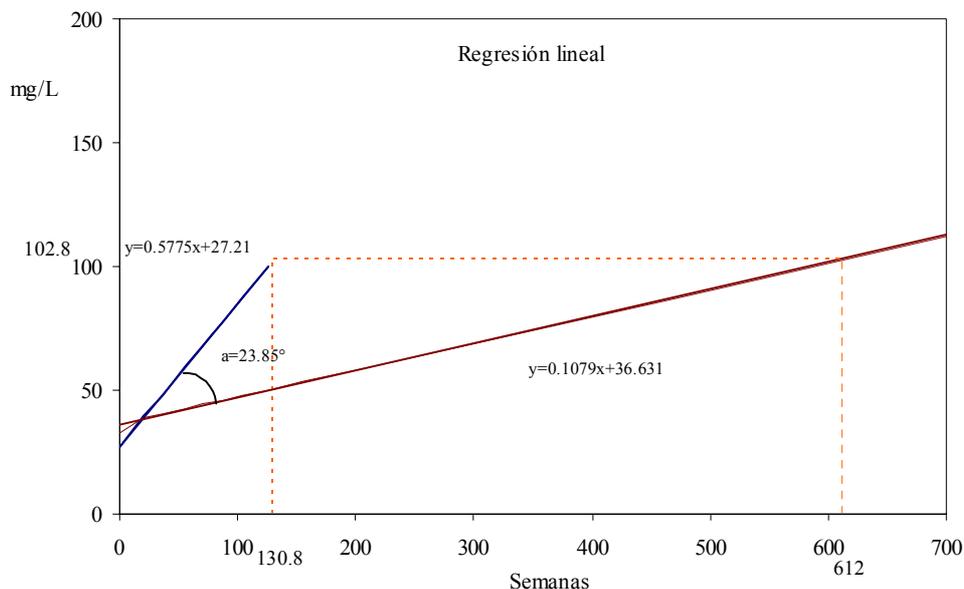


Figura 130. Regresión lineal entre concentración de picos agrupados y tiempo de envejecimiento oxidativo de las muestras de vinos de las botas y las escalas.

#### 4.2. CONCLUSIONES

El análisis de resultados obtenidos al comparar las muestras de vinos correspondientes al final de la 1ª y 2ª fase del envejecimiento oxidativo en botas de madera de roble en el laboratorio con las muestras de vinos sujetos a envejecimiento oxidativo en las escalas de bodega, permite llegar a las siguientes conclusiones:

- El nivel de envejecimiento de los vinos correspondientes a las botas a las 71 semanas, respecto a los parámetros generales y de color, se sitúa entre la 1ª Criadera y Solera de la escala de Oloroso joven de bodega, mientras que las botas correspondientes a las 126 semanas se sitúan al mismo nivel de la 1ª Criadera y Solera de Oloroso viejo, salvo la bota B que se sitúa a un nivel superior.
- Los vinos de la Solera de oloroso viejo correspondientes a la escala de bodega presentan los valores más altos en A420, A520 y graduación alcohólica, mientras que los vinos de las botas de laboratorio a las 126 semanas lo son para la A280, acidez volátil y acidez titulable.
- Los ácidos vanílico, *m*-hidroxibenzoico, *p*-hidroxibenzoico, ferúlico y *c*-cutárico presentan mayores contenidos en la Solera de Oloroso viejo de la escala de bodega, mientras que para el ácido siríngico son más altos en las botas B y C a las

126 semanas. Respecto al siringaldehído los mayores contenidos se presentan en cada una de las botas al final de las dos fases. Sin embargo, la 2ª Criadera” de oloroso joven y 1ª Criadera” de oloroso viejo muestran los más altos valores para los ácidos *t*-caftárico y gálico.

➤ Los mayores contenidos de procianidina B2, (-)-epicatequina, pico 3 y picos agrupados corresponden a la Solera de la escala de bodega oloroso viejo, aunque los valores de estos últimos para las botas de laboratorio al término del envejecimiento son algo inferiores a los de esta Solera. Sin embargo, los vinos de las botas al final de las dos fases presentan los valores más bajos de procianidina B2, mostrando, por el contrario, la procianidina B4 los mayores contenidos en el Vino Inicial.

➤ Comparando las regresiones lineales de la concentración de picos agrupados frente al tiempo de envejecimiento, tanto de los vinos que evolucionaron en condiciones controladas de laboratorio como de los correspondientes a las escalas de bodega, se puede concluir que el envejecimiento puede ser acelerado sustancialmente.

## **5. ESTUDIO DEL PROCESO DE OXIDACIÓN QUÍMICA DEL VINO EN DEPÓSITOS DE ACERO INOXIDABLE.**

En este capítulo, al igual que en el correspondiente a las botas, se estudia la evolución del mismo vino del año a través del envejecimiento oxidativo bajo condiciones constantes de temperatura y saturación en oxígeno pero llevado a cabo en el laboratorio en depósitos de acero inoxidable, con el objetivo de reducir en una primera etapa el tiempo de envejecimiento oxidativo hasta adquirir ciertas características analíticas similares a las obtenidas en bodega. Desde luego, en una segunda etapa, ya en botas de madera, se alcanzarían las características asociadas a la misma, si bien este último punto no se ha desarrollado en esta Memoria.

### **5.1. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En la Tabla 14 se muestran los valores de las distintas determinaciones enológicas generales realizadas sobre las muestras de vino inicial y final (109 semanas) de cada uno de los depósitos de acero inoxidable estudiados. En estas experiencias, a diferencia de las llevadas a cabo en botas de madera de roble en laboratorio, se han determinado los parámetros generales sólo al comienzo y a la conclusión del envejecimiento oxidativo.

Como se puede observar, el pH y la acidez titulable experimentan ligeras variaciones, aumentando el primero y disminuyendo la segunda, pasando el pH de un valor inicial en torno a 3.4 a un valor en torno a 3.62 al término del envejecimiento (109 semanas), mientras que la acidez titulable llega a alcanzar un nivel en torno a 49.8 meq/L, partiendo de un valor en torno a 58.2 meq/L en el vino inicial.

Otro tanto ocurre en el caso de la acidez volátil y el grado alcohólico, puesto que se aprecia una disminución del etanol en los depósitos A y B, los cuales, con un valor inicial en torno a 18°, alcanzan niveles en torno a 17.2° a las 109 semanas de envejecimiento, manteniéndose prácticamente constante el valor del depósito C (18.2°), mientras que la acidez volátil aumenta, asimismo, en los depósitos A y B, disminuyendo el depósito C, si bien este resultado debe considerarse anómalo y debe atribuirse a un error experimental.

Los contenidos de dióxido de azufre libre, combinado y total en cada uno de los depósitos son inferiores al final del envejecimiento con respecto a los del vino inicial, sobre todo, en lo que respecta a la forma combinada y al dióxido de azufre total, donde llegan a alcanzar niveles en éste último de 26-29 mg/L a las 109 semanas, con unos contenidos iniciales en torno a 89 mg/L. Sin embargo, la forma libre disminuye sólo ligeramente, pasando de un valor de 3.87 mg/L en el vino inicial a un contenido, al término del envejecimiento, de 3.31 mg/L. Respecto a los azúcares reductores, se puede apreciar una disminución de sus contenidos, con unos valores en el vino inicial de 0.84 g/L y unos niveles de 0.48 g/L a las 109 semanas.

En cuanto a las determinaciones espectrofotométricas, en las Tablas 15, 16 y 17 se recogen los valores de absorbancia a 280, 420 y 520 nm del triplicado de las diferentes muestras de vinos sometidos a envejecimiento oxidativo en acero inoxidable, para cada uno de los depósitos y tiempo de envejecimiento. En las Figuras 131, 132 y 133 se representan los valores medios, para cada depósito, de la A280, A420 y A520, respectivamente, mostrándose asimismo los incrementos porcentuales, respecto a los valores del vino inicial, de las absorbancias de los vinos a las 70 y 109 semanas de envejecimiento (fin de las fases 1ª y 2ª de las experiencias, respectivamente).

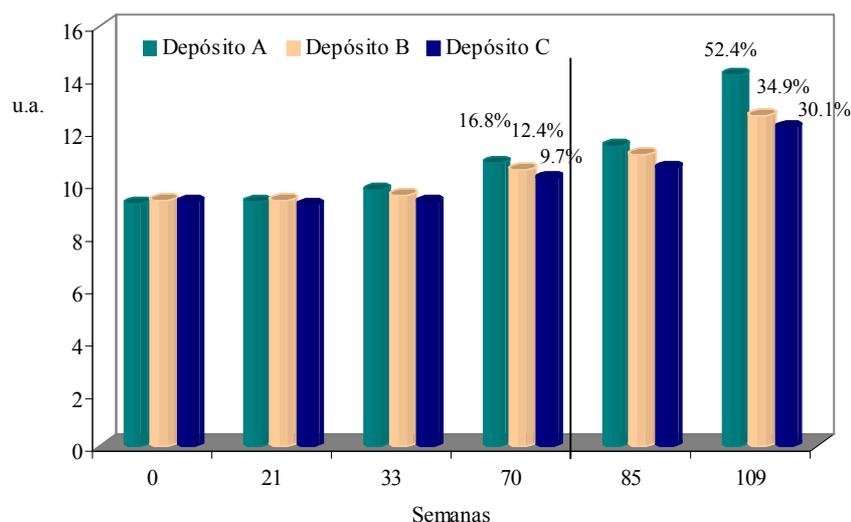


Figura 131. Absorbancia a 280 nm de las muestras de vino durante la oxidación química en depósitos de acero inoxidable.

Los resultados obtenidos muestran que las absorbancias a 280 nm (Figura 131), como medida del contenido en polifenoles totales, se mantienen prácticamente constantes en las primeras 33 semanas y aumentan de forma continua el resto del periodo de envejecimiento para cada depósito, correspondiendo al depósito A el mayor incremento con respecto al vino inicial (en torno a 9.30 u.a.), aumentando un 52.4% al final de la experiencia (109 semanas) y llegando a alcanzar un nivel de 14.1 u.a., mientras que el incremento que experimenta al término de la 1ª fase (Tª constante de 20°C) es notablemente menor (16.8%), con un valor de 10.8 u.a. Sin embargo, los depósitos B y C experimentan, a lo largo de la experiencia, incrementos significativamente menores que los del depósito A, sobre todo durante la 2ª fase (Tª constante de 30°C), llegando a alcanzar a las 109 semanas unos incrementos del 34.9% para el depósito B y 30.1% para el C, respecto al vino inicial, con unos valores respectivos de 12.6 y 12.1 u.a., sensiblemente mayores que los niveles alcanza-

dos al final de la fase anterior, 10.5 y 10.2 u.a., a los cuales corresponden unos aumentos porcentuales del 12.4 y 9.7%, respectivamente. Hay que destacar que la principal diferencia existente entre las dos fases de las experiencias se establece durante la 2ª de ellas, donde el incremento de absorbancia que tiene lugar en el depósito A, en referencia a las absorbancias de los depósitos B y C, es alrededor de un 160% mayor que el que se produce durante la 1ª fase.

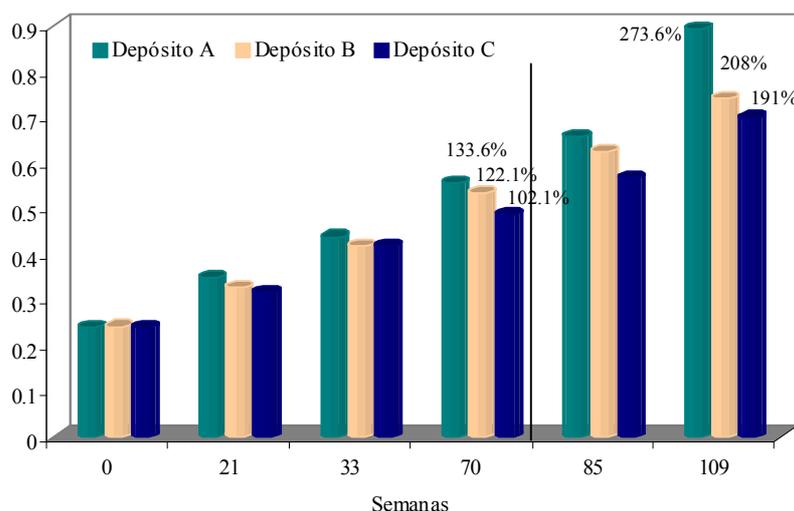


Figura 132. Absorbancia a 420 nm de las muestras de vino durante la oxidación química en depósitos de acero inoxidable.

En cuanto a la absorbancia a 420 nm, se aprecia claramente un incremento progresivo con el tiempo de envejecimiento, siendo el depósito A, al igual que en el caso de la medida a 280 nm, el que aumenta más destacadamente, en especial, en el transcurso de la 2ª fase de la experiencia (Tª constante de 30°C). El mayor incremento se produce en las primeras 21 semanas de envejecimiento, con un aumento en torno al 37 % para los tres depósitos, alcanzando de nuevo el depósito A, al cabo de las 70 semanas (fin de la 1ª fase), el mayor incremento porcentual respecto al vino inicial (en torno a 0.240 u.a.), con un 133.6% y un valor de 0.556 u.a. En cambio, los depósitos B y C llegan a alcanzar niveles significativamente menores, de 0.533 y 0.485 u.a., respectivamente, con un incremento del 122.1% para el depósito B y 102.1% para el C. Esta creciente evolución prosigue a lo largo de la 2ª fase, donde a la conclusión del envejecimiento (109 semanas), el depósito A alcanza un aumento del 273.6% con respecto al vino inicial, lo que implica un nivel de 0.893 u.a. Sin embargo, los depósitos B y C experimentan incrementos sensiblemente menores al final de la experiencia, del 208 y 191%, respectivamente, con unos valores de 0.742 u.a. para el depósito B y 0.699 u.a. para el C. Por otra parte, durante la 2ª fase de la experiencia, el incremento porcentual que tiene lugar en la

absorbancia correspondiente al vino del depósito A, en relación al de los depósitos B y C, es nuevamente superior al aumento correspondiente a la 1ª fase ( $T^a$  constante de 20°C), en torno al 166%, porcentaje similar al de la A280, lo cual permite distinguir nítidamente las dos fases.

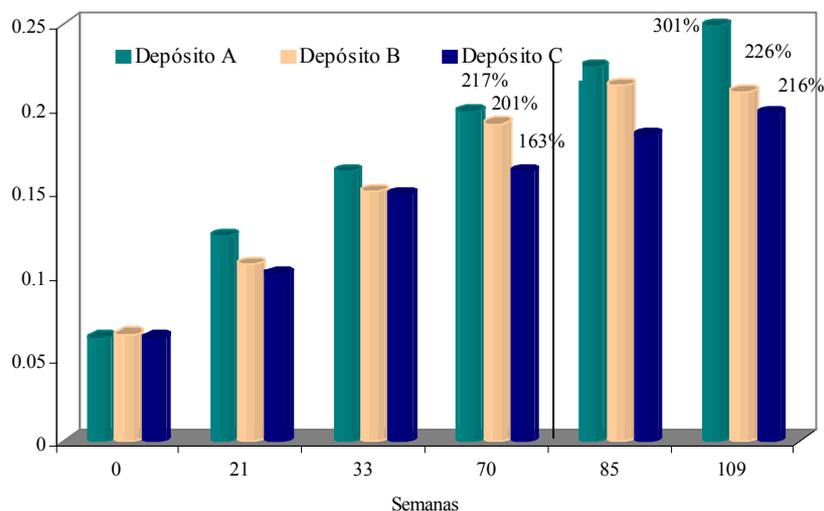


Figura 133. Absorbancia a 520 nm de las muestras de vino durante la oxidación química en depósitos de acero inoxidable.

Con los valores obtenidos en las medidas de absorbancia a 520 nm (Figura 133), podemos observar análogos resultados, experimentando los tres depósitos al final de la experiencia, incrementos similares a los que tienen lugar en el caso de la A420. Así, el aumento más notable corresponde al vino del depósito A que, a las 109 semanas de envejecimiento, se incrementa en un 301% con respecto al vino inicial (0.062 u.a.), llegando a alcanzar un valor de 0.249 u.a., mientras que para los depósitos B y C los incrementos porcentuales producidos son significativamente menores, del 226 y 216%, respectivamente, correspondiendo al depósito B un nivel de 0.210 u.a. y al C, de 0.196 u.a. Del mismo modo, el depósito A sigue siendo, al término de la 1ª fase (70 semanas) el que experimenta el mayor incremento con respecto al vino inicial, con un aumento del 217% y un nivel alcanzado de 0.197 u.a., teniendo lugar en los depósitos B y C incrementos algo menores, del 201% y 163% respectivamente, con unos valores de 0.190 u.a. para el depósito B y 0.163 u.a. para el C. Se puede apreciar también a lo largo de la experiencia que en los tres depósitos se produce el mayor aumento a las 21 semanas de envejecimiento, duplicando el depósito A su valor (0.123 u.a.) con respecto al vino inicial, con un incremento en torno al 99%, mientras que los depósitos B y C alcanzan unos valores respectivos similares, de 0.106 y 0.100 u.a., correspondiendo al depósito B un aumento porcentual en torno al 68%, y al C, en torno al 62%.

Es especialmente destacable, de los resultados obtenidos para las absorbancias de los vinos en las tres experiencias, los mayores incrementos que tienen lugar en la experiencia del depósito A respecto a los obtenidos en los depósitos B y C, principalmente en lo que respecta a las absorbancias a 420 y 520 nm, atribuible a la pequeña diferencia de temperatura que se ha observado, en torno a 0'2°C, superior en el interior del depósito A, como consecuencia del diseño de las experiencias que hace circular en serie agua termostatzada, a 20°C durante la 1ª fase y a 30°C durante la 2ª, con lo que se produce una ligera transferencia de calor al pasar aquella del depósito A al B, mientras que la diferencia apreciada en el seno del depósito C, respecto al B, es menor de 0'1°C, por lo que la diferencia de resultados entre estos dos últimos depósitos no es tan destacable como la observada en relación al depósito A.

Por otro lado, al igual que en las experiencias de envejecimiento en botas de madera de roble en laboratorio, se ha realizado un estudio más profundo de la evolución de la A280, A420 y A520 a lo largo del envejecimiento oxidativo en los depósitos de acero inoxidable considerando los resultados obtenidos en las denominadas “muestras de seguimiento”, aumentando con ello el número de datos, lo que incrementa el nivel de confianza del análisis estadístico que nos relaciona ambas variables.

Así, se ha efectuado un análisis de regresión simple de la A280, A420 y A520 frente al tiempo de envejecimiento para cada depósito, representándose modelos obtenidos con el coeficiente de determinación,  $R^2$ , que, como ya se ha comentado en el anterior capítulo, indica el porcentaje de variabilidad de los valores de absorbancia explicado por la variable tiempo. En la Tabla adjunta a cada una de las gráficas se muestra el análisis de regresión simple llevado a cabo. El cálculo de éste análisis muestra, además, el valor de  $p$  del ANOVA realizado, obteniéndose en todos los casos un valor de  $p < 0.001$ , lo que demuestra una relación estadísticamente significativa entre cada una de las absorbancias estudiadas para cada depósito y el tiempo de envejecimiento, a un nivel de confianza del 99.9%.

En estas Tablas se puede apreciar que, de los modelos que presentan máximo valor del coeficiente de determinación, sólo se ajustan a una ecuación lineal los correspondientes a la A280, para el depósito C, y a la A420, para los depósitos B y C, destacando estos dos últimos modelos con unos coeficientes de determinación respectivos del 97.1% y 93.7%, mientras que las regresiones simples de la A280, para los depósitos A y B, y de la A420, para el depósito A, responden a modelos matemáticos cuyas ecuaciones son funciones exponenciales, siendo este último modelo el que presenta, entre todos, el mayor  $R^2$  (97.07%). En relación a la absorbancia a 520 nm, los modelos que presentan máximo valor de  $R^2$ , correspondientes a los tres depósitos, se ajustan a una ecuación que es función de la raíz cuadrada del tiempo de envejecimiento, mostrando los depósitos A y B los modelos matemáticos con mayor  $R^2$  (95.6 y 92%, respectivamente). Así, en la Figura 134 se repre-

senta para la A280 el modelo exponencial para los depósitos A y B y el modelo lineal para el depósito C. En la Figura 135 se representan para la A420 el modelo exponencial para el depósito A y el modelo lineal para los depósitos B y C. Sin embargo, para la A520 los máximos valores de  $R^2$  no corresponden a modelos lineales, si bien sus coeficientes de determinación son superiores al 80%, siendo esta la razón por la que en la Figura 136 se representan estos modelos lineales, lo cual simplifica la discusión de resultados y permite la comparación con los modelos obtenidos para las botas de madera de roble en laboratorio. No obstante, dada la importancia del parámetro A420 en el proceso de envejecimiento oxidativo, es de destacar el alto coeficiente de determinación obtenido en el modelo lineal para los tres depósitos.

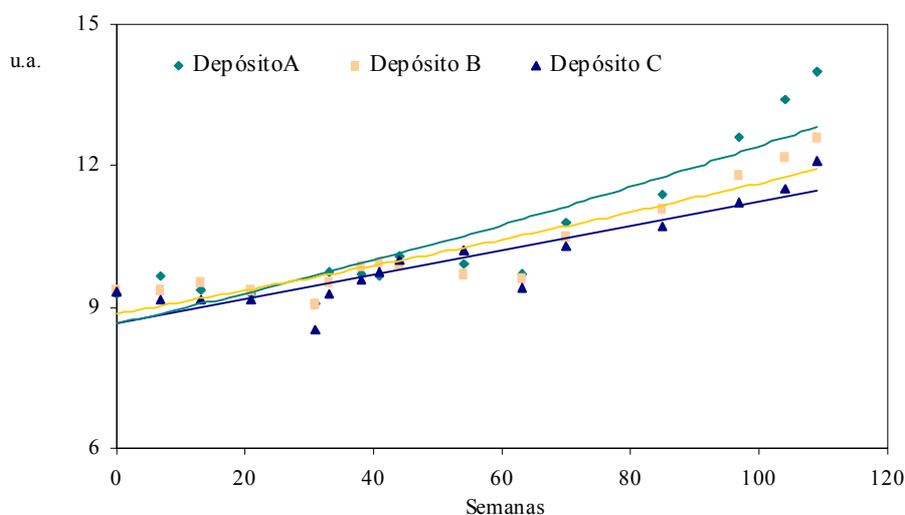


Figura 134. Análisis de regresión entre la absorbancia a 280 nm y tiempo de oxidación química (semanas) en depósitos de acero inoxidable.

<b>Regresión simple: A280 (Y) – Semanas (X)</b>				
Depósito	Ecuación lineal		Máximo $R^2$	Ecuación modelo:
	$R^2$	$p$		
A	80.8%	0.000	82.6%	Exponencial
B	82.1%	0.000	82.9%	Exponencial
C	81.1%	0.000	81.1%	Lineal

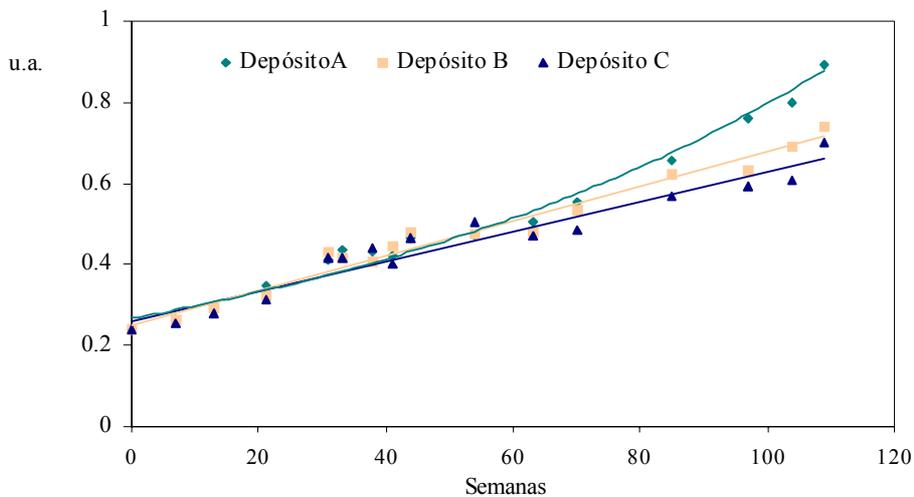


Figura 135. Análisis de regresión entre la absorbancia a 420 nm y tiempo de oxidación químico (semanas) en depósitos de acero inoxidable.

<i>Regresión simple: A420 (Y) – Semanas (X)</i>				
Depósito	Ecuación lineal		Máximo R <sup>2</sup>	Ecuación modelo:
	R <sup>2</sup>	p		
A	96.8%	0.000	97.07%	Exponencial
B	97.1%	0.000	97.1%	Lineal
C	93.7%	0.000	93.7%	Lineal

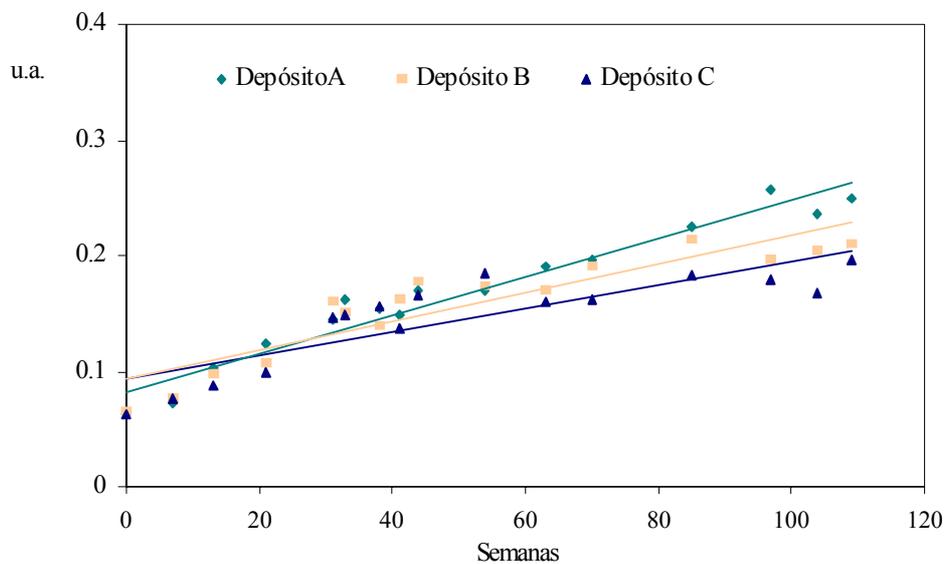


Figura 136. Análisis de regresión lineal entre la absorción a 520 nm y tiempo de oxidación químico (semanas) en depósitos de acero inoxidable.

<i>Regresión simple: A520 (Y) – Semanas (X)</i>				
Depósito	Ecuación lineal		Máximo R <sup>2</sup>	Ecuación modelo:
	R <sup>2</sup>	p		
A	94.8%	0.000	95.6%	Raíz cuadrada X
B	83%	0.000	92%	Raíz cuadrada X
C	72.9%	0.000	85.5%	Raíz cuadrada X

Por otra parte, el registro espectrofotométrico completo efectuado confirma algunas consideraciones hechas respecto de las medidas a longitudes de onda fijas, como se puede apreciar en toda la zona UV (Figura 137), donde el vino inicial muestra el valor de absorbancia más bajo, incrementándose ésta con el tiempo de envejecimiento hasta alcanzar a las 109 semanas los mayores valores. Se observa, además, que el vino del depósito A presenta valores de absorbancia más altos que los de los depósitos B y C a lo largo de la experiencia, tal y como se ha comentado en el párrafo anterior.

Asimismo, se muestra en toda la zona del Visible (Figura 138) una mayor absorbancia para el vino con 109 semanas de envejecimiento, disminuyendo estos valores conforme lo hace también el tiempo de envejecimiento hasta alcanzar el vino inicial el valor más bajo. De la misma manera, se pueden observar unos valores de absorbancia más altos para el depósito A en todos los tiempos de envejecimiento.

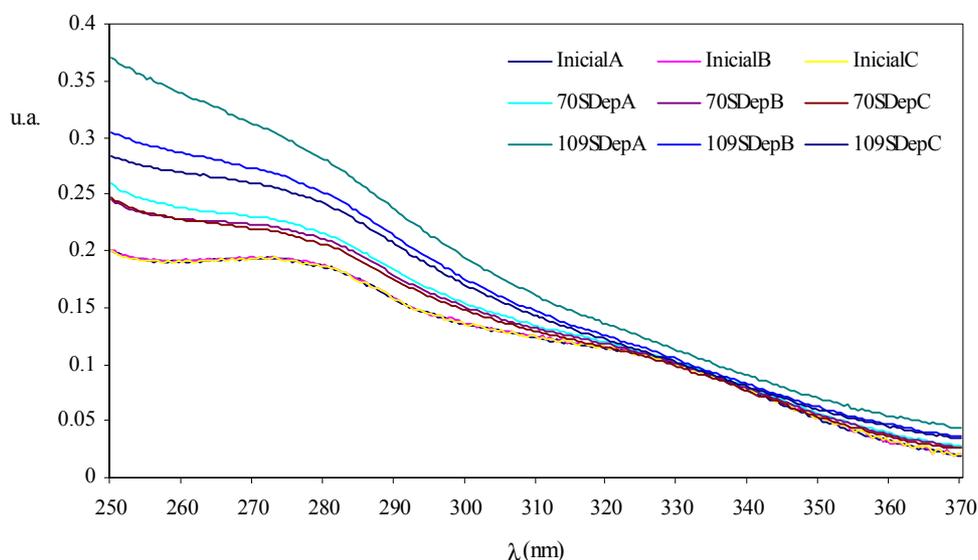


Figura 137. Espectros en el rango del ultravioleta de las muestras de vinos, inicial, a 70 y 109 Semanas, durante la oxidación química en depósitos de acero inoxidable.

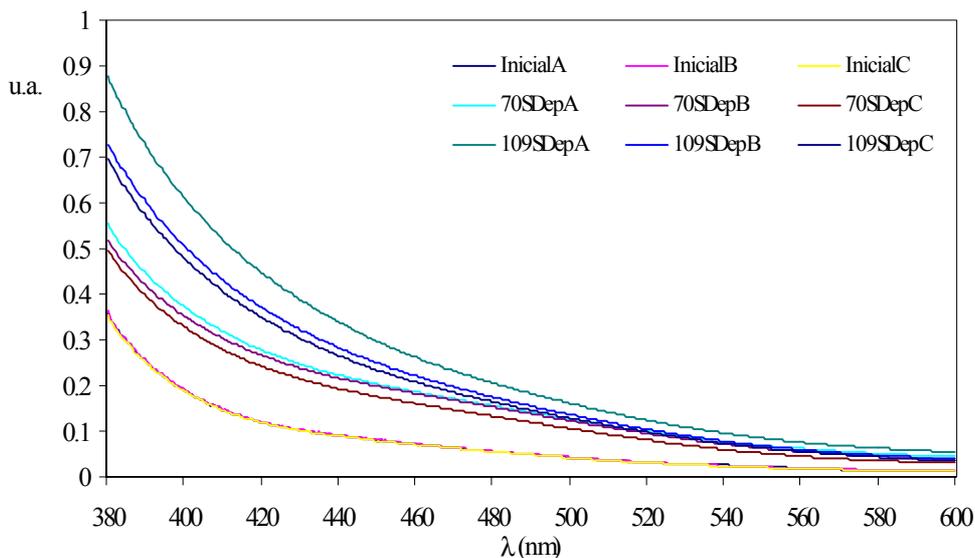


Figura 138. Espectros en el rango del visible de las muestras de vinos, inicial, a 70 y 109 Semanas, durante la oxidación química en depósitos de acero inoxidable.

En cuanto a los resultados obtenidos por HPLC, en la Tabla 18 se recogen los contenidos de las muestras de vino de cada uno de los depósitos objeto de estudio para cada tiempo de envejecimiento, representándose asimismo gráficamente mediante líneas para cada compuesto y depósito considerado. Además, al igual que se hizo para la experiencia de oxidación química realizada en botas de roble en laboratorio, se ha efectuado un análisis de regresión simple con objeto de estudiar la relación existente entre los contenidos de los diferentes compuestos fenólicos y el tiempo de envejecimiento. La Tabla de la página siguiente muestra, para cada compuesto fenólico, el valor de “*p*” del ANOVA realizado, el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de la ecuación lineal, además del modelo matemático cuya ecuación se corresponde con el máximo coeficiente de determinación obtenido.

<b>Regresión simple:</b>				
<b>Concentración (mg/L) Comp. Fenólicos (Y) –Tiempo envejecimiento (semanas) (X)</b>				
<b>Compuesto</b>	<b>p</b>	<b>R<sup>2</sup> de la Ecuación lineal</b>	<b>Máximo R<sup>2</sup></b>	<b>Ecuación modelo:</b>
Gálico	n.s.			
Protocatéquico.	n.s.			
p-Hidroxibenz.	0.000	71.6%	71.6%	
m-Hidroxibenz	0.000	88.1%	94.2%	Recíproca Y
Vanílico	0.01	33.1%	38.7%	Reciproca Y
Siríngico	0.023	45%	47.9%	Recíproca Y
Cafeico	0.0004	55.6%	55.6%	
p-Cumárico	n.s.			
Ferúlico	0.0034	42.5%	42.5%	
t-Caftárico	0.0000	80.0%	85.1%	Raíz cuadrada X
c-Cutárico	0.0004	55.9%	58.6%	Recíproca Y
t-Cutárico	0.0008	51.6%	53.0%	Exponencial
Feftárico	n.s.			
Tirosol	n..s.			
(+)-Catequina	n.s.			
(-)-Epicatequina	n.s.			
Procianidina B1	n.s.			
Procianidina B2	0.03	25.8%	26%	Raíz cuadrada Y
Procianidina B3	n.s.			
Procianidina B4	n.s.			
Pico 1	n.s.			
Pico 2	n.s.			
Pico 3	0.000	71.6%	81.6%	Raíz cuadrada X
Pico A	0.000	60.1%	66.7%	Raíz cuadrada X
Pico B	n.s.			
Picos Agrupados	0.000	89.4%	92%	Exponencial
Quecetín-3-Glu.	0.000	81.3%	95.0%	Raíz cuadrada X
Quercetina	0.001	50.6%	78%	Raíz cuadrada X

En primer lugar hay que significar la existencia de un conjunto amplio de compuestos que no presentan relación estadísticamente significativa entre las variables concentración de compuesto y tiempo de envejecimiento, a un nivel de significación establecido de 0.05. En este caso se encuentran los ácidos gálico, protocatequico y *p*-cumárico, el éster feftárico, tirosol, los derivados de flavan-3-ol (+)-catequina, (-)-epicatequina y procianidinas B1, B3 y B4, y los picos no identificados pico 1, pico 2 y pico B. El resto de compuestos estudiados presentan valores de *p* menores a 0.05, mostrando la mayoría de estos compuestos una relación con máximo  $R^2$  para ecuaciones no lineales, excepto los ácidos *p*-hidroxibenzoico, cafeico y ferúlico. No obstante, para más de la mitad de estos compuestos, los coeficientes de determinación de las ecuaciones modelo estudiadas no tienen relevancia y se puede considerar que estadísticamente no se ajustan de manera importante a ningún modelo matemático de los estudiados.

Entre los compuestos que sí muestran un considerable valor de  $R^2$  se encuentra de forma destacada, el flavonol quercetín-3-glucósido, además del ácido *m*-hidroxibenzoico, “picos agrupados”, éster *t*-caftárico, pico 3 y ácido *p*-hidroxibenzoico, pudiéndose deducir para todos ellos que la variación de sus contenidos con el tiempo de envejecimiento se ajusta de forma importante a algún modelo matemático.

Así, el quercetín-3-glucósido, que presenta una relación estadísticamente significativa con el tiempo de envejecimiento, con un valor de  $p < 0.001$ , se ajusta bastante mejor a un modelo cuya ecuación es función de la raíz cuadrada de la variable tiempo, con un máximo coeficiente de determinación ( $R^2$ ) del 95%. En la Figura 139 se representa la evolución de los contenidos de este compuesto a los distintos tiempos de envejecimiento en cada depósito considerado y en la Figura 140 el modelo de regresión y las líneas de confianza que permiten efectuar predicciones de valores a límites de confianza del 95% para un promedio de población (líneas rojas).

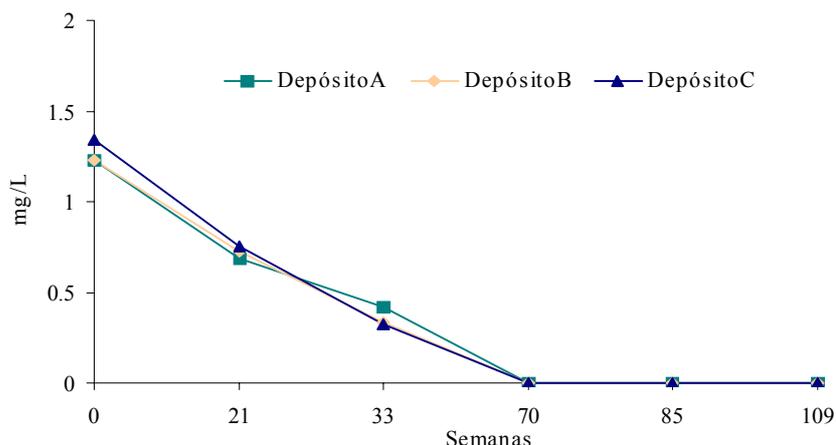


Figura 139. Contenidos en quercetín-3-glucósido de las muestras de vinos durante la oxidación química en depósitos de acero inoxidable.

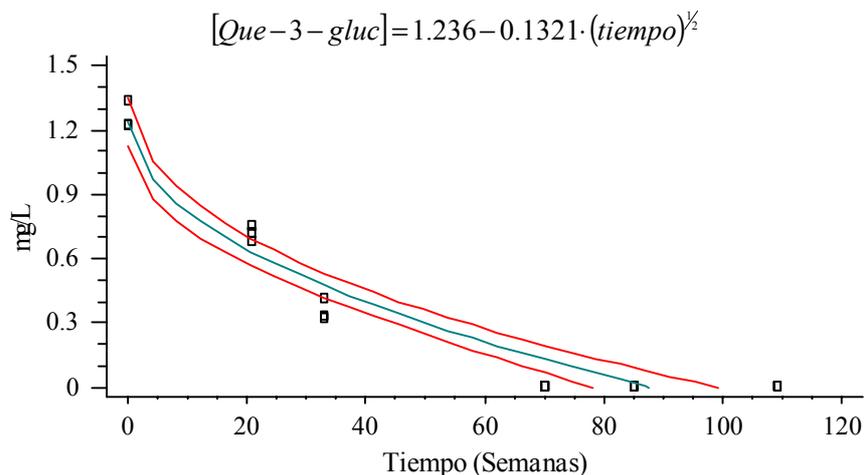


Figura 140. Modelo de regresión entre concentración de quercetín-3-glucósido y tiempo de envejecimiento.

En cuanto a la primera de las Figuras se observa una evolución similar en todos los depósitos desde el vino inicial, con un valor en torno a 1.27 mg/L, hasta el término de la 1ª fase (70 semanas), en que dicho compuesto experimenta una marcada disminución hasta que llega a desaparecer por completo, aunque a las 33 semanas de envejecimiento el contenido del depósito A (0.42 mg/L) es algo superior al de los depósitos B y C (en torno a 0.328 mg/L).

Para el ácido *m*-hidroxibenzoico el máximo  $R^2$  (94.2%) se corresponde, sin embargo, con una ecuación modelo función de la recíproca en Y, sin despreciar el coeficiente de correlación que se obtiene para la ecuación lineal (0.938). En la Figura 141 se representa la evolución, para cada depósito, de los contenidos de este compuesto a lo largo del envejecimiento y en la Figura 142 el modelo matemático anteriormente indicado. Se puede observar un notable incremento en todos los depósitos desde el vino inicial (en torno a 5.8 mg/L) hasta las 109 semanas de envejecimiento (final de la experiencia), con unos valores respectivos de 17.2, 16 y 18.5 mg/L para los depósitos A, B y C. Este aumento es continuo en los tres depósitos, excepto en el A, el cual prácticamente mantiene a las 33 semanas el valor alcanzado a las 21 semanas de envejecimiento. Por otro lado, hay que reseñar que el incremento que tiene lugar en la 2ª fase ( $T^a$  constante de 30°C) es notablemente superior al producido en la 1ª fase ( $T^a$  constante de 20°C), donde a las 70 semanas se alcanzan unos contenidos de 10.4, 9.45 y 8.31 mg/L para los depósitos A, B y C, respectivamente.

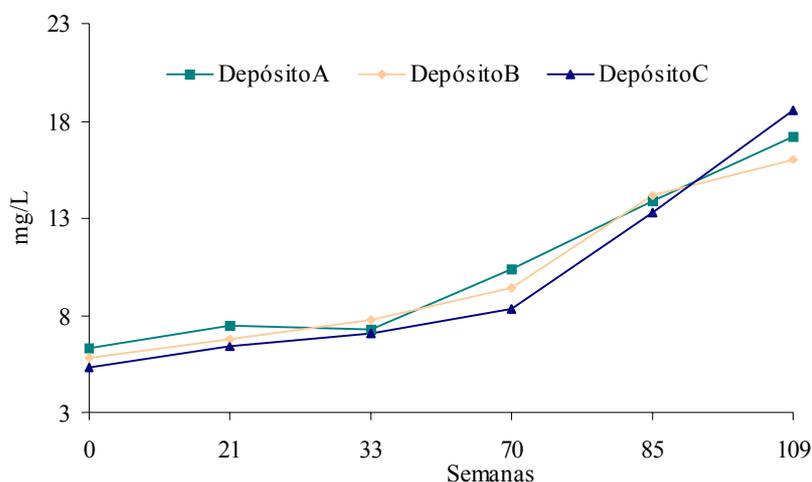


Figura 141 . Contenidos en ácido *m*-hidroxibenzoico de las muestras de vinos durante la oxidación química en depósitos de acero inoxidable.

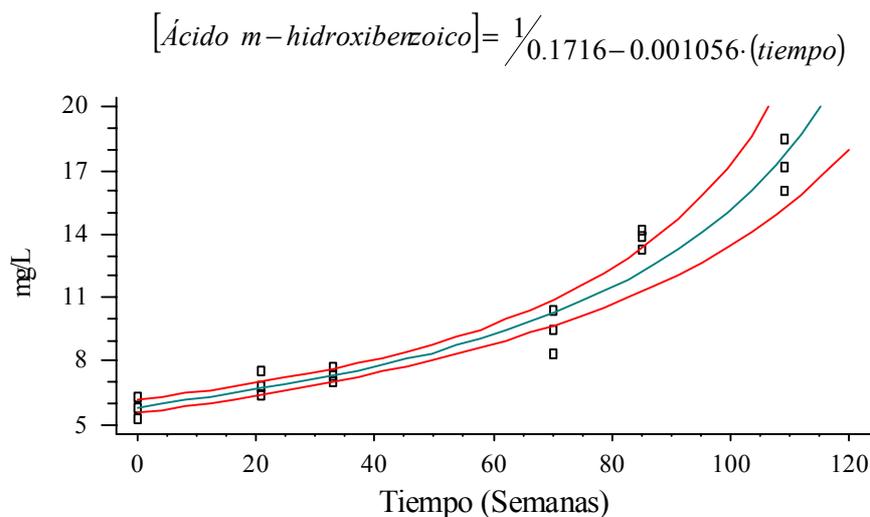


Figura 142. Modelo de regresión entre concentración de ácido *m*-hidroxibenzoico y tiempo de envejecimiento.

Los Picos Agrupados muestran un mejor ajuste a un modelo matemático función exponencial, con un máximo  $R^2$  del 92%, siendo superior a 0.945 el coeficiente de correlación correspondiente a la ecuación lineal. La Figura 143 muestra la variación de los contenidos de estos compuestos, para cada depósito, a través del envejecimiento y la Figura 144 el modelo matemático de máximo coeficiente de determinación.

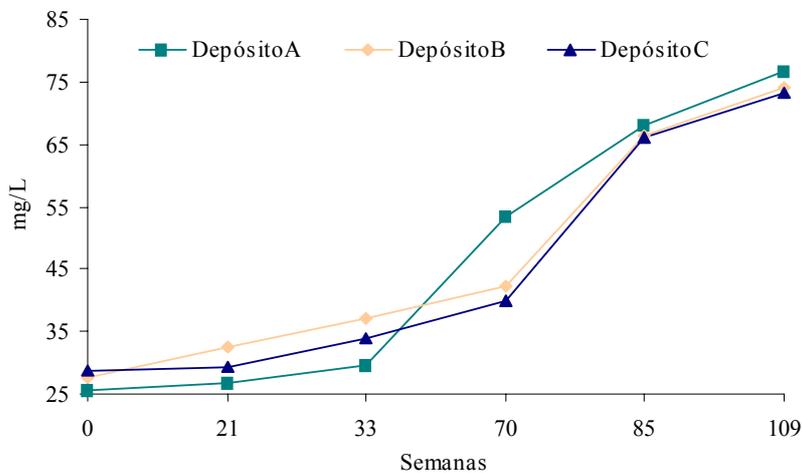


Figura 143. Contenidos en compuestos productos de oxidación y/o polimerización, “picos agrupados”, de las muestras de vinos durante la oxidación química en depósitos de acero inoxidable.

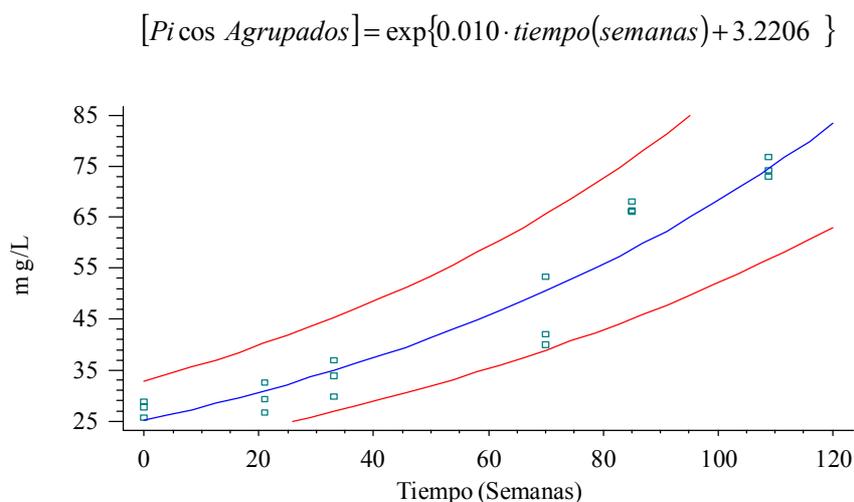


Figura 144. Modelo de regresión entre concentración de “picos agrupados” y tiempo de envejecimiento.

En la primera de ellas se aprecia una evolución similar en todos ellos hasta las 33 semanas, siendo la variación seguida por el depósito A algo diferente hasta las 85 semanas de envejecimiento. Así, partiendo de un vino inicial con un valor en torno a 27 mg/L, los tres depósitos incrementan sus contenidos a las 70 semanas (fin de la 1ª fase) siendo el máximo incremento el producido en el depósito A (108%), llegando a un valor alrededor de 53 mg/L. A las 85 semanas de envejecimiento, sin embargo, tiene lugar un marcado incremento para los depósitos B y C, mientras que el aumento correspondiente al depósito A es notablemente menor alcanzando finalmente los tres depósitos unos valores en torno a 75 mg/L al cabo de las 109 semanas (fin de la 2ª fase), lo que representa un incremento en torno al 177% respecto al vino inicial.

Para el ácido *t*-caftárico, el máximo  $R^2$  es del 85.1%, ajustándose más a una ecuación modelo de raíz cuadrada en X (Figura 146). En la Figura 145 se muestra la evolución de los contenidos de este compuesto en cada depósito a lo largo del envejecimiento. Se puede apreciar una progresiva disminución en los tres depósitos hasta el final de la experiencia (109 semanas), siendo muy similar la variación que experimentan los depósitos B y C, al contrario que el depósito A, algo diferente. Así, partiendo de un vino inicial con un valor en torno a 40 mg/L, el depósito A disminuye de forma continua hasta las 85 semanas de envejecimiento, alcanzando un contenido de 20 mg/L, para luego aumentar a 25.3 mg/L a las 109 semanas. No obstante, para los depósitos B y C la disminución es continua hasta las 70 semanas (fin de la 1ª fase), con unos valores de 23.7 mg/L para el depósito B y de 20.6 mg/L para el depósito C, experimentando seguidamente un ligero incremento para

disminuir finalmente a un valor en torno a 19.5 mg/L al término del envejecimiento. La diferencia fundamental entre las dos fases radica en que prácticamente toda la disminución que tiene lugar en cada uno de los depósitos se produce a las 70 semanas, con un porcentaje en torno al 43%.

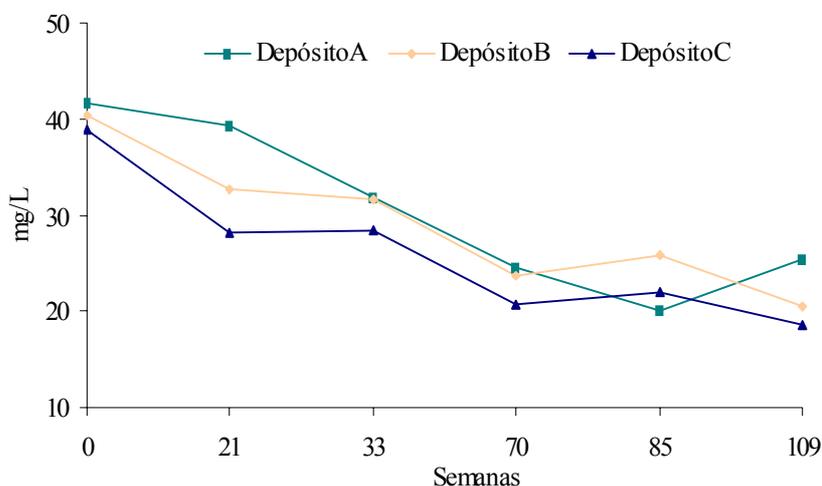


Figura 145. Contenidos en *t*-caftárico de las muestras de vinos durante la oxidación química en depósitos de acero inoxidable.

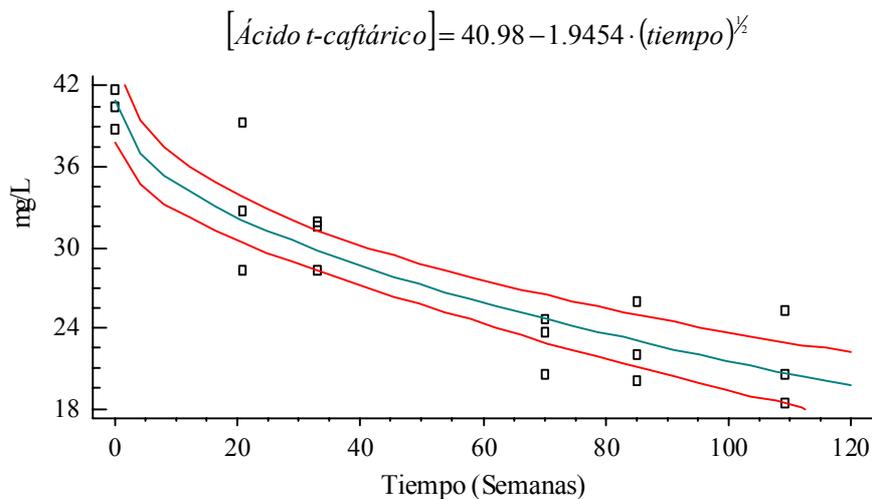


Figura 146. Modelo de regresión entre concentración de *t*-caftárico y tiempo de envejecimiento.

Del mismo modo, el Pico 3 se ajusta considerablemente mejor a un modelo matemático función de la raíz cuadrada en X (Figura 148), presentando un máximo  $R^2$  del 81.6%. La Figura 147 muestra la evolución de los contenidos del Pico 3 a lo largo del envejecimiento para cada uno de los depósitos estudiados, aumentando progresivamente los valores de cada depósito, por término general, hasta el final de la experiencia, volviendo a corroborar que los vinos sometidos a crianza oxidativa incrementan sus contenidos en este compuesto, tal y como se ha argumentado en capítulos precedentes. Así, los depósitos B y C incrementan sus contenidos desde el vino inicial, con un valor en torno a 6 mg/L, hasta las 85 semanas de envejecimiento, donde alcanzan sus valores máximos, con unos contenidos respectivos de 15.4 y 13.6 mg/L, aunque experimentan una ligera disminución a las 109 semanas, llegando finalmente a unos valores de 13.5 y 11.4 mg/L. El depósito A, sin embargo, lleva a cabo un continuo aumento llegando a su máximo contenido al final de la 2ª fase (109 semanas). Por otro lado, el incremento producido durante la 1ª fase ( $T^a$  constante de 20°C) es superior al que se produce durante la 2ª ( $T^a$  constante de 30°C), de manera que a las 70 semanas (fin de la 1ª fase) los tres depósitos aumentan sus contenidos en torno a un 110%, con unos valores alrededor de 12 mg/L, mientras que en el transcurso de la 2ª fase sólo aumentan significativamente sus valores los depósitos A y B, en torno al 32 y 12 %, respectivamente, manteniéndose prácticamente constante el contenido del depósito C.

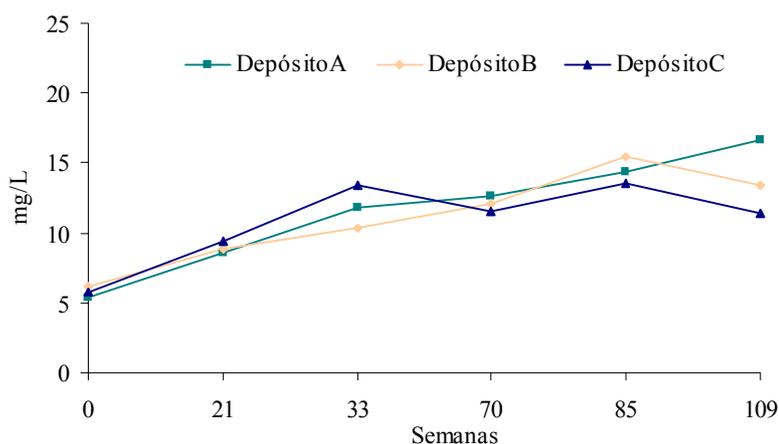


Figura 147. Contenidos en el compuesto denominado pico 3 de las muestras de vinos durante la oxidación química en depósitos de acero inoxidable.

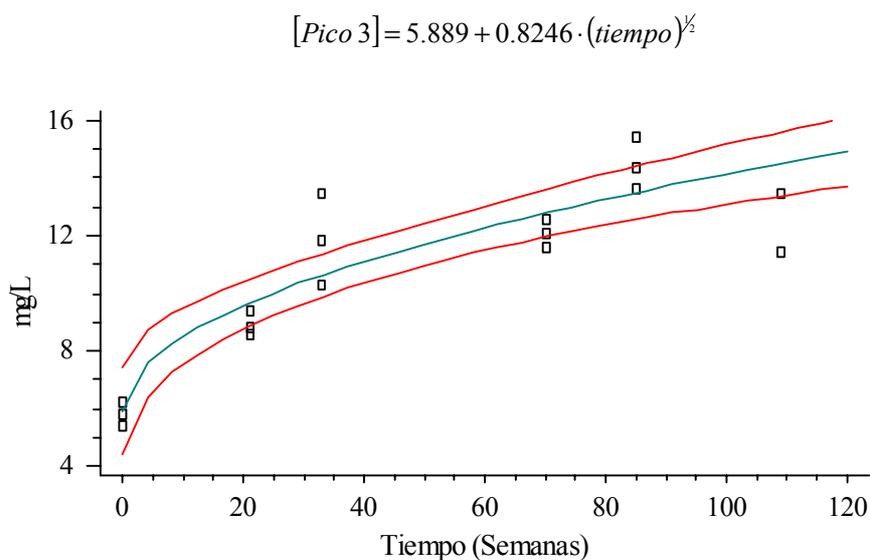


Figura 148. Modelo de regresión entre concentración de pico 3 y tiempo de envejecimiento.

Por último, el ácido *p*-hidroxibenzoico es el único que tiene un mejor ajuste a una ecuación lineal, si bien el coeficiente de correlación para esta ecuación es inferior a 0.85. En la Figura 149 se muestra la evolución de los contenidos de este compuesto.

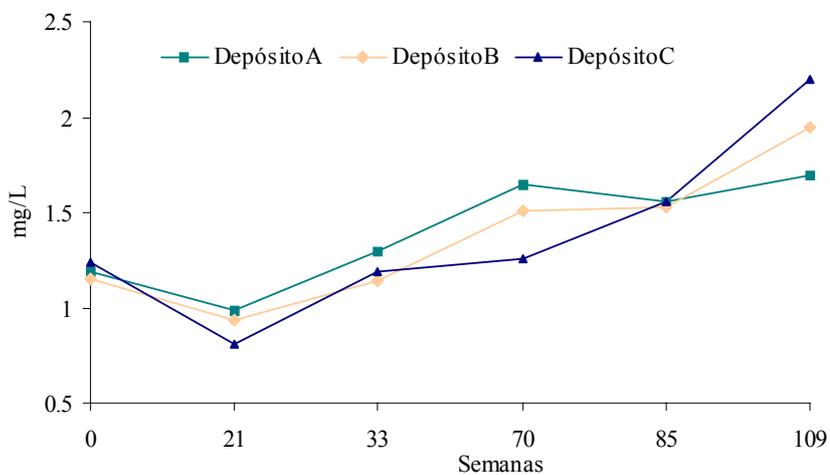


Figura 149. Contenidos en ácido *p*-hidroxibenzoico de las muestras de vinos durante la oxidación química en depósitos de acero inoxidable.

En las Figuras 150 a 157 se representan los contenidos del resto de compuestos que muestran una relación estadísticamente significativa entre la concentración de los mismos y el tiempo de envejecimiento, para un nivel de significación establecido de 0.05, si bien esta evolución no se ajusta bien a ninguno de los modelos matemáticos estudiados.

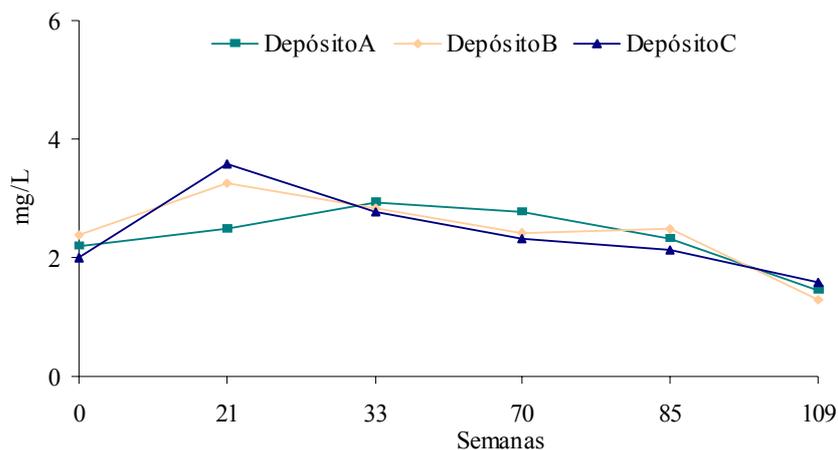


Figura 150. Contenidos en ácido vanílico de las muestras de vinos durante la oxidación química en depósitos de acero inoxidable.

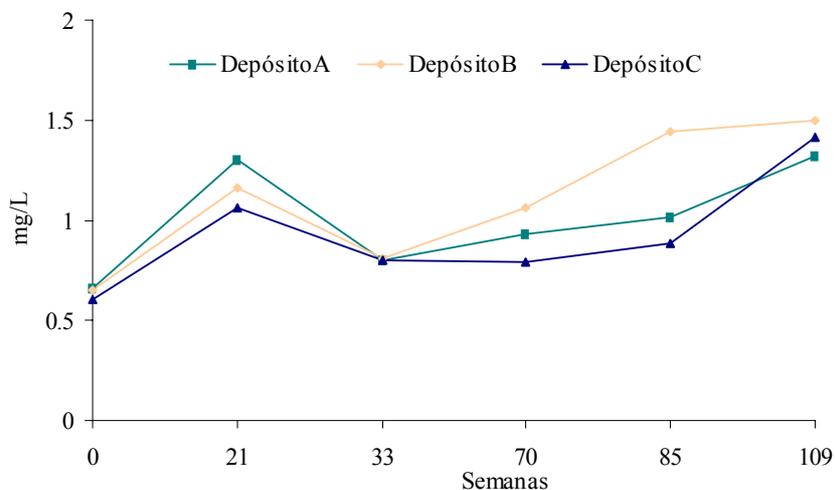


Figura 151. Contenidos en ácido siríngico de las muestras de vinos durante la oxidación química en depósitos de acero inoxidable.

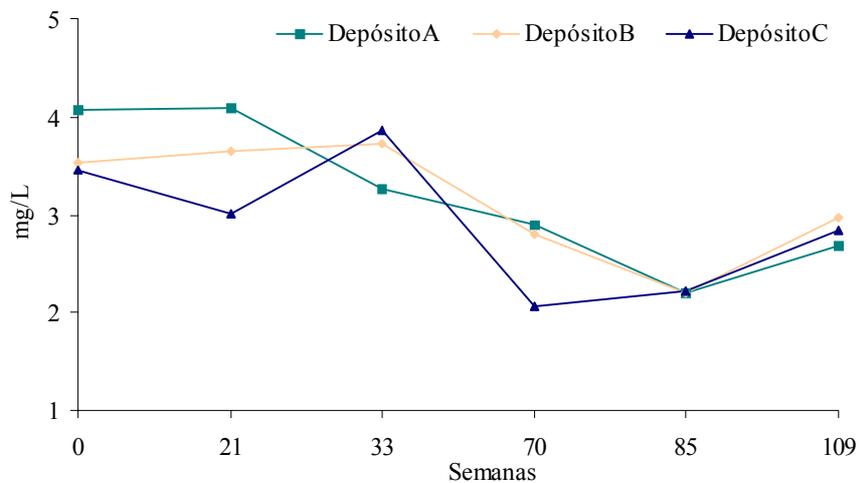


Figura 152. Contenidos en ácido cafeico de las muestras de vinos durante la oxidación química en depósitos de acero inoxidable.

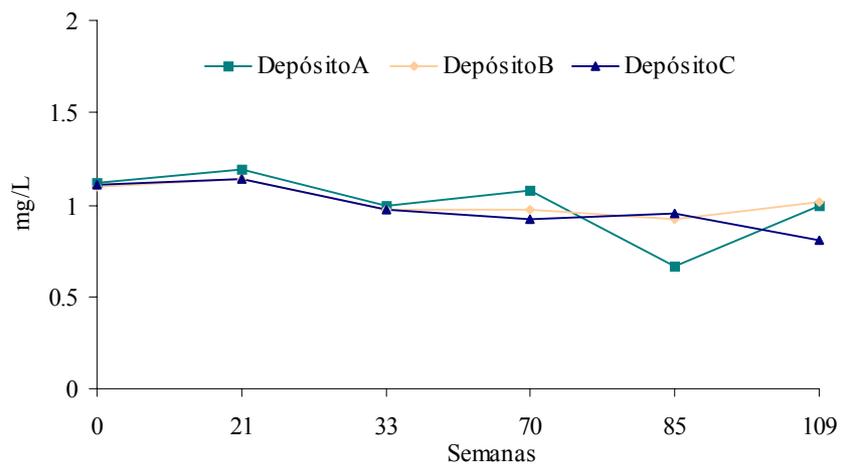


Figura 153. Contenidos en ácido ferúlico de las muestras de vinos durante la oxidación química en depósitos de acero inoxidable.

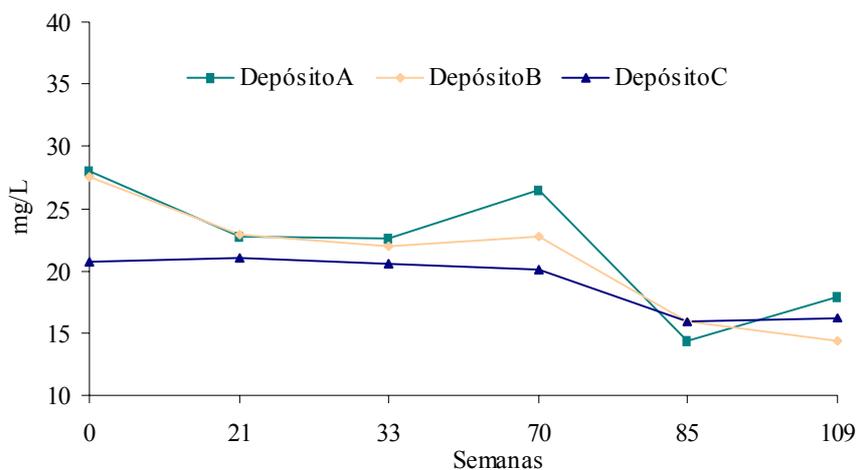


Figura 154. Contenidos en el éster *c*-cutárico de las muestras de vinos durante la oxidación química en depósitos de acero inoxidable.

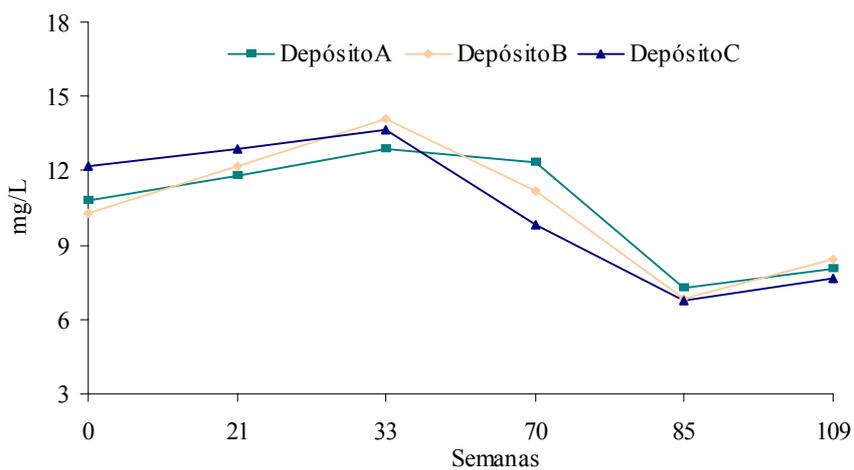


Figura 155. Contenidos en el éster *t*-cutárico de las muestras de vinos durante la oxidación química en depósitos de acero inoxidable.

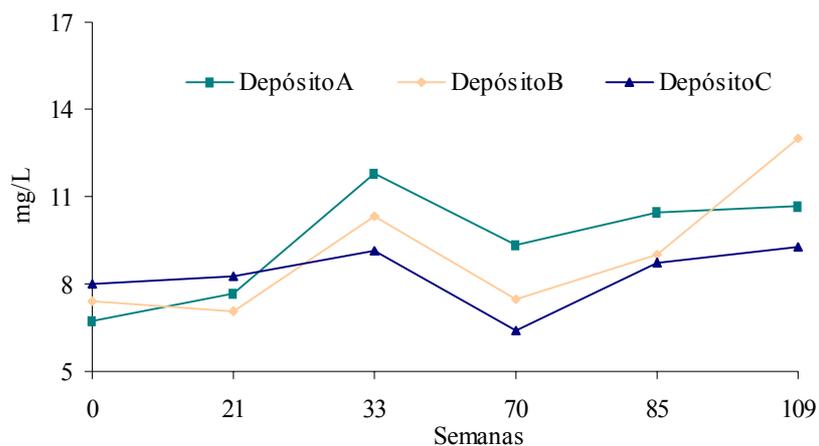


Figura 156. Contenidos de procianidina B2 de las muestras de vinos durante la oxidación química en depósitos de acero inoxidable.

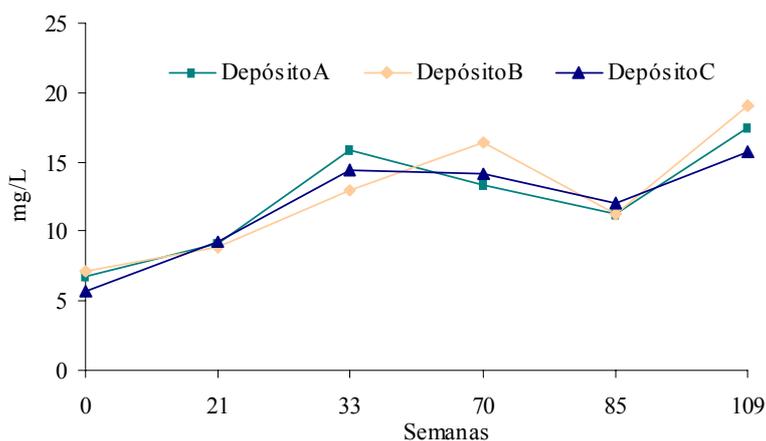


Figura 157. Contenidos en el compuesto desconocido denominado Pico A de las muestras de vinos durante la oxidación química en depósitos de acero inoxidable.

## 5.2. CONCLUSIONES

El estudio llevado a cabo sobre los resultados que se han obtenido de las diferentes determinaciones efectuadas sobre muestras de vinos sujetos a envejecimiento oxidativo en depósitos de acero inoxidable, permite llegar a las siguientes conclusiones:

✓ Las absorbancias medidas a 280, 420 y 520 nm incrementan sus valores de manera progresiva, excepto la A280 en las primeras 33 semanas, a través del envejecimiento, como también muestra el registro espectrofotométrico completo, correspondiendo al depósito A los mayores valores de absorbancia a las 109 semanas, razonablemente como consecuencia de una temperatura ligeramente superior durante la experiencia.

✓ Consideradas en conjunto, las velocidades de incremento de las absorbancias en el visible fueron inferiores a las obtenidas en la experiencia en botas de madera. Puesto que los depósitos se mantuvieron a saturación de oxígeno, es forzoso concluir que el tipo de recipiente que contiene al vino también desempeña un papel importante. En este sentido, el incremento en compuestos fenólicos susceptibles de oxidación extraídos de la madera, así como posibles aumentos en los contenidos de algunos metales, que actúan de catalizadores en el pardeamiento, podrían justificar los resultados obtenidos.

✓ En base al análisis de regresión que se ha realizado con los valores de absorbancia frente al tiempo de envejecimiento los modelos matemáticos que obtienen mayores coeficientes de determinación corresponden a la regresión efectuada para la A420 y responden a ecuaciones exponencial para el depósito A y lineales para los depósitos B y C con unos coeficientes de correlación superiores a 0.98.

✓ Los ácidos gálico, protocatéquico, *p*-cumárico y ferúlico, tirosol, (+)-catequina, (-)-epicatequina, procianidinas B1, B3 y B4, pico 1, pico 2 y pico B no muestran una relación estadísticamente significativa entre sus contenidos y el tiempo de envejecimiento, para un nivel de significación del 5%. En cambio, otros compuestos sí presentan dicha relación, sin embargo, en algunos de ellos los coeficientes de determinación de los modelos matemáticos estudiados no son importantes, tal como ocurre para los ácidos vanílico, siríngico, cafeico, ferúlico, *c*-cutárico y *t*-cutárico, la procianidina B2 y el desconocido pico A. Por otro lado, los compuestos con relación estadísticamente significativa entre estas variables y que, además, muestran coeficientes de determinación relevantes son el quercetín-3-glucósido, los ácidos *m*-hidroxibenzoico, *t*-caftárico y *p*-hidroxibenzoico, así como compuestos no identificados denominados como picos agrupados y pico 3. Salvo los ácidos *p*-hidroxibenzoico, cafeico y ferúlico, todos los compuestos muestran máximo R<sup>2</sup> con ecuaciones no lineales.

✓ De éstos últimos compuestos destacan, por su concentración, los picos agrupados y el ácido *t*-caftárico, siendo mayor la de los primeros. Sin embargo, los que muestran los contenidos más bajos son el ácido *p*-hidroxibenzoico y el quercetín-3-glucósido, desapareciendo este último a las 70 semanas de envejecimiento. Por otro lado, el compuesto que experimenta mayor incremento en sus contenidos es el ácido *m*-hidroxibenzoico, en torno al 200%.

## 6. ESTUDIO COMPARATIVO DEL PROCESO DE OXIDACIÓN QUÍMICA DEL VINO EN DEPÓSITOS DE ACERO INOXIDABLE Y DE LOS VINOS PROCEDENTES DE LAS ESCALAS DE TIPO “OLOROSO”.

### 6.1. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Al igual que en un capítulo anterior y con objeto de efectuar un estudio comparativo del proceso de oxidación química del vino en depósitos de acero inoxidable y de los vinos de las dos escalas de bodega consideradas, incluida la muestra del vino inicial de las mismas, se ha realizado un análisis multivariante de componentes principales tomando como variables a considerar los parámetros enológicos generales y de color para el vino de las escalas y de los tres depósitos al final de la experiencia (109 semanas).

En la Figura 158 se muestran los autovectores que se corresponden con las variables estudiadas en el plano definido por las dos primeras componentes, que representan el 81.2% de la varianza total del proceso. Se observa que la A280, A420, A520, acidez volátil, graduación alcohólica y azúcares, con signo positivo, y el dióxido de azufre libre y combinado, con signo negativo, son las variables que con un peso similar tienen mayor influencia sobre la componente 1 (64%). Sin embargo, las variables que pesan más con respecto a la 2ª componente (17.2%) son la acidez titulable y pH, con signo positivo la primera y negativo la segunda.

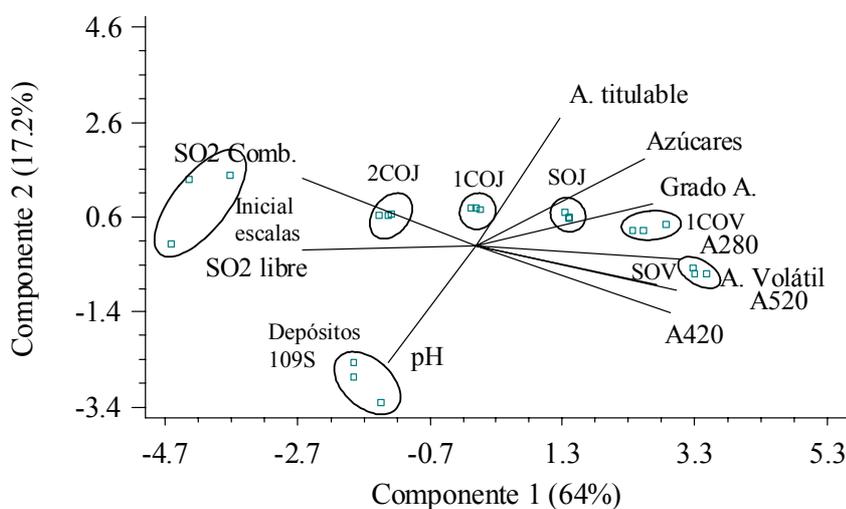


Figura 158. Análisis de componentes principales con las variables espectrofotométricas y parámetros enológicos generales de las muestras de vinos de las escalas y los depósitos.

La misma Figura muestra, además, las puntuaciones de los triplicados de las muestras de vinos pertenecientes a cada escala, así como la puntuación del vino de cada depósito al término del envejecimiento en el mismo plano mencionado. Como se puede apreciar, las muestras se dividen en siete grupos homogéneos, seis de ellos correspondiéndose cada uno con un nivel de envejecimiento diferente y el grupo restante con los vinos de los tres depósitos. Estos grupos se separan principalmente respecto a la primera componente, de forma similar al estudio comparativo anterior, siendo los vinos más envejecidos los que toman los mayores valores en esta componente y los de menor tiempo de envejecimiento, los menores. Se observa, además, que el grupo correspondiente a las muestras de vinos de los depósitos se sitúa prácticamente en el mismo nivel de envejecimiento que la 2ª criadera de oloroso joven, y, respecto a la componente 2, por debajo del conjunto de muestras de las escalas.

Se puede hacer un estudio más exhaustivo para situar cada una de las determinaciones realizadas de las muestras de vino de los tres depósitos al final del periodo de envejecimiento (109 semanas) en el plano de la figura anterior. Así, el valor de la A280 para los tres depósitos está comprendido entre los correspondientes a la 2ª y 1ª criaderas de oloroso joven, mientras que la A420 para el depósito A se sitúa entre la de la solera de oloroso joven y 1ª criadera de oloroso viejo, siendo los valores para los depósitos B y C sensiblemente más bajos, como consecuencia de su menor temperatura, y, por tanto, están comprendidos entre la 1ª criadera y solera de oloroso joven. Asimismo, la A520 para el depósito A es significativamente mayor que la de los depósitos B y C, situándose la del primero entre los valores correspondientes a la 1ª criadera y solera de oloroso joven, mientras que el valor de absorbancia que alcanzan los depósitos B y C coincide prácticamente con el de la 1ª criadera de oloroso joven. En lo que respecta a los parámetros generales, los tres depósitos presentan unos contenidos para los azúcares y la graduación alcohólica inferiores al vino inicial correspondiente a las escalas, excepto el depósito C, cuyo contenido en etanol es prácticamente igual, estando comprendidos los valores para la acidez volátil en los depósitos B y C entre la 2ª y 1ª criaderas de oloroso joven y siendo el contenido del depósito A ligeramente superior al de la 1ª criadera de oloroso joven.

En relación a la componente 2, los grupos homogéneos se separan en función de las variables con mayor peso sobre esta componente, que son la acidez titulable y pH, situándose todos los grupos de las escalas con puntuaciones similares y signo positivo sobre dicho eje, excepto la solera de oloroso viejo, con signo negativo, al igual que las muestras de vinos de los depósitos. Como se puede apreciar, los mayores valores de acidez titulable se alcanzan en los diferentes niveles de envejecimiento de las escalas, siendo el valor de pH más alto el correspondiente al vino de los depósitos.

En segundo lugar, y para finalizar este estudio comparativo, se ha realizado un primer análisis multivariante de componentes principales, tomando como variables los compuestos fenólicos de estructura no flavonoide, compuestos de baja masa molecular, y en un segundo análisis multivariante los compuestos fenólicos con estructura flavonoide, compuestos de mayor masa molecular, y no identificados, que presentan una relación estadísticamente significativa con el tiempo de envejecimiento, para cualquiera de las experiencias de oxidación química, botas y/o depósitos, excluyendo los flavonoles al no estar indicada su actuación en los procesos de oxidación. Para dicho análisis estadístico se han considerado las muestras de vinos procedentes de los distintos niveles de envejecimiento de las escalas, incluido el vino inicial, y las muestras de vinos de los depósitos al final de cada una de las fases (70 y 109 semanas, respectivamente).

La Figura 159 muestra los autovectores correspondientes a cada uno de los compuestos fenólicos de estructura no flavonoide considerados en el plano definido por las componentes 1 y 2, que representan el 76.6% de la varianza total. Se observa que sobre la primera componente (59.3%), los compuestos con mayor influencia son los ácidos gálico, vanílico, sirínico, *m*-hidroxibenzoico, *p*-hidroxibenzoico, ferúlico, *c*-cutárico y *t*-cutárico, y los aldehídos siringaldehído y vainillina, todos ellos con signo positivo. Respecto a la 2ª componente (17.3%) son los ácidos cafeico y *t*-caftárico, con signo positivo, los que tienen más peso. En esta misma figura también se muestran las puntuaciones de los triplicados de las muestras de vinos correspondientes a las dos escalas estudiadas, así como la puntuación de cada uno de los depósitos a los distintos tiempos de envejecimiento considerados, teniendo lugar la formación de ocho grupos, correspondiendo seis de ellos a los diferentes niveles de envejecimiento de las escalas de bodega, muestras de vino inicial, de 2ª criadera de oloroso joven (2COJ), 1ª criadera de oloroso joven (1COJ), solera de oloroso joven (SOJ), 1ª criadera de la escala de oloroso viejo (1COV) y solera de esta misma escala (SOV), y los dos restantes a los depósitos a la conclusión de la 1ª y 2ª fases (70 semanas y 109 semanas, respectivamente).

Como puede apreciarse, tales grupos se separan, de nuevo, fundamentalmente en función de la componente 1, incrementándose, por tanto, el tiempo de envejecimiento en los vinos que se desplazan hacia la derecha en el eje y viceversa. Se observa que los grupos que contienen las muestras de vinos de los depósitos a las 70 semanas de envejecimiento (depósitos 70S) y a las 109 semanas (depósitos 109S) se sitúan al mismo nivel que las muestras de vinos correspondientes al vino inicial de las escalas y las de la 2ª criadera de oloroso joven.

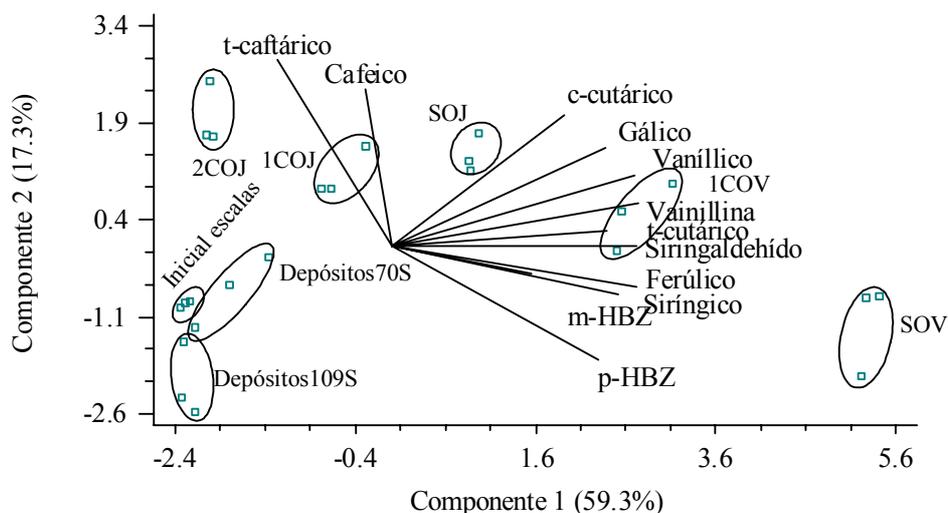


Figura 159. Análisis de componentes principales de compuestos fenólicos de estructura no flavonoide de las muestras de vinos de las escalas y los depósitos.

De manera similar a lo argumentado anteriormente en el estudio realizado sobre las escalas, se puede considerar que los compuestos con más influencia sobre el tiempo de envejecimiento son los ácidos gálico, vanílico, siríngico, *m*-hidroxibenzoico, *p*-hidroxibenzoico, ferúlico, *c*-cutárico y *t*-cutárico, y los aldehídos vainillina y siringaldehído, que aumentan sus contenidos. Hay que significar que todos estos compuestos presentan contenidos más altos en la solera de oloroso viejo, excepto el ácido gálico, cuyo mayor valor corresponde a la 1ª criadera de oloroso viejo. Un análisis individual de cada variable muestra que los contenidos correspondientes a los ácidos gálico y ferúlico en los vinos de los depósitos a las 70 semanas vienen a coincidir con los del vino inicial y 2ª criadera de oloroso joven, los de vanílico y *c*-cutárico son similares a los de la 2ª criadera de oloroso joven y los de siríngico y *m*-hidroxibenzoico algo inferiores al vino inicial, aproximándose los valores de los ácidos *p*-hidroxibenzoico y *t*-cutárico a los de la solera de oloroso joven. Sin embargo, en lo que hace referencia a los depósitos a las 109 semanas, los ácidos vanílico, siríngico, *c*-cutárico y *t*-cutárico presentan unos contenidos análogos a los del vino inicial y los de *m*- y *p*-hidroxibenzoico se sitúan entre la solera de oloroso joven y 1ª criadera de oloroso viejo, siendo inferior al vino inicial el valor de ácido gálico, mientras que, por el contrario, el contenido de ferúlico está comprendido entre la 2ª y 1ª criadera de oloroso joven. Por otro lado, tanto la vainillina como el siringaldehído no se detectan en los vinos de los depósitos a ningún tiempo de envejecimiento, puesto que proceden de la madera, como ya expresamos en capítulos anteriores.

En lo que respecta a la 2ª componente, la separación está en función de los ácidos cafeico y *t*-caftárico, que son los compuestos que más influyen sobre esta componente, observándose que la 1ª criadera y solera de oloroso joven alcanzan puntuaciones parecidas en la parte positiva del eje, mientras que la solera de oloroso viejo coincide con el vino de los depósitos a las 70 y 109 semanas de envejecimiento, tomando valores negativos. Los mayores contenidos en los dos ácidos anteriormente mencionados corresponden a la 2ª criadera de oloroso joven, mientras que en los vinos de los depósitos al final de las dos fases el ácido cafeico presenta unos contenidos próximos a la 1ª criadera de oloroso viejo y el *t*-caftárico, similares a los del vino inicial.

En la Figura 160 se representan los autovectores que se corresponden con los compuestos fenólicos con estructura flavonoide, de mayor masa molecular, así como los compuestos no identificados considerados, en el plano definido, asimismo, por las dos primeras componentes, que justifican, en conjunto, el 87.2% de la varianza total. De forma similar al estudio comparativo de los vinos procedentes de las escalas en bodega y de las botas en laboratorio, los compuestos que pesan más con respecto a la componente 1 (64.8%) son la procianidina B2, (-)-epicatequina, pico 3 y picos agrupados, con signo positivo todos ellos. Por lo que se refiere a la 2ª componente (22.4%), la procianidina B4, igualmente con signo positivo, es el compuesto con mayor influencia. Las puntuaciones de los triplicados de las muestras de vinos correspondientes a cada nivel de envejecimiento de las escalas, así como las puntuaciones de los vinos de cada depósito al término de las dos fases se

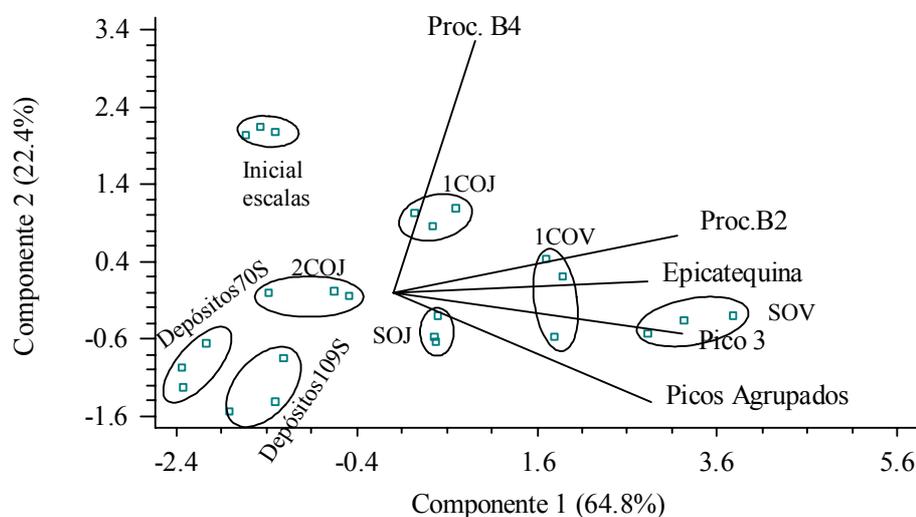


Figura 160. Análisis de componentes principales de compuestos fenólicos de estructura flavonoide y desconocidos considerados de las muestras de vinos de las escalas y los depósitos.

muestran en la misma figura, formándose igualmente ocho grupos homogéneos, de los cuales seis se identifican con cada uno de los niveles de las escalas, mientras que los dos restantes, con los depósitos a las 70 y 109 semanas, respectivamente.

En general, tales grupos se separan principalmente según la primera componente, aumentando el tiempo de envejecimiento hacia la derecha del eje y disminuyendo al contrario, aunque la 1ª criadera y solera de oloroso joven se sitúan al mismo nivel, así como las muestras del vino inicial de las escalas y las correspondientes a la 2ª criadera de oloroso joven. Asimismo, de modo similar al estudio comparativo de las botas y a diferencia del estudio llevado a cabo en las escalas, la 1ª criadera y solera de oloroso viejo vuelven a constituir dos grupos diferentes. Por otro lado, puede apreciarse que el tiempo de envejecimiento de los depósitos al final de la 2ª fase se corresponde prácticamente con el vino inicial y la 2ª criadera de oloroso joven, mientras que el grupo correspondiente a los depósitos a las 70 semanas se sitúa en un nivel algo inferior a los tres grupos de muestras anteriormente citados. Así, los vinos de la solera de oloroso viejo y de los depósitos al final de la 1ª fase, que son, respectivamente, los de mayor y menor tiempo de envejecimiento, se corresponden con los extremos de dicho eje.

En base a la Figura, puede señalarse que los compuestos que varían en mayor grado con el tiempo de envejecimiento vuelven a ser la procianidina B2, (-)-epicatequina, pico 3 y picos agrupados, de modo que la solera de oloroso viejo presenta los valores más altos de todos estos compuestos, siendo los contenidos de la procianidina B2 para los vinos de los depósitos a la conclusión de las dos fases de la experiencia, muy inferiores a los del vino inicial, y los de (-)-epicatequina, prácticamente iguales. Sin embargo, el pico3 muestra para ambos tiempos de envejecimiento unos valores ligeramente superiores a los de la 2ª criadera de oloroso joven, presentando los picos agrupados, por su parte, unos contenidos comprendidos entre los del vino inicial y la 2ª criadera de oloroso joven para el vino de los depósitos a las 70 semanas de envejecimiento, mientras que al término de la experiencia son algo inferiores a los de la 1ª criadera de oloroso viejo.

Por lo que se refiere a la segunda componente, los grupos homogéneos se han separado según el compuesto que tiene más peso sobre aquella, la procianidina B4, mostrando valores similares y signo negativo los grupos correspondientes a las soleras de oloroso joven y viejo, por un lado, y a los depósitos a las 70 y 109 semanas de envejecimiento, por otro. Sin embargo, la 1ª criadera de oloroso joven y el vino inicial presentan valores positivos, siendo este último el que muestra nuevamente, los más altos contenidos en procianidina B4, mientras que los valores que presentan los vinos de los depósitos tanto al final de la 1ª fase (70 semanas) como de la 2ª (109 semanas) son los más bajos y ligeramente inferiores a la 2ª criadera y solera de oloroso joven.

Por último, se compara la regresión exponencial ( $R^2=92.0\%$ ) de concentración de picos agrupados frente al tiempo de envejecimiento calculada para los depósitos con la correspondiente regresión lineal ( $R^2=93.56\%$ ) ya calculada anteriormente para las escalas y así llegar a obtener el tiempo que se adelantaría envejeciendo el vino de forma acelerada en depósitos de acero inoxidable a temperatura controlada, en vez de hacerlo bajo condiciones no forzadas, las cuales se dan en las escalas que hemos considerado. La Figura 161 muestra que un contenido en picos agrupados de 65 mg/l, comprendido entre los valores correspondientes a los vinos de los depósitos a las 85 y 109 semanas, se alcanzaría en el vino a las 95.4 semanas de envejecimiento en depósitos y a las 262 semanas de envejecimiento en las escalas, deduciéndose, por tanto, una anticipación de 3 años. No obstante, este adelanto

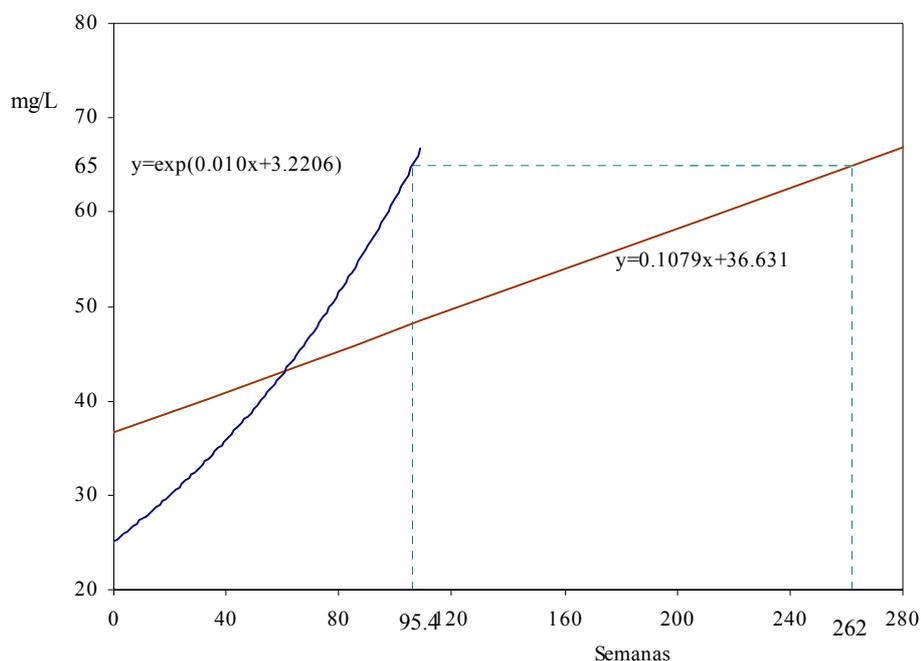


Figura 161. Regresión simple entre concentración de picos agrupados y tiempo de envejecimiento oxidativo de las muestras de vinos de las escalas y los depósitos.

no puede ser tomado bajo la misma óptica que el obtenido en el modelo de botas en laboratorio, ya que el vino envejecido en depósitos de acero inoxidable no ha adquirido los caracteres asociados a la madera, algunos de los cuales se han visto al estudiar la composición fenólica. Por ello, en este caso, sería imprescindible que una primera etapa de envejecimiento en depósitos fuera seguida de una segunda en botas de madera.

## 6.2. CONCLUSIONES.

El análisis de resultados obtenidos al comparar las muestras de vinos sometidos a envejecimiento oxidativo en depósitos de acero inoxidable con las correspondientes a los vinos procedentes de las escalas de la bodega, podemos extraer las siguientes conclusiones:

➤ El nivel de envejecimiento de los vinos de los depósitos, respecto a los parámetros enológicos generales y de color, presenta valores intermedios entre los distintos niveles de envejecimiento de las escalas de bodega, excepto en los azúcares y acidez titulable, que muestra unos contenidos inferiores al Vino Inicial, y en el pH, que presenta valores más altos.

➤ Los ácidos vanílico, siríngico, *m*-hidroxibenzoico, *p*-hidroxibenzoico, ferúlico, *c*-cutárico y *t*-cutárico, así como los aldehídos vainillina y siringaldehído, presentan contenidos más altos en la Solera de oloroso viejo de las escalas de bodega. Para los vinos de los depósitos a las 70 semanas de envejecimiento, los valores de los ácidos gálico y *m*-hidroxibenzoico son análogos a los del Vino Inicial, como asimismo para los ácidos vanílico, siríngico, *c*-cutárico y *t*-cutárico a las 109 semanas. Por otro lado, la 2ª Criadera de la escala de Oloroso joven” muestra los mayores contenidos en los ácidos cafeico y *t*-caftárico, mientras que los valores de este último correspondientes a los vinos de los depósitos al final de las dos fases son similares a los del Vino Inicial.

➤ Las muestras de vinos de la Solera de la escala de Oloroso viejo de la bodega presenta los valores más altos de procianidina B2, (-)-epicatequina, pico 3 y picos agrupados. Para los vinos de los depósitos a la conclusión de las dos fases, los contenidos de procianidina B2 son muy inferiores a los del Vino Inicial, y los de (-)-epicatequina, prácticamente iguales, tomando los contenidos de picos agrupados valores intermedios entre los diferentes niveles de las escalas de la bodega. Nuevamente el Vino Inicial muestra los más altos contenidos de procianidina B4, mientras que los más bajos corresponden a los vinos de los depósitos para ambos tiempos de envejecimiento.

➤ Al realizar la comparación entre las regresiones exponencial y lineal de la concentración de picos agrupados frente al tiempo de envejecimiento calculadas, respectivamente, para los depósitos y escalas, podemos concluir que envejeciendo el vino de forma acelerada en depósitos de acero inoxidable, puede ser anticipado el mismo, si bien no tan sustancialmente a como ocurrió en las botas de madera controladas en laboratorio.

## **V. CONSIDERACIONES FINALES**

*Las últimas líneas que se escriben en un trabajo de investigación que desea tener proyección de futuro, necesariamente deben recapitular en función de los objetivos iniciales y, por qué no, cumplir también una labor autocrítica. El punto de partida de esta Memoria de Tesis Doctoral fue estudiar el proceso de envejecimiento oxidativo de vinos blancos tipo Oloroso y, a partir de ahí, buscar condiciones que permitieran acortar ese largo periodo de añejamiento. Todo ello únicamente desde el punto de vista de evolución del color y compuestos, directa e indirectamente, relacionados con él. Precisamente este parcial enfoque podría ser anotado en el debe de esta Memoria. Pero, en nuestra opinión, este apunte sería injusto- Es cierto que un vino es mucho más que su color, pero no lo es menos que un moderno trabajo de investigación no puede abarcar por sí mismo todas las facetas desde las que se puede observar un proceso, sin perder profundidad de estudio. Un árbol no es frondoso con una sola rama, aunque sea gruesa. Su frondosidad le viene del conjunto de los muchos pequeños brazos que, entrecruzándose, portan las hojas. Este trabajo es solamente esa rama que tiene que ser complementada por otras para alcanzar un conocimiento más completo de los vinos olorosos.*

*Con independencia de las conclusiones alcanzadas, quizá el haber más destacado de esta Memoria haya sido el mostrar la posibilidad de acortar el largo tiempo de envejecimiento de estos vinos. Paradójicamente, este logro abre simultáneamente un interrogante sobre el que solamente se puede especular y, por ello, convirtiéndose en motivo de futuros trabajos. Ciertamente, es lógico esperar que un aumento de temperatura durante el envejecimiento provoque una aceleración en el mismo. La relación entre temperatura y cinética se encuentra en tratados elementales de química. Pero el que la alteración de temperaturas provoque el mismo efecto, en un orden de magnitud comparable, resulta más sorprendente. La explicación de este comportamiento se ha atribuido a las pequeñas diferencias de*

*solubilidad del oxígeno a distintas temperaturas, primando en cuanto a concentración en el vino la etapa de régimen térmico oscilante. Sin embargo, esta justificación “científicamente correcta”, porque se puede argumentar con datos, no resulta “científicamente satisfactoria” en su totalidad. Al menos, desde una formación química es difícil asumir que algún mg/L de diferencia en las concentraciones de este gas sea el único responsable del efecto observado. Desde luego, parafraseando la frase popular de “muchos pocos hacen mucho”, que habría que traducir en nuestro caso por “una pequeña diferencia durante mucho tiempo”, la explicación anterior podría ser complementada. Aún así, el razonamiento presenta grietas, ya que la experiencia en los depósitos no mostró una mayor agilidad en el envejecimiento, a pesar de que el vino se mantuvo a saturación en oxígeno.*

*En conjunto, como toda obra humana, la presente Memoria muestra claros-curos, siendo precisamente las zonas de sombra el mejor estímulo para llevar luz mediante el método científico. A fin de cuentas, la investigación no es sino la manifestación en un campo concreto del sentimiento de curiosidad tan inherente al ser humano.*

## **VI. BIBLIOGRAFÍA**

1. Ahn, B. and Gstirner, P. (1973). "Über Catechin-Dimer der Eichenrinde IV". Mitt., *Arch. Pharm.*, 306 (5): 353-360.
2. Alibert, G. (1975). "Les acides phénoliques et leur métabolisme chez *Quercus pedunculata* (Ehrh.)". Thèse. Université de Toulouse. 173 p.
3. Almela, L.; Lázaro, Y. y López Roca, J.M. (1991). "Influencia de las levaduras sobre el contenido de ácidos fenólicos de los vinos". *Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment.*, 31 (3).
4. Alonso, E.; Estrella, M.I.; Hernández, M.T. y Revilla, E. (1988a). "Análisis cuantitativo de diversos compuestos fenólicos de bajo peso molecular en vinos de las denominaciones de origen Rioja, Valdepeñas y la Mancha". *Anal. Bromatol.*, 40 (1): 29-40.
5. Alonso, E.; Estrella, M.I. y Revilla, E. (1988b). "Análisis cromatográfico de flavonoles en vinos de las denominaciones de origen Rioja y la Mancha". *Anal. Bromatol.*, 40 (2): 249-256.
- 6.- Amati, A.; Riponi, C. and Zironi, R. (1984). *Vignevini*, 11 (1,2), 23.
7. Amerine, M.A. (1982). "The changing preferences for wines food technol". Chicago. 36 (1): 106.
8. Anton, R. (1988). "Flavonoids and tradicional medicine". In: Cody, V.; Middleton, E.; Harborne, J.R.; Berez, A. *Progress in Clinical and Biological Research. Plant flavonoids in Biology and Medicine II: Biochemical, Cellular and Medicinal Properties*. Alan. R. Liss, Inc, New York, 423-439.
9. Anton, R. and Berez, A. (1990). *Bull Acad. Natl. Méd*, 174: 709-711.
10. Bakker, J.; Picinelli, A.; Bridle, P. (1993). *Vitis*, 32: 111-118.
11. Baranowski, J.D.; Nagel, C.W. (1983). *J. Food. Sci.*, 48: 419-429.
12. Barcenilla, J.; Estrella, I.; Gómez-Cordovés, C.; Hernández, T. and Hernández, C. (1989). "The influence of yeasts on certain non-volatile components of wine". *Food Chemistry*, 31: 177-187.
13. Barón, R.; Mayén, M.; Mérida, J., and Medina, M. (1997). "Changes in phenolic compounds and browning during biological aging of Sherry-type wine". *J. Agric. Food Chem.*, 45: 1682-1685.

14. Bate-Smith, E.C. (1972). "Detection and determination of ellagitannins". *Phytochemistry*, 11: 1153-1156.
15. Bednar, H. and Fengel, D. (1974). "Physicallische, chemische und strukturnale Eigenschaften von rozentem und subfossilem Eichenholz". *Holz Roh-Werkst*, 32: 99-107.
16. Bengoechea, L.; Gómez-Cordovés, C.; Hernández, T.(1992). "Composition polyphenolique des vins obtenus avec different type de fermentation". *XVII<sup>e</sup> Journees Internationales En Association Avec La Royal Society Of Chemistry (Groupe Polyphenols)*, Tome II-Volume 16: 88-91.
17. Black, R.; Rosen, A. and Adam, S. (1953). "The chromatographic separation of hardwood extractives components giving color reaction with phloroglucinol". *J. Am. Chem. Soc.*, 75: 5344-5346.
18. Boulton, R.B.; Singleton, V.L.; Bisson, L.F.; KunKee, R.E. (1996). "Principles and practices in wine making". *The Chapman and Hall Enology Library*.
19. Bourzeix, M.; Weyland, D. and Heredia, N. (1986). "Etude des catéchines et des procianidols de la grape de raisin, du vin et d'autres dérivés de la vigne". *Bull. O.I.V.*, 59: 1171-1254.
20. Brun, S. (1995). "Les propriétés biologiques des constituants non alcooliques du vin". *Cah. Nutr. Diét*, 30: 224-229.
21. C.E. (1990). "Comunidad Europea". Diario Oficial L 272 de Octubre.
22. Cadahía, E.; Muñoz, L.; Fernández de Simón, B. and García-Vallejo, M.C. (2001). "Changes in low molecular weight phenolic compounds in Spanish, French and American oak woods during natural seasoning and toasting". *J. Agric. Food Chem.*, 49 (4): 1790-1798.
23. Casas, J.F. (1985). "Descripción resumida de la técnica enológica de los vinos de Jerez". Centro de Investigación, Desarrollo y Control de Calidad de González Byass, S.A. (Jerez de la Frontera).
24. Castro, R. (1994). "Influencia de la oxidación controlada del mosto sobre los compuestos polifenólicos durante la vinificación del Jerez". Tesis de licenciatura. Universidad de Cádiz.

25. Chatonnet, P. (1989). "Les composés aromatiques du bois de chêne cédés aux vins, influence des opérations de chauffe en tonnellerie". *Conn. Vigne Vin*, numéro spécial: 81-91.
26. Chatonnet, P. (1995). "Influence des procédés de tonnellerie et des conditions d'élevage sur la composition et la qualité des vins élevés en fûts de chêne". Thèse de doctorat ès sciences. Université de Bordeaux II.
27. Chatonnet, P. and Dubourdieu, 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 Aging of wines". *Am. J. Enol. Vitic.*, 49 (1): 79-85.
28. Chatonnet, P.; Barbe, C.; Canal-Llauberes, R.M.; Dubourdieu, D. and Boidron, J.N. (1992a). "Incidences de certaines préparations pectolytiques sur la teneur en phénols volatils des vins blancs". *Journal Intern. Sciences Vigne Vin*, 26 (4): 253-269.
29. Chatonnet, P.; Boidron, J.N. and Pons, M. (1989a) "Incidence du traitement thermique du bois de chêne sur sa composition chimique. 2<sup>e</sup> partie: évolution de certains composés en fonction de l'intensité de brûlage". *Connaiss. Vigne Vin*, 23 (4): 223-250.
30. Chatonnet, P.; Dubourdieu, D. and Boidron, J.N. (1989b). "Incidence de certains facteurs sur la décarboxylation des acides phénols par la levure". *Conn. Vigne Vin*, 23 (1): 59-62.
31. Chatonnet, P.; Dubourdieu, D.; Boidron, J.N. (1992b). "Incidence des conditions de fermentation et d'élevage des vins blancs secs en barriques sur leur composition en substances cédées par le bois de chêne". *Sci. Aliments*, 12 (4): 665-685.
32. Cheftel, J.C.; Cheftel, H. (1979). "Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos". Vol. I y II. Ed. Acribia. Zaragoza.
33. Chen, C.-L. (1970). "Constituents of *Quercus alba*". *Phytochem.*, 9: 1149.
34. Cheynier, V. and Fulcrand, H. (2000). "Oxidación de los polifenoles en los mostos y los vinos". *Enología: Fundamentos Científicos y Tecnológicos*. 1<sup>a</sup> Edición. Capítulo 13: 369-376. Coordinador: Claude Flanzy. Editan: A. Madrid Vicente, Ediciones y Ediciones MundiPrensa

35. Cheynier, V. and Moutounet, M. (1992). "Oxidative reactions of caffeic acid in model systems containing polyphenoloxidase". *J. Agric. Food Chem.*, 40: 2038-2044.
36. Cheynier, V. and Ricardo da Silva, M. (1991). "Oxidation of grape procyanidins in model solutions containing trans-caffeoyltartaric acid and polyphenol oxidase". *J. Agric. Food Chem.*, 39 (6): 1047-1049.
37. Cheynier, V. and Van Hulst, M.W.J. (1988). "Oxidation of trans-caftaric acid and 2-S-glutathionylcaftaric acid in model solutions". *J. Agric. Food Chem.*, 36 (1): 10-15.
38. Cheynier, V.; Basire, N. and Rigaud, J. (1989b). "Mechanism of trans-caffeoyltartaric acid and catechin oxidation in model solutions containing grape polyphenoloxidase". *J. Agric. Food Chem.*, 37 (4): 1069-1071.
39. Cheynier, V.; Masson, G. and Moutounet, M. (1993). "Estimation of must oxidation during pressing in Champagne". *Am. J. Enol. Vitic.*, 44: 393-399.
40. Cheynier, V.; Osse, C. and Rigaud, J. (1988). "Oxidation of grape juice phenolic compounds in model solutions". *J. Food Sci.*, 53 (6): 1729-1732.
41. Cheynier, V.; Rigaud, J. and Moutounet, M. (1989c). "Oxidation de composés phenoliques des mouts de raisins blancs". *Actualités Oenologiques*, 89: 196-201. Ed. Dunot. Paris.
42. Cheynier, V.; Rigaud, J.; Souquet, J.M.; Barillère, J.M. and Moutounet, M. (1989a). "Effect of pomace contact and hyperoxidation on the phenolic composition and quality of Grenache and Chardonnay wines". *Am. J. Enol. Vitic.*, 40 (1): 36-42.
43. Cheynier, V.; Rigaud, J.; Souquet, J.M., Duprat, F. and Moutounet, M. (1990). "Must browning in relation to the behavior of phenolic compounds during oxidation". *Am. J. Enol. Vitic.*, 41 (4): 346-349.
44. Cheynier, V.; Trousdale, E.; Singleton, V.; Salgues, M. and Wylde, R. (1986). "Characterization of 2-S-glutathionylcaftaric acid and its hydrolysis in relation to grape wines". *J. Agric. Food Chem.*, 34 (2): 217-221.

45. Cilliers, J.J.L. and Singleton, V.L. (1989). "Nonenzymic autoxidative phenolic browning reactions in a caffeic acid model system. *J. Agric. Food Chem.*, 37: 890-896.
46. Cilliers, J.J.L. and Singleton, V.L. (1991). "Characterization of the products of non-enzymic autoxidative phenolic reaction in a caffeic acid model system". *J. Agric. Food Chem.*, 39: 1298-1303.
47. Crowell, E.A. and Ough, C.S. (1979). "A modified procedure for alcohol determination by dicromate oxidation". *Am. J. Enol. Vitic.*, 30: 61-63.
48. Dallas, C.; Ricardo da Silva, J.M. and Laureano, O. (1995). "Degradation of oligomeric procyanidins and anthocyanins in a Tinta Roriz red wine during maturation". *Vitis*, 34 (1): 51:56.
49. Di Stefano, R. (1993). "Extracción de los compuestos fenólicos de las partes sólidas de la uva durante la fermentación". Conferencia.
50. Di Stefano, R.; Cravero, M.C. and Guidoni, S. (1990). "I composti fenolici dell'uva. Estrazione dei composti fenolici dalle parte solide dell'uva durante la fermentazione". *Vini d'Italia*, 32 (1): 15-22.
51. Díaz Alonso, L. y López Alejandre, M.M. (1989). "Los vinos de Córdoba". Ed. Caja Provincial de Ahorros de Córdoba.
52. Domecq, P. (1989). "Sherry: state of art on a very special fermentation product". *Proc. Int. Symp. Yeasts (Issy XIII)*, pp. 15-35, Belgium.
53. Dournel, J.M. (1995). Thèse Université de Bordeaux II.
54. Dubernet, M. (1974). "Recherches sur la tyrosinase de *Vitis vinifera* et la laccase de *Botrytis cinerea*. Applications technologiques. Thèse de doctorat ès sciences. Université de Bordeaux II.
55. Dubourdieu, D.; Ollivier, CH. and Boidron, J.-N. (1986). "Incidence des operations pre-fermentaires sur la composition chimique et les qualites organoleptiques des vins blancs secs". *Conn. Vigne Vin*, 20 (1): 53-76.
56. Ducimetiere, P. (1995). "Le paradoxe francais: mythe ou réalité?". *Cah. Nutr. Diét.*, 30: 78-81.
57. Dumazert, G. (1974). "Influence des opérations pré- et post-fermentaires sur les teneurs en composés phénoliques des moûts et vins de Mauzac blanc". *Ind. Alim. Agric.*, 9 (3): 3-9.

58. Du Plessis, C.S. (1973). "Browning of white wines". *Die Wynboer*, 499: 11-13.
59. Es-Safi, N.E.; Le Guernove, C.; Fulcrand, H.; Cheynier, V.; Moutounet, M. (1999). "New poliphenolic compounds with xanthylium skeletons formed through reaction between (+)-catechin and glyoxylic acid". *J. Agric. Food Chem.*, 47 (12).
60. Esteves-Pinto, J.M.R. (1971). *De Vinea et Vino Portugalie Documenta*, Serie II, 5 (6): 1-65.
61. Estrella, I.; Alonso, E.; Revilla, E. (1987) "Presence of flavonol aglycones in Sherry wines and changes in their content during aging". *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 184, 27-29.
62. Estrella, I.; Hernández, T. y Diez, C. (1983). "Evoluzione dei composti fenolici di basso peso molecolare durante la maturazione dei vini di Jerez". *Vignevine* (1-2): 33-38.
63. Fabios, M.; López Toledano, A.; Mayén, M.; Mérida, J. and Medina, M. (2000). "Phenolic compounds and browning in Sherry wines subjected to oxidative and biological ageing". *J. Agric. Food Chem.*, 48 (6): 2155-2159.
64. Favre *et al.* (1993). Citado por Scalbert, A. and Lapierre, C. (1994). "Ellagitanins et lignines du Coeur de chêne. Structure et évolution au cours du vieillissement du bois". *Revue des Oenologues*, 71: 9-12. Avril 1994.
65. Fengel, D.; Wegener, G.(1984). "Wood, chemistry, ultrastructure, reactions". Walter de Gruyter. Berlin.
66. Fernández de Simón, B.; Cadahía, E.; Conde, E., and García-Vallejo, M.C. (1999). "Evolution of phenolic compounds of Spanish oak wood during natural seasoning. First results". *J. Agric. Food Chem.*, 47 (4): 1687-1694.
67. Feuillat, F.; Moio, L.; Guichard, E.; Marinov, M.; Fournier, N. and Puech, J.-L. (1997). "Variation in the concentration of ellagitannins and cis- and trans- $\beta$ -methyl- $\gamma$ -octalactone extracted from oak wood (*Quercus robur* L., *Quercus petraea* Liebl.) under model wine cask conditions". *Am. J. Enol. Vitic.*, 48 (4): 509-515.

68. Fulcrand, H.; Cameira, P.; Sarni-Manchado, P.; Cheynier, V.; Favre-Bonvin, J. (1996). *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*,1: 735-739.
69. Fulcrand, H.; Cheminat, A.; Brouillard, R.; Cheynier, V. (1994). "Characterization of compounds obtained by chemical oxidation of caffeic acid in acidic conditions". *Phytochemistry*, 35:499-505.
70. Fulcrand, H.; Cheynier, V.; Oszmianski, J.; Moutounet, M. (1997). "An oxidized tartaric acid residue as a new bridge potentially competing with acetaldehyde in flavan-3-ol condensation". *Phytochem.*, 46 (7): 223-227.
71. Gabor, M. (1988). "Szent-Gyorgyi and the bioflavonoids: new results and perspectives of phamacological research into benzopyrene derivates". In: Cody, V.; Middleton, E.; Harborne, J.R.; Berez, A. *Progress in Clinical and Biological Research. Plant flavonoids in Biology and Medicine II: Biochemical, Cellular and Medicinal Properties*. Alan. R. Liss, Inc, New York, 1-15.
72. García-Barroso, C.G.; Cela, R.T. and Pérez-Bustamante, J.A. (1986). "Evolution of phenolic acids and aldehydes during the different production process of Fino Sherry Wine". *Z. Lebensm Unters Forsch.* 182: 413-418.
73. García-Barroso, C.G.; Gálvez, M.C.; Moreno, M.V.G. and Pérez-Bustamante, J.A. (1994). *Bull. L. Group Polyphenol*.
74. García-Maíquez, E. (1988). "Les levures de voile dans l'elaboration des vins de Xérès. Application à l'oenologie des progress récents en microbiologie et en fermentation. *Bull. O.I.V.*, pp. 341-351.
75. Gómez, J.M.; Pujol, M. and De La Torre, M.C. (1990). "Pressure influence in the polyphenolic content of must obtained from Macabeo grapes". Comunicación personal.
76. Griffiths, L.A. (1982). "Mammalian metabolism of flavonoids". In: Harborne Ir, I.B.; Mabry, T.J. *The flavonoids: Advances in Research*. Chapman and Hall. Lt, London, New York, 681-718.
77. Gunata, Y.; Salgues, M. and Moutounet, M. (1986). "Evolution des derivés hydroxycinnamiques au cours d'elaboration du moût de raisin et du storage des concentrés". *Sci. Alim.*, 6: 579-590.

78. Gunata, Z.; Sapis, J.C.; Moutounet, M. (1987). "Substrates and carboxylic acid inhibitors of grape polyphenol oxidases". *Phytochem.*, 26: 1573-1575.
79. Guymon, J.F. and Crowell, E.A. (1968). "Separation of vanillin, syringaldehyde and other aromatic compounds in the extracts of French and American oak woods by brandy and aqueous alcohol solutions. *Qual. Plant. Material Veg.*, 16: 320-333.
80. Guyot, S.; Vercauteren, J.; Cheynier, V. (1996). "Colourless and yellow dimers resulting from (+)-catechin oxidative coupling catalysed by grape polyphenoloxidase". *Phytochem.*, 42: 1279-1288.
81. Hale, M.D.; McCafferty, K.; Larmie, ED; Newton, J. and Swan, J.S. (1999). "The Influence of oak seasoning and toasting parameters on the composition and quality of wine". *Am. J. Enol. Vitic.*, 50 (4): 495-502.
82. Harborne, J.B. and Simmonds, N.W. (1964). "The natural distribution of phenolic aglycones dans <<Biochemistry of phenolic compounds>>", J.B. Harborne ed., Academic Press, London and New York, 77-127.
83. Haslam, E. (1980). "In vino veritas: oligomeric procyanidins and the ageing of red wines". *Phytochemistry*, 19: 2577-2582.
84. Jaworski, A. and Lee, C.Y. (1987). "Fractionation and HPLC determination of grape phenolics". *J. Agric. Food Chem.*, 35: 257-259.
85. Joseph, E. and Marché, M. (1972). "Contribution à l'étude du vieillissement du Cognac, identification de la scopolétine, de l'aesculétine, de l'ombelliférone, de la  $\beta$ -méthylombelliférone, de l'aesculine et de la scopoline, hétérosides provenant du bois". *Conn. Vigne Vin*, 6: 273-330.
86. Jouve, C.; Cabanis, J.C.; Bourzeix, M.; Heredia, N.; Rosec, J.P. and Vialatte, C. (1989). "Teneurs en catéchins et procyanidols de vins blancs et rose; effect du collage par la caséina". *R.F. OE.*, 117: 14-20.
87. Kadim, D. and Mannheim, C.H. (1999). "Kinetics of phenolic extraction during aging of model wine solution and white wine in oak barrels". *Am. J. Enol. Vitic.*, 50 (1): 33-39.
88. Kinzer, G. and Schreier, P. (1980). "Influence of different pressing systems on the composition of volatile constituents in unfermented grape must and wines". *Am. J. Enol. Vitic.*, 31 (1): 7-13.

89. Kontek, A. and Kontek, A. (1984). "Relations between some phenolic compounds and microorganisms playing an important role in enology". *Bull. Liaison G. polyphenols*, 12: 100-107.
90. Lázaro, I.; Almela, L.; Javaloy, S. and López, J.M. (1990). "Les acides phénoliques dans l'elaboration de vins de cv. Monastrell". *Sc. Aliments.*, 10: 89-98.
91. Lea, A.G.H.; Bridle, P.; Timberlake, C.F. and Singleton, V.L. (1979). "The procyanidins of white grapes and wines". *Am. J. Enol. Vitic.*, 30 (4): 289-300.
92. Macheix, J.J.; Fleuriet, A. and Billot, D. (1990). "Fruits Phenolics". CRC. Press, Inc. Boca Raton, Florida.
93. Masson, G.; Puech, J.-L.; Moutounet, M. (1996). "Composition chimique du bois de chêne de tonnellerie". *Bull. O.I.V.*, 785-786: 635-657.
94. Matricardi, L. and Waterhouse, A.L. (1999). "Influence of toasting technique on color and Ellagitannins of oak wood in barrel making". *Am. J. Enol. Vitic.*, 50 (4): 519-526.
95. Mayén, M.; Barón, R.; Mérida, J. and Medina, M. (1997). "Changes in phenolic compounds during accelerated browning in white wines from cv. Pedro Ximenez and cv. Baladi grapes". *Food Chem.*, 58 (1-2): 89-95.
96. Mayén, M.; Mérida, J. and Medina, M. (1995). "Flavonoid and Non-Flavonoid compounds during fermentation and post-fermentation standing of musts from Cabernet Sauvignon and Tempranillo grapes". *Am. J. Enol. Vitic.*, 46 (2): 255-261.
97. Mayén, M.; Mérida, J. and Medina, M. (1996). "Influence of the addition of sulphur dioxide and must hyperoxidation on the phenolic fractions during vinification of sherry wines". *Food Chem.*, 56 (1): 7-13.
98. Mayer, W.; Gabler, W.; Riester, A. and Korger, H. (1967). "Die Isolierung von castalagin, vescalagin, castalin und vescalin". *Liebigs Ann. Chem.*, 707: 177-181.
99. Mertz, C. (1995). "Les tanins condensés et les ellagitanins du bois de chêne. Diplôme universitaire. Faculté de Pharmacie de Montpellier.

100. Middleton, E. And Kandaswami, C. (1992). *Biochem. Pharmacol*, 43: 1167-1179.
101. Miller, D.P.; Howell, G.S.; Michaelis, C.S. and Dickmann, D.I. (1992). "The content of phenolic acid and aldehyde flavor components of white oak as affected by site and species". *Am. J. Enol. Vitic.*, 43 (4): 333-338.
102. Monedero, L.; Olalla, M.; Martín-Lagos, F.; López, H. and López, M.C. (1999). "Application of chemometric techniques in obtaining macerates with phenolic compound content similar to that of wines from the Jerez-Sherry region subjected to oxidative aging". *J. Agric. Food Chem.*, 47: 1836-1844.
103. Monedero, L.; Olalla, M.; Quesada, J.J.; López Ga, H. and López Martínez, M.C. (1998). "Exhaustion techniques in the selection and description of phenolic compounds in Jerez wine extracts obtained by an accelerated aging technique". *J. Agric. Food Chem.*, 46: 1754-1764.
104. Montedoro, G. and Bertuccioli, M. (1975). *Symp. Intern. Enol. Valencia*, pp. 51-85.
105. Monties, B. (1989). "Lignins". *Methods Plant Biochem.*, 1: 113-157.
106. Monties, B. (1992). "Composition chimique des bois de chêne: composés phénoliques, relations avec quelques propriétés physiques et chimiques susceptibles d'influencer la qualité des vins et des eaux-de-vie". *Conn. Vigne et vin*, numéro spécial: 59-72.
107. Moutounet, M.; Cheynier, V.; Rigaud, J. and Souquet, J.M. (1988). "Flavonoides et dérivés hydroxycinnamiques de vins blancs". *C.R. Groupe Polyphenols*, 14: 335-356.
108. Moutounet, M.; Masson G.; Scalbert, A.; Baumes, R.; Lepoutre, J.P.; Puech, J.L. (1995). "Les facteurs de variabilité de la composition des eaux de vie en extractibles du bois de chêne". *Rev. Fr. Oenol.*, 151: 25-31.
109. Nabeta, K.; Yonekubo, J. and Miyake, M. (1986). "Analysis of volatile constituents of European and Japanese oaks". *Mokuzai Gakkaishi*, 32 (11): 921-927.
110. Nabeta, K.; Yonekubo, J. and Miyake, M. (1987). "Phenolic compounds from the heartwood of European oak (*Quercus robur* L.) and brandy". *Mokuzai Gakkaishi*, 33 (5): 408-415.

111. Nagel, C.W. and Wulf, L.W. (1979). "Changes in the anthocyanins, flavonoids and hydroxycinnamic acid esters during fermentation and aging of Merlot and Cabernet Sauvignon". *Am. J. Enol. Vitic.*, 30 (2): 111-116.
112. Nagel, C.W.; Baranowski, J.D.; Wulf, L.W. and Powers, J.R. (1979). "The hydroxycinnamic acid tartaric acid esters content of musts and grape varieties grown in the pacific northeast". *Am. J. Enol. Vitic.*, 30 (3): 198-201.
113. Nishimura, K.; Ohnishi, M.; Masuda, M.; Koga, K. and Matsuyama, R. (1983). "Reactions of wood components during maturation dans <<Flavour of distilled beverages>>". J.R. Pigott ed., Ellis Horwood, Chichester, England, 241-255.
114. Nykanen, L.; Nykanen, I. and Moring, M. (1985). "Aroma compounds dissolved from oak chips by alcohol dans <<Progress in flavour research>>", J. Adda ed., Elsevier, Amsterdam: 339-346.
115. Okamura, S. and Watanabe, M. (1981). "Determination of phenolic cinnamates in white wine and their effect on wine quality". *Agric. Biol. Chem.*, 45 (9): 2063-2070.
116. Oszmianski, J.; Lee, C.Y. (1990). "Enzymatic oxidative reaction of catechin and chlorogenic acid in a model system". *J. Agric. Food Chem.*, 38: 1202-1204.
117. Oszmianski, J.; Cheynier, V.; Moutounet, M. (1996). "Iron-catalyzed oxidation of (+)-catechin in wine-like model solutions". *J. Agric. Food Chem.*, 44: 1972-1975.
118. Pallenbach, E.; Scholz, E.; Konig, M. and Rimpler, H. (1992). "Proanthocyanidins from *Quercus petraea* bark". *Planta Med.*, 59: 264-268.
119. Parthasarathy, S. and Rankin, S.M. (1992). *Prog. Lipid Res*, 31: 127-143.
120. Pearl, I.; Beyer, D.; Johnson, B. and Wilkinson, S. (1957). "Alkaline hydrolysis of representative hardwoods". *Tapi*, 40: 374-378.
121. Pérez-Coello, M.S.; Sanz, J. and Cabezudo, M.D. (1999). "Determination of volatile compounds in hydroalcoholic extracts of French and American oak wood". *Am. J. Enol. Vitic.*, 50 (2): 162-165.

122. Pérez-Juan, P.M. (1995). "Estudio del mosto de v.v. Pedro Ximénez durante el desarrollo del fruto y la vinificación. Comportamiento de los polifenoles de bajo peso molecular". Tesis Doctoral.
123. Peri, C.; Pompei, C.; Montedoro, G. and Cantarelli, C. (1971). "Maderisation of white wines. I.-Influence of pressing on the susceptibility of the grapes to oxidative browning". *J. Sci. Food Agric.*, 22: 24-28.
124. Pocock, K.F.; Sefton, M.A. and Williams, P.J. (1994). "Taste thresholds of phenolic extracts of French and American oakwood: The influence of oak phenols on wine flavor". *Am. J. Enol. Vitic.*, 45 (4): 429-434.
125. Puech, J.-L. (1984). "Characteristics of oak wood and biochemical aspects of Armagnac aging". *Am. J. Enol. Vitic.*, 35 (2): 77-81.
126. Puech, J.-L. (1987a). "Influence du bois de chêne sur les caractéristiques analytiques et gustatives des eaux-de-vie. Numéro spécial *Conn. Vigne Vin*, 151-162.
127. Puech, J.-L. (1987b). "Extraction of phenolic compounds from oak wood in model solutions and evolution of aromatic aldehydes in wines aged in oak-barrels". *Am. J. Enol. Vitic.*, 38: 236-238.
128. Puech, J.-L. (1988). "Phenolic compounds in oak wood extracts used in the ageing of brandies". *J. Sci. Food Agric.*, 42: 165-172.
129. Puech, L. (1987). "Influencia de la madera de roble en los aguardientes y los vinos". *IV Jornadas Universitarias de Viticultura y Enología de Jerez*: 33-45.
130. Puech, J.-L. and Moutounet, M. (1988). "Liquid chromatographic determination of scopoletin in hydroalcoholic extract of oak wood and in distilled alcoholic beverages". *J. Assoc. Anal. Chem.*, 71 (3): 512-514.
131. Puech, J.-L.; Feuillat, F. and Mosedale, J.R. (1999). "The tannins of oak heartwood: structure, properties, and their influence on wine flavor". *Am. J. Enol. Vitic.*, 50 (4): 469-478.
132. Puech, J.-L.; Rabier, P. and Moutounet, M. (1988). "Preparative separation by high-performance liquid chromatography of an extract of oak wood and determination of the composition of each fraction". *J. Chromatogr.*, 457: 431-436.

133. Puech, J.-L.; Lepoutre, J.-P.; Baumes, R.; Bayonove, C. and Moutounet, M. (1993). "Influence du thermotraitement des barriques sur l'évolution de quelques composants issus du bois de chêne dans les eaux-de-vie". *Élaboration et connaissance des spiritueux*. Cantagrel R. Ed., 583-588, Lavoisier, Paris.
134. Reazin, G.H. (1983). "Chemical analysis of whiskey maturation". In: *Flavour of distilled beverages; origin and development*. (Ed.), J.R. Piggott. Ellis-Horwood Limited.
135. Ribéreau-Gayon, P. (1965). "Identification d'esters des acides cinnamiques et de l'acide tartrique dans les limbes et les baies de v. Vinifera". *CR Acad Sci*, Paris, 260:341.
136. Richard, J.L. (1987). *Arch. Mal. Coeur*, n° special avril, 17-21.
137. Richard, J.L.; Cambien, F. and Ducimetiere, P. (1981). *Press Med.*, 10: 1111-1114.
138. Richard-Forget, F.; Amiot, M.I.; Goupy, P.; Nicolas, J. (1995). "Evolution of chlorogenic acid o-quinones in model solutions". *ACS Symp Series*, 600: 144-158.
139. Rigaud, J.; Cheynier, V.; Souquet, I.M.; Moutounet, M. (1991). "Influence of must composition on phenolic oxidation kinetics". *J. Sci. Food Agric.*, 57: 55-63.
140. Rodgers, E.H.; Grant, M.H. (1998). "The effects of the flavonoid quercetin, myricetin and epicatechin on the growth and enzyme activities of MCF7 human breast cancer cell". *Chem. Biol. Interact.*, 116: 213-228.
141. Rous, C. and Alderson, B. (1983). "Phenolic extraction curves for white wine aged in French and American oak barrels". *Am. J. Enol. Vitic.*, 34 (4): 211-215.
142. Salgues, M.; Cheynier, V.; Gunata, Z. and Wylde, R. (1986). "Oxidation of grape juice 2-S-glutathionyl caffeoyl tartaric acid by *Botrytis cinerea* laccase and characterization of a new substance: 2,5-di-S-glutathionyl caffeoyl tartaric acid". *J. Food Sci.*, 51 (5): 1191-1194.
143. Sapis, J.C. and Ribéreau-Gayon, P. (1969). "Etude dans les vins du tyrosol, du triptophol, de l'alcool phénylétique et de la butyrolactone, produits secondaires de la fermentation alcoolique. II. Présence et signification". *Ann. Technol. Agric.*, 18: 221-229.

- 
144. Sarni, F.; Moutounet, M.; Puech, J.-L.; Rabier, P. (1990). "Effect of heat treatment of oak wood extractable compounds". *Holzforsch*, 44 (6): 461-466.
145. Sarni-Manchado, P.; Fulcrand, H.; Souillol, V.; Souquet, J.M. and Cheynier, V. (1995). "Mechanisms of anthocyan degradation in grape must-like model solutions". *J. Sci. Food Agric.*, 69: 385-391.
146. Scalbert, A.; Monties, B.; Dupouey, J.-L. and Becker, M. (1986). "Polyphénols extractibles du bois de chêne: variabilité interspécifique, interindividuelle et effet de la duraminisation, *JIEP*, Montpellier, 13: 617-619.
147. Scalbert, A.; Monties, B.; Favre, J.-M. (1988). "Polyphenols of *Quercus robur*: Adult tree and *in vitro* grown calli and shoots". *Phytochemistry*, 27: 3483-3488.
148. Scalbert, A.; Monties, B. and Janin, G. (1987). "Comparaison de méthodes de dosage des tanins: application à des bois de différentes espèces". *Actes du 2<sup>e</sup> colloque Sciences et Industries du bois*, T. II: 261:268.
149. Schneider, V. (1998). "Must hyperoxidation: A review". *Am. J. Enol. Vitic.*, 49 (1): 65-73.
150. Sefton, M.; Francis, I. et Williams, P. (1990). "Volatile flavour components of oak wood". *Proceedings of the 7th Australian Wine Industry Technical Conference*. Aug. 1989. Williams P., Davidson D. et Lee T. Eds, Australian Industrial Publishers. Adelaïde. 107-112.
151. Segal, B. and Grager. (1967). *Nahrung*, 11: 223-225.
152. Seider, A.J. and Datunashuilli, E.N. (1973). *Sad. Vinogr. Vinodel*, 28: 23-24.
153. Seikel, M.K.; Hostettler, F.D. and Niemann, G.J. (1971). "Phenolics of *Quercus rubra* wood. *Phytochem.*, 10: 2249-2251.
154. Shoskes, D.A. (1998). "Effects of bioflavonoids quercetin and curcumin on ischemic renal injury: a new class of renoprotective agents". *Trasplantation*, 66: 147-152.

155. Simpson, R.F. (1982). "Factors affecting oxidative browning of white wine". *Vitis*, 233-239.
156. Singleton, V.L. (1974). Some aspects of the wooden container as a factor in wine maturation. *Adv. Chem. Ser.*, 137: 254-277.
157. Singleton, V.L. (1982). "Oxidation of wine". In: *Proceedings of the International Symposium on Viticulture, Vinification and the Treatment and Handling of Wine*, 18: 1-14. Oxford University, England.
158. Singleton, V.L. (1987). "Oxygen with phenols and related reactions in musts, wines, and model systems: observations and practical implications". *Am. J. Enol. Vitic.*, 38 (1): 69-77.
159. Singleton, V.L. (1995). "Maturation of wines and spirits: comparisons, facts, and hypotheses". *Am. J. Enol. Vitic.*, 46 (1): 98-115.
160. Singleton, V.L. and Esau, P. (1969). "Phenolic substances in grapes and wines and their significance". *Adv. Food Res. Suppl* 1. Academic Press. New York.
161. Singleton, V.L. and Trousdale, E. (1983). "White wine phenolics: varietal and processing differences as shown by HPLC". *Am. J. Enol. Vitic.*, 34 (1): 27-34.
162. Singleton, V.L.; Salgues, M.; Zaya, J. and Trousdale, E. (1985). "Caftaric acid disappearance and conversion to products of enzymic oxidation in grape must and wine". *Am. J. Enol. Vitic.*, 36 (1): 50-56.
163. Singleton, V.L.; Timberlake, C.F. and Lea, A.G.H. (1978). "The phenolic cinnamates of white grapes and wine". *J. Sci. Food Agric.*, 29: 403-410.
164. Singleton, V.L.; Zaya, J. and Trousdale, E. (1980). "White table wine quality and polyphenol composition as affected by must SO<sub>2</sub> content and pomace contact time". *Am. J. Enol. Vitic.*, 31: 14-23.
165. Somers, T.C.; Pocock, K.F. (1990). "Evolution of red wines. 3. Promotion of the maturation phase vitis". 29 (2): 109-121.
166. Somers, T.C.; Verette, E. and Pocock, K.F. (1987). "Hydroxycinnamate esters of *vitis vinifera*: changes during white vinification, and effects of exogenous enzymic hydrolysis". *J. Sci. Food Agric.*, 40: 67-78.

167. Spillman, P.J.; Pollnitz, A.P.; Liacopoulos, D.; Pardon, K.H., and Sefton, M.A. (1998). "Formation and degradation of furfuryl alcohol, 5-methylfurfuryl alcohol, vanillyl alcohol, and their ethyl ethers in barrel-aged wines". *J. Agric. Food Chem.*, 46 (2): 657-663.
168. Spillman, P.J.; Pollnitz, A.P.; Liacopoulos, D.; Skouroumounis, G.K. and Sefton, M.A. (1997). "Accumulation of vanillin during barrel-aging of white, red, and model wines". *J. Agric. Food Chem.*, 45 (7): 2584-2589.
169. Ter Heide, R.; De Valois, P.J.; Visser, J.; Jaegers, P.P. and Timmer, R. (1978). "Concentration and identification of trace constituents in alcoholic beverages". *Analysis of foods and beverages*, Ed. G. Charalambous, Academic Press, New York, USA: 393 p.
170. Timberlake, C.F. and Bridle, P. (1976). "Interactions between anthocyanins, phenolic compounds and acetaldehyde and their significance in red wines". *Am. J. Enol. Vitic.*, 27: 97-105.
171. Towey, J.P. and Waterhouse, A.L. (1996). "The extraction of volatile compounds from French and American oak barrels in Chardonnay during three successive vintages". *Am. J. Enol. Vitic.*, 47 (2): 163-172.
172. Tulyathan, V.; Boulton, R.B., and Singleton, V.L. (1989). "Oxygen uptake by gallic acid as a model for similar reactions in wines". *J. Agric. Food Chem.*, 37 (4): 844-849.
173. Uddin, S.; Choudhry, M.A. (1995). "Quercetin, a bioflavonoid, inhibits the DNA synthesis of human leukaemia cells". *Biochem Mol. Biol. Int.*, 36: 545-550.
174. Viriot, C.; Scalbert, A.; Lapiere, C., and Moutounet M. (1993). "Ellagitannins and lignins in aging of spirits in oak barrels". *J. Agric. Food Chem.*, 41 (11): 1872-1879.
175. Vivas, N.; Glories, Y. (1996). "Étude et optimisation des phénomènes impliqués dans le séchage naturel du bois de chêne". *Rev. Fr. Oenol.*, 158: 28-35.
176. Vivas, N.; Pianet, I.; Bourgeois, G.; Vitry, C.; Servens, C. and Glories, Y. (1998). "Characterization of heartwood lignin fractions from *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt) Liebl., the main oak species used for barrel making". *Am. J. Enol. Vitic.*, 49 (1): 49-55.

177. Vrhovsek, U.; Wendelin, S. (1998). "The effect of fermentation, storage and fining on the content of hydroxycinnamoyltartaric acids and on browning of Pinot blanc wines". *Vitic. Enol. Sci.*, 53 (2): 87-94.
178. Wagenführ, R. and Scheiber, C. (1974). *Holzatlas*, VEB Fachbuchverlag Leipzig.
179. Wesche-Ebeling, P. and Montgomery, M.W. (1990). *J. of Food Sci.*, 55: 731.
180. Wildenradt, H.L.; Singleton, V.L. (1974). "The production of aldehydes as a result of oxidation of polyphenolic compounds in relation to wine ageing". *Am. J. Enol. Vitic.*, 25: 119-126.
181. Wucherpfenning, K. (1967). Symp. Intern. Oenol., Burdeos.

## **VII. ANEXO**

TABLA 1. MEDIAS Y DESVIACIONES ESTÁNDAR DE LOS VALORES DE PARÁMETROS GENERALES DE LAS MUESTRAS DE VINOS PROCEDENTES DE DOS ESCALAS DE OLOROSOS DE UNA BODEGA.

	ESCALA OLOROSO JOVEN				ESCALA OLOROSO VIEJO	
	Vino Inicial	2 <sup>a</sup> Criadera	1 <sup>a</sup> Criadera	Solera	1 <sup>a</sup> Criadera	Solera
pH	3.46	3.13	3.07	3.07	3.18	3.44
	3.45	3.11	3.05	3.06	3.18	3.39
	3.67	3.11	3.05	3.06	3.17	3.39
$\bar{x}$	3.53	3.12	3.06	3.06	3.18	3.41
DE	0.124	0.011	0.011	0.005	0.005	0.028
Grado	18.3	18.0	18.1	18.7	19.6	19.8
Alcohólico	18.1	18.0	18.2	18.8	19.6	19.9
	17.4	18.0	18.1	18.8	20.2	19.8
$\bar{x}$	17.9	18.0	18.1	18.8	19.8	19.8
DE	0.472	--	0.057	0.057	0.346	0.057
Acidez	74.5	65.1	66.6	66.9	70.8	75.7
Titulable	74.7	65.1	66.6	67.4	70.6	75.3
(meq/L)	65.1	65.2	66.3	67.6	70.6	75.7
$\bar{x}$	71.4	65.1	66.5	67.3	70.7	75.6
DE	5.49	0.058	0.173	0.361	0.116	0.231
Acidez	5.74	8.74	9.24	8.53	10.8	14.4
Volátil	5.12	8.78	10.3	8.54	10.7	14.4
(meq/L)	6.57	8.82	9.93	8.53	11.3	14.3
$\bar{x}$	5.81	8.78	9.82	8.53	10.9	14.4
DE	0.727	0.040	0.537	0.005	0.321	0.057

TABLA 1 (Cont.). MEDIAS Y DESVIACIONES ESTÁNDAR DE LOS VALORES DE PARÁMETROS GENERALES DE LAS MUESTRAS DE VINOS PROCEDENTES DE DOS ESCALAS DE OLOROSOS DE UNA BODEGA.

	ESCALA OLOROSO JOVEN				ESCALA OLOROSO VIEJO	
	Vino Inicial	2 <sup>a</sup> Criadera	1 <sup>a</sup> Criadera	Solera	1 <sup>a</sup> Criadera	Solera
SO <sub>2</sub> libre (mg/L)	5.15	2.73	3.22	2.12	1.93	2.41
	3.22	2.73	3.54	2.43	2.25	2.41
	4.51	2.58	3.22	2.43	1.93	2.41
$\bar{x}$	4.29	2.68	3.33	2.33	2.04	2.41
DE	0.983	0.086	0.184	0.178	0.184	--
SO <sub>2</sub> combinado (mg/L)	106	48.3	43.1	15.8	16.1	17.6
	107	44.6	43.8	16.1	17.4	19.4
	104	44.9	41.5	17.3	17.4	18.7
$\bar{x}$	106	45.9	42.8	16.4	17.0	18.6
DE	1.53	2.05	1.18	0.793	0.750	0.907
SO <sub>2</sub> Total (mg/L)	111	51.0	46.4	17.9	18.0	20.0
	110	47.4	47.3	18.5	19.6	21.8
	109	47.5	44.7	19.7	19.3	21.1
$\bar{x}$	110	48.6	46.1	18.7	19.0	21.0
DE	1.00	2.05	1.32	0.916	0.850	0.907
Azúcares reductores (g/L)	2.07	6.21	11.2	13.0	12.0	9.92
	2.05	6.34	11.4	12.9	12.0	9.80
	2.07	6.34	11.6	13.2	12.3	9.80
$\bar{x}$	2.06	6.30	11.4	13.0	12.1	9.84
DE	0.011	0.075	0.200	0.152	0.173	0.069

TABLA 2. MEDIAS, DESVIACIONES ESTÁNDAR, GRUPOS HOMOGÉNEOS Y VALOR DE  $p$  DEL ANOVA DE LAS ABSORBANCIAS DE LAS MUESTRAS DE VINOS PROCEDENTES DE DOS ESCALAS DE OLOROSOS DE UNA BODEGA (nivel de significación: 5%).

	ESCALA OLOROSO JOVEN				ESCALA OLOROSO VIEJO			Anova ( $p$ )
	Vino Inicial	2 <sup>a</sup> Criadera	1 <sup>a</sup> Criadera	Solera	1 <sup>a</sup> Criadera	Solera		
A280	9.45	10.5	15.8	16.5	19.2	21.7		
	9.47	10.6	15.9	16.7	19.4	21.6		
	9.29	10.7	15.8	16.5	19.6	21.6		
$\bar{x}$	9.40	10.6	15.8	16.6	19.4	21.6	0.000	
DE	0.098	0.100	0.057	0.115	0.199	0.057		
A420	0.223	0.459	0.648	0.795	0.962	1.14		
	0.221	0.476	0.643	0.813	0.960	1.12		
	0.227	0.471	0.648	0.794	0.967	1.19		
$\bar{x}$	0.223	0.468	0.646	0.800	0.963	1.15	0.000	
DE	0.003	0.008	0.002	0.010	0.003	0.036		
A520	0.061	0.135	0.220	0.289	0.299	0.358		
	0.059	0.140	0.219	0.296	0.295	0.351		
	0.062	0.137	0.219	0.288	0.300	0.393		
$\bar{x}$	0.060	0.137	0.219	0.291	0.298	0.367	0.000	
DE	0.001	0.002	--	0.004	0.002	0.022		

TABLA 3. CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS (mg/L) DE VINOS PROCEDENTES DE DOS ESCALAS DE OLOROSOS DE UNA BODEGA.

	ESCALA OLOROSO JOVEN			ESCALA OLOROSO VIEJO		
	Vino Inicial	2 <sup>a</sup> Criadera	1 <sup>a</sup> Criadera	Solera	1 <sup>a</sup> Criadera	Solera
<b>Acidos Hidroxibenzoicos</b>						
GALICO	9.48	8.40	10.1	14.1	15.9	13.6
	7.93	8.22	10.9	15.1	14.9	13.9
	6.39	8.11	11.0	14.1	13.5	13.4
$\bar{x}$	7.93	8.24	10.6	14.4	14.8	13.6
DE	1.55	0.144	0.501	0.567	1.22	0.251
PROTOCATEQUICO	5.94	6.53	6.81	10.8	9.07	11.0
	6.76	7.33	6.22	11.7	9.32	12.7
	5.13	6.53	6.51	11.4	9.02	13.6
$\bar{x}$	5.94	6.79	6.51	11.3	9.13	12.5
DE	0.811	0.463	0.292	0.443	0.158	1.32
<i>p</i> -HIDROXIBENZOICO	1.22	0.881	1.12	1.01	2.52	3.68
	1.20	1.13	1.02	1.11	2.32	3.33
	0.844	1.12	1.22	1.21	2.12	4.75
$\bar{x}$	1.09	1.04	1.12	1.11	2.32	3.92
DE	0.209	0.140	0.100	0.097	0.200	0.738
<i>m</i> -HIDROXIBENZOICO	10.3	12.5	12.9	13.5	23.1	27.9
	10.0	13.7	13.3	14.0	22.3	34.3
	10.7	13.4	14.3	13.8	29.1	28.6
$\bar{x}$	10.3	13.2	13.5	13.8	24.8	30.3
DE	0.340	0.624	0.721	0.270	3.72	3.50
VANILLICO	1.41	2.57	3.48	4.11	5.23	6.22
	1.34	3.20	4.17	3.78	4.14	5.72
	1.49	3.17	2.80	3.94	4.69	5.26
$\bar{x}$	1.41	2.98	3.48	3.94	4.69	5.73
DE	0.073	0.353	0.687	0.165	0.547	0.478
SIRINGICO	1.27	1.40	1.52	1.72	3.15	4.61
	1.48	1.26	1.98	1.86	3.11	4.92
	1.59	1.35	1.36	1.33	3.13	4.76
$\bar{x}$	1.45	1.33	1.62	1.64	3.13	4.76
DE	0.161	0.068	0.321	0.269	0.018	0.157
<b>Acidos hidroxicinámicos</b>						
CAFEICO	5.76	7.67	3.86	5.62	4.22	4.20
	4.81	6.23	4.66	5.15	3.66	4.65
	5.28	6.09	4.26	4.68	3.10	3.23
$\bar{x}$	5.28	6.66	4.26	5.15	3.66	4.03
DE	0.473	0.875	0.403	0.470	0.559	0.722
<i>p</i> -CUMARICO	2.30	2.36	3.25	3.60	3.34	5.21
	2.17	2.39	2.36	4.01	3.08	5.10
	2.21	2.54	3.16	3.37	3.90	5.32
$\bar{x}$	2.22	2.43	2.92	3.66	3.44	5.21
DE	0.064	0.096	0.488	0.324	0.422	0.108

TABLA 3 (Cont.). CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS (mg/L) DE VINOS PROCEDENTES DE DOS ESCALAS DE OLOROSOS DE UNA BODEGA.

	ESCALA OLOROSO JOVEN				ESCALA OLOROSO VIEJO	
	Vino Inicial	2 <sup>a</sup> Criadera	1 <sup>a</sup> Criadera	Solera	1 <sup>a</sup> Criadera	Solera
FERULICO	1.65	0.947	0.879	1.66	1.19	1.97
	1.64	0.994	0.906	1.68	1.12	1.58
	1.58	0.989	0.964	1.79	0.998	1.90
$\bar{x}$	1.62	0.976	0.916	1.71	1.10	1.82
DE	0.040	0.025	0.043	0.072	0.096	0.208
<b><i>Esteres hidroxicinámicos</i></b>						
<i>t</i> -CAFTARICO	18.5	32.7	25.9	25.2	25.8	15.0
	22.4	32.5	29.3	25.8	22.0	14.4
	20.4	33.4	27.8	25.6	27.9	14.4
$\bar{x}$	20.4	32.8	27.7	25.5	25.2	14.6
DE	1.92	0.464	1.73	0.346	2.97	0.375
<i>c</i> -CUTARICO	15.7	26.9	27.5	26.7	27.6	29.2
	15.1	23.1	26.0	21.2	23.6	27.4
	16.3	23.1	24.5	25.8	26.9	26.2
$\bar{x}$	15.7	24.4	26.0	24.6	26.0	27.6
DE	0.601	2.19	1.49	2.96	2.13	1.51
<i>t</i> -CUTARICO	6.11	7.89	13.6	12.3	14.1	18.1
	7.57	7.03	16.3	12.7	12.7	19.3
	9.04	6.76	14.9	11.8	12.2	15.8
$\bar{x}$	7.57	7.23	14.9	12.3	13.0	17.7
DE	1.46	0.590	1.35	0.482	1.01	1.81
FEFTARICO	7.66	7.64	3.46	4.12	5.86	4.05
	8.56	7.11	3.89	4.29	6.27	4.30
	10.7	6.16	3.68	3.93	5.37	4.26
$\bar{x}$	8.99	6.97	3.68	4.12	5.83	4.20
DE	1.59	0.747	0.214	0.180	0.446	0.134
<b><i>Alcoholes benzoicos</i></b>						
TIROSOL	72.5	61.6	70.6	78.0	86.8	84.1
	64.1	59.5	60.4	69.5	68.6	78.6
	55.7	56.1	73.4	68.0	77.4	72.4
$\bar{x}$	64.1	59.1	68.1	71.9	77.6	78.4
DE	8.38	2.77	6.84	5.39	9.10	5.86
<b><i>Aldehídos benzoicos</i></b>						
SIRINGALDEHIDO	<0.001	<0.001	<0.001	7.96	15.8	15.4
	<0.001	<0.001	<0.001	7.63	15.6	11.9
	<0.001	<0.001	<0.001	6.47	14.3	15.4
$\bar{x}$	<0.001	<0.001	<0.001	7.35	15.2	14.2
DE	--	--	--	0.785	0.853	2.00
VAINILLINA <sup>1</sup>	<0.001	0.622	1.11	3.70	3.94	4.83
	<0.001	0.776	1.19	4.10	4.40	5.11
	<0.001	0.658	1.15	3.99	4.18	4.69
$\bar{x}$	<0.001	0.685	1.15	3.93	4.17	4.87
DE	--	0.080	0.039	0.206	0.230	0.213

<sup>1</sup> Obtenida como suma de la vainillina y un compuesto desconocido derivado de flavan-3-ol.

TABLA 3 (Cont.). CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS (mg/L) DE VINOS PROCEDENTES DE DOS ESCALAS DE OLOROSOS DE UNA BODEGA.

	ESCALA OLOROSO JOVEN				ESCALA OLOROSO VIEJO	
	Vino Inicial	2 <sup>a</sup> Criadera	1 <sup>a</sup> Criadera	Solera	1 <sup>a</sup> Criadera	Solera
	<b>Monómeros de flavan-3-ol</b>					
(+)-CATEQUINA	20.7	26.2	40.1	39.1	42.7	29.3
	25.3	27.5	37.8	41.3	42.2	37.4
	25.1	24.8	42.5	35.0	33.3	29.8
$\bar{x}$	23.7	26.2	40.1	38.5	39.4	32.2
DE	2.58	1.35	2.37	3.17	5.27	4.56
(-)-EPICATEQUINA	13.4	14.1	19.3	16.5	18.6	20.1
	14.8	19.1	18.0	19.2	18.1	21.6
	11.9	20.2	17.5	16.0	15.4	25.9
$\bar{x}$	13.4	17.8	18.3	17.2	17.4	22.5
DE	1.46	3.25	0.959	1.71	1.74	2.97
<b>Dímeros de flavan-3-ol</b>						
PROCIANIDINA B1	19.7	19.8	23.5	29.4	13.7	23.5
	17.6	19.5	26.6	29.5	17.1	23.1
	18.6	20.2	19.4	33.4	14.5	18.5
$\bar{x}$	18.6	19.8	23.2	30.7	15.1	21.7
DE	1.07	0.351	3.57	2.27	1.79	2.76
PROCIANIDINA B2	14.3	15.4	19.4	20.3	24.4	22.8
	14.9	16.5	19.6	16.6	21.8	26.2
	14.6	16.5	19.8	22.0	26.9	27.5
$\bar{x}$	14.6	16.1	19.6	19.6	24.4	25.5
DE	0.314	0.632	0.167	2.78	2.55	2.42
PROCIANIDINA B3	18.2	11.3	13.6	15.6	13.7	12.7
	13.3	14.2	15.2	15.8	14.3	14.8
	14.6	14.0	16.8	15.5	14.0	15.5
$\bar{x}$	15.4	13.2	15.2	15.6	14.0	14.3
DE	2.56	1.61	1.63	0.154	0.294	1.48
PROCIANIDINA B4	9.41	5.39	7.89	5.67	6.91	6.80
	9.18	5.29	7.47	5.26	5.70	6.55
	9.29	5.19	7.58	4.84	7.20	6.49
$\bar{x}$	9.29	5.29	7.64	5.26	6.61	6.61
DE	0.110	0.096	0.217	0.415	0.795	0.164
<b>Compuestos desconocidos</b>						
PICO 1	7.84	5.25	3.19	5.27	6.40	8.48
	8.38	5.36	3.15	4.41	6.27	8.50
	9.43	5.28	2.69	5.89	5.74	8.48
$\bar{x}$	8.55	5.30	3.01	5.19	6.14	8.48
DE	0.805	0.055	0.275	0.743	0.350	0.009
PICO 2	5.45	2.23	2.54	5.43	2.01	2.84
	3.94	2.24	2.59	5.69	2.07	3.00
	4.70	2.23	2.10	3.96	2.12	2.45
$\bar{x}$	4.70	2.23	2.41	5.03	2.07	2.76
DE	0.756	0.003	0.268	0.930	0.056	0.282

TABLA 3 (Cont.). CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS (mg/L) DE VINOS PROCEDENTES DE DOS ESCALAS DE OLOROSOS DE UNA BODEGA.

	ESCALA OLOROSO JOVEN				ESCALA OLOROSO VIEJO	
	Vino Inicial	2 <sup>a</sup> Criadera	1 <sup>a</sup> Criadera	Solera	1 <sup>a</sup> Criadera	Solera
<b>Compuestos desconocidos (Cont.)</b>						
PICO 3	7.87	10.3	30.5	28.3	44.0	49.2
	7.45	10.1	27.4	28.7	53.0	56.3
	6.88	9.84	25.8	28.7	44.6	52.0
$\bar{x}$	7.40	10.1	27.9	28.6	47.2	52.5
DE	0.497	0.221	2.36	0.242	5.04	3.58
PICO 5	1.62	1.33	0.367	<0.001	1.79	<0.001
	1.65	1.37	0.510	<0.001	1.65	<0.001
	1.63	1.40	0.438	<0.001	1.72	<0.001
$\bar{x}$	1.63	1.37	0.438	<0.001	1.72	<0.001
DE	0.015	0.033	0.071	-.-	0.069	-.-
PICO 6	<0.001	1.24	1.71	2.68	2.32	2.39
	<0.001	1.24	1.83	2.89	2.21	2.69
	<0.001	1.27	1.84	2.73	2.41	2.80
$\bar{x}$	<0.001	1.25	1.79	2.77	2.31	2.63
DE	-.-	0.018	0.074	0.108	0.102	0.212
PICO 8	<0.001	3.75	11.9	12.6	7.54	4.56
	<0.001	3.64	12.3	13.7	8.11	5.00
	<0.001	3.69	12.9	12.7	5.90	4.99
$\bar{x}$	<0.001	3.69	12.4	13.0	7.18	4.85
DE	-.-	0.053	0.494	0.596	1.15	0.250
PICO A	10.4	6.00	9.02	10.9	14.1	20.5
	11.4	6.71	8.62	10.5	15.0	24.1
	10.9	6.46	9.43	11.2	14.5	19.6
$\bar{x}$	10.9	6.39	9.02	10.9	14.5	21.4
DE	0.493	0.356	0.404	0.386	0.466	2.36
PICO B	12.4	5.46	6.31	4.83	12.3	16.4
	9.43	4.85	7.28	6.37	11.5	14.5
	10.9	4.66	7.59	5.59	11.9	15.9
$\bar{x}$	10.9	4.99	7.06	5.59	11.9	15.6
DE	1.51	0.418	0.666	0.769	0.425	1.01
<b>Productos de oxidación y polimerización</b>						
PICOS AGRUPADOS	32.6	41.5	54.4	73.5	83.0	125
	30.5	43.3	56.8	71.5	83.6	109
	34.7	45.2	50.0	71.4	81.3	111
$\bar{x}$	32.6	43.4	53.7	72.1	82.6	115
DE	2.11	1.83	3.47	1.18	1.18	8.45

TABLA 3 (Cont.). CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS (mg/L) DE VINOS PROCEDENTES DE DOS ESCALAS DE OLOROSOS DE UNA BODEGA.

	ESCALA OLOROSO JOVEN				ESCALA OLOROSO VIEJO	
	Vino Inicial	2 <sup>a</sup> Criadera	1 <sup>a</sup> Criadera	Solera	1 <sup>a</sup> Criadera	Solera
<i>Flavonoles</i>						
QUERCETIN-3-GAL	<0.001	0.412	0.476	0.325	0.395	0.381
	<0.001	0.423	0.522	0.333	0.487	0.317
	<0.001	0.417	0.569	0.340	0.590	0.319
$\bar{x}$	<0.001	0.417	0.522	0.333	0.490	0.338
DE	--	0.005	0.046	0.008	0.097	0.036
QUERCETIN-3-GLU	<0.001	0.821	0.531	0.627	0.526	0.613
	<0.001	0.825	0.545	0.755	0.473	0.554
	<0.001	0.601	0.559	0.657	0.527	0.564
$\bar{x}$	<0.001	0.749	0.545	0.679	0.509	0.577
DE	--	0.128	0.013	0.066	0.031	0.031
QUERCETINA	0.265	0.443	0.363	<0.001	<0.001	<0.001
	0.238	0.451	0.364	<0.001	<0.001	<0.001
	0.264	0.478	0.363	<0.001	<0.001	<0.001
$\bar{x}$	0.256	0.457	0.363	<0.001	<0.001	<0.001
DE	0.015	0.018	--	--	--	--

TABLA 4. ANÁLISIS DE VARIANZA DEL TRIPLICADO DE LAS MUESTRAS PARA CADA NIVEL DE ENVEJECIMIENTO RESPECTO AL VINO INICIAL Y PORCENTAJE DE AUMENTO O REDUCCIÓN.

	ESCALA OLOROSO JOVEN			ESCALA OLOROSO VIEJO	
	2ª Criadera	1ª Criadera	Solera	1ª Criadera	Solera
GALICO		33.7 (*)	81.6 (**)	85.4 (**)	71.6 (**)
PROTocatequico			88.6 (***)	53.8 (**)	108.8 (**)
<i>p</i> -HIDROXIBENZOICO				112 (**)	259.7 (**)
<i>m</i> -HIDROXIBENZOICO	28.2 (**)	31.1 (**)	33.1 (***)	139.9 (**)	193.3 (***)
VANILLICO	110.7 (**)	146.9 (**)	178.8 (***)	232 (***)	306.4 (***)
SIRINGICO				115.2 (***)	227.6 (***)
CAFEICO		-19.5 (*)		-30.6 (*)	
<i>p</i> -CUMARICO	9.1 (*)		64.5 (**)	55 (**)	134.3 (***)
FERULICO	-39.7 (***)	-43.4 (***)		-32.7 (***)	
<i>t</i> -CAFTARICO	60.5 (***)	35.3 (**)	25.1 (*)		-28.9 (**)
<i>c</i> -CUTARICO	54.8 (**)	65.7 (***)	56.1 (**)	65.7 (**)	75.2 (***)
<i>t</i> -CUTARICO		95.6 (**)	61.2 (**)	71.8 (**)	133.9 (**)
FEFTARICO		-59.1 (**)	-54.2 (**)	-35.1 (*)	-53.3 (**)
VAINILLINA	>1000 (***)	>1000 (***)	>1000 (***)	>1000 (***)	>1000 (***)
SIRINGALDEHIDO			>1000 (***)	>1000 (***)	>1000 (***)
(+)-CATEQUINA		69.2 (**)	62.1 (**)	65.9 (*)	
(-)-EPICATEQUINA		35.9 (**)	27.7 (*)	29.2 (*)	68.0 (**)

(\*)  $p < 0.05$ ; (\*\*)  $p < 0.01$ ; (\*\*\*)  $p < 0.001$

TABLA 4 (Cont.). ANÁLISIS DE VARIANZA DEL TRIPLICADO DE LAS MUESTRAS PARA CADA NIVEL DE ENVEJECIMIENTO RESPECTO AL VINO INICIAL Y PORCENTAJE DE AUMENTO O REDUCCIÓN.

*Compuestos que presentan diferencias significativas, respecto al contenido de la muestra inicial, para cada nivel de envejecimiento (nivel de significación: 5%)*

	ESCALA OLOROSO JOVEN			ESCALA OLOROSO VIEJO	
	2ª Criadera	1ª Criadera	Solera	1ª Criadera	Solera
PROCIANIDINA B1			65.1 (**)	-19.3 (*)	
PROCIANIDINA B2	10.3 (*)	33.6 (***)	33.6 (*)	66.5 (**)	84.7 (**)
PROCIANIDINA B4	-43.1 (***)	-17.7 (***)	-43.4 (***)	-28.9 (**)	-28.8 (***)
PICO 1	-38.1 (**)	-64.9 (***)	-39.4 (**)	-28.3 (**)	
PICO 2	-52.7 (**)	-48.9 (**)		-56.1 (**)	-41.2 (*)
PICO 3	35.2 (**)	275.7 (***)	285.2 (***)	536.5 (***)	608.2 (***)
PICO 5	-16.5 (***)	-73.1 (***)	-100 (***)		-99.9 (***)
PICO 6	>1000 (***)	>1000 (***)	>1000 (***)	>1000 (***)	>1000 (***)
PICO8	>1000 (***)	>1000 (***)	>1000 (***)	>1000 (***)	>1000 (***)
PICO A	-41.4 (***)	-17.2 (**)		32.2 (***)	95.5 (**)
PICO B	-54.3 (**)	-35.2 (*)	-48.7 (**)		42.3 (*)
PICOS AGRUPADOS	32.9 (**)	64.8 (***)	121.1 (**)	153.1 (***)	252.8 (***)
QUERCETIN-3-GALACT.	>1000 (***)	>1000 (***)	>1000 (***)	>1000 (***)	>1000 (***)
QUERCETIN-3-GLUCÓS.	>1000 (***)	>1000 (***)	>1000 (***)	>1000 (***)	>1000 (***)
QUERCETINA	78.5 (**)	41.7 (***)	-99.3 (***)	-99.3 (***)	-99.3 (**)

(\*)  $p < 0.05$ ; (\*\*)  $p < 0.01$ ; (\*\*\*)  $p < 0.001$

TABLA 5. MEDIAS, DESVIACIONES ESTÁNDAR, GRUPOS HOMOGÉNEOS Y VALOR DE  $p$  DEL ANOVA DE LOS VALORES DE PARÁMETROS GENERALES DE LAS MUESTRAS DE VINOS COMERCIALES (nivel de significación: 5%).

	O1	O2	O3	O4	Anova ( $p$ )
pH	3.31	3.20	3.20	3.40	
	3.32	3.20	3.30	3.40	
	3.31	3.20	3.30	3.40	
$\bar{x}$	3.31	3.20	3.26	3.40	0.000
DE	0.005	--	0.057	--	
Grado	16.2	19.0	19.4	19.1	
Alcohólico	16.5	19.1	18.9	18.9	
	16.6	19.2	18.9	18.9	
$\bar{x}$	16.4	19.1	19.0	18.9	0.000
DE	0.208	0.1	0.288	0.115	
Acidez Titulable (meq/L)	66.0	81.5	74.5	77.0	
	66.9	81.5	73.5	76.0	
	66.9	82.0	74.0	76.5	
$\bar{x}$	66.6	81.6	74.0	76.5	0.000
DE	0.52	0.288	0.5	0.5	
Acidez Volátil (meq/L)	11.1	12.3	13.2	16.7	
	10.6	12.2	13.2	16.9	
	10.6	12.0	13.5	16.8	
$\bar{x}$	10.7	12.1	13.3	16.8	0.000
DE	0.288	0.152	0.173	0.099	
SO <sub>2</sub> libre (mg/L)	2.49	1.48	1.73	1.23	
	2.49	1.48	1.48	1.73	
	2.49	1.48	1.85	1.48	
$\bar{x}$	2.49	1.48	1.68	1.48	0.000
DE	--	--	0.188	0.249	
SO <sub>2</sub> Combinado (mg/L)	28.6	18.3	20.4	19.1	
	27.8	19.8	20.0	19.1	
	28.2	18.3	21.0	19.7	
$\bar{x}$	28.2	18.8	20.4	19.3	0.000
DE	0.4	0.866	0.503	0.346	
SO <sub>2</sub> Total (mg/L)	31.1	19.7	22.1	20.4	
	30.3	21.2	21.5	20.8	
	30.7	19.7	22.8	21.2	
$\bar{x}$	30.7	20.2	22.1	20.8	0.000
DE	0.4	0.865	0.65	0.399	
Azúcares reductores (g/L)	4.42	10.9	22.5	20.3	
	4.42	10.8	22.6	20.3	
	4.42	10.7	22.4	20.3	
$\bar{x}$	4.42	10.8	22.5	20.3	0.000
DE	--	0.1	0.1	0.007	

TABLA 6. MEDIAS, DESVIACIONES ESTÁNDAR, GRUPOS HOMOGÉNEOS Y VALOR DE  $p$  DEL ANOVA DE LAS ABSORBANCIAS DE LAS MUESTRAS DE VINOS COMERCIALES TIPO “OLOROSO” (nivel de significación: 5%).

	O1	O2	O3	O4	Anova ( $p$ )
A280	34.1	31.0	21.2	29.2	
	33.8	30.2	25.3	30.0	
	34.1	30.3	26.5	29.7	
$\bar{x}$	34.0	30.5	24.3	29.6	0.0002
DE	0.173	0.435	2.78	0.404	
A420	1.97	1.54	1.26	1.54	
	1.97	1.55	1.25	1.56	
	1.97	1.51	1.29	1.60	
$\bar{x}$	1.97	1.53	1.27	1.57	0.000
DE	--	0.020	0.020	0.030	
A520	0.648	0.370	0.338	0.430	
	0.650	0.376	0.316	0.437	
	0.649	0.355	0.324	0.447	
$\bar{x}$	0.649	0.367	0.326	0.438	0.000
DE	--	0.010	0.011	0.008	

TABLA 7. CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS (mg/L) DE LAS MUESTRAS DE VINOS COMERCIALES TIPO “OLOROSO”.

	O1	O2	O3	O4
<b>Ácidos Hidroxibenzoicos</b>				
GÁLICO	14.5	6.93	7.60	6.19
	14.5	6.05	7.60	5.24
	11.1	5.15	6.45	5.83
$\bar{x}$	13.3	6.04	7.22	5.75
DE	1.96	0.890	0.663	0.479
PROTocatequico	8.60	10.9	7.82	10.2
	8.32	8.66	7.82	10.1
	8.46	9.14	7.95	10.3
$\bar{x}$	8.46	9.58	7.86	10.2
DE	0.139	1.18	0.075	0.100
<i>p</i> -HIDROXIBENZOICO	2.58	1.38	0.837	1.55
	2.56	1.37	0.837	1.84
	2.57	1.25	0.901	2.21
$\bar{x}$	2.57	1.33	0.858	1.87
DE	0.006	0.072	0.036	0.330
<i>m</i> -HIDROXIBENZOICO	11.8	17.6	15.5	23.5
	11.6	16.4	15.5	24.7
	10.8	14.7	15.2	20.3
$\bar{x}$	11.4	16.3	15.4	22.8
DE	0.529	1.46	0.173	2.27
VANILLICO	2.18	1.78	1.53	2.60
	3.13	2.05	1.53	2.36
	2.54	2.08	1.42	2.79
$\bar{x}$	2.61	1.97	1.49	2.58
DE	0.482	0.165	0.063	0.215
SIRINGICO	4.36	3.48	2.39	2.90
	4.84	2.98	2.39	2.46
	4.60	3.27	2.45	2.74
$\bar{x}$	4.60	3.24	2.41	2.70
DE	0.241	0.251	0.034	0.222
<b>Ácidos hidroxicinámicos</b>				
CAFEICO	5.43	3.09	1.74	3.21
	5.39	3.57	1.74	2.47
	5.41	3.68	1.88	2.36
$\bar{x}$	5.41	3.45	1.78	2.68
DE	0.018	0.313	0.080	0.462
<i>p</i> -CUMARICO	1.88	1.89	2.09	2.78
	1.91	2.02	2.09	2.58
	1.90	1.80	2.68	2.87
$\bar{x}$	1.90	1.90	2.29	2.74
DE	0.015	0.110	0.340	0.148
FERULICO	1.30	1.60	0.927	0.665
	1.51	1.43	1.11	0.681
	1.20	1.19	1.17	0.662
$\bar{x}$	1.33	1.41	1.07	0.669
DE	0.158	0.205	0.126	0.010

TABLA 7 (Cont.). CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS (mg/L) DE LAS MUESTRAS DE VINOS COMERCIALES TIPO "OLOROSO".

	O1	O2	O3	O4
<b><i>Esteres hidroxicinámicos</i></b>				
<i>t</i> -CAFTARICO	22.7	5.06	4.43	5.74
	22.5	5.88	4.43	4.39
	22.6	4.23	4.52	5.29
$\bar{x}$	22.6	5.05	4.46	5.14
DE	0.134	0.825	0.051	0.687
<i>c</i> -CUTARICO	14.7	4.48	5.97	6.62
	14.0	4.59	5.97	5.48
	14.4	4.46	5.03	6.94
$\bar{x}$	14.4	4.51	5.65	6.35
DE	0.347	0.070	0.542	0.767
<i>t</i> -CUTARICO	12.6	6.86	4.73	6.70
	14.2	5.43	5.43	6.57
	13.4	5.05	5.44	6.66
$\bar{x}$	13.4	5.78	5.20	6.64
DE	0.774	0.954	0.407	0.066
FEFTARICO	5.33	4.56	5.92	4.50
	5.96	6.21	5.92	4.40
	6.55	5.19	5.53	4.60
$\bar{x}$	5.95	5.32	5.79	4.50
DE	0.610	0.832	0.225	0.100
<b><i>Alcoholes benzoicos</i></b>				
TIROSOL	59.7	53.2	57.4	52.9
	52.1	47.1	45.7	50.2
	55.9	44.3	54.0	53.6
$\bar{x}$	55.9	48.2	52.4	52.3
DE	3.82	4.55	6.02	1.80
<b><i>Aldehídos benzoicos</i></b>				
SIRINGALDEHIDO	3.02	12.9	7.60	16.9
	3.28	11.6	7.64	12.3
	3.15	10.4	7.96	13.6
$\bar{x}$	3.15	11.6	7.73	14.3
DE	0.128	1.25	0.197	2.37
VAINILLINA <sup>2</sup>	3.58	4.73	2.33	6.30
	4.25	3.25	2.34	5.41
	4.03	4.71	2.18	6.79
$\bar{x}$	3.95	4.23	2.28	6.17
DE	0.342	0.849	0.090	0.700

<sup>2</sup> Obtenida como suma de la vainillina y un compuesto desconocido derivado de flavan-3-ol.

TABLA 7 (Cont.). CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS (mg/L) DE LAS MUESTRAS DE VINOS COMERCIALES TIPO "OLOROSO".

	O1	O2	O3	O4
<b>Monómeros de flavan-3-ol</b>				
(+)-CATEQUINA	37.8	27.8	30.0	28.6
	38.8	26.4	25.0	27.1
	38.3	29.0	33.6	27.7
$\bar{x}$	38.3	27.7	29.5	27.8
DE	0.504	1.30	4.32	0.754
(-)-EPICATEQUINA	25.0	18.9	15.9	19.3
	22.2	21.6	15.6	23.7
	19.4	17.9	15.7	21.6
$\bar{x}$	22.2	19.5	15.7	21.5
DE	2.80	1.91	0.152	2.20
<b>Dímeros de flavan-3-ol</b>				
PROCIANIDINA B1	26.0	17.4	18.9	28.3
	28.1	15.9	18.1	23.1
	27.0	15.1	20.0	28.7
$\bar{x}$	27.0	16.1	19.0	26.7
DE	1.05	1.17	0.953	3.12
PROCIANIDINA B2	9.72	13.2	13.7	15.5
	12.6	13.7	11.3	10.5
	12.1	10.3	10.9	13.5
$\bar{x}$	11.5	12.4	12.0	13.2
DE	1.55	1.84	1.51	2.52
PROCIANIDINA B3	13.2	13.9	9.44	11.6
	12.2	13.3	9.16	11.9
	12.7	11.2	9.16	13.9
$\bar{x}$	12.7	12.8	9.25	12.5
DE	0.532	1.42	0.161	1.25
PROCIANIDINA B4	5.77	3.24	4.84	5.15
	5.91	3.71	4.40	6.70
	5.87	3.10	3.62	6.65
$\bar{x}$	5.85	3.35	4.29	6.17
DE	0.071	0.319	0.617	0.880
<b>Compuestos desconocidos</b>				
PICO 1	4.61	4.99	4.95	5.42
	4.66	4.88	4.95	5.35
	4.66	3.77	4.33	5.36
$\bar{x}$	4.64	4.55	4.75	5.38
DE	0.029	0.677	0.358	0.039
PICO 2	5.61	4.87	2.21	2.65
	5.60	3.98	2.21	3.08
	4.26	3.84	1.56	3.24
$\bar{x}$	5.15	4.23	2.00	2.99
DE	0.776	0.558	0.375	0.305

TABLA 7 (Cont.). CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS (mg/L) DE LAS MUESTRAS DE VINOS COMERCIALES TIPO "OLOROSO".

	O1	O2	O3	O4
<b><i>Compuestos desconocidos (Cont.)</i></b>				
PICO 3	38.1	38.8	52.5	44.2
	39.3	39.5	44.6	49.2
	38.7	31.4	38.8	55.6
$\bar{x}$	38.7	36.5	45.3	49.7
DE	0.600	4.49	6.88	5.71
PICO 6	5.63	1.01	0.524	0.810
	6.36	1.08	0.524	0.788
	5.06	0.737	0.567	0.801
$\bar{x}$	5.68	0.940	0.538	0.799
DE	0.651	0.181	0.024	0.011
PICO 8	4.90	4.94	2.95	1.98
	4.10	4.15	2.95	1.85
	3.40	3.30	4.02	1.78
$\bar{x}$	4.13	4.13	3.31	1.87
DE	0.750	0.820	0.617	0.101
PICO A	10.3	12.6	8.64	19.8
	9.16	14.3	7.18	14.7
	8.00	12.9	7.98	16.1
$\bar{x}$	9.15	13.2	7.93	16.9
DE	1.15	0.907	0.731	2.64
PICO B	18.0	10.8	18.7	26.6
	18.9	10.5	18.1	19.6
	19.7	10.5	22.4	26.7
$\bar{x}$	18.9	10.6	19.7	24.3
DE	0.842	0.173	2.33	4.07
<b><i>Productos de oxidación y polimerización</i></b>				
PICOS AGRUPADOS	95.7	121	105	126
	89.0	121	115	134
	87.6	113	103	138
$\bar{x}$	90.8	118	108	133
DE	4.33	4.62	6.43	6.11

TABLA 8. ANÁLISIS DE VARIANZA MÚLTIPLE DEL TRIPLICADO DE LAS MUESTRAS DE LOS VINOS COMERCIALES TIPO “OLOROSO”.

	O1	O2	O3	O4
GÁLICO (***)	a	b	b	b
PROCATÉQUICO (**)	ab	bc	a	c
<i>p</i> -HIDROXIBENZOICO (***)	a	b	c	d
<i>m</i> -HIDROXIBENZOICO (***)	a	b	b	c
VANÍLLICO (**)	a	b	b	a
SIRÍNGICO (***)	a	b	c	c
CAFEICO (***)	a	b	c	d
<i>p</i> -CUMARICO (**)	a	a	b	c
FERULICO (**)	ab	b	a	c
<i>t</i> -CAFTÁRICO ((***)	a	b	b	b
<i>c</i> -CUTÁRICO (***)	a	b	c	c
<i>t</i> -CUTÁRICO (***)	a	bc	c	b
FEFTÁRICO (*)	a	ab	a	b
SIRINGALDEHIDO (***)	a	b	c	d
VAINILLINA (***)	a	a	b	c
(+)-CATEQUINA (**)	a	b	b	b
(-)-EPICATEQUINA (*)	a	ab	b	a
PROCIANIDINA B1 (***)	a	b	b	a
PROCIANIDINA B3 (**)	a	a	b	a
PROCIANIDINA B4 (***)	a	b	b	a
PICO 2 (***)	a	a	b	b
PICO 3 (*)	a	a	ab	b
PICO 6 (***)	a	b	b	b
PICO 8 (**)	a	b	b	c
PICO A (***)	a	b	a	c
PICO B (***)	a	b	a	c
PICOS AGRUPADOS (***)	a	b	c	d

(\*)  $p < 0.05$ ; (\*\*)  $p < 0.01$ ; (\*\*\*)  $p < 0.001$

TABLA 9. RESULTADOS DE LOS PARÁMETROS GENERALES DE LAS MUESTRAS DE VINOS SOMETIDOS A ENVEJECIMIENTO OXIDATIVO EN BOTTAS DE ROBLE AMERICANO.

	pH	Grado Alcohólico	Acidez Titulable (meq/L)	Acidez Volátil (meq/L)	SO <sub>2</sub> libre (mg/L)	SO <sub>2</sub> Combinado (mg/L)	SO <sub>2</sub> Total (mg/L)	Azúcares reductores (g/L)
<b>Experiencia realizada con variaciones de temperatura (15-30°C)</b>								
<b>0 SEMANAS</b>								
Bota A	3.45	18.3	79.4	5.83	12.9	164	177	2.00
Bota B	3.44	18.0	78.8	5.91	13.5	164	178	2.05
Bota C	3.44	17.9	79.4	6.23	10.9	163	173	1.95
<b>13 SEMANAS</b>								
Bota A	3.34	17.9	87.8	8.51	2.43	110	113	1.92
Bota B	3.32	18.2	84.5	8.03	2.43	116	119	1.78
Bota C	3.33	18.4	82.1	7.90	2.43	122	124	2.16
<b>21 SEMANAS</b>								
Bota A	3.38	18.2	81.0	9.36	2.58	97.8	100	1.68
Bota B	3.38	18.4	81.2	9.18	2.58	103	105	1.80
Bota C	3.40	18.4	79.4	8.79	2.58	107	110	1.68
<b>36 SEMANAS</b>								
Bota A	3.32	18.7	83.2	10.7	3.23	112	116	2.51
Bota B	3.32	18.5	83.6	10.5	3.23	103	107	2.61
Bota C	3.34	18.9	82.3	10.3	3.23	107	111	2.58
<b>56 SEMANAS</b>								
Bota A	3.47	18.0	84.8	12.3	1.61	63.9	65.5	1.62
Bota B	3.48	18.4	86.0	12.6	1.61	58.4	60.0	1.93
Bota C	3.49	18.5	83.8	12.2	1.61	56.5	58.1	1.75
<b>71 SEMANAS</b>								
Bota A	3.49	18.2	88.9	13.8	2.26	38.1	40.3	1.76
Bota B	3.40	18.4	92.7	14.8	2.26	32.9	35.2	2.47
Bota C	3.43	18.7	88.6	13.9	2.26	38.1	40.3	2.33
<b>Experiencia realizada a temperatura constante (30°)</b>								
<b>78 SEMANAS</b>								
Bota A	3.38	18.0	88.3	14.5	2.26	44.5	46.8	2.04
Bota B	3.38	18.0	93.9	15.8	2.26	31.6	33.9	2.04
Bota C	3.39	18.4	89.5	14.8	2.26	34.2	36.5	2.04
<b>88 SEMANAS</b>								
Bota A	3.36	18.6	91.2	16.1	2.58	31.0	33.6	2.04
Bota B	3.34	18.7	98.3	18.0	2.58	27.8	30.3	2.04
Bota C	3.37	18.5	92.3	16.1	2.58	33.6	36.2	1.80
<b>104 SEMANAS</b>								
Bota A	3.29	18.3	95.6	17.8	2.90	60.0	62.9	1.20
Bota B	3.26	18.9	104	20.2	3.23	49.7	52.9	1.68
Bota C	3.30	18.8	94.5	17.8	2.90	61.3	64.2	1.44
<b>126 SEMANAS</b>								
Bota A	3.33	19.2	97.8	20.0	2.49	19.9	22.4	2.04
Bota B	3.28	19.4	109	22.9	2.49	20.7	23.2	2.16
Bota C	3.31	19.3	99.0	18.8	2.49	22.4	24.9	1.80

TABLA 10. MEDIAS Y DESVIACIONES ESTÁNDAR DE LOS VALORES DE ABSORBANCIA DE LAS MUESTRAS DE VINOS SOMETIDOS A ENVEJECIMIENTO OXIDATIVO EN BOTAS DE ROBLE AMERICANO (BOTA A).

	A280	A420	A520
<b><i>Experiencia realizada con variaciones de temperatura (15-30°C)</i></b>			
<b>0 SEMANAS</b>			
	9.87	0.236	0.052
	9.82	0.231	0.049
	9.80	0.237	0.050
$\bar{x}$	9.83	0.234	0.050
DE	0.036	0.003	0.001
<b>13 SEMANAS</b>			
	12.9	0.297	0.067
	12.9	0.296	0.066
	12.9	0.296	0.066
$\bar{x}$	12.9	0.296	0.066
DE	--	--	--
<b>21 SEMANAS</b>			
	13.9	0.352	0.087
	13.9	0.355	0.088
	13.9	0.356	0.087
$\bar{x}$	13.9	0.354	0.087
DE	--	0.002	--
<b>36 SEMANAS</b>			
	15.6	0.413	0.099
	15.5	0.412	0.100
	15.5	0.413	0.100
$\bar{x}$	15.5	0.412	0.099
DE	0.057	--	--
<b>56 SEMANAS</b>			
	17.0	0.490	0.124
	16.9	0.488	0.123
	17.0	0.495	0.124
$\bar{x}$	17.0	0.491	0.123
DE	0.057	0.003	--
<b>71 SEMANAS</b>			
	18.4	0.579	0.151
	18.5	0.582	0.152
	18.5	0.587	0.155
$\bar{x}$	18.5	0.582	0.152
DE	0.057	0.004	0.002

TABLA 10 (Cont.). MEDIAS Y DESVIACIONES ESTÁNDAR DE LOS VALORES DE ABSORBANCIA DE LAS MUESTRAS DE VINOS SOMETIDOS A ENVEJECIMIENTO OXIDATIVO EN BOTAS DE ROBLE AMERICANO (BOTA A).

	A280	A420	A520
<b><i>Experiencia realizada a temperatura constante (30°C)</i></b>			
<b>78 SEMANAS</b>			
	19.3	0.646	0.173
	19.3	0.650	0.176
	19.2	0.652	0.179
$\bar{x}$	19.3	0.649	0.176
DE	0.057	0.003	0.003
<b>88 SEMANAS</b>			
	20.2	0.755	0.192
	20.3	0.756	0.193
	20.3	0.748	0.190
$\bar{x}$	20.3	0.753	0.191
DE	0.057	0.004	0.001
<b>104 SEMANAS</b>			
	21.2	0.777	0.205
	21.3	0.776	0.206
	21.3	0.775	0.207
$\bar{x}$	21.2	0.776	0.205
DE	0.057	-,-	0.001
<b>126 SEMANAS</b>			
	23.6	0.885	0.236
	23.0	0.877	0.234
	23.4	0.886	0.239
$\bar{x}$	23.3	0.882	0.236
DE	0.305	0.004	0.002

TABLA 11. MEDIAS Y DESVIACIONES ESTÁNDAR DE LOS VALORES DE ABSORBANCIA DE LAS MUESTRAS DE VINOS SOMETIDOS A ENVEJECIMIENTO OXIDATIVO EN BOTAS DE ROBLE AMERICANO (BOTA B)

	A280	A420	A520
<b><i>Experiencia realizada con variaciones de temperatura (15-30°C)</i></b>			
<b>0 SEMANAS</b>			
	9.87	0.236	0.052
	9.82	0.231	0.049
	9.80	0.237	0.050
$\bar{x}$	9.83	0.234	0.050
DE	0.036	0.003	0.001
<b>13 SEMANAS</b>			
	13.0	0.301	0.066
	13.0	0.300	0.066
	13.1	0.299	0.065
$\bar{x}$	13.0	0.300	0.065
DE	0.057	--	--
<b>21 SEMANAS</b>			
	14.5	0.358	0.087
	14.5	0.363	0.094
	14.4	0.378	0.100
$\bar{x}$	14.5	0.366	0.093
DE	0.057	0.010	0.006
<b>36 SEMANAS</b>			
	16.3	0.432	0.108
	16.3	0.432	0.109
	16.3	0.433	0.111
$\bar{x}$	16.3	0.432	0.109
DE	--	--	0.001
<b>56 SEMANAS</b>			
	18.5	0.537	0.136
	18.5	0.543	0.137
	18.5	0.545	0.136
$\bar{x}$	18.5	0.541	0.136
DE	--	0.004	--
<b>71 SEMANAS</b>			
	20.7	0.681	0.181
	20.7	0.676	0.179
	20.7	0.684	0.180
$\bar{x}$	20.7	0.680	0.180
DE	--	0.004	--

TABLA 11 (Cont.). MEDIAS Y DESVIACIONES ESTÁNDAR DE LOS VALORES DE ABSORBANCIA DE LAS MUESTRAS DE VINOS SOMETIDOS A ENVEJECIMIENTO OXIDATIVO EN BOTAS DE ROBLE AMERICANO (BOTA B)

	A280	A420	A520
<b><i>Experiencia realizada a temperatura constante (30°C)</i></b>			
<b>78 SEMANAS</b>			
	22.2	0.827	0.220
	22.4	0.830	0.224
	22.3	0.832	0.225
$\bar{x}$	22.3	0.829	0.223
DE	0.099	0.002	0.002
<b>88 SEMANAS</b>			
	23.5	0.949	0.247
	23.7	0.946	0.248
	23.6	0.963	0.254
$\bar{x}$	23.6	0.952	0.249
DE	0.099	0.009	0.003
<b>104 SEMANAS</b>			
	26.7	1.10	0.302
	26.7	1.09	0.303
	26.8	1.11	0.303
$\bar{x}$	26.7	1.10	0.302
DE	0.056	0.010	-.-
<b>126 SEMANAS</b>			
	29.3	1.28	0.366
	29.0	1.27	0.367
	29.0	1.28	0.364
$\bar{x}$	29.1	1.27	0.365
DE	0.172	0.005	0.001

TABLA 12. MEDIAS Y DESVIACIONES ESTÁNDAR DE LOS VALORES DE ABSORBANCIA DE LAS MUESTRAS DE VINOS SOMETIDOS A ENVEJECIMIENTO OXIDATIVO EN BOTAS DE ROBLE AMERICANO (BOTA C).

	A280	A420	A520
<b><i>Experiencia realizada con variaciones de temperatura (15-30°C)</i></b>			
<b>0 SEMANAS</b>			
	9.87	0.236	0.052
	9.82	0.231	0.049
	9.80	0.237	0.050
$\bar{x}$	9.83	0.234	0.050
DE	0.036	0.003	0.001
<b>13 SEMANAS</b>			
	12.2	0.299	0.065
	12.2	0.300	0.066
	12.3	0.300	0.066
$\bar{x}$	12.2	0.299	0.065
DE	0.057	-,-	-,-
<b>21 SEMANAS</b>			
	13.2	0.356	0.086
	13.3	0.358	0.095
	13.3	0.363	0.090
$\bar{x}$	13.3	0.359	0.090
DE	0.057	0.003	0.004
<b>36 SEMANAS</b>			
	14.6	0.424	0.108
	14.6	0.423	0.105
	14.7	0.420	0.106
$\bar{x}$	14.6	0.422	0.106
DE	0.057	0.002	0.001
<b>56 SEMANAS</b>			
	16.7	0.537	0.134
	16.6	0.537	0.135
	16.7	0.539	0.134
$\bar{x}$	16.7	0.537	0.134
DE	0.057	0.001	-,-
<b>71 SEMANAS</b>			
	18.3	0.641	0.167
	18.2	0.644	0.169
	18.2	0.642	0.169
$\bar{x}$	18.2	0.642	0.168
DE	0.057	0.001	0.001

TABLA 12 (Cont.). MEDIAS Y DESVIACIONES ESTÁNDAR DE LOS VALORES DE ABSORBANCIA DE LAS MUESTRAS DE VINOS SOMETIDOS A ENVEJECIMIENTO OXIDATIVO EN BOTAS DE ROBLE AMERICANO (BOTA C).

	A280	A420	A520
<b><i>Experiencia realizada a temperatura constante (30°C)</i></b>			
<b>78 SEMANAS</b>			
	19.3	0.732	0.193
	19.4	0.730	0.202
	19.3	0.740	0.195
$\bar{x}$	19.3	0.734	0.196
DE	0.057	0.005	0.004
<b>88 SEMANAS</b>			
	20.4	0.798	0.217
	20.4	0.809	0.218
	20.4	0.813	0.223
$\bar{x}$	20.4	0.806	0.219
DE	--	0.007	0.003
<b>104 SEMANAS</b>			
	21.1	0.824	0.217
	21.2	0.824	0.218
	21.2	0.825	0.216
$\bar{x}$	21.1	0.824	0.217
DE	0.057	--	--
<b>126 SEMANAS</b>			
	22.6	0.936	0.252
	22.6	0.929	0.248
	22.7	0.940	0.254
$\bar{x}$	22.6	0.935	0.251
DE	0.057	0.005	0.003

TABLA 13. CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS (mg/L) DE LAS MUESTRAS DE VINOS SOMETIDOS A ENVEJECIMIENTO OXIDATIVO EN BOTAS DE ROBLE AMERICANO.

<i>Ácidos Hidroxibenzoicos</i>						
	GALICO	PROTOCA- TEQUICO	<i>p</i> - HIDROXI- BENZOICO	<i>m</i> - HIDROXI- BENZOICO	VANILLICO	SIRINGICO
<b><i>Experiencia realizada con variaciones de temperatura (15-30°C)</i></b>						
INICIAL						
Bota A	6.89	9.65	1.69	5.31	2.07	1.58
Bota B	6.55	9.01	1.59	5.14	2.76	1.41
Bota C	6.04	8.38	1.27	5.23	2.60	1.24
21 SEMANAS						
Bota A	9.74	10.9	1.71	10.1	2.28	2.61
Bota B	8.92	11.1	1.65	8.90	2.56	2.47
Bota C	10.5	10.6	1.60	11.3	2.00	2.42
36 SEMANAS						
Bota A	8.99	10.0	1.67	12.2	2.36	3.10
Bota B	9.99	10.6	1.94	14.0	2.63	3.30
Bota C	10.8	10.5	2.01	10.3	2.72	3.08
56 SEMANAS						
Bota A	12.7	11.4	2.89	13.7	4.18	3.84
Bota B	11.8	13.1	2.13	10.8	4.75	4.17
Bota C	13.1	10.0	2.19	12.2	4.46	4.14
71 SEMANAS						
Bota A	11.5	11.0	1.90	24.5	4.60	3.47
Bota B	11.0	11.1	1.55	22.9	4.73	4.58
Bota C	13.6	10.6	2.16	26.0	4.40	3.51
<b><i>Experiencia realizada a temperatura constante (30°)</i></b>						
78 SEMANAS						
Bota A	11.4	12.8	2.06	25.3	4.98	4.51
Bota B	12.3	12.8	2.00	24.3	4.98	5.36
Bota C	15.1	12.8	2.11	26.3	4.98	4.95
88 SEMANAS						
Bota A	13.7	7.74	2.42	27.3	6.45	5.37
Bota B	15.3	8.84	2.35	32.5	6.60	6.87
Bota C	16.6	7.43	2.10	29.6	6.08	5.36
104 SEMANAS						
Bota A	12.8	8.18	3.78	32.2	3.13	4.10
Bota B	12.6	10.5	3.76	36.8	3.36	4.51
Bota C	12.9	8.78	3.79	24.6	3.60	4.93
126 SEMANAS						
Bota A	8.68	8.20	2.52	23.2	3.23	4.27
Bota B	9.33	10.1	3.29	23.0	5.95	6.13
Bota C	11.4	8.27	2.76	23.7	3.86	5.34

TABLA 13 (Cont.). CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS (mg/L) DE LAS MUESTRAS DE VINOS SOMETIDOS A ENVEJECIMIENTO OXIDATIVO EN BOTAS DE ROBLE AMERICANO.

	<i>Ácidos Hidroxicinámicos</i>			<i>Esteres hidroxicinámicos</i>		
	CAFEICO	<i>p</i> -CUMARICO	FERULICO	<i>t</i> -CAFTARICO	<i>c</i> -CUTARICO	<i>t</i> -CUTARICO
<b><i>Experiencia realizada con variaciones de temperatura (15-30°C)</i></b>						
INICIAL						
Bota A	4.57	1.69	1.03	19.0	14.3	4.51
Bota B	3.33	1.80	1.17	22.9	16.8	6.45
Bota C	4.09	1.90	0.974	20.6	18.4	5.48
21 SEMANAS						
Bota A	4.35	2.46	1.64	21.4	20.5	9.49
Bota B	3.96	2.05	1.66	16.9	18.9	12.4
Bota C	3.92	2.31	1.63	17.0	17.3	11.0
36 SEMANAS						
Bota A	3.92	2.05	1.77	12.5	21.6	9.70
Bota B	4.26	2.44	1.81	13.5	22.6	9.89
Bota C	4.23	2.45	1.95	14.8	22.8	10.1
56 SEMANAS						
Bota A	3.15	2.06	1.27	27.1	24.2	7.14
Bota B	3.67	2.28	1.36	25.9	24.6	8.34
Bota C	4.19	2.13	1.27	31.1	22.3	7.74
71 SEMANAS						
Bota A	7.13	2.21	1.81	28.7	28.9	9.67
Bota B	7.41	2.06	1.44	32.0	29.9	9.09
Bota C	7.68	1.92	1.52	26.7	22.5	8.51
<b><i>Experiencia realizada a temperatura constante (30°)</i></b>						
78 SEMANAS						
Bota A	7.74	1.97	1.92	22.6	32.6	6.49
Bota B	5.80	2.13	1.92	21.5	24.5	6.79
Bota C	7.06	2.31	1.92	22.4	25.2	6.20
88 SEMANAS						
Bota A	5.89	3.10	1.53	30.7	32.7	8.28
Bota B	6.27	2.99	1.93	35.2	34.2	7.47
Bota C	6.82	2.46	1.71	31.2	34.6	6.67
104 SEMANAS						
Bota A	4.62	1.72	1.63	22.1	34.1	9.77
Bota B	4.50	1.71	2.14	25.4	31.7	8.61
Bota C	4.51	1.70	1.65	26.7	29.3	7.46
126 SEMANAS						
Bota A	3.29	1.45	1.40	20.8	17.8	8.89
Bota B	3.85	2.54	1.54	20.1	26.9	8.13
Bota C	3.59	2.37	1.86	22.2	19.0	10.2

TABLA 13 (Cont.). CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS (mg/L) DE LAS MUESTRAS DE VINOS SOMETIDOS A ENVEJECIMIENTO OXIDATIVO EN BOTAS DE ROBLE AMERICANO.

	<i>Esteres hidroxinámicos (Cont.)</i>	<i>Alcoholes benzoicos</i>	<i>Aldehídos benzoicos</i>	<i>Derivados monómeros de flavan-3-ol</i>		
	FEFTARICO	TIROSOL	SIRINGAL-DEHIDO	VAINILLINA <sup>3</sup>	(+)-CATEQUINA	(-)-EPICATEQUINA
<b>Experiencia realizada con variaciones de temperatura (15-30°C)</b>						
INICIAL						
Bota A	8.11	63.9	<0.001	1.47	29.3	13.2
Bota B	7.08	61.0	<0.001	1.65	24.1	13.4
Bota C	6.62	62.3	<0.001	1.47	23.7	13.6
21 SEMANAS						
Bota A	9.89	75.8	8.84	3.41	30.6	15.1
Bota B	10.1	56.0	8.73	2.82	29.7	15.6
Bota C	9.76	65.3	11.1	3.46	29.8	15.4
36 SEMANAS						
Bota A	11.4	58.5	10.7	2.28	25.7	14.9
Bota B	13.3	64.6	10.0	2.55	29.3	13.1
Bota C	12.3	65.3	12.3	2.02	28.9	17.2
56 SEMANAS						
Bota A	9.17	61.1	13.9	1.46	21.4	14.5
Bota B	9.08	56.6	15.4	2.00	21.3	16.3
Bota C	12.5	58.8	16.6	1.54	26.6	14.0
71 SEMANAS						
Bota A	6.37	62.1	18.4	5.50	32.5	21.6
Bota B	8.22	60.4	24.4	6.25	35.4	22.4
Bota C	7.29	66.1	23.1	6.67	26.3	19.8
<b>Experiencia realizada a temperatura constante (30°)</b>						
78 SEMANAS						
Bota A	9.34	70.8	18.2	4.99	23.9	21.7
Bota B	8.16	71.0	23.2	5.45	25.7	23.5
Bota C	10.9	69.3	19.8	5.07	32.2	18.7
88 SEMANAS						
Bota A	7.15	71.3	18.9	5.98	31.0	16.9
Bota B	8.62	73.0	25.3	7.24	41.2	17.9
Bota C	7.29	75.8	19.3	6.55	31.3	17.4
104 SEMANAS						
Bota A	10.0	59.3	20.0	4.29	35.9	14.7
Bota B	10.6	69.2	26.1	5.07	32.9	20.7
Bota C	11.7	75.5	21.6	5.61	29.9	17.7
126 SEMANAS						
Bota A	7.05	50.7	18.3	4.80	25.8	13.3
Bota B	8.53	64.7	27.5	5.01	35.1	18.4
Bota C	12.3	43.5	19.0	4.98	25.6	17.0

<sup>3</sup> Obtenida como suma de vainillina y un compuesto desconocido derivado de flavan-3-ol.

TABLA 13 (Cont.). CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS (mg/L) DE LAS MUESTRAS DE VINOS SOMETIDOS A ENVEJECIMIENTO OXIDATIVO EN BOTAS DE ROBLE AMERICANO.

	<i>Derivados dímeros de flavan-3-ol</i>				<i>Compuestos desconocidos</i>	
	PROCIANI-DINA B1	PROCIANI-DINA B2	PROCIANI-DINA B3	PROCIANI-DINA B4	PICO 1	PICO 2
<b><i>Experiencia realizada con variaciones de temperatura (15-30°C)</i></b>						
INICIAL						
Bota A	19.7	9.52	18.7	3.22	8.96	3.97
Bota B	20.2	10.2	14.6	3.77	8.12	4.05
Bota C	19.2	11.9	13.7	4.33	8.28	4.01
21 SEMANAS						
Bota A	15.6	11.8	27.2	4.31	9.06	2.60
Bota B	14.9	10.3	31.9	4.20	8.47	2.48
Bota C	16.3	11.5	26.5	5.21	8.25	2.66
36 SEMANAS						
Bota A	11.7	9.32	21.5	3.31	8.06	2.73
Bota B	14.5	11.6	23.4	3.25	9.05	3.20
Bota C	14.3	10.5	20.5	3.37	9.11	3.48
56 SEMANAS						
Bota A	19.2	10.6	20.1	3.28	7.90	5.18
Bota B	16.3	10.8	22.5	3.61	7.70	3.82
Bota C	17.3	11.1	24.9	2.96	7.24	3.78
71 SEMANAS						
Bota A	20.8	12.5	21.2	7.15	7.61	5.37
Bota B	23.4	11.7	18.9	9.02	8.37	5.56
Bota C	21.3	12.8	25.9	7.68	7.49	4.14
<b><i>Experiencia realizada a temperatura constante (30°)</i></b>						
78 SEMANAS						
Bota A	15.4	12.7	24.5	7.66	9.78	4.50
Bota B	18.3	15.5	25.7	6.62	10.1	4.55
Bota C	18.7	12.6	26.7	7.45	10.2	4.78
88 SEMANAS						
Bota A	25.3	17.9	25.8	5.73	9.31	5.43
Bota B	24.7	17.5	29.0	6.56	11.2	6.06
Bota C	19.8	16.1	25.7	7.25	8.98	5.86
104 SEMANAS						
Bota A	20.2	11.8	12.8	6.13	10.5	8.05
Bota B	17.8	9.15	14.9	6.41	11.2	11.2
Bota C	22.6	10.6	18.3	5.84	9.91	9.25
126 SEMANAS						
Bota A	16.1	10.9	13.8	5.15	8.26	7.25
Bota B	16.4	13.5	13.7	5.56	9.32	10.8
Bota C	17.7	13.7	14.3	5.30	9.04	8.79

TABLA 13 (Cont.). CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS (mg/L) DE LAS MUESTRAS DE VINOS SOMETIDOS A ENVEJECIMIENTO OXIDATIVO EN BOTAS DE ROBLE AMERICANO.

	<i>Derivados dímeros de flavan-3-ol</i>			<i>Flavonoles</i>		
	PICO 3	PICO A	PICO B	PICOS AGRUPADOS	QUERCETIN-3-GAL	QUERCETIN-3-GLU
<b><i>Experiencia realizada con variaciones de temperatura (15-30°C)</i></b>						
<b>INICIAL</b>						
Bota A	7.12	9.77	5.27	29.5	<0.001	<0.001
Bota B	7.52	8.46	6.00	30.0	<0.001	<0.001
Bota C	6.53	11.2	4.54	27.6	<0.001	<0.001
<b>21 SEMANAS</b>						
Bota A	19.3	10.6	3.72	51.3	0.323	0.772
Bota B	22.6	9.90	3.76	42.0	0.422	0.831
Bota C	23.6	9.54	3.24	35.3	0.372	0.801
<b>36 SEMANAS</b>						
Bota A	23.3	5.83	5.29	46.6	0.302	0.728
Bota B	28.6	7.74	6.17	49.8	0.319	0.637
Bota C	27.5	5.90	4.66	48.2	0.310	0.682
<b>56 SEMANAS</b>						
Bota A	27.3	10.0	7.25	51.7	0.838	1.34
Bota B	32.0	10.2	7.49	56.7	0.795	0.974
Bota C	24.6	8.73	7.06	56.0	0.948	1.12
<b>71 SEMANAS</b>						
Bota A	33.1	12.2	10.9	55.0	1.74	2.71
Bota B	35.3	12.5	12.0	70.4	1.67	2.72
Bota C	31.0	12.4	9.84	63.5	1.81	2.71
<b><i>Experiencia realizada a temperatura constante (30°)</i></b>						
<b>78 SEMANAS</b>						
Bota A	37.7	12.2	8.78	63.2	0.671	0.931
Bota B	42.7	12.4	7.84	80.8	0.597	1.13
Bota C	35.7	11.4	9.92	69.3	0.747	1.33
<b>88 SEMANAS</b>						
Bota A	38.1	25.6	7.88	70.4	2.58	4.57
Bota B	43.0	25.8	9.91	86.7	2.90	5.22
Bota C	39.6	25.7	9.44	77.5	3.04	5.36
<b>104 SEMANAS</b>						
Bota A	33.9	21.1	10.4	82.3	2.69	2.63
Bota B	36.8	29.8	9.53	98.5	1.96	3.44
Bota C	39.6	27.1	8.67	89.0	2.60	3.47
<b>126 SEMANAS</b>						
Bota A	33.4	22.6	6.71	94.6	2.84	5.15
Bota B	40.6	25.3	8.72	112	3.72	6.93
Bota C	32.3	29.6	7.18	102	3.25	6.34

TABLA 14. RESULTADOS DE LOS PARÁMETROS ENOLÓGICOS GENERALES DE LAS MUESTRAS DE VINOS SOMETIDOS A ENVEJECIMIENTO OXIDATIVO EN DEPÓSITOS DE ACERO INOXIDABLE.

	Inicial	Final
<b>pH</b>		
Depósito A	3.44	3.62
Depósito B	3.45	3.62
Depósito C	3.38	3.61
<b>Grado Alcohólico</b>		
Depósito A	18.0	16.9
Depósito B	18.1	17.5
Depósito C	18.3	18.2
<b>Acidez Titulable (meq/L)</b>		
Depósito A	58.2	49.0
Depósito B	58.4	49.8
Depósito C	57.9	50.5
<b>Acidez Volátil (meq/L)</b>		
Depósito A	7.89	9.93
Depósito B	8.24	8.59
Depósito C	8.05	7.51
<b>SO<sub>2</sub> libre (mg/L)</b>		
Depósito A	3.87	3.31
Depósito B	3.87	3.31
Depósito C	3.87	3.31
<b>SO<sub>2</sub> combinado (mg/L)</b>		
Depósito A	81.3	24.3
Depósito B	85.9	25.4
Depósito C	87.1	23.2
<b>SO<sub>2</sub> total (mg/L)</b>		
Depósito A	85.2	26.5
Depósito B	89.7	28.7
Depósito C	91.0	26.5
<b>Azúcares reductores (g/L)</b>		
Depósito A	0.840	0.480
Depósito B	0.840	0.480
Depósito C	0.840	0.480

TABLA 15. MEDIAS Y DESVIACIONES ESTÁNDAR DE LOS VALORES DE ABSORBANCIA DE LAS MUESTRAS DE VINOS SOMETIDOS A ENVEJECIMIENTO OXIDATIVO EN DEPÓSITOS DE ACERO INOXIDABLE (DEPÓSITO A).

	Experiencia realizada a temperatura constante (20°C)				Experiencia realizada a temperatura constante (30°C)	
	0 Semanas	21 Semanas	33 Semanas	70 Semanas	85 Semanas	109 Semanas
A280	9.26	9.30	9.72	10.8	11.4	14.1
	9.24	9.31	9.73	10.8	11.6	14.0
	9.25	9.29	9.74	10.9	11.4	14.2
$\bar{x}$	9.25	9.30	9.73	10.8	11.4	14.1
DE	0.010	0.010	0.010	0.057	0.115	0.100
A420	0.239	0.348	0.436	0.555	0.657	0.893
	0.238	0.349	0.437	0.556	0.658	0.894
	0.238	0.346	0.437	0.557	0.656	0.894
$\bar{x}$	0.238	0.347	0.436	0.556	0.657	0.893
DE	--	0.001	--	0.001	0.001	--
A520	0.062	0.123	0.162	0.197	0.224	0.249
	0.063	0.124	0.163	0.198	0.225	0.250
	0.063	0.123	0.161	0.198	0.222	0.248
$\bar{x}$	0.062	0.123	0.162	0.197	0.223	0.249
DE	--	--	0.001	--	0.001	0.001

TABLA 16. MEDIAS Y DESVIACIONES ESTÁNDAR DE LOS VALORES DE ABSORBANCIA DE LAS MUESTRAS DE VINOS SOMETIDOS A ENVEJECIMIENTO OXIDATIVO EN DEPÓSITOS DE ACERO INOXIDABLE (DEPÓSITO B).

	Experiencia realizada a temperatura constante (20°C)				Experiencia realizada a temperatura constante (30°C)	
	0 Semanas	21 Semanas	33 Semanas	70 Semanas	85 Semanas	109 Semanas
A280	9.35	9.38	9.54	10.5	11.1	12.6
	9.34	9.39	9.56	10.6	11.0	12.5
	9.33	9.40	9.55	10.6	11.1	12.7
Media	9.34	9.39	9.55	10.5	11.0	12.6
DE	0.010	0.010	0.010	0.057	0.057	0.100
A420	0.240	0.325	0.418	0.533	0.625	0.742
	0.241	0.326	0.419	0.532	0.626	0.743
	0.240	0.324	0.419	0.534	0.625	0.743
Media	0.240	0.325	0.418	0.533	0.625	0.742
DE	--	0.001	--	0.001	--	--
A520	0.064	0.106	0.150	0.190	0.213	0.209
	0.064	0.107	0.151	0.190	0.214	0.210
	0.063	0.105	0.151	0.192	0.212	0.211
Media	0.063	0.106	0.150	0.190	0.213	0.210
DE	--	0.001	--	0.001	0.001	0.001

TABLA 17. MEDIAS Y DESVIACIONES ESTÁNDAR DE LOS VALORES DE ABSORBANCIA DE LAS MUESTRAS DE VINOS SOMETIDOS A ENVEJECIMIENTO OXIDATIVO EN DEPÓSITOS DE ACERO INOXIDABLE (DEPÓSITO C).

	Experiencia realizada a temperatura constante (20°C)				Experiencia realizada a temperatura constante (30°C)	
	0 Semanas	21 Semanas	33 Semanas	70 Semanas	85 Semanas	109 Semanas
A280	9.31	9.17	9.29	10.3	10.7	12.1
	9.30	9.16	9.28	10.2	10.8	12.2
	9.30	9.18	9.28	10.3	10.5	12.2
Media	9.30	9.17	9.28	10.2	10.6	12.1
DE	0.005	0.010	0.005	0.057	0.152	0.057
A420	0.240	0.314	0.418	0.485	0.567	0.699
	0.241	0.315	0.419	0.486	0.567	0.700
	0.240	0.315	0.417	0.485	0.568	0.698
Media	0.240	0.314	0.418	0.485	0.567	0.699
DE	--	--	0.001	--	--	0.001
A520	0.062	0.100	0.148	0.162	0.183	0.196
	0.063	0.101	0.149	0.163	0.184	0.197
	0.062	0.101	0.147	0.164	0.182	0.197
Media	0.062	0.100	0.148	0.163	0.183	0.196
DE	--	--	0.001	0.001	0.001	--

TABLA 18. CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS (mg/L) DE LAS MUESTRAS DE VINOS SOMETIDOS A ENVEJECIMIENTO OXIDATIVO EN DEPÓSITOS DE ACERO INOXIDABLE.

	Inicial	Experiencia realizada a temperatura constante (20°C)			Experiencia realizada a temperatura constante (30°C)	
		21 semanas	33 semanas	70 semanas	85 semanas	109 semanas
<b>Ácidos hidroxibenzoicos</b>						
<b>GALICO</b>						
Depósito A	6.92	6.25	5.64	7.67	6.01	5.26
Depósito B	7.14	5.92	5.64	7.52	6.11	4.65
Depósito C	6.94	6.42	4.87	7.92	5.34	3.77
<b>PROTOCATEQUICO</b>						
Depósito A	7.54	9.68	11.2	9.33	6.22	7.54
Depósito B	8.19	9.61	9.58	8.11	7.06	7.12
Depósito C	5.84	10.0	10.8	8.73	6.25	6.39
<b>p-HIDROXIBENZOICO</b>						
Depósito A	1.19	0.987	1.30	1.65	1.56	1.69
Depósito B	1.15	0.941	1.14	1.51	1.53	1.95
Depósito C	1.24	0.809	1.19	1.26	1.56	2.20
<b>m-HIDROXIBENZOICO</b>						
Depósito A	6.30	7.50	7.30	10.4	13.9	17.2
Depósito B	5.81	6.76	7.71	9.45	14.2	16.0
Depósito C	5.29	6.37	7.05	8.31	13.3	18.5
<b>VANILLICO</b>						
Depósito A	2.20	2.48	2.93	2.76	2.31	1.44
Depósito B	2.40	3.26	2.85	2.42	2.50	1.30
Depósito C	1.99	3.57	2.78	2.32	2.12	1.57
<b>SIRINGICO</b>						
Depósito A	0.660	1.30	0.797	0.927	1.01	1.32
Depósito B	0.647	1.16	0.812	1.06	1.44	1.50
Depósito C	0.609	1.06	0.804	0.793	0.883	1.41

TABLA 18 (Cont.). CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS (mg/L) DE LAS MUESTRAS DE VINOS SOMETIDOS A ENVEJECIMIENTO OXIDATIVO EN DEPÓSITOS DE ACERO INOXIDABLE.

	Inicial	Experiencia realizada a temperatura constante (20°C)			Experiencia realizada a temperatura constante (30°C)	
		21 semanas	33 semanas	70 semanas	85 semanas	109 semanas
<b>Ácidos hidroxicinámicos</b>						
CAFEICO						
Depósito A	4.08	4.09	3.26	2.89	2.20	2.69
Depósito B	3.53	3.64	3.73	2.80	2.20	2.98
Depósito C	3.46	3.01	3.86	2.06	2.21	2.83
<i>p</i> -CUMARICO						
Depósito A	1.33	1.85	2.03	2.15	1.19	1.63
Depósito B	1.43	1.96	1.93	1.94	1.37	1.54
Depósito C	1.25	2.11	1.98	1.96	1.23	1.72
FERULICO						
Depósito A	1.12	1.19	0.991	1.08	0.661	0.994
Depósito B	1.10	1.14	0.969	0.978	0.922	1.02
Depósito C	1.11	1.14	0.971	0.919	0.953	0.805
<b>Ésteres hidroxicinámicos</b>						
<i>t</i> -CAFTARICO						
Depósito A	41.7	39.2	31.9	24.6	20.0	25.3
Depósito B	40.4	32.7	31.5	23.7	25.9	20.5
Depósito C	38.8	28.2	28.3	20.6	22.0	18.5
<i>c</i> -CUTARICO						
Depósito A	28.0	22.7	22.6	26.4	14.4	18.0
Depósito B	27.6	22.9	22.0	22.8	15.9	14.4
Depósito C	20.8	21.1	20.6	20.1	15.9	16.2
<i>t</i> -CUTARICO						
Depósito A	10.8	11.8	12.9	12.3	7.28	8.05
Depósito B	10.3	12.2	14.1	11.2	6.82	8.42
Depósito C	12.2	12.9	13.6	9.82	6.75	7.68

TABLA 18 (Cont.). CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS (mg/L) DE LAS MUESTRAS DE VINOS SOMETIDOS A ENVEJECIMIENTO OXIDATIVO EN DEPÓSITOS DE ACERO INOXIDABLE.

	Inicial	Experiencia realizada a temperatura constante (20°C)			Experiencia realizada a temperatura constante (30°C)	
		21 semanas	33 semanas	70 semanas	85 semanas	109 semanas
<b>Ésteres hidroxicinámicos (Cont.)</b>						
FEFTARICO						
Depósito A	3.99	5.11	6.70	9.43	3.90	5.87
Depósito B	4.22	5.30	7.18	8.19	4.53	5.10
Depósito C	4.24	4.44	6.74	6.59	4.28	5.48
<b>Alcoholes y aldehídos benzoicos</b>						
TIROSOL						
Depósito A	76.9	73.1	69.5	69.1	65.7	72.7
Depósito B	72.4	67.3	68.1	70.5	64.2	75.3
Depósito C	78.5	61.6	68.0	68.6	62.7	70.2
SIRINGALDEHIDO						
Depósito A	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Depósito B	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Depósito C	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
VAINILLINA						
Depósito A	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Depósito B	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Depósito C	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
<b>Derivados monómeros de Flavan-3-ol</b>						
(+)-CATEQUINA						
Depósito A	17.8	20.7	21.3	22.5	17.5	19.3
Depósito B	18.0	19.4	18.2	19.8	14.6	21.5
Depósito C	18.5	22.1	18.2	20.9	15.4	20.8
(-)-EPICATEQUINA						
Depósito A	9.92	16.1	12.1	11.9	11.6	13.3
Depósito B	11.0	12.1	12.8	14.8	11.9	12.0
Depósito C	8.15	14.2	13.5	13.4	11.4	11.3

TABLA 18 (Cont.). CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS (mg/L) DE LAS MUESTRAS DE VINOS SOMETIDOS A ENVEJECIMIENTO OXIDATIVO EN DEPÓSITOS DE ACERO INOXIDABLE.

	Inicial	Experiencia realizada a temperatura constante (20°C)			Experiencia realizada a temperatura constante (30°C)	
		21 semanas	33 semanas	70 semanas	85 semanas	109 semanas
<b><i>Derivados dímeros de Flavan-3-ol</i></b>						
PROCIANIDINA B1						
Depósito A	13.0	15.7	14.0	22.6	12.5	14.0
Depósito B	13.7	15.2	15.3	20.7	10.3	11.1
Depósito C	11.0	10.7	17.3	18.0	11.4	11.2
PROCIANIDINA B2						
Depósito A	6.74	7.67	11.8	9.33	10.5	10.7
Depósito B	7.39	7.05	10.3	7.49	8.97	13.0
Depósito C	8.02	8.28	9.11	6.39	8.72	9.24
PROCIANIDINA B3						
Depósito A	9.74	7.96	11.8	7.53	9.52	10.9
Depósito B	8.04	8.24	9.08	7.62	8.45	9.91
Depósito C	8.99	7.68	9.17	7.43	7.74	10.4
PROCIANIDINA B4						
Depósito A	2.65	5.70	3.96	3.37	3.83	4.97
Depósito B	2.56	6.13	4.52	4.46	3.35	3.79
Depósito C	2.48	6.67	3.40	4.04	3.94	3.74
<b><i>Compuestos desconocidos</i></b>						
PICO 1						
Depósito A	5.42	5.20	4.13	5.31	6.58	5.49
Depósito B	5.35	5.68	5.60	4.87	6.19	4.87
Depósito C	5.01	6.28	5.24	5.26	6.30	6.11
PICO 2						
Depósito A	4.27	1.95	1.93	2.33	3.99	3.79
Depósito B	4.14	2.01	1.88	2.11	4.13	4.07
Depósito C	3.88	2.14	1.99	1.88	3.85	3.52

TABLA 18 (Cont.). CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS (mg/L) DE LAS MUESTRAS DE VINOS SOMETIDOS A ENVEJECIMIENTO OXIDATIVO EN DEPÓSITOS DE ACERO INOXIDABLE.

	Inicial	Experiencia realizada a temperatura constante (20°C)			Experiencia realizada a temperatura constante (30°C)	
		21 semanas	33 semanas	70 semanas	85 semanas	109 semanas
<b>Compuestos desconocidos (Cont.)</b>						
PICO 3						
Depósito A	5.37	8.56	11.8	12.6	14.4	16.6
Depósito B	6.17	8.81	10.3	12.1	15.4	13.5
Depósito C	5.77	9.41	13.5	11.6	13.6	11.4
PICO A						
Depósito A	6.78	9.07	15.9	13.3	11.3	17.4
Depósito B	7.10	8.92	12.9	16.4	11.3	19.1
Depósito C	5.65	9.22	14.4	14.1	12.1	15.7
PICO B						
Depósito A	5.39	21.5	18.5	16.3	13.7	14.5
Depósito B	5.26	16.7	19.6	17.1	15.7	15.4
Depósito C	5.14	20.9	17.9	16.9	12.9	13.6
PICOS AGRUPADOS						
Depósito A	25.6	26.8	29.7	53.3	68.1	76.8
Depósito B	27.6	32.6	37.0	42.1	66.3	74.2
Depósito C	28.7	29.2	33.8	40.0	66.0	73.1
<b>Flavonoles</b>						
QUERCETÍN-3-GLU						
Depósito A	1.23	0.688	0.420	<0.001	<0.001	<0.001
Depósito B	1.23	0.721	0.335	<0.001	<0.001	<0.001
Depósito C	1.34	0.755	0.321	<0.001	<0.001	<0.001
QUERCETINA						
Depósito A	0.981	0.203	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Depósito B	0.993	0.204	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Depósito C	1.08	0.204	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001