



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CUYO**

**FACULTAD DE CIENCIAS APLICADAS A LA  
INDUSTRIA**

**SECRETARÍA DE POSGRADO**

**DIPLOMATURA DE POSGRADO EN  
PROCESOS ENOLÓGICOS**

**SAN RAFAEL – MENDOZA**

**AÑO 2017**



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CUYO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS APLICADAS A LA**  
**INDUSTRIA**

SECRETARÍA DE POSGRADO

**Trabajo Final**  
**“ANÁLISIS DE OXIDACIONES**  
**CONTROLADAS EN MOSTOS Y**  
**VINOS”**

**Autores:**

Ing. Arriola, Ailen

Ing. Tapia, María Luisa

**Tutor:**

Ing. Enolog. Carrión, Raúl.

Docente: .....

Vocal: .....

Vocal: .....

**SAN RAFAEL 15 de Diciembre de 2017**

## **AGRADECIMIENTOS**

A Raúl, Adriana y Emanuel, por ejercer su profesión con tanta vocación y entrega más allá de cualquier falla del sistema y por hacernos partícipe de cada experiencia que surgiera, junto a los alumnos de la tecnicatura para poder incorporar más conocimientos.

A mi familia por bancarme en mis pasiones.

A mi compañera y colega Luisa, por todo lo que pude aprender de ella en el transcurso de esta diplomatura y por confiar en mí para concluir este trabajo.

A mi profesora de Química Orgánica, Alicia Sanchez, quien me supo contagiar la afición por esta rama de la química y que hoy son parte de los cimientos que me ayudan a especializarme en mi carrera.

A la vida que me puso en Mendoza, tierra del sol y del buen vino.

**Ingeniera en Industrias de la Alimentación Ailen Arriola**

A Raúl Carrión, Adriana y Emanuel, por haberse entregado a este curso con tal vocación que supieron comunicar no solo sus saberes sino también su pasión por la enología, porque me brindaron la oportunidad de formar parte de un hermoso grupo de trabajo junto con los alumnos de la TUEV que me permitió un crecimiento tanto en lo académico como en lo humano. Infinitas Gracias!!

A la vida por darme la oportunidad de conocer a una persona tan brillante en todos los sentidos como Ailen, con la que hoy estamos concluyendo este enriquecedor camino. Gracias Compa

A mi familia que como siempre me sigue acompañando en cada nuevo camino que quiero emprender. Son lo más importante de mi vida.

**Ingeniera en Industrias de la Alimentación María Luisa Tapia**



## INDICE

INDICE.....	1
INTRODUCCIÓN.....	4
OBJETIVOS.....	4
CAPÍTULO 1: COMPUESTOS FENÓLICOS .....	6
1.1. INTRODUCCIÓN.....	6
1.2. CLASIFICACIÓN .....	6
1.2.1. NO FLAVONOIDES (fenoles no carboxílicos) .....	7
1.2.1.1 ACIDOS FENÓLICOS .....	7
1.2.1.2. ESTILBENOS .....	11
1.2.2. FLAVONOIDES.....	11
1.2.2.1. FLAVANOLES.....	12
1.2.2.1.1. CATEQUINAS (C6-C5-C6) .....	12
1.2.2.1.2. TANINOS.....	12
1.2.2.2 ANTOCIANOS.....	16
.....	19
1.2.2.3. FLAVONOLES .....	19
CAPÍTULO 2: FENÓMENOS OXIDATIVOS .....	21
2.1. INTRODUCCIÓN.....	21
2.2. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA OXIDACIÓN.....	23
2.2.1. COMPOSICIÓN FENÓLICA.....	23
2.2.2. EL OXÍGENO .....	24
2.2.3. ENZIMAS.....	27
2.2.4. METALES.....	27
2.2.5. PRENSADO.....	28
2.2.6. pH .....	28
2.2.7. TEMPERATURA .....	28
2.2.8. SO <sub>2</sub> .....	28
2.2.9. CONTENIDO DE GLUTATIÓN.....	30
2.2.10. OTROS ANTIOXIDANTES .....	31
2.3. MECANISMOS DE OXIDACIÓN DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS .....	31
2.3.1. OXIDACIONES ENZIMATICAS .....	32
2.3.1.1. POLIFENOLOXIDASA .....	33



2.3.1.2.	LACASA .....	39
2.3.1.3.	PEROXIDASA (PDO).....	42
2.3.2.	OXIDACIÓN NO ENZIMÁTICA.....	43
CÁPITULO 3: OXIDACIÓN CONTROLADA DE MOSTOS BLANCOS .....		48
3.1.	INTRODUCCIÓN .....	48
3.2.	HIPEROXIDACIÓN .....	48
3.3.	OXIDACIÓN CONTROLADA .....	50
3.3.1.	EFFECTO SOBRE EL CONTENIDO DE POLIFENOLES DE LA OXIGENACIÓN DE LOS MOSTOS .....	51
3.3.2.	EFFECTO SENSORIAL DE LA OXIGENACIÓN DE LOS MOSTOS.....	53
CAPITULO 4: CRIANZA DE VINOS EN BARRICA .....		55
4.1.	INTRODUCCIÓN .....	55
4.2.	LA CRIANZA EN BARRICAS DE ROBLE .....	55
4.3.	FABRICACIÓN DE LAS BARRICAS.....	58
4.4.	FENÓMENOS DE ENVEJECIMIENTO.....	61
4.4.1	FACTORES INFLUYENTES DURANTE LA CRIANZA DE VINOS EN BARRICA. ....	62
4.4.1.1	ORIGEN DEL ROBLE .....	62
4.4.1.2.	EL VOLUMEN DE LA BARRICA.....	63
4.4.1.3.	EL TIPO DE TOSTADO.....	63
4.4.1.4	LA EDAD DE LA BARRICA .....	63
4.5.	CARACTERÍSTICAS CROMÁTICAS DE LOS VINOS DE CRIANZA.....	64
4.5.1.	EL COLOR DE LOS VINOS .....	64
4.5.2.	EXTRACCIÓN DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS Y ESTABILIDAD DEL COLOR DEL VINO. ....	68
4.5.2.1.	POTENCIAL FENÓLICO DE LA UVA.....	68
4.5.2.2.	MACERACIÓN.....	70
4.5.2.2.1	Variedades de uva y maceración.....	71
4.5.2.3.	CONDICIONES DEL MEDIO.....	74
4.6.	EVOLUCIÓN DEL COLOR Y LOS COMPUESTOS FENÓLICOS EN LA CRIANZA.....	76
4.6.1.	REACCIONES DE CONDENSACION ANTOCIANO-TANINO .....	76
4.6.1.1.	CONDENSACION TANINO-ANTOCIANO (T-A <sup>+</sup> ).....	77
4.6.1.2.	CONDENSACIÓN ANTOCIANO-TANINO (A+T).....	78
4.1.6.3.	POLIMERIZACIÓN POR PUENTE DE ETILO .....	78
4.6.2.	FORMACIÓN DE NUEVOS PIGMENTOS DERIVADOS DE LOS ANTOCIANOS. ....	79



4.6.3. POLIMERIZACIÓN DE TANINOS .....	80
4.6.3.1.    CONDENSACIÓN DIRECTA (T-T).....	80
4.6.4. INFLUENCIA DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL VINO EN LA EVOLUCIÓN DEL COLOR. ..	82
4.6.4.1. CONCENTRACIÓN DE ANTOCIANOS Y TANINOS. ....	82
4.6.4.2. pH DEL VINO.....	82
4.6.4.3. PRESENCIA DE OXÍGENO .....	83
4.6.4.4. LEVADURAS. ....	84
CAPITULO 5: MICROOXIGENACIÓN DE VINOS .....	85
5.1.    INTRODUCCIÓN .....	85
5.2.    MICROOXIGENACIÓN .....	86
5.2.1. PRINCIPALES MOMENTOS PARA LA APLICACIÓN DE LA MICROOXIGENACIÓN.....	86
5.2.2. FASES DE LA MICROOXIGENACIÓN .....	88
5.2.3. FUNDAMENTO Y EQUIPO DE MICROOXIGENACION .....	89
5.2.4. EFECTOS DE LA MICROOXIGENACIÓN.....	93
5.2.4.1. EFECTO POSITIVOS DE LA MICROOXIGENACIÓN .....	93
5.2.4.2. EFECTOS NEGATIVOS DE LA MICROOXIGENACIÓN .....	96
5.2.5. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA DOSIS DE OXÍGENO APLICADA .....	96
5.2.5.1. CONCENTRACIÓN DE SO <sub>2</sub> .....	97
5.2.5.2. MOMENTO DE LA APLICACIÓN .....	97
5.2.5.3. COMPOSICIÓN FENÓLICA INICIAL DEL VINO.....	97
5.2.5.4. LA TEMPERATURA .....	98
5.2.5.5. LA TURBIDEZ.....	98
5.2.5.6. LA SUPERFICIE DE CONTACTO (m <sup>2</sup> /m <sup>3</sup> ).....	99
5.2.6. PARÁMETROS A CONTROLAR DURANTE LA MICROOXIGENACIÓN .....	99
CONCLUSIONES .....	100
ANEXO I : ORIGEN DE LOS POLIFENOLES .....	102
ANEXO II – DETERMINACION DE MADUREZ FENÓLICA. ....	104
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS .....	105

## INTRODUCCIÓN

La evolución del mercado actual de los vinos está dirigida principalmente a la elaboración de vinos de alto contenido polifenólico, con color intenso, mucho cuerpo y equilibrados. Esto hace necesaria la búsqueda de alternativas, tanto en el cultivo como en la vinificación, para satisfacer las exigencias de esta nueva demanda, que permitan la elaboración de vinos de calidad, tomando como punto de partida, el estudio en profundidad de los factores que intervienen en mayor medida.

Los compuestos polifenólicos de las uvas tintas, en particular antocianos y taninos, son los principales responsables de las características de color y gustativas buscadas en la actualidad.

Es bien sabido que la calidad de un vino está íntimamente relacionada con la calidad de la uva de partida, pero se ha constatado que uvas altamente coloreadas no siempre dan lugar a vinos muy coloreados. La sola observación de la evolución de la concentración de antocianos en la piel de la baya no sirve como medida del potencial de esa baya para dar vinos con mucho color, ni permite concluir sobre su resistencia al envejecimiento.

El envejecimiento de un vino no es más que un proceso de oxidación, por lo que parece obvio pensar que la capacidad de envejecimiento de un vino depende así de su capacidad para hacer frente a dicha oxidación, esta no solo se encuentra íntimamente relacionada con el contenido polifenólico, sino también con la calidad y el equilibrio de sus componentes. Un vino con una gran cantidad de polifenoles no equilibrados perderá con facilidad su color con el tiempo, sencillamente porque no existe posibilidad de hacer frente a la oxidación con polimerizaciones antociano-tanino.

De esta manera se hace necesario evaluar el tipo y la concentración de componentes que intervienen directamente en la capacidad de oxidación y envejecimiento de los vinos, y definir su funcionalidad como indicadores en términos de calidad.

## OBJETIVOS

- ✓ Describir y analizar los mecanismos y efectos asociados a la oxidación de compuestos fenólicos en vinos y su aplicación práctica.
- ✓ Identificar los factores que mayor control ejercen en los procesos oxidativos tanto en las etapas pre-fermentativas, como en las de estabilización y crianza.





- ✓ Evaluar el tipo y la concentración de componentes que intervienen directamente en la capacidad de oxidación y envejecimiento de los vinos, y su participación como indicadores de que el producto final, el vino, mantiene su calidad en el tiempo.
- ✓ Estudiar el equilibrio existente entre los distintos tipos de polifenoles presentes en el mosto, y su relación con los procesos de estabilización para la obtención de vinos de calidad.



## CAPÍTULO 1: COMPUESTOS FENÓLICOS

### 1.1. INTRODUCCIÓN

Los polifenoles son metabolitos secundarios de las plantas con estructuras químicas muy diversas caracterizadas por presentar más de un grupo fenol (ver Anexo I).

Su presencia en la uva y su cantidad están determinadas por muchos factores que pueden ser ambientales, tales como el clima o las condiciones del suelo, o estar relacionados con la variedad y madurez del fruto. No están distribuidos homogéneamente si no que se concentran principalmente en las semillas (60%), la piel (30%), y en un menor grado en la pulpa y tallos (menos de 10%). Los constituyentes fenólicos revisten una gran importancia en enología debido al papel que juegan directa o indirectamente sobre la calidad de los vinos. Le proporcionan ciertas características sensoriales como: aroma, color, sabor, amargura o astringencia. Una de las propiedades esenciales de estos compuestos es que son antioxidantes, tienen capacidad para fijarse a los radicales libres y así neutralizan la oxidación de los componentes orgánicos que causarían dichos radicales. Además participan en una serie de reacciones en las que en ocasiones se transforman y evolucionan provocando mejoras importantes en la calidad del vino, mientras que otras veces sufren alteraciones perjudiciales.

La cantidad y tipo de polifenoles en el vino depende en gran medida del proceso de vinificación, el cual variará dependiendo del producto final a obtener.

### 1.2. CLASIFICACIÓN

Desde el punto de vista químico, los compuestos fenólicos se caracterizan por poseer un núcleo bencénico que lleva uno o varios grupos hidroxilos. Su clasificación está basada sobre la distinción entre compuestos flavonoides, presentes en los hollejos, semillas y escobajo; y los no flavonoides, presentes esencialmente en la pulpa. Su reactividad se debe al carácter ácido de la función fenólica y al carácter nucleofílico del anillo.

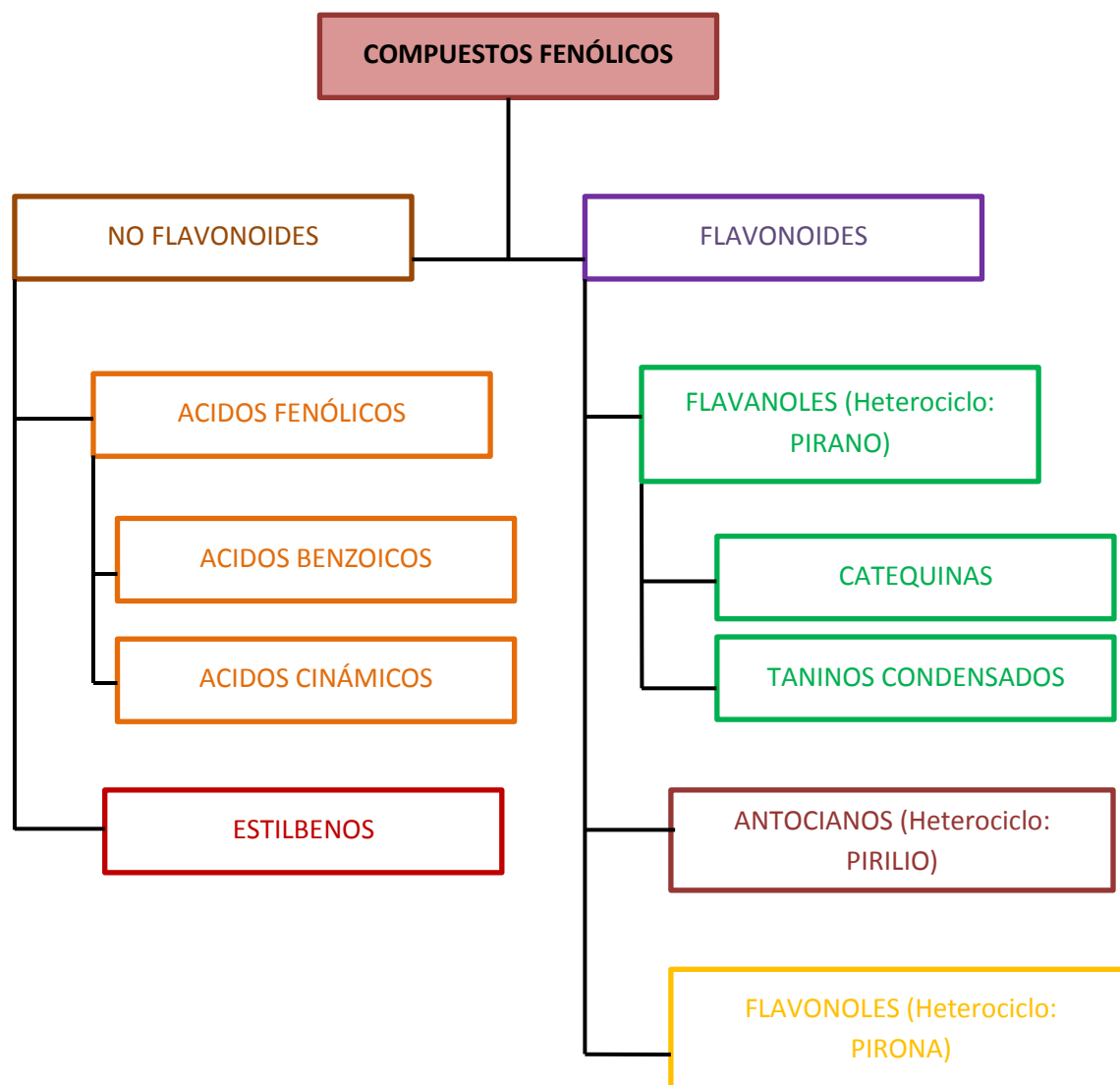


IMAGEN 1.1. CLASIFICACIÓN DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS

### 1.2.1.1 ACIDOS FENÓLICOS

Esta denominación abarca a los ácidos fenólicos, divididos en ácidos benzoicos (C6-C1) y ácidos cinámicos, portadores de una cadena lateral insaturada (C6-C3), pero también a otros derivados fenólicos como los estilbenos.

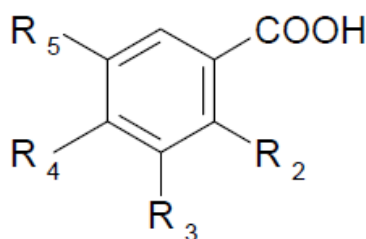
Los ácidos fenólicos se caracterizan por la presencia de un solo anillo bencénico en su molécula y se clasifica en dos grupos: ácidos benzoicos y ácidos cinámicos.

Los ácidos benzoicos se encuentran en las vacuolas del hollejo y la pulpa bajo la forma de ésteres tartáricos encontrándose en cantidades de dos a cien veces mayores en el hollejo que en pulpa, aunque depende de la variedad. Se consideran derivados del ácido p-hidroxibenzoico como ácido p-hidroxibenzoico, ácido protocatéuico, ácido gálico, entre otros. Los ácidos

protocatéquico y gálico proceden de los raspones y las pepitas especialmente este último aparece poco en los vinos como consecuencia del despallado de las uvas.

## ACIDO BENZOICO

Se consideran derivados del ácido p-hidroxibenzoico y son los siguientes:



Nombre del ácido benzoico	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>
p-hidroxibenzoico	H	H	OH	H
protocatéquico	H	OH	OH	H
vanílico	H	OCH <sub>3</sub>	OH	H
gálico	H	OH	OH	OH
siringico	H	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>
salicílico	OH	H	H	H
gentísico	OH	H	H	OH

IMAGEN 1.2. ACIDOS BENZOICOS

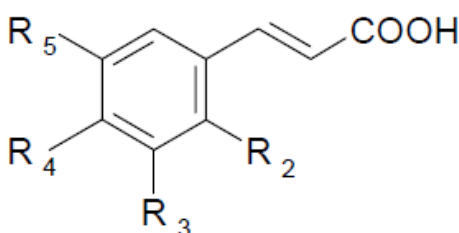
Entre los distintos autores existe una cierta discusión acerca de si estos ácidos se hallan libres en la uva o si son liberados en el curso de la vinificación. Parece demostrado que existen en forma esterificada y que son liberados por hidrólisis alcalina en el curso de la elaboración y conservación del vino.

Otros autores sugieren que su presencia en uvas y vinos, se debe en parte a una degradación de los ácidos cinámicos por hidrólisis durante la manipulación de la uva.

Las formas libres de estos compuestos son más comunes sobre todo en el vino tinto, debido a la hidrólisis de esas combinaciones y a las reacciones de degradación de las moléculas más complejas, en particular las antocianinas, bajo la acción del calor.

## ACIDOS CINÁMICOS

Se caracterizan por poseer una estructura C6-C3. Los ácidos cinámicos de mayor importancia enológica son:

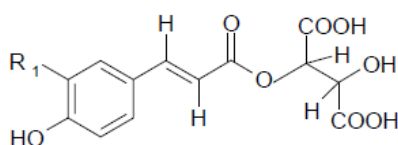


9

Nombre del ácido cinámico	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>
p-cumárico	H	H	OH	H
cafeico	H	OH	OH	H
ferúlico	H	OCH <sub>3</sub>	OH	H
sinápico	H	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>

IMAGEN 1.3. ÁCIDOS CINÁMICOS

Debido a la presencia del doble enlace existen dos formas isoméricas. La más frecuente en la naturaleza es la forma trans, ya que es termodinámicamente la más estable, pero se isomeriza fácilmente por acción de la luz. Los isómeros cis, largo tiempo confundidos con los derivados glucosilados, también existen aunque en débil cantidad. Varios ácidos cinámicos están presentes en la uva y en el vino. Se los identifica en pequeña cantidad bajo forma libre, pero están sobre todo esterificados, en su mayor parte con ácido tartárico [45]. Estos son los ácidos cafeoil tartárico o caftárico, p-cumaroil tartárico o cutárico y feruloil tartárico o fertárico.



Ésteres hidroxicinámicos	R <sub>1</sub>
ácido cafeoil tartárico	OH
ácido p-cumaroil tartárico	H
ácido feruloil tartárico	OCH <sub>3</sub>

IMAGEN 1.4. ESTERES DE LOS ÁCIDOS CINÁMICOS Y EL ÁCIDO TARTÁRICO

Los ésteres con el ácido tartárico son constituyentes del jugo de uva y son particularmente oxidables siendo la causa del ennegrecimiento del mosto blanco, en particular el ácido caftárico.

Las combinaciones del ácido cafeico con el ácido quínico se conocen desde hace bastante tiempo y se encuentran ampliamente difundidas en todo el reino vegetal. De estas combinaciones, el compuesto más conocido es el ácido clorogénico o 3-cafeato del ácido quínico.

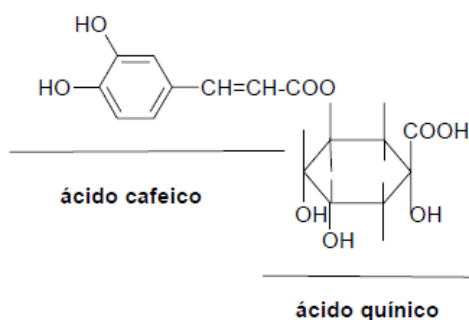


IMAGEN 1.5. ÁCIDO CLOROGÉNICO

La presencia de los ésteres tartáricos y la ausencia de ésteres quínicos (como el ácido clorogénico) son una de las especificidades del género *Vitis* si se compara con la mayor parte de las demás frutas. Sus contenidos varían en el hollejo de 0.06 a 0.78 mg/g para el ácido caftárico, de 0 a 0.3 mg/g para el ácido cutárico y menos de 0.06 mg/g para el ácido fertárico. La concentración de los ésteres hidroxicinámicos disminuye durante el desarrollo de la baya y se estabiliza en la madurez enológica. Además, el porcentaje de estos compuestos puede servir de criterio taxonómico.

Los ácidos o-hidroxicinámicos se ciclan fácilmente dando lugar a cumarinas, compuestos que pertenecen al grupo C6 –C3 en la que C3 es un heterociclo oxigenado y está relacionado químicamente con las cromonas.

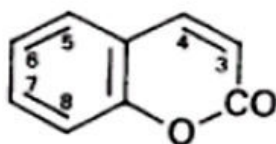


IMAGEN 1.6. CUMARINA

### 1.2.1.2. ESTILBENOS

Se caracterizan por poseer dos ciclos bencénicos unidos generalmente por una cadena etanol o eventualmente etileno. Entre estos compuestos, el isómero trans del resveratrol o 3,5,4'-trihidroxiestilbeno sería producido por la vid en respuesta a un ataque fúngico. También se ha encontrado en la uva el derivado glucosilado del resveratrol.

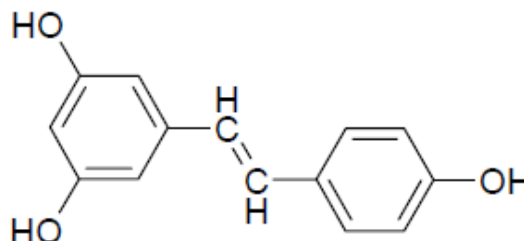


IMAGEN 1.7. RESVERATROL

11

Las concentraciones de resveratrol encontradas oscilan para vinos tintos entre 0.001 y 10 mg/L, en vinos rosados entre 0.05 y 1.2 mg/L y en vinos blancos desde trazas a 0.190 mg/L.

### 1.2.2. FLAVONOIDES

Están constituidos por dos bencenos unidos por un anillo heterocíclico del tipo pirano, pirilio o  $\gamma$ -pirona.



IMAGEN 1.8. FLAVONOIDES

Según el heterocíclico central se clasifican en:

FLAVANOLES: derivados del pirano.

ANTOCIANOS: derivados del pirilio.

FLAVONOLES: derivados de la  $\gamma$ -pirona.

### 1.2.2.1. FLAVANOLES

Heterociclo central pirano.

#### 1.2.2.1.1. CATEQUINAS (C6-C5-C6)

Los flavan-3-oles, comúnmente llamados catequinas poseen dos ciclos bencénicos unidos por un heterociclo oxigenado saturado (núcleo fenil-2 cromano). Esta estructura presenta dos carbonos asimétricos (C2 y C3) que originan cuatro isómeros (Figura 1.9). La (+)-catequina y la (-)-epicatequina corresponden a las formas más abundantes, así como los derivados de la epicatequina en forma de éster gálico.

Las catequinas representan las unidades básicas de las procianidinas.

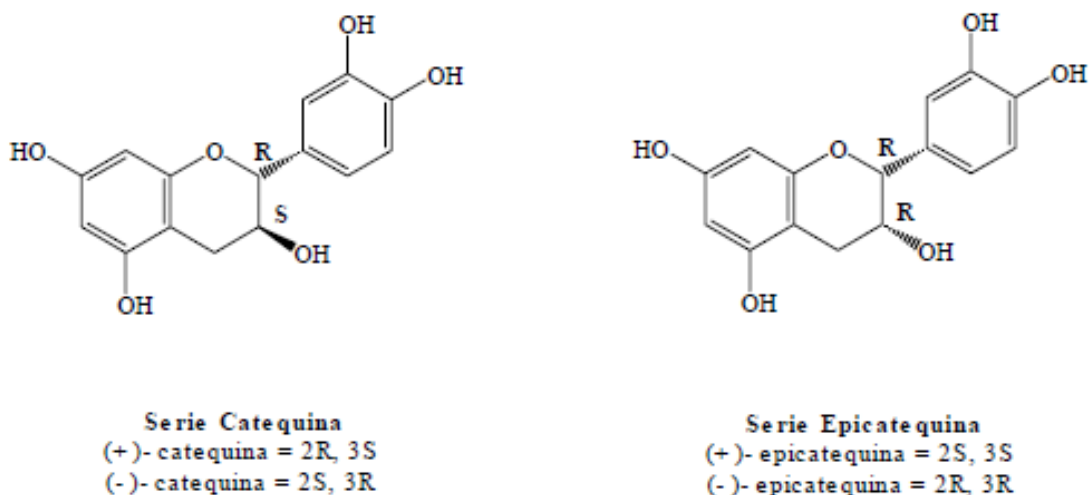


IMAGEN 1.9. ESTRUCTURA DE LAS CATEQUINAS

#### 1.2.2.1.2. TANINOS

El grupo de los taninos en general comprende compuestos fenólicos muy diferentes entre ellos, pero se caracterizan por ser sustancias capaces de dar combinaciones estables con las proteínas y con otros polímeros vegetales como los polisacáridos.

Este modo de actuar afecta, además de a las proteínas de los vinos, a su carga enzimática dado que los taninos se combinan con el apoenzima pudiendo inhibir la actividad enzimática. Esta es una explicación parcial de la mayor resistencia frente a la oxidación presentada por los vinos tintos con respecto a los blancos, precisamente también por una parcial inhibición de las enzimas



oxidantes desarrollada por los taninos en los cuales los vinos tintos son particularmente ricos.

Desde el punto de vista químico, son moléculas fenólicas relativamente voluminosas, pudiendo por tanto formar complejos estables con las proteínas al establecer un número suficiente de enlaces; pero si la molécula de tanino se hace demasiado grande corre el riesgo de no poder acercarse suficientemente a los sitios activos de las proteínas para reaccionar, resultando un enlace mucho menos sólido.

Se puede decir que los enlaces más estables entre proteínas y taninos se obtienen para pesos moleculares de estos últimos comprendidos entre 600 y 3500.

Según la naturaleza de las moléculas elementales, se pueden clasificar en dos grandes grupos: los taninos hidrolizables (o gálicos) y los taninos condensados. Los taninos contenidos naturalmente en la uva y en los vinos pertenecen sobre todo al segundo grupo, mientras que los utilizados como aditivos en el vino con fines tecnológicos o los presentes en el corcho de los tapones son del primer grupo.

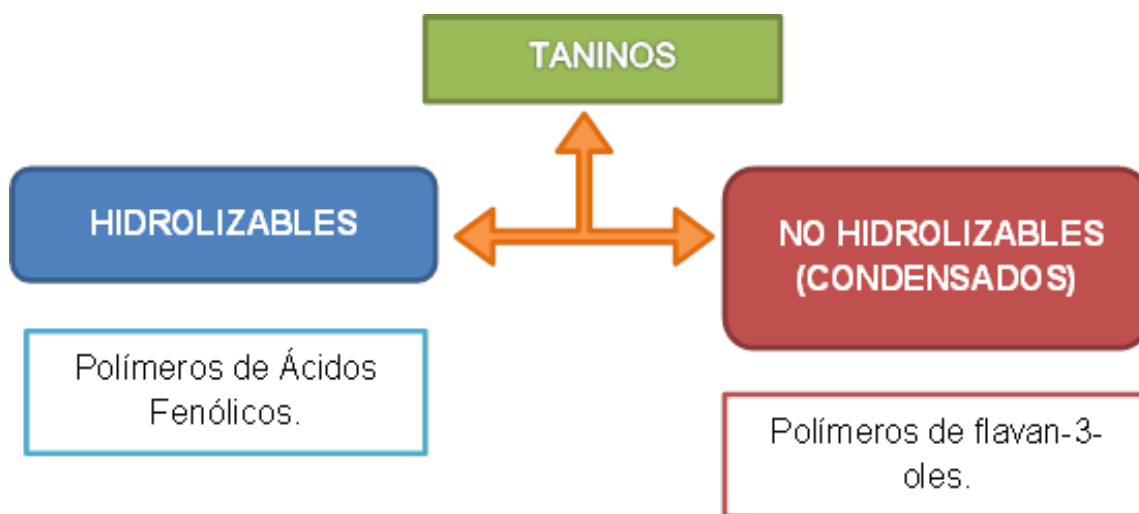


IMAGEN 1.10. CLASIFICACIÓN DE LOS TANINOS

#### a) TANINOS HIDROLIZABLES (o gálicos)

Comprenden a los galotaninos y a los elagitaninos, liberando por hidrólisis ácida respectivamente ácido gálico y ácido elágico, y ambos contienen una molécula de glucosa. Los más abundantes pertenecen a los elagitaninos, donde destacan la vescalagina y la castalagina que al hidrolizarse se transforman respectivamente en vescalina y castalina.

Estas sustancias son muy solubles en medios hidroalcohólicos como es el vino o los aguardientes. Su oxidabilidad y sus propiedades gustativas les confieren un sabor característico a los vinos tintos y blancos criados en barricas de roble.

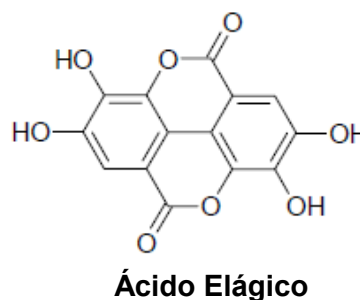
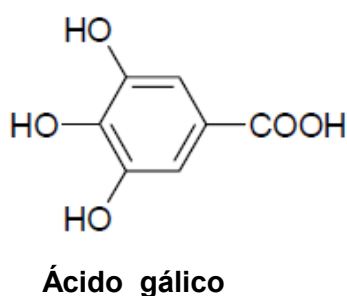


IMAGEN 1.11. TANINOS HIDROLIZABLES

## b) TANINOS CONDENSADOS

Son polímeros más o menos complejos de flavan-3-oles o 3-flavanoles, también llamados catequinas. Estas sustancias se localizan principalmente en las semillas, aunque se han detectado también trazas de monómeros y dímeros en la pulpa.

Los principales 3-flavanoles monómeros de la uva cuya estructura son la (+)-catequina y su isómero la (-)-epicatequina, pudiendo encontrarse este último bajo forma de éster gálico (3-galato de epicatequina). La galocatequina, el 3-galato de catequina y el 3-galato de galocatequina han sido igualmente puestos de manifiesto, pero parecen específicos de ciertas variedades del género *Vitis*.

Otros taninos más complejos derivados de los anteriores son las procianidinas dimeras, que se agrupan en dos categorías, designadas por una letra del alfabeto y por un número procianidinas tipo A (C<sub>30</sub>H<sub>26</sub>O<sub>12</sub>) y las procianidinas tipo B (C<sub>30</sub>H<sub>24</sub>O<sub>12</sub>), siendo las primeras las más abundantes en la uva:

- Las procianidinas tipo A son dímeros que poseen además de la unión interflavano C4-C8 o C4-C6, un enlace éter entre los carbonos C5 o C7 de la unidad terminal y el carbono C2 de la unidad superior.
- Las procianidinas tipo B son dímeros resultantes de la condensación de dos unidades de flavan-3-oles unidas entre ellas por intermedio de un enlace C4-C8 (B1 a B4) o C4-C6 (B5 a B8).
- Las procianidinas oligómeros son polímeros mucho más complejos, formados por 3 a 10 unidades de flavanoles relacionadas por uniones C4-C8 ó C4-C6,

así como las procianidinas condensadas, formadas por más de 10 unidades flavanoles, alcanzando un peso molecular superior a 3000.

Estas moléculas en medio ácido y caliente presentan la propiedad de liberar carbocationes, fuertemente inestables, por ruptura de las uniones intermonoméricas transformándose en productos de condensación pardos y sobre todo en cianidina roja, de ahí el nombre de “procianidina” (proantocianidina o proantocianidol). Antiguamente estas sustancias eran conocidas erróneamente como leucoantocianos o leucocianidoles.

En las pepitas los taninos se encuentran menos condensados, con un grado de polimerización cercano a 10, mientras que los hollejos son más complejos y con un grado de polimerización cercano a 30, encontrándose casi siempre una mayor cantidad de taninos en las pepitas. Los taninos de los hollejos se diferencian de los de las pepitas por la presencia de epigalocatequina, por tener un mayor grado de polimerización y por poseer una menor proporción de unidades de ácido gálico.

En los vinos el contenido en taninos es muy variable, en el vino tinto depende del cepaje y de las condiciones de vinificación, oscilando de 1 a 4 g/L. En el caso del vino blanco va desde 0.1 a 0.3 g/L.

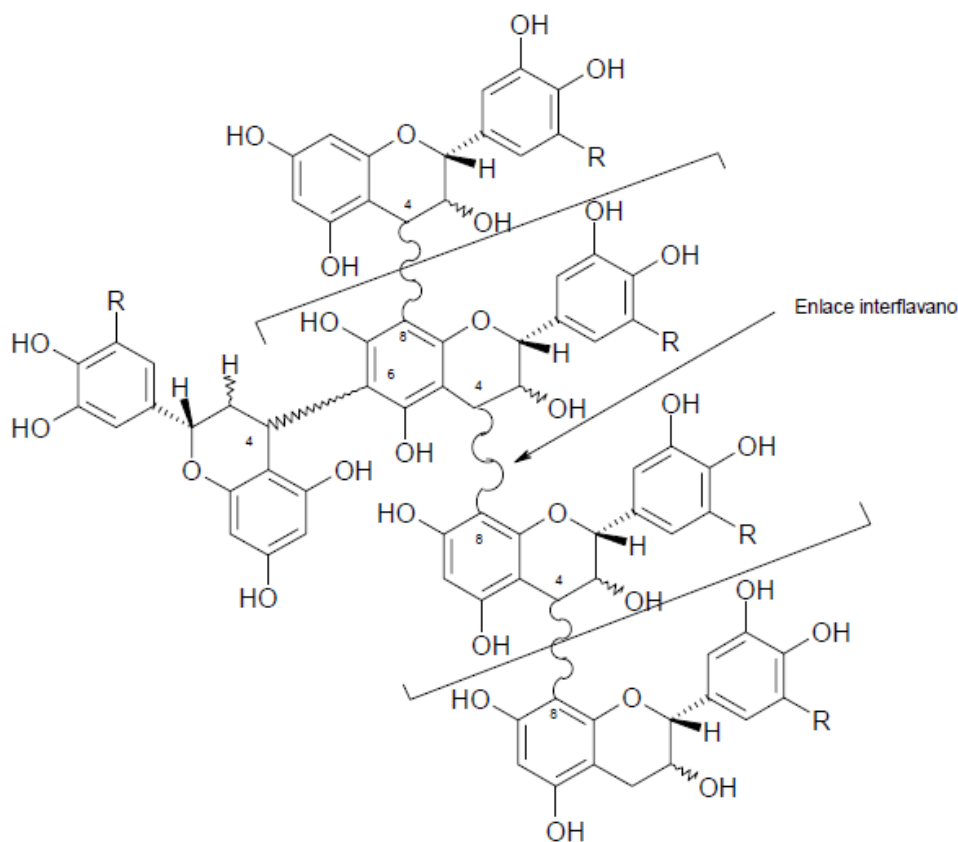


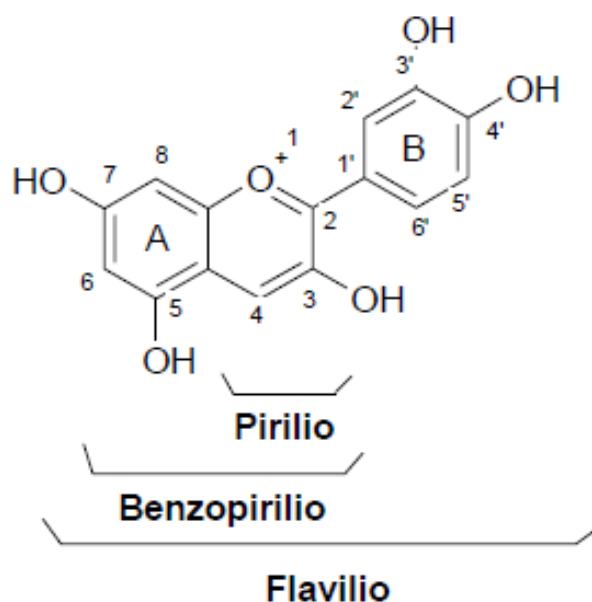
IMAGEN 1.12. ESTRUCTURA DE UNA PROCIANIDINA CONDENSADA

### 1.2.2.2 ANTOCIANOS

Son pigmentos solubles en agua responsables de los colores anaranjados, rojos y púrpuras de flores, frutas y hojas. Reciben su nombre del griego <<antos>> (flor) y <<kyanos>> (azul). En la uva están localizados en el hollejo, especialmente dentro de las vacuolas de las 3 ó 4 primeras capas celulares de la hipodermis, mientras la pulpa es incolora de forma que se pueden obtener mediante suave presión, vinos blancos de uvas tintas. Sólo la variedad de uvas tintoreras presenta la pulpa coloreada.

Su estructura comprende dos anillos bencénicos unidos por medio de un anillo heterocíclico y presentan, según el antociano de que se trate, variantes en algunos carbonos de los citados anillos bencénicos o del mencionado anillo heterocíclico.

Este último anillo puede ser del tipo pirano o del tipo pirilio. En este último, el oxígeno se encuentra tetravalente con una valencia libre que confiere carácter iónico a la molécula entera del antociano. El grupo constituido por el primer anillo bencénico (A) ligado con el grupo pirilio recibe el nombre de grupo benzopirílico. Este grupo unido a su vez con el segundo anillo bencénico (B), se llama conjuntamente catión flavilio.

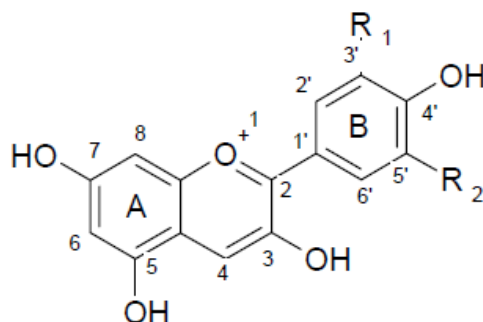


IIIMAGEN 1.13. ANTOCIANOS

Estos compuestos no existen en la naturaleza bajo forma antocianidina, pero sí bajo forma antocianina, dado que las antocianidinas están siempre esterificadas con una o más moléculas de un azúcar que les confiere estabilidad.

Este complejo esterificado es el que toma el nombre de antocianina o antociano. Es decir, químicamente los antocianos son los glicósidos de las antocianidinas, y éstas son, por tanto, las agliconas de los antocianos.

Las agliconas (antocianidinas) de los antocianos presentan en varios carbonos grupos hidroxilo (OH) y a veces grupos metoxilo (OCH<sub>3</sub>).

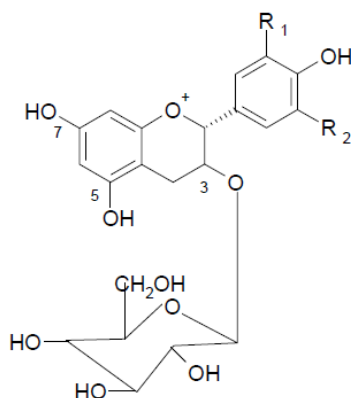


17

Nombre	R <sub>1</sub>	R <sub>3</sub>
Pelargonidina	H	H
Cianidina	OH	H
Peonidina	OCH <sub>3</sub>	H
Delfinidina	OH	OH
Petunidina	OCH <sub>3</sub>	OH
Malvidina	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>

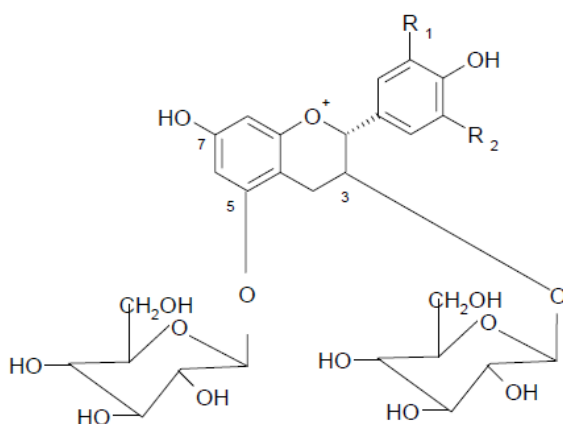
IMAGEN 1.14. FÓRMULA ESTRUCTURAL DE LAS ANTOCIANIDINAS COMUNES

Como se dijo anteriormente, en la naturaleza las antocianidinas se encuentran siempre como glicósidos. La glicosilación puede ocurrir en las posiciones 3, 5 y 7. El azúcar que participa con mayor frecuencia es la glucosa, aunque existen además, otros azúcares que participan en estos enlaces como ramnosa, galactosa y arabinosa. Según que la esterificación afecte a uno, dos o tres carbonos, los antocianos se llaman monoglicósidos, diglicósidos o triglicósidos.



**IMAGEN 1.15. ESTRUCTURA DE LAS ANTOCINIDINAS GLICOSILADAS CON UNA MOLÉCULA DE GLUCOSA.**

Los antocianos monoglucósidos están presentes en todas las especies conocidas del género *Vitis vinifera*, siendo ésta la especie de vid clásica en Europa. En Estados Unidos y en otros países no europeos se cultivan especies como *V. riparia* y *V. rupestris* y sus híbridos con la *V. vinifera*. Todas estas especies, pero no la *V. vinifera*, contienen tanto antocianos monoglucósidos como diglucósidos en cantidad importante. Sin embargo, se han señalado trazas de antocianos diglucósidos en ciertos frutos de *V. vinifera*, admitiéndose en los vinos derivados de estos últimos diglucósidos hasta 2 mg/L. De aquí se puede obtener una clave analítica para diferenciar vinos tintos obtenidos de variedades de *V. vinifera* de los vinos tintos obtenidos de variedades híbridas (la mayor parte proceden de *V. riparia* o de *V. rupestris*) y para identificar mezclas de vinos de las dos procedencias.



**IMAGEN 1.16. ESTRUCTURA DE LAS ANTOCIANINAS 3,5-DIGLUCOSILADAS**

Existe otra categoría de antocianos naturales que son los antocianos acilados y se caracterizan porque en ellos la misma molécula de azúcar que esterifica a la aglicona es a su vez esterificada por un ácido orgánico, frecuentemente fenólico, como el ácido p-cumárico y a veces el ácido cafeico o el ácido clorogénico.

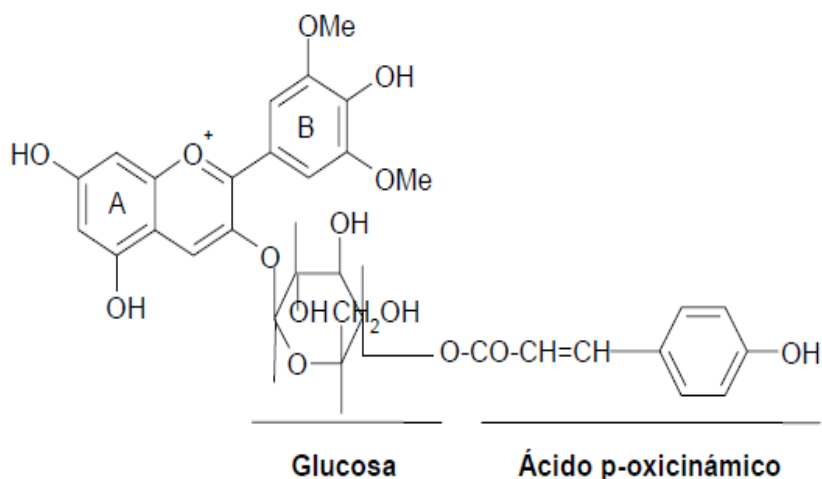


IMAGEN 1.17. FORMACIÓN DEL P-CUMARATO-3-MONOGLUCÓSIDO DE MALVIDINA

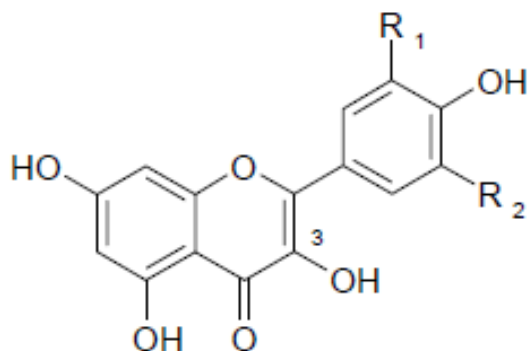
### 1.2.2.3. FLAVONOLES

Heterociclo central  $\gamma$ - pirona.

Los flavonoles conjuntamente con los flavanos, taninos condensados y antocianos, forman parte del grupo de los flavonoides. Están únicamente presentes en los hollejos, bajo forma de glucósidos en posición 3.

Son pigmentos de color amarillo que se encuentran tanto en los vinos blancos como en los tintos. Las cantidades de flavonoles en los vinos blancos son tan pequeñas que no influyen en el color. Por el contrario, en los vinos tintos la proporción de flavonoles es notablemente más alta (hasta unos 15-20 mg/L).

Las agliconas de los flavonoles están presentes en los vinos tintos después de algunos meses de la vinificación, mientras que en la uva están presentes sus glicósidos, los cuales después se hidrolizan en el vino. En la uva se han caracterizado ocho flavonoles monoglicósidos y tres diglicósidos. Las formas glucosiladas son las más abundantes, pero también se encuentran galactosa, xilosa y arabinosa (sobre todo en los diglicósidos).



Nombre	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
Kempferol	H	H
Quercetina	OH	H
Miricetina	OH	OH

IMAGEN 1.18. ESTRUCTURA DE LOS FLAVONOLES



## CAPÍTULO 2: FENÓMENOS OXIDATIVOS

### 2.1. INTRODUCCIÓN

Antiguamente se entendía por oxidación a aquellos procesos en que una sustancia tomaba oxígeno y por reducción a aquellos otros en que éste se liberaba. Posteriormente, se aceptó la reducción como aquellas reacciones en las que se fijaba hidrógeno y oxidación en las que éste se liberaba. Actualmente se considera como reacciones redox, o de oxidación reducción a aquellas en las que cambia el estado o grado de oxidación de las especies reaccionantes porque se produce un intercambio de electrones entre los reactivos, aunque no intervengan en ellas ni el oxígeno ni el hidrógeno. Para que se produzca una reacción redox es necesario la presencia de una especie que ceda electrones (reductor) y otra especie que acepte electrones (oxidante). Tras la reacción redox, el reductor se transforma en su forma oxidada y el oxidante en su forma reducida:



La reacción global es:



El concepto de reacciones redox recuerda al de las reacciones ácido base de Bronsted-Lowry. Ambas implican la transferencia de una o más partículas cargadas desde un dador a un aceptor, siendo éstas los electrones en las redox y los protones en las de neutralización.

En las reacciones redox pueden intervenir, bien como reactivos o como productos de reacción, átomos, iones o moléculas que pueden encontrarse en estado sólido, en disolución y en forma gaseosa.

La oxidación es un proceso en el que una especie pierde uno o más electrones, de forma que, cuando un elemento se oxida su estado de oxidación toma valores más positivos. Una especie oxidante es aquella que gana electrones, reduciéndose durante el proceso.

En la reducción hay ganancia de electrones, el elemento que se reduce toma valores más negativos de su estado de oxidación. Un agente reductor es aquel que pierde electrones en una reacción, oxidándose en el proceso. Ambos procesos, oxidación y reducción tienen que verificarse simultáneamente.

El trabajo que realizó Nernst consistió en relacionar lo que ocurre con las reacciones electroquímicas (redox) con la termodinámica. El estableció una relación entre el cambio en la energía libre del sistema con el cambio de electrones que ocurre en la reacción electroquímica a través de una diferencia

de potencial  $E$ , estableciendo de esa forma la ecuación que lleva su nombre, la ecuación de Nernst para las reacciones de óxido-reducción:

$$E = E^0 + \frac{0,059}{n} \cdot \log \frac{[Ox]}{[Red]}$$

Para poder comparar todos los sistemas redox entre sí se optó por escoger una celda de referencia para poder comparar todos los sistemas contra ella y con ello permitir por comparación evaluar cada celda contra las demás. La celda de referencia que se escogió fue la del Electrodo Normal de Hidrógeno (ENH) y a ella se le ha fijado (por convenio de la IUPAC) un valor de  $E^0$  de 0.000V a cualquier temperatura. Esto significa que el sistema se encuentra en el equilibrio y que además no genera resistencia a cualquier reacción espontánea en cualquier sentido que se efectúe en la otra media celda con la que se conecte.

22

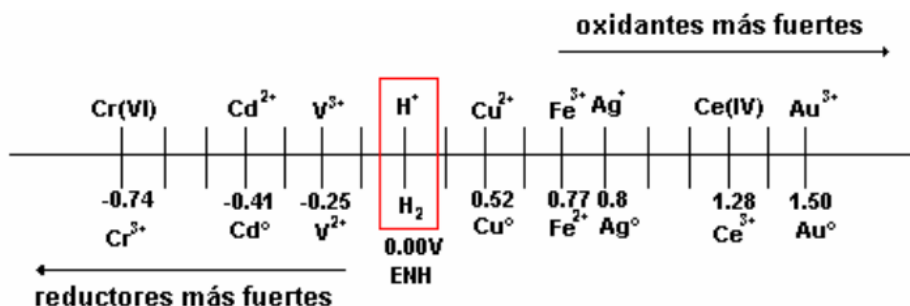


IMAGEN 2.1. ESCALA FEM

Con ello podemos ver que al acoplar esta celda o cualquier otra con el ENH nos permite definir el valor del potencial normal de cualquier sistema redox. Con ello se puede establecer una escala de potenciales normales conocida como escala de fuerza electromotriz (FEM).

La escala nos permite ubicar (con respecto al potencial normal  $E^0$ ) a los distintos pares redox con respecto al ENH.

De forma general, cuando evaluamos si una reacción química puede tener lugar, nos referimos a un aspecto termodinámico: concretamente, a la variación de energía libre de Gibbs entre reactivos y productos. Es en base a este parámetro que determinaremos si una reacción química es o no es espontánea. Una variación de energía libre de Gibbs negativa, implica un proceso espontáneo. Una variación de energía libre de Gibbs positiva, implica un proceso no espontáneo. Por tanto, como vemos, será la espontaneidad o no espontaneidad de la reacción, lo que determinará que el proceso se produzca o no se produzca. La variación de la energía de Gibbs está considerada en la ecuación de Nernst, por lo tanto tendremos que:

Si el potencial estándar de la reacción es positivo, la reacción es espontánea. El proceso global sí se produce.

Si el potencial estándar de la reacción es negativo, la reacción es no espontánea. El proceso global no se produce.

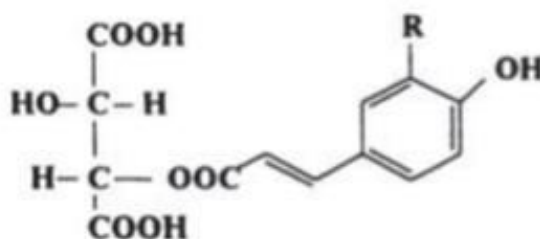
## 2.2. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA OXIDACIÓN

La oxidación de los compuestos fenólicos está condicionada por una amplia gama de factores que se detallan a continuación:

23

### 2.2.1. COMPOSICIÓN FENÓLICA

El potencial oxidante de un mosto o vino está correlacionado con la concentración de los compuestos fenólicos, en especial a los ácidos cinámicos (ácido cafeico y p-cumárico) y flavanoles ((+)-catequina y (-)-epicatequina, que poseen el grupo hidroxilo del anillo bencénico en la posición orto y para, que son los sustratos preferibles de las enzimas oxido-reductasas, las polifenoloxidasas (PPO) tienen especial actividad sobre los derivados de ácidos hidroxil-cinámicos, especialmente de sus ésteres tartáricos (ácidos cutárico, caftárico), dando lugar a la formación de o-quinonas.



R=OH: ácido caftárico

R=H: ácido cutárico

IMAGEN 2.2. ESTRUCTURA QUÍMICA DE LOS SUSTRATOS FENÓLICOS PREFERIDOS DE LA PPO

Estas quinonas, a su vez, son muy reactivas, participando en reacciones posteriores de pardeamiento, puesto que oxidan otros compuestos fenólicos que no son sustratos de la PPO, es lo que se denomina oxidación acoplada. Además estas quinonas, primarias (producidas por la PPO) o secundarias (oxidación acoplada), son capaces de reaccionar, a su vez, con otros polifenoles presentes en el mosto. De esta forma, la mayor parte de los polifenoles, sean o no sustratos de las PPO pueden encontrarse implicados en los fenómenos de pardeamiento enzimático. Por tanto, los ácidos cinámicos son especialmente determinantes para la calidad de los vinos blancos.

Entre los flavan-3-oles se encuentran fundamentalmente monómeros de catequina y epicatequina, así como formas más o menos poliméricas que constituyen los taninos catéquicos (proantocianidinas a través de la ruptura de las uniones intermonoméricas. La PPO oxida a las formas monoméricas (catequina y epicatequina), pero no las poliméricas.

### 2.2.2. EL OXÍGENO

24

El oxígeno (O) en estado natural es un gas incoloro, inodoro e insípido, ligeramente más pesado que el aire y se condensa en un líquido azul claro, es indispensable para nuestra vida. Es de gran interés por ser el elemento esencial en los procesos de combustión. Tiene una gran capacidad de reaccionar con casi todos los elementos químicos formando óxidos, oxácidos, sales, alcoholes, azúcares, hidratos de carbono y una gran cantidad de compuestos orgánicos. Su estado de oxidación es de -2 y en condiciones normales de presión y temperatura, se encuentra formando comúnmente moléculas diatómicas,  $O_2$ , pero también existe en forma triatómica,  $O_3$ , llamado ozono. El oxígeno presenta las siguientes propiedades físicas:

Masa volúmica:  $1,36 \text{ kg/m}^3$  en CNPT

Punto de ebullición:  $-183^\circ\text{C}$

Punto de fusión:  $-218^\circ\text{C}$

Densidad:  $1,14 \text{ g/ml}$

Densidad referida al aire: 1,11

Proporción en el aire seco:  $159,22 \text{ mm Hg}$

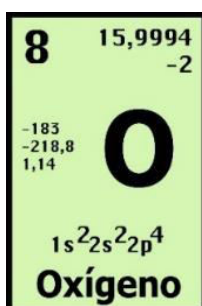


IMAGEN 2.3. PROPIEDADES QUÍMICAS DEL OXÍGENO

El oxígeno es soluble tanto en el mosto como en el vino, está siempre presente en el aire que rodea las cubas, las cañerías, las uniones, las prensas, además por estar siempre está más concentrado en el aire que en el mosto y vino en cuba tendrá por lo tanto siempre tendencia a disolverse en ellos y esto cierto aun para un mosto saturado en anhídrido carbónico y en plena fermentación.

El vino puede disolver hasta  $6 \text{ ml/L}$  ( $8,4 \text{ mg/L}$ ) de oxígeno a  $20^\circ\text{C}$  y a presión atmosférica. La solubilidad del oxígeno es mayor a temperaturas bajas.

Temperatura (°C)	Oxígeno disuelto (mg/L)
0	11,5
5	10,5
20	8,4
35	5,6

**TABLA 2.1.SOLUBILIDAD DEL OXÍGENO**

El tiempo de consumo del oxígeno también depende de la temperatura, siendo más rápido cuando más alta es. Por lo tanto aunque la cantidad de oxígeno disuelto sea mayor a menor temperatura, cuando la misma aumenta el oxígeno se consume a mayor velocidad.

Temperatura (°C)	Tiempo de consumo desde saturación (días)
13	25
17	18
20	4
30	3

**TABLA 2.2.CONSUMO DE OXÍGENO-FUENTE RIBÉREAU-GAYON ET AL, 1992**

La capacidad de disolver oxígeno depende también de los sólidos y el alcohol disuelto, a mayor concentración, menor es la disolución.

	Agua	Solución de NaCl	Jugo de Uva	Vino 10% alcohol
Presión parcial mmHg	155	155	155	155
Saturación %	100	100	100	100
Concentración mg/L	9,2	7,4	6,5	8,4

**TABLA 2.3.SOLUBILIDAD DEL OXÍGENO EN CONDICIONES DE SATURACIÓN-FUENTE MOUTONET**

Operación	Aporte de O <sub>2</sub> (mg/L)	Fuente
Trasiego	2,0-6,0	Vivas 1997
Bombeo(según tipo de bomba)	0,2-3,0*	INRA (2001)
Filtración por módulos lenticulares	0,2	Vidal et al. (2007)
Filtración tangencial	1,0-2,0	Vidal et al. (2004)
Filtración por placas	0,5	Vidal et al. (2007)
Filtración por membranas	0,1	Vidal et al. (2007)
Microfiltración	0,2-4,0*	INRA (2001)
Centrifugación	1,0-1,5	Castellari et al. (2004)
Estabilización tartárica	2,3-4	Castellari et al. (2004)
Embotellado	0,3-1,3	INRA (2001)
Taponado con corcho natural	0,8-1,6	Brajcovich et al (2005)
Taponado con tapa rosca	0,5-0,9	Brajcovich et al. (2005)

TABLA 2.4. APORTES DE OXÍGENO AL VINO - \*AL COMIENZO DE LA OPERACIÓN

Esta disolución es extremadamente rápida, el mosto en la salida de una prensa neumática ya está completamente saturado con oxígeno. Cuanto más frío estará el mosto o vino, más oxígeno podrán disolver, hasta alrededor de 10 mg / litro. Cuando el mosto o vino están en movimiento en capa delgada, la disolución del oxígeno se ve optimizada, ocurre lo mismo por efecto Venturi cuando se utiliza un manchón de acero poroso o cuando se afloja un poco la unión entre cañerías, cuando el prensa estopa de una bomba está desgastado o cuando la rosca de una unión está falseada. Un chorro abierto que cae en una cubeta durante un remontaje disuelve muy bien el oxígeno y tanto más cuanto mayor sea la altura de caída al aire libre.

Por otro lado a pesar de que el oxígeno tiene dos electrones no apareados, su reactividad hacia sustancias orgánicas es limitada, producto de su ubicación en diferentes orbitales electrónicos, razón por la cual no provocará oxidaciones en el vino hasta después de su activación y el desarrollo de sus formas reactivas. No se tiene claridad respecto de los mecanismos de activación que determinarían esta situación en vino (iones metales, luz, radicales libres o su combinación), pero se sabe que cuando es activado se forman especies de mayor reactividad como el radical hidroperoxilo y el peróxido de hidrógeno, favoreciendo una cadena de reacciones con radicales libres que determina que las reacciones de oxidación se produzcan. (V. Felipe Laurie).

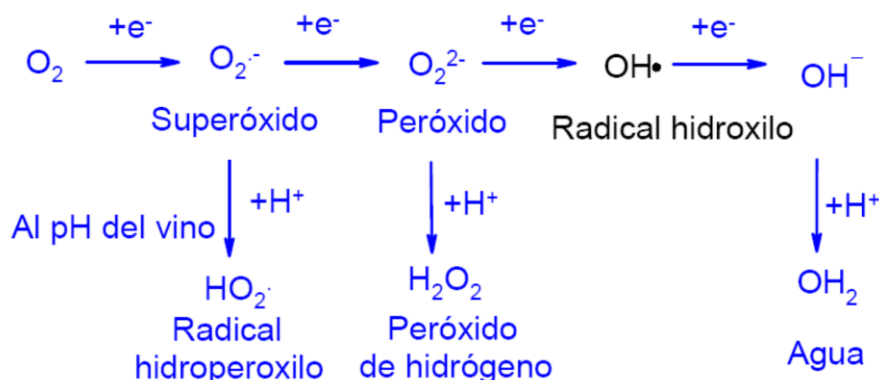


IMAGEN 2.4. DESARROLLO DE LAS FORMAS REACTIVAS DEL OXÍGENO

### 2.2.3. ENZIMAS

Existen tres tipos de enzimas que tiene la propiedad de participar en las reacciones de oxidación de los polifenoles del mosto y el vino, la polifenoloxidasa (PPO) y la lacasa son las más importantes, la enzima restante es la peroxidasa, mientras que la polifenoloxidasa y la peroxidasa son naturales de la fruta, la lacasa es una enzima oxido-reductasa extracelular producida por diversos hongos, en el caso de la uva la más estudiada proviene del hongo *Botrytis cinérea*.

### 2.2.4. METALES

El hierro y el cobre catalizan los procesos de oxidación de los compuestos fenólicos. El efecto catalítico de los metales en las oxidaciones, podría explicarse por la reacción de Fenton, que describe el fuerte efecto oxidante del  $\text{H}_2\text{O}_2$ , cuando sales de hierro estaban presentes, el efecto de esta reacción es la formación de un radical muy reactivo denominado hidroxilo, estos radicales son compuestos oxidativos más poderosos y menos selectivos que el peróxido de hidrógeno, situación que determinaría que estos reaccionen con casi cualquier componente del vino, independientemente de sus capacidades antioxidantes sino de la concentración en la que se encuentran. (Waterhouse y Laurie 2006).

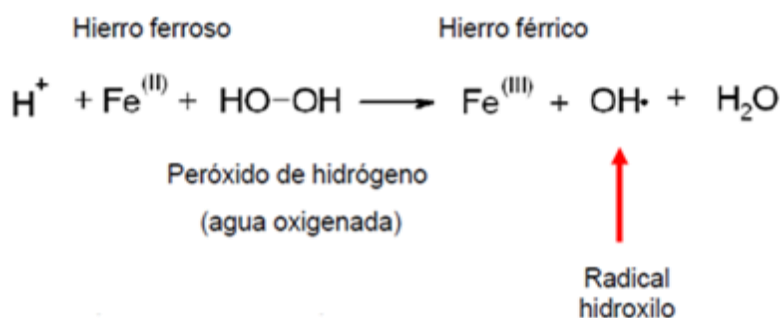


IMAGEN 2.5. REACCIÓN DE FENTON

### 2.2.5. PRENSADO

Las uvas sometidas a prensados intensos y cuyo mosto está expuesto un mayor tiempo al contacto con las pieles sufren oxidaciones más frecuentes. Además diversos estudios han demostrado que los mostos escurridos tienen una mayor concentración de glutatión que los mostos obtenidos por prensado tradicional que además presentaba una mayor concentración de polifenoloxidasas. Los mostos obtenidos a mayores presiones poseen un mayor contenido de ácidos cinámicos y flavanoles.

### 2.2.6. pH

Puede considerarse determinante en la velocidad de oxidación, a mayor pH existe un mayor riesgo de oxidación ya que la mayoría de los polifenoles presentan constantes de disociación (pKa) muy altas, provocando que sean más estables a menor pH.

### 2.2.7. TEMPERATURA

La velocidad de reacción de oxidación, depende de la temperatura y aumenta a altas temperaturas, para la mayoría de las reacciones, cuando la temperatura aumenta 10° C, la velocidad se duplica.

La temperatura influye en la actividad de las enzimas, que están presentes en varios momentos durante todo el proceso de producción del vino. El aumento de temperatura acelera los procesos enzimáticos. En los sistemas biológicos las reacciones no tienen lugar a 0°C. Por encima de 0°C, las reacciones comienzan lentamente y llegan a un máximo en torno de 37°C. Temperaturas de más de 37°C, cambian la estructura de las enzimas y, por último, dan lugar a la disminución y eliminación de la actividad enzimática. En el caso de las oxidaciones químicas, la temperatura es un parámetro crucial de velocidad, como en cualquier proceso químico y, en general, la velocidad de reacción aumenta a medida que aumentamos la temperatura. Esto es así debido a la existencia de una barrera o obstáculo energético asociado a la formación o ruptura de enlaces químicos, la llamada energía de activación.

### 2.2.8. SO<sub>2</sub>

Es un gas producido por la combustión del azufre en el aire. Las propiedades que presenta este compuesto en la conservación de los vinos ha supuesto que todavía en la actualidad no exista ninguna otra sustancia o tratamiento alguno capaz de sustituirlo. Las propiedades positivas del sulfuroso superan ampliamente las negativas, que también existen, siendo todavía hoy día un instrumento indispensable en la tecnología de elaboración y conservación de los vinos. Dentro de las primeras cabe destacar los efectos antioxidante y antioxidásico, sus propiedades antimicrobianas selectivas especialmente frente



a las bacterias lácticas, el retardo en el arranque de la fermentación alcohólica que posibilita el desfangado de los mostos blancos, la intensa acción degradante sobre los hollejos que permite una mayor maceración en las vinificaciones en tinto, su papel en la mejora o mantenimiento de los aromas de los vinos, etc. Por otra parte, las propiedades negativas se presentan con las dosis elevadas en las vendimias o en los vinos, pudiendo aparecer olores defectuosos del propio gas sulfuroso, o por reducción del mismo hacia sulfhídrico o mercaptanos, e incluso cuestionándose un riesgo para la salud humana por ingestión de este compuesto que acompaña a los vinos. En las dosis de empleo en los vinos es inocuo para el hombre y se comporta como un antiséptico polivalente. (J. H. Togores)

El papel del  $\text{SO}_2$  en la protección frente a las oxidaciones es doble, como antioxidásico y como antioxidante. En el caso de las oxidaciones enzimáticas, cumple una función antioxidásica inhibiendo y destruyendo enzimas oxidantes especialmente la PPO y en menor medida la lacasa, la eficacia de este tratamiento depende de la dosis y la rapidez con que fue adicionado y también del estado sanitario, la acidez y la presencia de polifenoles en el mosto.

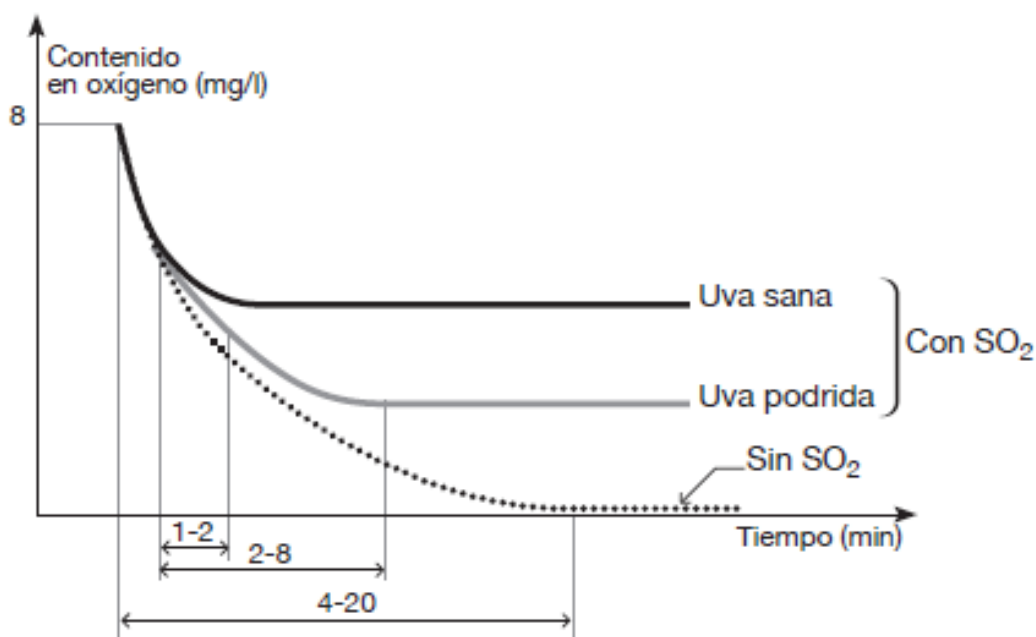


IMAGEN 2.6. CINÉTICA DE LA EVOLUCIÓN EN OXÍGENO DE LOS MOSTOS - J. BLOUIN Y E. PEYNAUD FUENTE: TRATADO DE ENOLOGÍA - JOSÉ HIDALGO TOGORES

En los vinos cumple un papel antioxidante, oxidándose para proteger a los compuestos que son sensibles a la oxidación y son en general responsables del color y aroma en los vinos.

## 2.2.9. CONTENIDO DE GLUTATIÓN

El glutatión (GSH) es un tripéptido, constituido por ácido glutámico, glicina y cisteína. El glutatión (GSH) es importante por su capacidad para neutralizar las orto-quinonas, que son las principales responsables del pardeamiento del vino y la pérdida de aroma derivados de los mecanismos de oxidación.

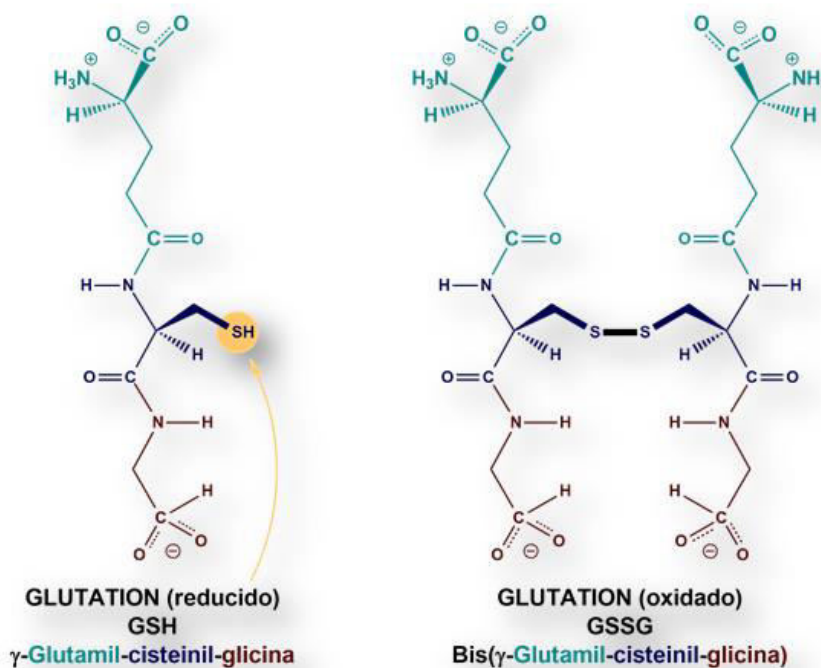


IMAGEN 2.7. ESTRUCTURA DEL GLUTATIÓN

Puesto que tiene un potencial muy bajo de oxidación-reducción ( $E_o = -250$  mV a  $\text{pH} = 7$ ;  $E_o = -40$  mV a  $\text{pH} = 3$ ), puede actuar como un amortiguador importante en muchas de las reacciones redox de las células. El glutatión es un antioxidante más potente que el ácido ascórbico ( $E_o = +60$  mV a  $\text{pH} = 7$ ;  $E_o = +267$  mV a  $\text{pH} = 3$ ). Por lo tanto, desempeña un papel fundamental en la prevención de la oxidación de los fenoles del mosto, ya que es capaz de reaccionar a través de su grupo  $-\text{SH}$  con el ácido caftárico, uno de los fenoles más sensibles a la oxidación en los mostos, y generar el llamado Grape Reaction Product (GRP) o producto de reacción de la uva, que es un compuesto estable e incoloro (Moutounet et al, 2001). Este mecanismo se ha demostrado particularmente en el caso del GSH, pero no en el de otros compuestos presentes en el mosto o en la levadura que poseen un grupo SH (como, por ejemplo, la cisteína o la glutamilmcisteína).

El GSH también puede competir por las o-quinonas con varios tioles (compuestos aromáticos como el 3-mercaptohexanol (3MH), el acetato de 3-mercaptohexanol (3MH-A) y la 4-metil-4-mercaptopentanona (4MMP)) que se encuentran en los vinos en forma de precursores o moléculas aromáticas,

protegiendo así ciertos aromas varietales (Dubourdieu et al, 2003). Hoy en día se conoce bien el efecto del GSH sobre el vino como un antioxidante natural que preserva su aroma y color.

La presencia de altos niveles de glutatión en el vino es importante para la preservación de su aroma y color. El nivel de glutatión puede variar en el mosto dependiendo de las variedades de uva, las prácticas vitícolas y los métodos de elaboración del vino.

### 2.2.10. OTROS ANTIOXIDANTES

Generalmente en la química, los agentes reductores se suelen describir como antioxidantes, como por ejemplo el ácido ascórbico, este compuesto es utilizado como antioxidante en la industria enológica por su alta habilidad para oxidarse en vinos, lo que constituye una protección para impedir que otros constituyentes del vino susceptibles a la oxidación sean oxidados, generando en esa oxidación peróxido de hidrógeno.

### 2.3. MECANISMOS DE OXIDACIÓN DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS

Las oxidaciones pueden producirse por dos mecanismos diferentes: uno de carácter bioquímico enzimático, donde las enzimas oxidantes u oxido-reductasas como catalizadores, son capaces de oxidar determinados compuestos de la vendimia, y otro de carácter no enzimático o químico, donde la oxidación se produce en ausencia de estos catalizadores. Las primeras son muy rápidas y propias de la fase pre-fermentativa de la vendimia, aunque también pueden aparecer en los vinos elaborados insuficientemente protegidos; mientras que las segundas se desarrollan con una mayor lentitud y son características de los vinos una vez elaborados y también en ausencia de unas adecuadas medidas de protección.

Los taninos y polifenoles representan uno de los grupos de sustancias presentes en los mostos y en los vinos más reactivos con el oxígeno. Su oxidación provoca el pardeamiento y la pérdida de color, así como la formación de polímeros y su posterior precipitación.

Es importante recordar que el  $O_2$  no siempre es negativo para la evolución del vino. Pasteur, durante sus estudios, observó que una adecuada aireación era importante para el desarrollo de la fermentación alcohólica. Un aporte de oxígeno bien administrado puede proporcionar ciertas ventajas a los vinos, especialmente a los tintos como la evolución y estabilización del color gracias a las reacciones entre taninos y antocianos, la reducción de la astringencia durante la evolución de los taninos y un mejor desarrollo de la fermentación alcohólica por la producción de nutrientes esenciales para la levadura. Estas

ventajas (sobre todo los dos primeros puntos) se conocen desde los albores de la vinificación y son empleadas en las técnicas de crianza en madera.

Los compuestos fenólicos son los principales compuestos relacionados con los fenómenos de la oxidación, transformándose en otras sustancias que modifican el color de los mostos y de los vinos, produciéndose también cambios y alteraciones del aroma y del gusto de los mismos. Las funciones fenólicas de estos compuestos, presentan un carácter ligeramente ácido al disociarse formando un anión fenolato, el cual se puede oxidar cediendo un electrón transformándose en una semiquinona. En el caso de un monofenol como compuesto de partida, la semiquinona formada puede reaccionar con otro radical, para formar otro fenol como nuevo compuesto de acoplamiento. Si por el contrario fuera un catecol u orto-difenol el compuesto de partida, entonces la semiquinona puede perder un segundo electrón oxidándose y formar una orto-quinona.

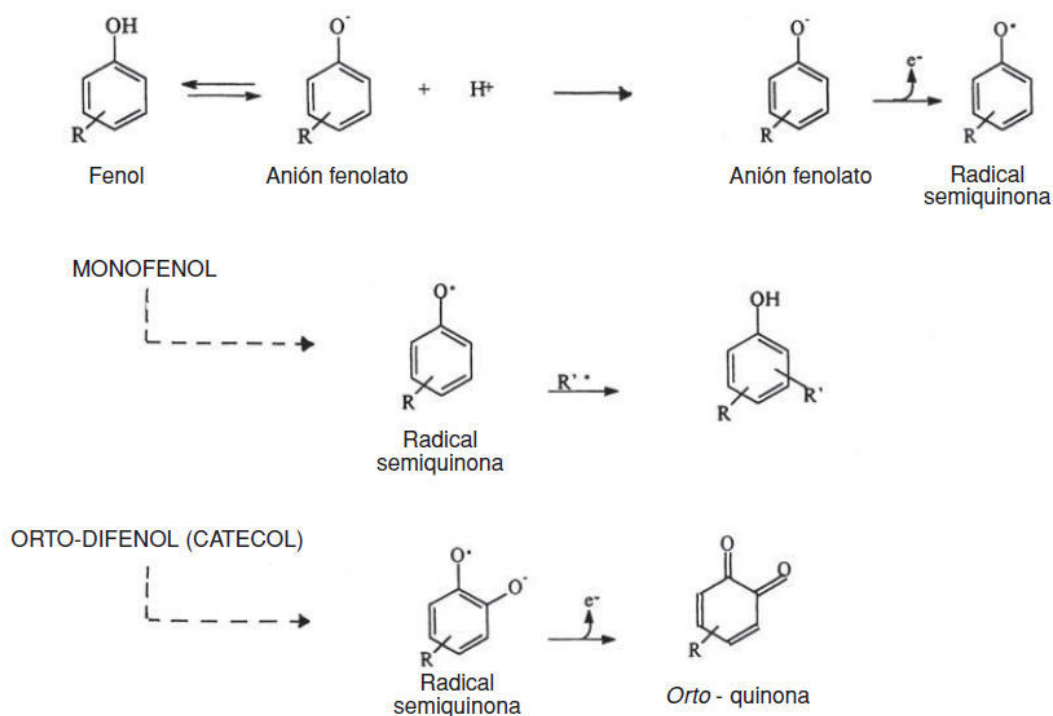


IMAGEN 2.8. MECANISMO DE OXIDACIÓN DE POLIFENOLES (V. CHEYNIER Y C FLANZY)

### 2.3.1. OXIDACIONES ENZIMATICAS

En las células de los tejidos vegetales, los polifenoles se localizan fundamentalmente en las vacuolas, mientras que las enzimas Oxido-Reductasas, en los orgánulos como cloroplastos y mitocondrias. Las

membranas celulares que rodean a estos organelos actúan como barreras, impidiendo que estos dos agentes interactúen, pero durante el proceso de obtención de mosto de vino, las células y sus membranas son destruidas en presencia de oxígeno, provocando que las enzimas participantes de los procesos oxidativos actúen sobre los compuestos Fenólicos.

La oxidación enzimática es un proceso que ocurre a muy alta velocidad. La actividad oxidante será tanto más enérgica cuanto mayor sean:

- ❖ Grado de rotura del grano.
- ❖ Cantidad de O<sub>2</sub> disuelto
- ❖ Cantidad de sustrato (concentración de polifenoles)
- ❖ Cantidad de enzima oxidante; la cual a su vez depende de:
  - Variedad
  - Grado de maduración, donde a mayor maduración mayor es la cantidad.
  - Estado sanitario.
  - Maceración con hollejos y borras gruesas.

A su vez la actividad y la difusión de las enzimas oxidantes se aumentan con el ascenso de la temperatura, cuyo valor óptimo es de 30°C.

Las enzimas participantes en los procesos de oxidación molecular son tres y se las engloba bajo la denominación de oxidasas u oxido-reductasas. Estas enzimas son: la polifenoloxidasas (tirosinasa), la lacasa y la peroxidasa.

### 2.3.1.1. POLIFENOLOXIDASAS

La polifenoloxidasas (PPO), es una metaloenzima ampliamente distribuida en la escala filogenética, encontrándose tanto en organismos procariontas como en eucariotas. Se trata de una enzima ampliamente distribuida en el reino vegetal, siendo detectada en algas, briófitos, pteridófitos, gimnospermas y angiospermas (Mayer y Harel, 1979). La mayoría de las polifenoloxidasas vegetales se encuentran asociadas a membranas, principalmente a las membranas del cloroplasto.

El PPO contiene dos átomos de cobre en el sitio activo que catalizan dos tipos de reacciones usando O<sub>2</sub> como agente oxidante: (a) la o-hidroxilación de monofenoles para producir o-difenoles (actividad cresolasa o monofenol monoxigenasa E.C. 1.14.18.1); y (b) la posterior oxidación de o-difenoles a o-quinonas (actividad catecolasa E.C. 1.10.3.1) [1].

Esta metaloenzima contiene dos átomos de cobre en el centro activo de la molécula, el estado de oxidación del Cu en la polifenoloxidasas es todavía motivo de controversia desde que se estableció este metal como cofactor de la enzima.

En la figura 2.9 se puede ver la estructura de una enzima PPO de origen vegetal obtenida por difracción de rayos X, esta estructura es un monómero de 39 KDa que presenta forma elipsoidal con dimensiones de 55 x 45 x 45 Å.

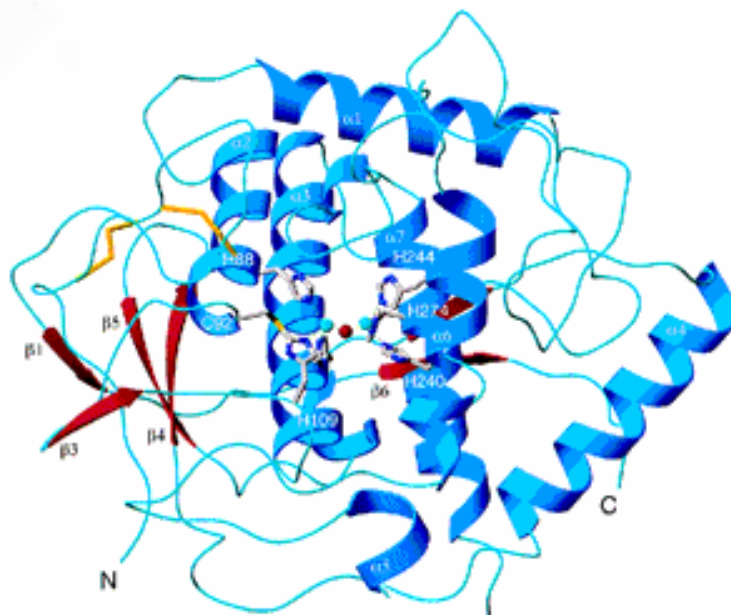


IMAGEN 2.9. REPRESENTACIÓN ESTRUCTURAL DE PPO SEGÚN KLABUNDE Y COL. (1998)

Como se muestra en la figura 2.10 cada uno de los átomos de cobre del centro catalítico (CuA y CuB) se encuentra acomplejado mediante tres residuos de histidina. CuA se encuentra coordinado a los residuos de histidina 88, 109 y 118, mientras que CuB se encuentra unido a los residuos de histidina en las posiciones 240, 244 y 274.

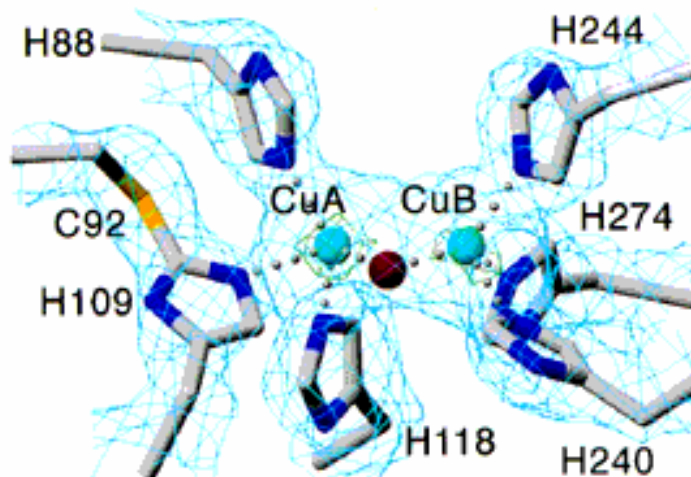
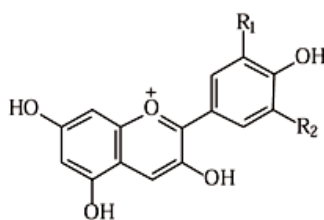


IMAGEN 2.10. ESTEREOGRAFÍA DEL CENTRO ACTIVO DE PPO

El máximo de actividad se presenta a un pH de 4,75 e inactivándose por debajo del valor de 3,5 y también por encima de 7,0. En cuanto a la temperatura su máximo de actividad se encuentra alrededor de los 30° C, descendiendo la

actividad por debajo y por encima de este valor y destruyéndose por arriba de los 70° C. El anhídrido sulfuroso posee una eficaz acción antioxidásica para la tirosinasa, reduciéndose su actividad incluso a pequeñas dosis de 3 a 5 gramos por hectólitro de mosto y destruyéndose por encima de los 8 gramos por hectolitro.

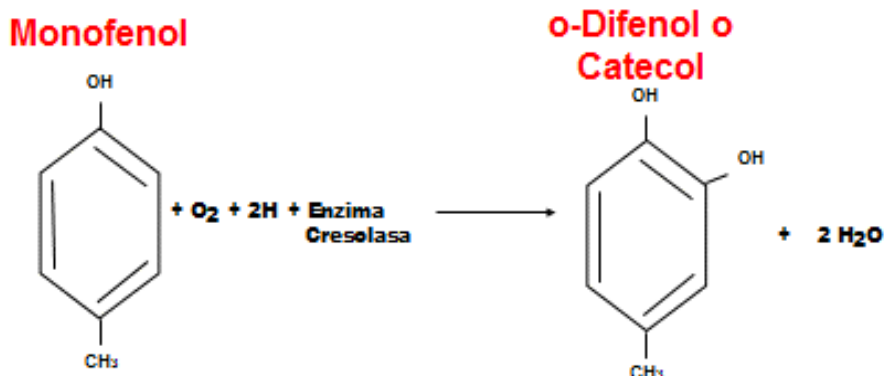
**Sustratos:** Los polifenoles del mosto más fácilmente oxidables son los ácidos hidroxí-cinámicos, especialmente los esteres tartáricos de los ácidos cafeico y en menor cuantía del p-cumárico que son el ácido caftárico, y el ácido ácido cutárico. Una vez formadas las orto-quinonas de alto potencial de óxido-reducción, pueden éstas a su vez oxidar a otros compuestos del mosto (reacción de «oxidación acoplada»), reduciéndose a su estado original como orto-fenoles, iniciándose de nuevo el proceso de oxidación y extendiéndolo a otras sustancias directamente inertes frente a la tirosinasa, tales como el ácido ascórbico, el anhídrido sulfuroso y otros orto-fenoles no sensibles directamente a la acción de la tirosinasa; apareciendo entonces en el mosto un característico color amarillo o pardo e incluso de tonos rojizos. Entre los flavanoles se encuentran fundamentalmente monómeros de catequina y epicatequina, así como las formas más o menos poliméricas que constituyen los taninos catequínicos (proantocianidinas) a través de la ruptura de las uniones intermonoméricas. Los antocianos son sustratos pobres para la PPO, pero pueden reaccionar con las o-quinonas generadas por oxidación enzimática de otros fenoles, especialmente los antocianos-o-difenólicos (delfinidina, cianidina y petunidina) ya que presentan un grupo OH en esas posiciones. La malvidina y peonidina no son sustrato de la PPO debido a no haber grupos OH en los radicales R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub>.



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
CIANIDINA	OH	H
PEONIDINA	OCH <sub>3</sub>	H
DEFFINIDINA	OH	OH
PETUNIDINA	OCH <sub>3</sub>	OH
MALVIDINA	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>
PELARGONIDIN	H	H

IMAGEN 2.11. ESTRUCTURA DE LOS ANTOCIANOS

**Mecanismo de acción de la PPO:** la polifenoloxidasa presenta tres formas enzimáticas “oxi”, “deoxi” y “met” y doble actividad enzimática, monofenolasa (monofenolmonoxigenasa o cresolasa) y difenolasa (catecolasa). La actividad cresolasa consiste en la hidroxilación en la posición orto de monofenoles para formar o-difenoles.

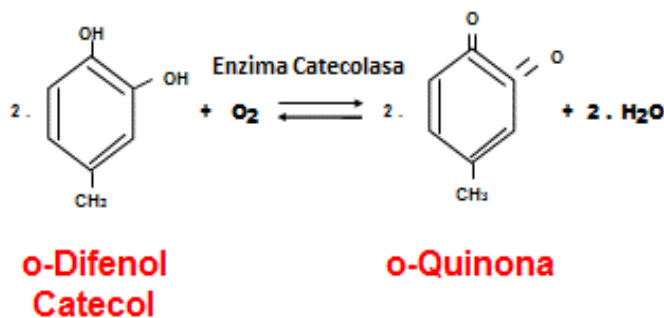


36

- Acción del OXIGENO y el HIDROGENO sobre los MONOFENOLES, que lleva a la formación de ORTODIFENOLES.
- Se trata actividad CRESOLASA de la TIROSINASA.

IMAGEN 2.12. ACTIVIDAD CRESOLASA DE LA PPO

La actividad catecolasa consiste en la oxidación de 2 moléculas de o-difenoles a dos moléculas de o-quinonas y la formación de dos moléculas de agua.



- Acción del OXIGENO sobre los ORTODIFENOLES, que lleva a la formación de QUINONAS.
- Se trata de la actividad CATECOLASA de la TIROSINASA.

IMAGEN 2.13. ACTIVIDAD CATECOLASA DE LA PPO



Las tres formas enzimáticas participan en el ciclo de actividad catecolasa, en el cual la forma deoxi une oxígeno, mientras que las formas oxi y met unen las moléculas de catecol (o-difenol). En el ciclo de la actividad cresolasa solo participan las formas oxi y deoxi, por lo que son necesarias grandes cantidades de catecol para llevarlos de la forma met a deoxi y así la enzima ser capaz de realizar este ciclo.

**Ciclo CATECOLASA (A):** en este ciclo, la enzima PPO, en su forma “deoxi” (1) incorpora una molécula de oxígeno cambiando a la forma “oxi” (2).

Esta forma es capaz de unirse a una molécula de catecol formando el complejo O<sub>2</sub>-catecol-PPO (3), el cual es oxidado posteriormente, pierde dos átomos de hidrógeno a una molécula de o-benzoquinona (4), mientras que la enzima es reducida, gana dos átomos de hidrógeno a su forma “met” (5).

Luego otra molécula de catecol (6) se une a la forma enzimática “met”, liberándose una molécula de agua.

Posteriormente el catecol es oxidado, pierde 1 átomo de hidrógeno, a o-benzoquinona, con liberación de una molécula de agua (7), mientras que la enzima es reducida a su forma “deoxi” inicial (1), finalizando de esta manera el ciclo.

**Ciclo CRESOLASA (B):** este ciclo ocurre de forma paralela al ciclo catecolasa, comenzando desde la forma enzimática “met” (5), por lo que son necesarias grandes cantidades de moléculas de catecol para llevar esta forma enzimática a “deoxi” (1) y así poder realizar ambos ciclos.

Al igual que en la actividad catecolasa, la forma enzimática “deoxi” (1) incorpora una molécula de oxígeno, cambiando a su forma “oxi” (2), lo que permite unir un fenol (monofenol) (8) a un grupo de cobre a través de un átomo de oxígeno del grupo hidroxilo, formando de esta manera el complejo O<sub>2</sub>-fenol-PPO (9).

Posteriormente la posición orto del fenol es hidroxilado por un átomo de oxígeno del oxígeno molecular (O<sub>2</sub>) del complejo (10), ocasionando la consiguiente oxidación del catecol, pierde 1 átomo de hidrógeno, a o-benzoquinona (7) y la reducción de la enzima a su forma “deoxi” inicial (1), completando finalmente el ciclo. Solo el primer ciclo de la hidroxilación del fenol requiere comenzar de la forma “met”, ya que los siguientes ciclos comienzan con la forma “deoxi”.

Las polifenoloxidasas en vegetales y frutos suelen presentar esta doble actividad, por lo que el ciclo completo es responsable de originar o-benzoquinonas, compuestos que influyen de forma importante en la composición de los vinos.

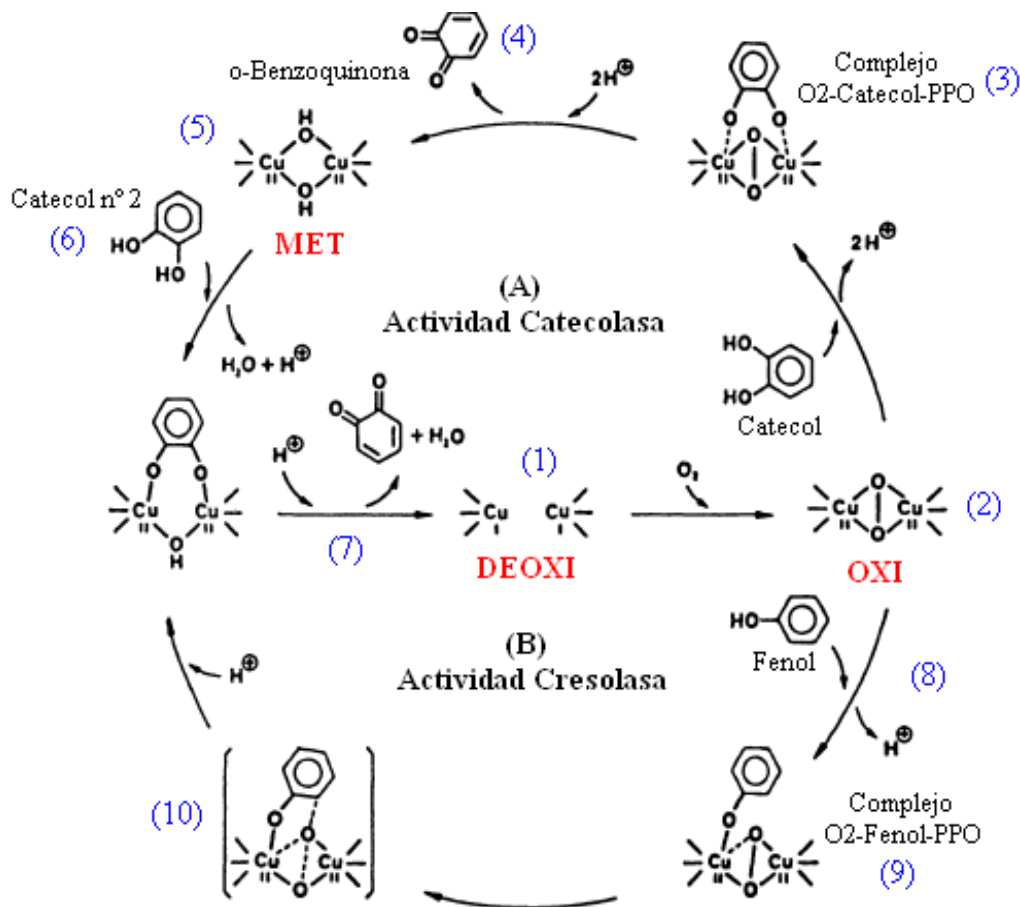


IMAGEN 2.14. MECANISMO PROPUESTO PARA LA OXIDACIÓN ENZIMÁTICA DE O-DIFENOLES Y FENOLES MEDIANTE LA ACCIÓN DE PPO

Además del importante potencial redox de las quinonas, éstas poseen también la propiedad electrófila de añadir otro compuesto llamado nucleófilo a la molécula, formando un nuevo compuesto agregado de ambos. Uno de estos compuestos que pueden reaccionar con las orto-quinonas es el glutatión. Mientras exista glutatión en el medio, las oxidaciones son muy limitadas, pero en el momento en que éste se agota, las moléculas incoloras de GRP pueden ser de nuevo oxidadas por nuevas orto-quinonas y entonces puede aparecer un intenso pardeado del mosto.

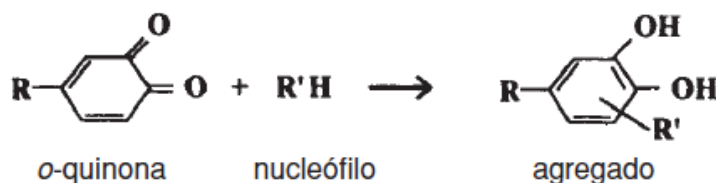


IMAGEN 2.15. REACCIÓN DE ADICIÓN NUCLEÓFILA (C. FLANZY)

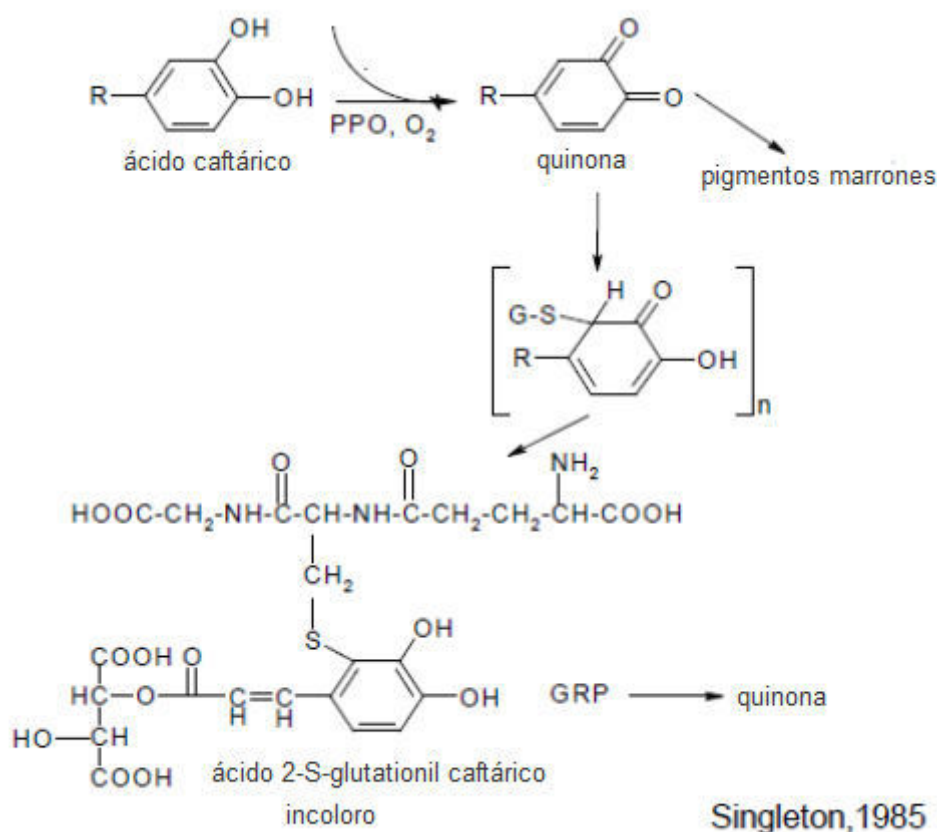


IMAGEN 2.16. REACCIÓN DEL GLUTATIÓN CON LA QUINONA DEL ÁCIDO CAFTÁRICO

### 2.3.1.2. LACASA

Corresponde a una enzima oxido-reductasa extracelular producida por diversos hongos hospederos de plantas, cuyo rol biológico está relacionado con la degradación de lignina, de taninos y xenobióticos orgánicos tóxicos para los organismos vivos (herbicidas, plaguicidas). En uvas viníferas, la lacasa más estudiada proviene del hongo *Botrytis cinerea*, responsable de la podredumbre de la uva. La presencia de esta enzima en las vendimias, se produce de una manera acorde con el grado de ataque de la *Botrytis cinerea*, aunque los síntomas externos de la enfermedad en los racimos no sean evidentes. La producción de la lacasa depende de la presencia de «sustancias inductoras», siendo las más activas las pectinas, el ácido para-cumárico y el ácido gálico, haciendo además variar las características bioquímicas de esta enzima de masa molecular comprendida 36 a 38 KDa. El desarrollo simultáneo durante la infección de la vendimia de otros microorganismos como: *Penicilium*, *Cladosporium*, etc., pueden hacer variar dichos caracteres, al segregar sustancias inhibitoras.

Las lacasas son metaloproteínas con actividad fenoloxidasas que se incluyen en el grupo de las oxidasas multicobre. Catalizan la oxidación de un amplio rango de compuestos aromáticos en un proceso acoplado a la reducción del oxígeno molecular a agua.

Las oxidasas multicobre son un grupo de enzimas involucradas en numerosas reacciones del metabolismo celular, como la fotosíntesis, la fosforilación oxidativa, la homeostasis de iones metálicos, y el catabolismo de nutrientes y compuestos químicos tóxicos (Kosman, 2010).

La mayoría de las lacasas comparten una organización general basada en tres dominios de tipo cupredoxina, unidad básica de las oxidasas multicobre y de otras proteínas del cobre (Nakamura y Go, 2005). Cada uno de estos dominios presenta un tamaño similar.

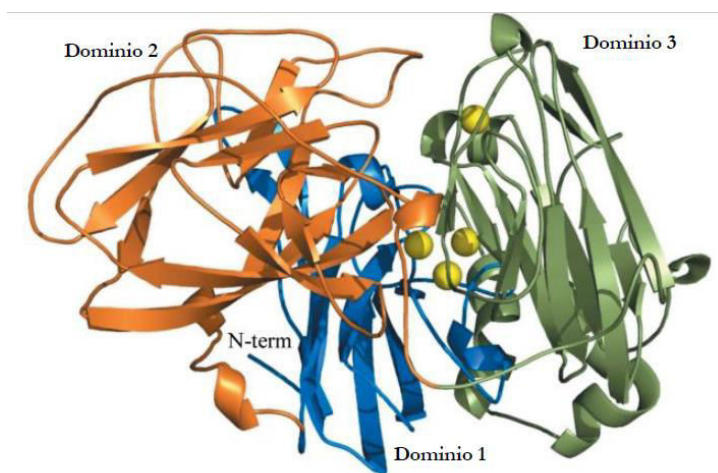


IMAGEN 2.17. ESTRUCTURA TRIDIMENSIONAL DE LA LACASA, DONDE EL COBRE ESTÁ REPRESENTADO COMO ESFERAS AMARILLAS-LYASHENKO ET AL. 2006

El cobre 1 se encuentra coordinado con dos histidinas y una cisteína, además de estar ligado a una metionina, en el caso de lacasas de bacterias, y a una leucina o fenilalanina en el caso de lacasas de hongos (Claus, 2004). Este cobre, posee un alto potencial redox, por lo tanto es el sitio donde ocurre la oxidación de los sustratos reducidos. Las formas Cu (2), Cu (3) y Cu (4), coordinados con histidinas, forman el grupo trinuclear, lugar donde ocurre la reducción del oxígeno molecular y la liberación de agua

**Sustratos:** La lacasa cataliza la oxidación de una gran cantidad de polifenoles, actuando sobre los paradifenoles, así como también sobre los orto-difenoles, los meta-difenoles, los orto-trifenoles, la malvidina-3-glucosido, así como sobre varios monofenoles a excepción del ácido para-hidroxibenzoico y la tirosina, que son sustratos de la PPO razón por la cual la anterior enzima también recibe el nombre de tirosinasa. Además de estos sustratos, un gran número de compuestos fenólicos de la vendimia y del vino, no directamente oxidables por la enzima, pueden ser oxidados, tales como: antocianos, catequinas, epicatequinas, procianidoles y ésteres tartáricos de ácidos fenoles, dando lugar a la llamada «quebra oxidásica». El guaiacol y el 2,6-dimetoxifenol son sus sustratos preferidos.

**Mecanismo de acción de la lacasa:** La reacción catalizada por esta enzima comienza con la oxidación de un *p*-difenoil (pierde un electrón) a un radical libre, con la consecuente reducción de oxígeno molecular en agua.

Posteriormente, este radical puede ser convertido a *p*-benzoquinona, ya sea por esta enzima o por deprotonación espontánea. Asimismo, las *p*-benzoquinonas y radicales libres generados pueden polimerizarse (unión en cadena de pequeñas moléculas o monómeros) entre sí o con otros flavonoides originando precipitados de color marrón o pardo, o también condensarse (unión de 2 moléculas para formar una) con el Glutatión.

41

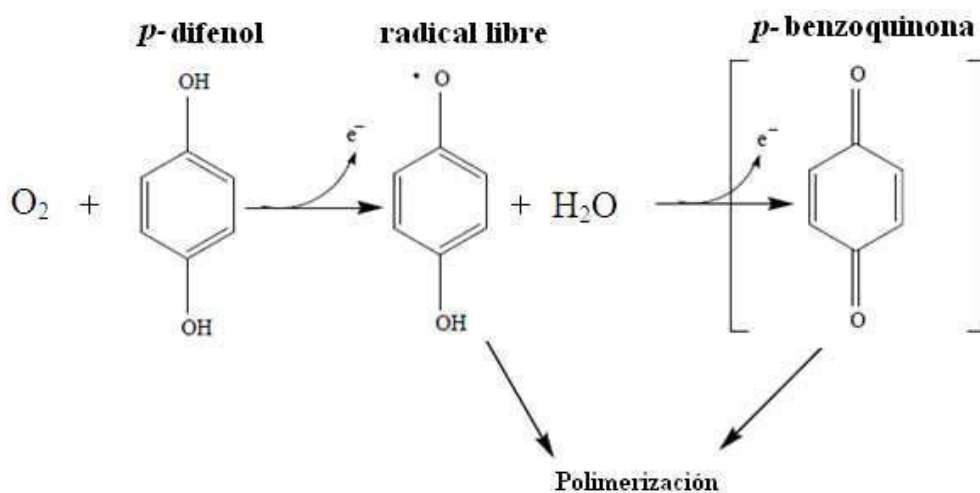


IMAGEN 2.18. MECANISMO DE REACCIÓN DE LA LACASA

El máximo de actividad de la lacasa se produce en un entorno de pH de 4,0 a 4,8, decreciendo fuertemente la actividad hasta valores cercanos a 2,0 y 7,5 a 8,0. La mayor estabilidad en el tiempo se encuentra en el pH de 3,4. En cuanto a la temperatura, el máximo de actividad se alcanza sobre los 40° a 50° C, decreciendo por debajo y por encima de estos valores, pudiendo ser destruida a temperaturas no muy elevadas de 60°C y dependiendo del pH del mosto.

A diferencia con la tirosinasa, la lacasa es una enzima bastante resistente a la acción del anhídrido sulfuroso, precisándose dosis muy altas para conseguirse su inactivación. Por otra parte, al tratarse de una enzima de fácil extracción y de gran solubilidad, pasa al mosto en las operaciones de estrujado y prensado, debiendo prestarse especial atención a las fracciones de últimas prensadas más fácilmente oxidables. Los tratamientos con bentonita, bastante eficaces para la tirosinasa, no lo son tanto con la lacasa, pues solamente disminuyen su actividad de una manera muy pequeña. La fermentación alcohólica no merma la actividad de esta enzima, por lo que a diferencia con la tirosinasa, los vinos resultantes pueden ser oxidados con gran facilidad, debiendo conservarse estos con altos niveles de anhídrido sulfuroso libre para evitar su pardeado.

### 2.3.1.3. PEROXIDASA (PDO)

Las peroxididasas se encuentran ampliamente distribuidas en plantas, animales, y microorganismos. En la uva, esta enzima se localiza en las vacuolas de las células, y su actividad depende del peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) disponible en el medio (Li et al., 2008). Su acción como enzima oxidante en la uva ha sido considerada menos importantes que las anteriores, razón por la cual ha sido menos estudiada, aunque algunos estudios sostienen que se potencia cuando coexiste con la PPO.

Prácticamente todas las peroxididasas son hemoproteínas que utilizan como cofactor un grupo hemo. La peroxidasa es una enzima que cataliza la oxidación de ciertos compuestos dadores de hidrogeno por medio de peróxidos. Presenta como grupo prostético un grupo hemo, cuyo átomo central de hierro forma complejo con diferentes compuestos, como cianuros y la hidroxialmina inhibiéndose su actividad su actividad enzimática. La gran afinidad por el  $H_2O_2$  hace que se pueda unir al hierro del grupo hemo por los dos planos del centro activo, el superior y el inferior, dando lugar a una inhibición de la enzima por exceso de sustrato ya que cuando ambas posiciones están ocupadas por el peróxido de hidrogeno no es posible la unión del sustrato.

La temperatura de inactivación de estas enzimas se produce a partir de los  $68^\circ C$ , correspondientes a la desnaturalización de la parte proteica de las mismas. El máximo de actividad corresponde a un pH de 5,4, valor excesivamente alto para los mostos, donde la actividad se reduce hasta un 25 a 50 por 100, y por lo tanto quedando los mostos prácticamente fuera del peligro de oxidación producido por estas enzimas.

**Sustratos:** la peroxidasa cataliza reacciones bisustrato de carácter redox, utilizando un peróxido como oxidante y un segundo sustrato de características reductoras que es oxidado por el peróxido. La naturaleza del segundo sustrato puede ser muy distinta, entre ellos se incluyen fenoles, aminas aromáticas, moléculas orgánicas complejas. Esta pobre especificidad para el sustrato reductor hace que la afinidad sea también pequeña.



**Mecanismo de acción:** Esta enzima cataliza la oxidación de ciertos compuestos, como fenoles y aminas aromáticas (ceden electrones), por medio de peróxidos ( $H_2O_2$ ), originando complejos coloreados y agua (Li et al., 2008). Por ejemplo en el caso del fenol guaiacol 4 moléculas son oxidadas por medio de 4 moléculas de peróxido de hidrógeno, reacción catalizada por la enzima peroxidasa. De este proceso, se origina un complejo coloreado de tetraguaiacol y 8 moléculas de agua.

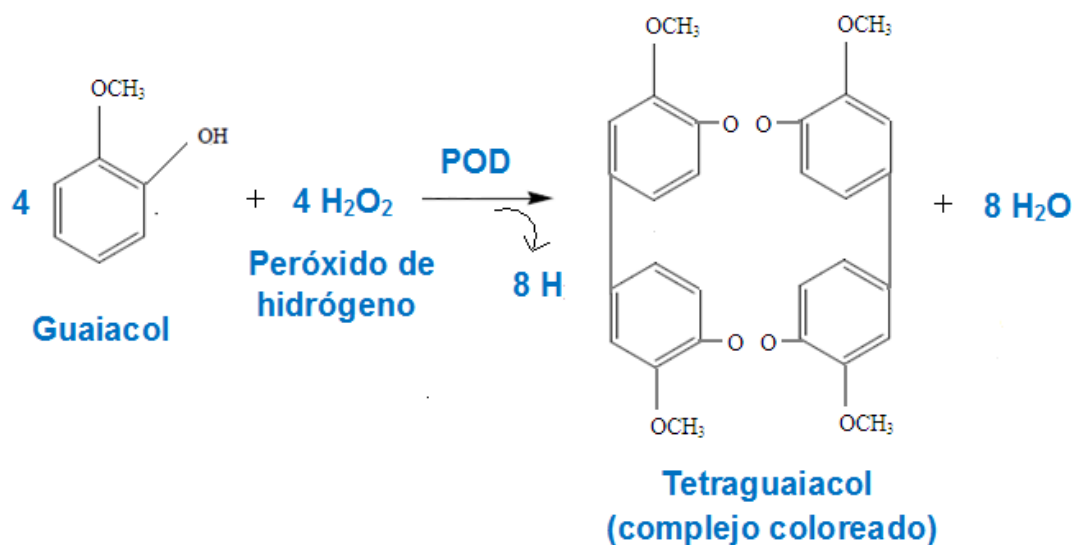


IMAGEN 2.19. OXIDACIÓN DEL GUAIACOL EN PRESENCIA DE POD

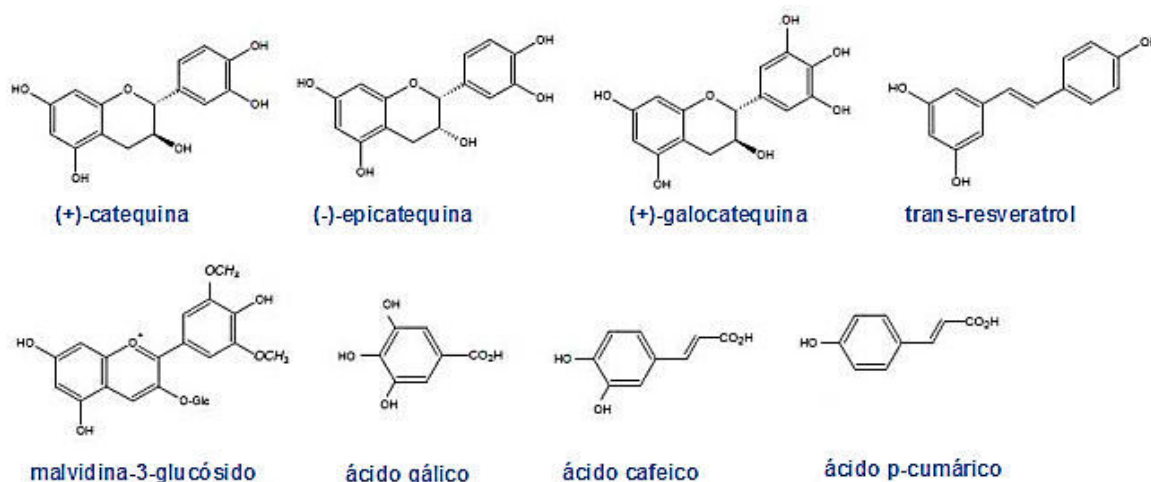
### 2.3.2. OXIDACIÓN NO ENZIMÁTICA

A diferencia de las reacciones en los mostos, la oxidación en los vinos está ligada principalmente a reacciones de oxidación no enzimática. Como en el caso de los mostos, esta reacción de los compuestos polifenólicos con el oxígeno provoca el pardeamiento y la pérdida de color por precipitación de la materia colorante. Estas reacciones de oxidación también dan lugar a la formación de compuestos volátiles que son responsables de cambios aromáticos.

Estas reacciones también llamadas oxidaciones químicas, ocurren en ausencia de la activación de una enzima, por lo que la oxidación de los fenoles se produce sólo por reacciones químicas de auto oxidación. La oxidación química ocurren mayormente en el vino fermentado y transcurren en forma mucha más lenta que las oxidaciones enzimáticas, siendo catalizadas por metales de transición. Estos metales de transición como el hierro y el cobre están presentes en el vino, originándose por la captura de la planta desde el suelo o por el equipamiento enológico en bodega, sin embargo esta última fuente ha disminuido por el uso de equipos de acero inoxidable, lo que lleva también a una disminución de los niveles de estos metales en el vino encontrándose valores en torno a 0-5 mg/L de hierro y 0,1-0,3 mg/L de cobre, aunque aún estas bajas concentraciones pueden provocar un deterioro oxidativo en los vinos.

**Sustratos:** los sustratos oxidables son todos aquellos polifenoles con un anillo catecol (o-difenol) o grupo 1,2,3-trihidrobenceno, como por ejemplo la (+)-catequina, (-)-epicatequina, (+)-galocatequina, antocianos (malvidina), reverastrol, ácido benzoicos (ácido gálico y sus ésteres), ácidos cinámicos

(ácido cafeico y ácido p-cumárico) y sus esteres tartáricos (ácido caftárico y ácido cutárico).



44

IMAGEN 2.20. ESTRUCTURA QUÍMICA DE LOS PRINCIPALES SUSTRATOS DE LA OXIDACIÓN NO ENZIMÁTICA

**Mecanismo de acción:** el mecanismo tradicional describe que la auto oxidación de los compuestos polifenólicos a quinonas con la participación de oxígeno con producción de peróxido de hidrógeno capaz de transformar el etanol a acetaldehído.

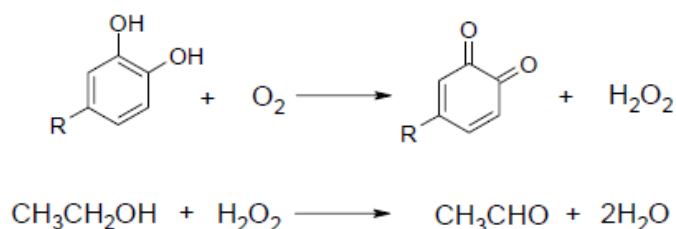


IMAGEN 2.21. MODELO DE OXIDACIÓN DEL VINO DE WILDENRAT Y SINGLETON 1974

Este modelo muestra algunos inconvenientes, como que los polifenoles son ácidos débiles que se encuentran protonados, al pH del vino y por lo tanto están imposibilitados de reaccionar directamente con oxígeno molecular, por lo tanto se requiere la presencia de radicales libres y un agente catalizador razón por la cual ha sido complementado con nuevos antecedentes que incluyen la participación de especies reactivas de oxígeno, el rol de los metales de transición como catalizadores, y posibles reacciones secundarias. Los nuevos modelos de oxidación atribuyen un rol esencial a los iones metálicos en la formación de radicales  $\cdot\text{OH}$ , siguiendo la reacción de Fenton:





Los radicales hidroperoxilos, originados a partir de la reducción del oxígeno, que no son tan reactivos oxidan a los polifenoles con la consiguiente formación de peróxido de hidrógeno que en presencia de hierro, es convertido en radicales hidroxilo  $\cdot\text{OH}$ , los cuales son capaces de oxidar una gran variedad de compuestos sustituidos con grupos hidroxilos, entre ellos el etanol, produciendo compuestos carbonilos y regenerando radicales hidroperoxilo para un nuevo ciclo oxidativo.

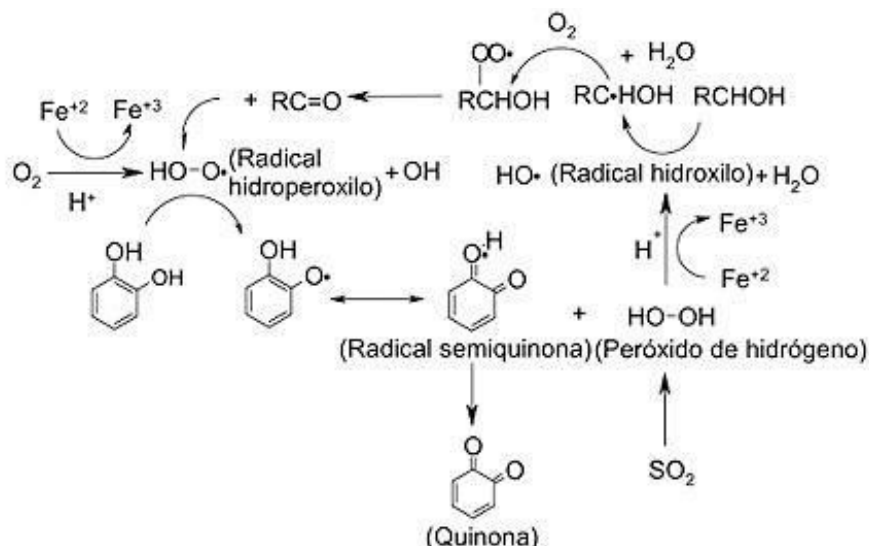


IMAGEN 2.22. MECANISMO DE OXIDACIÓN DE VINO Y REACCIONES POSTERIORES

Las reacciones posteriores también pueden influir modificando no solo sus características sensoriales, sino también su capacidad de envejecer apropiadamente. Los productos primarios de oxidación, las quinonas pueden reaccionar con una serie de constituyente del vino nucleófilicos como fenoles tipo flavonoides y compuestos azufrados, con los flavonoides se produce una forma de polimerización (Singleton 2000), mientras que las reacciones de las quinonas con compuestos azufrados puede determinar la reducción del aroma (Blanchard et al. 2004).

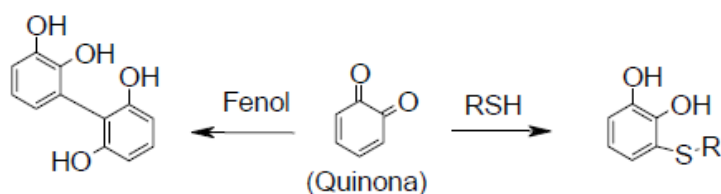


IMAGEN 2.23. REACCIONES A PARTIR DE QUINONAS GENERADAS POR OXIDACIÓN.

El acetaldehído puede participar en reacciones de condensación con flavanoles y antocianinas debido a su naturaleza electrofílica produciendo estructuras coloreadas más estables.

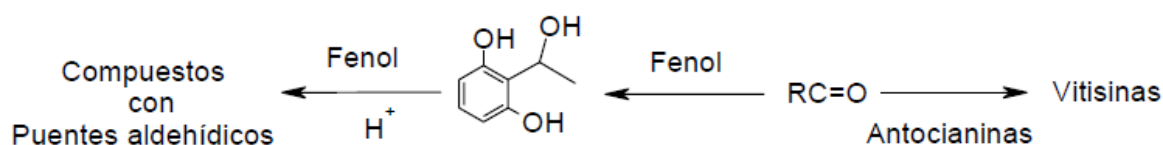
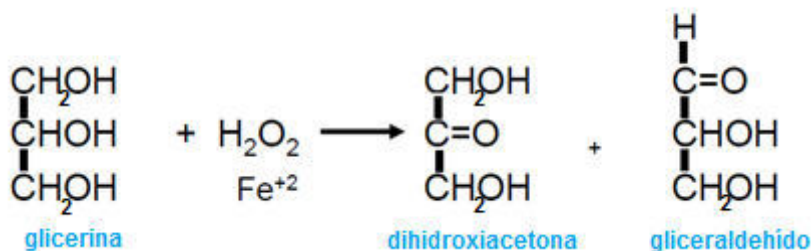
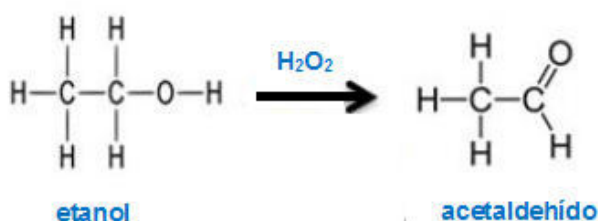


IMAGEN 2.24. REACCIONES A PARTIR DE QUINONAS GENERADAS POR OXIDACIÓN

Por otra parte, debido a su no selectividad, el radical hidroxilo reacciona con la especie más próxima, en función de su concentración, como el etanol, ácido tartárico, glicerol, azúcares y ácidos orgánicos. Algunas de estas reacciones se presentan a continuación:

46



Como conclusión en la oxidación de los polifenoles intervienen tres sistemas, el sistema oxido-reductor de los compuestos fenólicos, el óxido-reductor de oxígeno y el sistema férrico-ferroso como catalizador de las reacciones de oxidación mediadas por el oxígeno molecular.

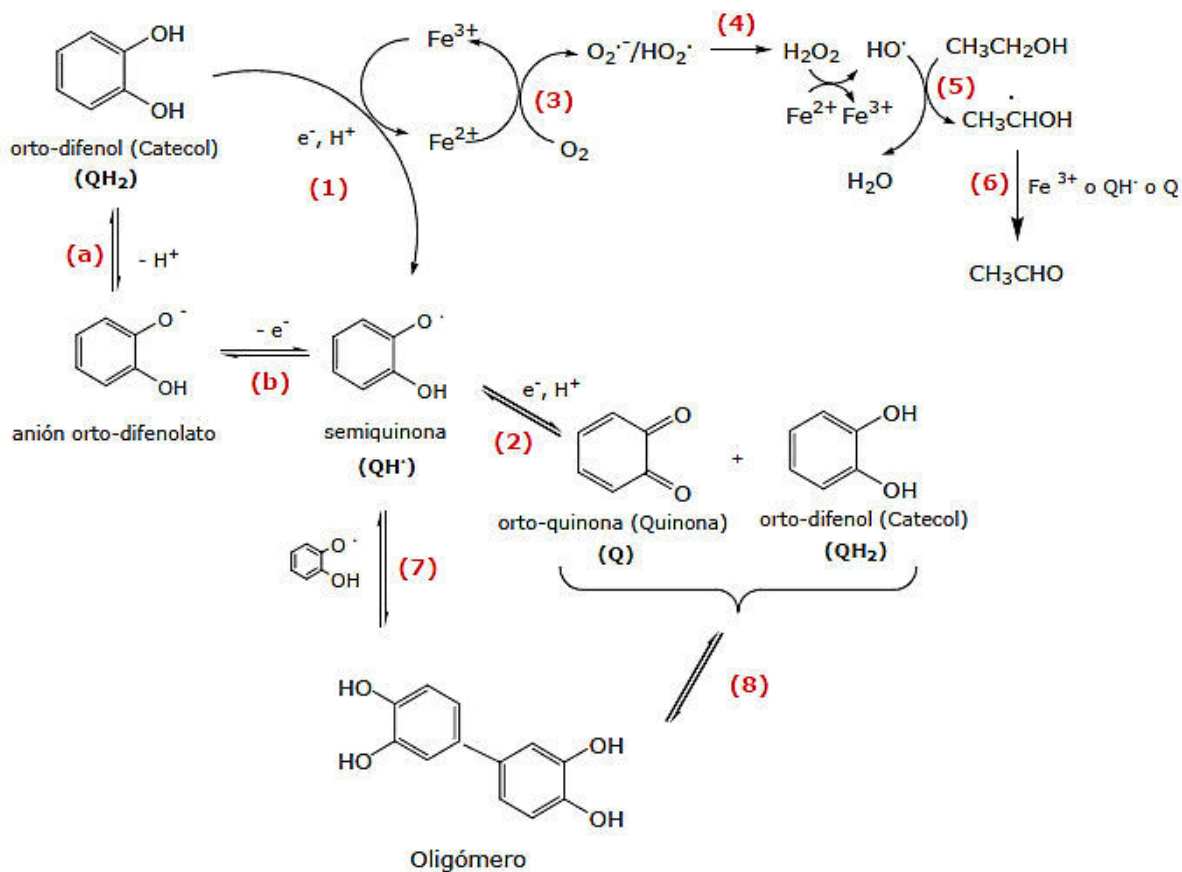


IMAGEN 2.25. MECANISMO GLOBAL DE OXIDACIÓN EN EL VINO.

## CÁPITULO 3: OXIDACIÓN CONTROLADA DE MOSTOS BLANCOS

### 3.1. INTRODUCCIÓN

Aun cuando las oxidaciones en vino han sido estudiadas desde hace mucho tiempo, en los últimos años se han producido importantes avances en materia de la medida del oxígeno, su gestión en bodegas, y los mecanismos químicos que explican muchos cambios organolépticos observados durante la oxidación y el envejecimiento. Sin embargo, y a pesar de dichos avances, todavía se requiere de más información fundamental en relación a la oxidación y las necesidades específicas de oxígeno que cada vino tiene, con el fin de generar las estrategias que permitan predecir y controlar los efectos del oxígeno en vinos.

La hiperoxidación es una técnica propuesta en el año 1977 por Müller Spath, en la cual se persigue eliminar del mosto el este sustrato oxidable, mediante la voluntaria oxidación de los compuestos fenólicos oxidables que contiene, para luego ser separados por clarificación en el proceso de desfangado, e impidiendo oxidaciones.

### 3.2. HIPEROXIDACIÓN

En los mostos la acción del oxígeno es amplia y los polifenoles son el principal sustrato para la oxidación enzimática debido a la tirosinasa (en uvas sanas) y laccasa (en uvas con *Botrytis*). El mecanismo de la acción del oxígeno es una oxidación acoplada, los ácidos hidroxí-cinámicos son transformados en presencia de la tirosinasa, en o-quinonas y éstas pueden condensarse con el glutatión dando 2-S-glutationil-cafeonil-tartárico (GRP) incoloro o bien polimerizarse entre sí con otros flavonoides originando precipitados de color marrón. El GPR formado no es sustrato de la tirosinasa pero si de la laccasa, razón por la cual los mostos botritizados consumen más oxígeno que los mostos sanos.

La sensibilidad de un mosto al cambio de color está determinada por la relación de la concentración de ácidos hidroxí-cinámicos y la concentración de glutatión. Variedades con una relación  $AH/GSH < 1$  como Chenin Blanc o Colombard son pocos sensibles al cambio de color, una relación  $1 < AH/GSH < 3$ , indica sensibilidad al cambio de color como es el caso de Chardonnay, Sauvignon Blanc, Pinot Noir, Pinot Blanc y Ugni Blanc entre otros y por último una relación  $AH/GSH > 3$  es indicativo de variedades altamente sensibles al cambio de color por ejemplo Riesling.

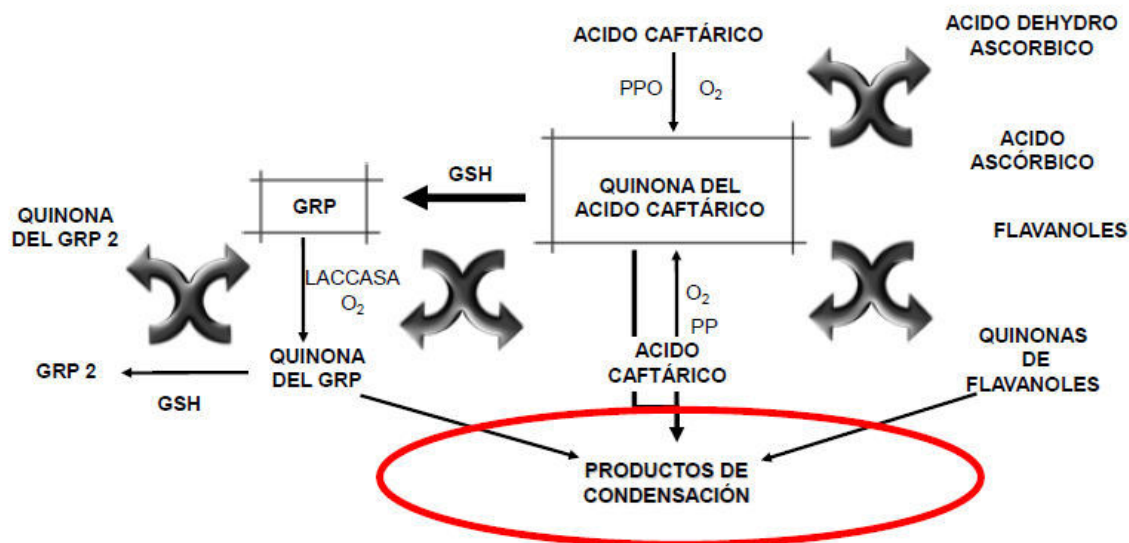


IMAGEN 3.1 MECANISMO DE OXIDACIÓN DE MOSTOS-RIGAUD ET AL.1990

La hiperoxidación produce unos efectos secundarios negativos, especialmente en lo referente a la total destrucción de los aromas varietales, por lo que es una técnica inaplicable para mostos de variedades aromáticas o muy aromáticas, aunque sin embargo puede tener un cierto interés sobre mostos de variedades neutras, donde los caracteres aromáticos de sus vinos, casi exclusivamente se generan en el proceso de fermentación.

Antes de realizar el tratamiento de oxidación, se aconseja realizar un ensayo de laboratorio específico, donde se dosifica oxígeno a determinados intervalos de tiempo, y midiendo la evolución de los polifenoles por absorbancia a 280 nm de longitud de onda, que permite conocer la cantidad exacta de oxígeno a añadir al mosto, sumando a la dosis resultante la cantidad de 10 mg/litro para obtener mejores resultados.

La práctica de hiperoxidación permite reducir la concentración de polifenoles durante la fase pre fermentativa con la finalidad de estabilizar los mostos blancos frente a la oxidación.

Durante el proceso de elaboración, la actividad de la enzima tirosinasa responsable de la oxidación en los mostos sanos, disminuye progresivamente, por eliminación o inactivación, y también por consumirse durante la oxidación de los compuestos fenólicos.

Esta técnica se basa en la oxidación enzimática de los polifenoles presentes en el mosto mediante la adición de oxígeno puro y luego la separación de estos productos oxidados en la etapa de desfangado.

### 3.3. OXIDACIÓN CONTROLADA

La técnica de hiperoxidación se ha mejorado desde que Müller Spath la propuso, en la actualidad se busca optimizarla agregando la cantidad justa y necesaria de oxígeno dependiendo de las condiciones de la vendimia y la variedad con la que se está trabajando con la finalidad de obtener el mejor producto final posible.

En el mercado existen herramientas que permiten determinar el consumo residual de oxígeno de forma optimizada para evitar la oxidación del vino tras la fermentación alcohólica, estas dosis han sido el resultado de estudios comparativos tratando el vino con diferentes cantidades de oxígeno y evaluando luego mediante análisis sensorial los vinos obtenidos en un gran número de micro vinificaciones, que incluyeron también la vinificación de un testigo sulfitado.

La cinética de consumo de oxígeno varía de un mosto a otro y puede atribuirse a varios factores: tratamientos pre fermentativos del mosto, variedad, estado sanitario de la vendimia, contenidos de polifenoles y contenido de glutatión. En la siguiente tabla se presentan las dosis mínimas y máximas para distintos mostos en función de su variedad y zona de producción.

Cepa	Zona	Dosis mínima (en ml/l)	Dosis máxima (en ml/l)
Chardonnay	Languedoc	6 ml/l	35 ml/l
Chardonnay	Champagne	10 ml/l	21 ml/l
Chardonnay	Bourgogne	18 ml/l	30 ml/l
Pinot Noir	Champagne	13 ml/l	21 ml/l
Pinot Meunier	Champagne	11 ml/l	22 ml/l
Sauvignon	Languedoc	2 ml/l	23 ml/l
Viognier	Languedoc	3 ml/l	4 ml/l
Mauzac	Languedoc	9 ml/l	18 ml/l
Marsanne	Languedoc	1 ml/l	6 ml/l
Colombard	Gascogne	4 ml/l	29 ml/l
Gros Manseng	Gascogne	6 ml/l	65 ml/l
Petit Manseng	Gascogne	8 ml/l	51 ml/l
Merlot rosé	Languedoc	3 ml/l	12 ml/l
Syrah rosé	Languedoc	2 ml/l	17 ml/l

TABLA 3.1. DOSIS DE OXÍGENO SEGÚN LA VARIEDAD Y ZONA DE PRODUCCIÓN- VIVELYS

Para que la medición del consumo residual de oxígeno sea representativa debe hacerse en el tanque de desfangado donde se va a realizar la oxigenación, el mosto debe permanecer sin sulfitar o de ser necesario con una dosis mínima que no produzca la inactivación enzimática, dosis de 50 mg/L disminuye la actividad de la tirosinasa en un 75 al 90%.

La dosis determinada es adicionada en el tanque de desfangado por medio de un micro oxigenador, por barboteo se agrega el oxígeno al mosto, 20-30 litros de O<sub>2</sub>/hl mosto, con el agregado de oxígeno se produce una oxidación rápida de diversos compuestos polifenólicos, en especial los ácidos hidroxí-cinámicos, con pardeamiento y formación de turbidez. Estos coágulos marrones se eliminan por decantación, centripetación, centrifugación, clarificación, flotación y/o filtración. En todos los casos, el desfangado debe dar lugar a una turbidez inferior a 70 NTU, para garantizar la eliminación de los coágulos formados por los polifenoles oxidados que pueden volverse a solubilizar en presencia de etanol. (Scheneider 1998)

A continuación se adiciona SO<sub>2</sub> (3-4 g/hl) para eliminar riesgos microbiológicos. Luego se adicionan las levaduras, nutrientes y demás aditivos necesarios para la fermentación alcohólica. (Vinificaciones clásicas y no convencionales I, Ángel Antonio Mendoza, Revista Enología, Febrero de 2011)



IMAGEN 3.2. ESQUEMA DE PROCESO DE LA OXIDACIÓN CONTROLADA

### 3.3.1. EFECTO SOBRE EL CONTENIDO DE POLIFENOLES DE LA OXIGENACIÓN DE LOS MOSTOS

La oxidación de mosto produce una disminución en el contenido de polifenoles totales y ácidos hidroxí-cinámicos, así como un aumento de la D.O 420nm.

Visualmente, los mostos presentan grandes variaciones de color. En la década del 90 se presentó un estudio denominado Elaboración de vinos blancos mediante hiperoxidación realizado en La Rioja, España, por J. Martínez, R. López, P. Santamaría y A. Comí pertenecientes al Centro de Investigaciones Agrarias de la Comunidad Autónoma de La Rioja, en el estudio se hicieron ensayos de vinificación de mostos tratados con oxígeno y el procedimiento fue el siguiente:

La materia prima utilizada en ambos años fue de la variedad Viura, el mosto se extrajo mediante estrujado suave y prensado con prensa horizontal, en cada caso se realizaron vinificaciones de 100 litros y se realizaron tres ensayos:

- Ensayo 1: testigo, desfangado con sulfuroso
- Ensayo 2: hiperoxidación y desfangado con sulfuroso
- Ensayo 3: hiperoxidación y desfangado sin sulfuroso

Cada ensayo se realizó por triplicado.

La hiperoxidación se realizó en tres adiciones de oxígeno puro en el mosto recién obtenido, mediante un difusor de acero inoxidable y durante un período de 2,50 horas. Al mosto del año 1993 se le realizó una corrección de acidez de 0,75 g/L de ácido tartárico.

Parámetros analíticos	Mosto inicial	Mostos desfangados		
		1- Testigo	2- Hiperox + SO <sub>2</sub>	3- Hiperox
Grado probable	13,00	13,05	13,10	13,10
pH	3,18	3,18	3,18	3,22
Acidez T (g/l)	6,25	6,15	6,18	6,14
Ác. tartárico (g/l)	6,07	5,82	5,92	6,02
Ác. málico (g/l)	1,73	1,70	1,72	1,75
Potasio (mg/l)	1495	1478	1422	1412
Densidad	1,095	1,094	1,094	1,094
Turbidez (NTU)	---	199	204	183
O <sub>2</sub> (mg/l)	1,40	0,64	7,07	0,94
SO <sub>2</sub> L/T (mg/l)	---	22/68	14/45	---
I. Folin	4,3	5,7	4,0	2,8
IPT 280 nm	7,95	6,74	6,03	5,65
D.O. 320 nm	4,79	5,27	3,89	2,50
D.O. 420 nm	0,75	0,18	0,16	0,28
Color		Amarillo pálido	Amarillo dorado	Marrón oscuro

Composición de los mostos, año 1992

Parámetros analíticos	Mosto inicial	Mostos desfangados		
		1- Testigo	2- Hiperox + SO <sub>2</sub>	3- Hiperox
Grado probable	11,44	11,47	11,47	11,47
pH	3,23	2,93	2,96	2,92
Acidez T (g/l)	6,22	7,50	7,50	7,50
Ác. tartárico (g/l)	5,33	7,04	7,18	7,03
Ác. málico (g/l)	1,91	1,79	1,49	1,74
Potasio (mg/l)	1207,5	1168	1172,5	1155
Densidad	1,085	1,084	1,084	1,084
Turbidez (NTU)	320	24	36	40
O <sub>2</sub> (mg/l)	0,7	2,5	12,6	1,6
SO <sub>2</sub> L/T (mg/l)	---	31/74	25/62	---
I. Folin	4,76	4,33	3,11	1,99
IPT 280 nm	12,67	6,56	6,30	6,24
D.O. 320 nm	6,46	4,60	3,71	2,81
D.O. 420 nm	1,98	0,29	0,52	0,73
Color		Amarillo pálido	Amarillo dorado	Marrón oscuro

Composición de los mostos, año 1993

El contenido de polifenoles se determinó por el índice de Folin y el IPT a 280 nm, el de ácidos hidroxí-cinámicos por D.O. a 320 nm.

Los resultados obtenidos mostraron en ambos años una disminución importante del contenido de ácidos hidroxí-cinámicos (cerca del 50%) y polifenoles totales, sobre todo en los mostos tratado con oxígeno y sin anhídrido sulfuroso y presentaron un aumento del color y por lo tanto un aumento de la D.O a 420 nm.



### 3.3.2. EFECTO SENSORIAL DE LA OXIGENACIÓN DE LOS MOSTOS.

En varias publicaciones se ha descrito la reducción de las notas amargas y la astringencia, estudios realizados por la empresa Vivelys, también destacan un aumento de suavidad asociado a la adición de oxígeno que influye sobre el carácter graso del vino obtenido, que aumenta al aumentar la cantidad de oxígeno hasta un valor máximo por encima del cual el vino pierde cuerpo. La figura siguiente muestra la puntuación de viscosidad atribuida por un panel de cata entrenado a vinos de 3 variedades tratadas con dosis crecientes de oxígeno y vinificados en igual forma.

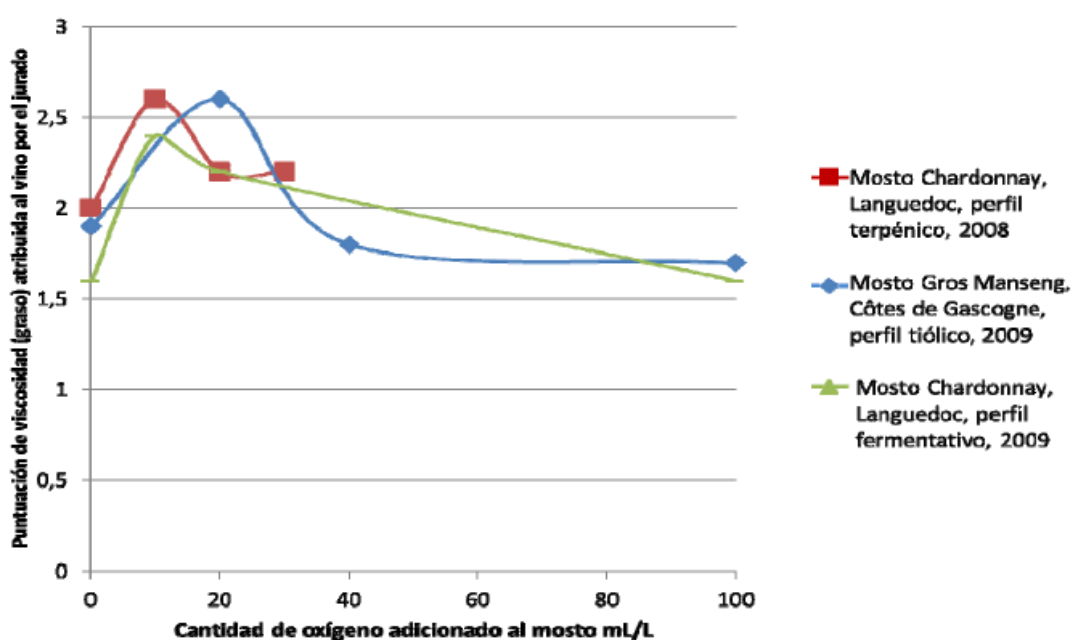


IMAGEN 3.3. PUNTUACIÓN DE VISCOSIDAD VS. CANTIDAD DE OXÍGENO AGREGADO

En cuanto al efecto sobre el aroma, los estudios realizados indican que puede haber un cambio en el perfil aromático, provocando un aumento de percepción de madurez de la fruta y un enmascaramiento de los aromas vegetales, si la dosis de oxígeno es muy alta, mayor a la calculada en el consumo residual, pueden aparecer notas oxidativas que tapan los aromas varietales.

La adición de oxígeno no provoca pérdida de moléculas tíolicas, ya que estas se revelan en la fermentación alcohólica y sus precursores no son sensibles a la oxidación. En los vinos de carácter terpénico o fermentativo, no se producen cambios significativos desde el punto de vista aromático ya que los precursores y aromas terpénicos son poco sensibles a la oxidación y los fermentativos aún no se han formado, pero un exceso de oxígeno puede provocar que aparezcan notas de oxidación que perjudiquen el perfil final del producto. Por eso es indispensable determinar con precisión la dosis óptima de oxígeno. Los vinos



con un perfil tiol vegetal (hoja de tomate) sufrirán un cambio de perfil hacia una nota tiol tropical (pomelo).

La diferencia inducida por el tratamiento con oxígeno se acentúa con el tiempo, los vinos oxigenados tienen tendencia a cerrarse los meses siguientes a la vinificación y pasado este tiempo pueden presentar en general intensidades más elevadas que los testigos, por lo tanto es importante tener eso en cuenta para determinar el momento de las catas a la hora de evaluar el perfil aromático.

## CAPITULO 4: CRIANZA DE VINOS EN BARRICA

### 4.1. INTRODUCCIÓN

La definición de «crianza» se aplica a los vinos sometidos a un proceso de envejecimiento de cierta duración, o mejor dicho de evolución, que modifica y mejora los caracteres organolépticos del vino debido a fenómenos de origen físico, químico y biológico. No existe un solo tipo de crianza aplicable a los vinos, si no que ésta puede ser realizada en distintos envases y por lo tanto sometida a diferentes condiciones de envejecimiento, donde destacan especialmente los niveles de oxidación o de reducción; pudiendo entonces clasificarse según las siguientes categorías:

— **Crianza oxidativa.** Donde los vinos envejecen largo tiempo en condiciones de oxidación, generalmente dentro de envases de madera, siendo a menudo encabezados con alcohol vínico como factor de estabilidad biológica para su crianza. En este tipo de vinos se aplica la norma de «el oxígeno es quien hace el vino».

— **Crianza reductora.** Los vinos evolucionan en ausencia casi total del aire, aplicando técnicas que impiden la oxidación de los vinos, siendo conservados en depósitos herméticos y más tarde en botellas bien cerradas, y donde sus caracteres se desarrollan por lo tanto en un ambiente reductor. Para estos vinos se dice que «el oxígeno es enemigo del vino».

— **Crianza mixta.** Se trata de un sistema de envejecimiento que participa de los dos anteriores, primero siendo el vino sometido a una crianza ligeramente oxidativa en envases de madera, generalmente bajo el formato de barricas de 225 a 300 litros de capacidad, y luego a un período más largo de crianza reductora en botella, donde los vinos terminan de alcanzar toda su plenitud. En este tipo de vinos se aplica la norma de «el oxígeno es necesario, pero solo en pequeñas cantidades, y su posterior ausencia termina de hacer el vino».

Podemos decir entonces que criar un vino realizar una gestión inteligente y bien definida del moldeado del vino.

No todos los vinos son aptos para la crianza, deben tener una serie de características (cantidad suficiente de taninos, acidez, cuerpo, grado alcohólico, poca predisposición a la oxidación) que favorezcan a su evolución.

### 4.2. LA CRIANZA EN BARRICAS DE ROBLE

Al igual que para elaborar un buen vino es imprescindible contar con uvas de calidad, una barrica necesita materia prima óptima para poder ejercer correctamente su función. El roble produce una madera cuyas características han desbancado a otros árboles como materia prima para la fabricación de barricas. El roble pertenece al género **Quercus**, que a su vez posee 150

especies diferentes, pero sólo una mínima parte se emplea para la industria enológica, ya que el resto presenta características adecuadas. Su estructura está influenciada por su lento crecimiento, que provoca que no pueda talarse antes de los 120 años.

Entre las ventajas de la madera de roble se encuentran:

- Su FINO PORO, que provoca una microoxigenación lenta y equilibrada, además de mitigar las pérdidas por evaporación.
- La DUREZA DE LA MADERA, que garantiza la resistencia a los movimientos y a la propia presión que ejerce el vino en el interior de la barrica.
- Los TEJIDOS que la componen, que avalan la impermeabilidad del recipiente.
- La presencia de una serie de compuestos que aumentan la complejidad del aroma y ayudan a la estabilización del vino, por su conocida capacidad antioxidante y otros compuestos como lactonas y vainillina, que provocan un fuerte impacto aromático en los vinos.

Mundialmente, se encuentra distribuido a lo largo de Europa, América del norte y central, el sudeste asiático y en menor medida, en el norte de África y norte de Sudamérica. Francia y Estados Unidos son los dos productores principales de roble destinado a elaborar barricas, aunque existen otras zonas de producción como Inglaterra, Portugal, España, Yugoslavia, Hungría y Rusia.

Dentro de los dos subgéneros, *ciclobalanopsis* y *euquercus*, a éste último pertenecen el **Quercus robur o pedunculata** y el **Quercus sessilis o petraea**, las dos especies más utilizadas por la industria tonelera para la fabricación de barricas para uso enológico. Debido a la hibridación que se produce entre las dos especies, es muy difícil la diferenciación exacta mediante análisis anatómico.

- **Quercus robur o pedunculata:** es el llamado roble **Limousin**. Los árboles son anchos, no alcanzan grandes alturas y poseen troncos de gran diámetro. Crecen en suelos muy fértiles. Su madera es de estructura muy porosa, con grano muy ancho (mucho separación entre las líneas de crecimiento), que facilita los intercambios con el exterior (evaporación y oxidación). Tiene alta concentración de taninos y menos compuestos aromáticos que el *Quercus petraea*. Se emplea para la crianza de aguardiente (Cognac).
- **Quercus sessilis o petraea:** es el más abundante en los bosques de Allier, Nevers y Tronçais (zonas de Francia, principal productor en Europa de roble), Prefiere los suelos pobres y arenosos, dando lugar a árboles más altos, tronco de menor diámetro y grano más fino. Tiene menor contenido de taninos. Sus notas aromáticas son más especiadas (es una madera rica en eugenol, que huele a clavo). La evaporación es menor que en el caso de *Quercus robur*.



1. *Quercus robur*



2. *Quercus petraea*.

IMAGEN 4.1. ESPECIES DE ROBLE MÁS USADAS EN TONELERIA

En cuanto a EEUU por su gran extensión, conviven varias especies como *Q. Alba*, *Q. macrocarpa*, *Q. muelhlerbergii*, *Q. garryana*, *Q. prinus*, *Q. Stellata*, *Q. lyrata* y *Q. durandii*.

La madera que procede del norte y de los estados más fríos, tiende a ser más densa y dura que la que procede del sur. El área total de bosques de roble en EEUU es de aproximadamente 45 millones de Has. La mayoría de tonelerías se aprovisionan de madera de roble de explotaciones controladas, donde se practica la silvicultura con un cuidadoso proceso de cultivo y selección.

El uso para tonelería se basa prácticamente en la especie *Quercus alba*, que se extiende por los bosques de Virginia, Carolina del Norte, Tennessee, Kentucky, Missouri, Ohio, Wisconsin y Oregón principalmente.

El *Q. alba* presenta una mayor duraminización que el resto de las especies de roble americano, empleándose árboles de gran calidad y tamaño.

El roble americano es ligeramente más denso que el europeo *petraea*, sin embargo, las diferencias observadas en cuanto a densidad y grano son demasiado pequeñas para provocar diferencias en cuanto a variaciones y hermeticidad.



IMAGEN 4.2. ROBLE AMERICANA (QUERCUS ALBA)

### 4.3. FABRICACIÓN DE LAS BARRICAS

La fabricación de las barricas es un arte que se ha forjado a través de los siglos gracias al trabajo de los toneleros. Aunque la mecanización ha ido poco a poco relegando la producción artesanal, los pasos necesarios para realizar una barrica han variado poco con el transcurrir del tiempo.

Una vez talado el roble, para la fabricación de las barricas se reservan las partes del árbol sin nudos, para evitar pérdidas de líquido y oxidación a través de ellos. De esas partes se cortan trozas que reciben en francés el nombre de *billons*, con un diámetro entre 50 y 60 centímetros y una longitud ligeramente superior a la que tendrán las futuras duelas o tablas que componen una barrica.

Las trozas se cortarán a continuación en cuarterones. Normalmente, el roble francés, debido a la finura de su poro, se corta por el sistema de hendido, que consiste en introducir una gran cuña que desbasta el billón a través de la veta de madera. De esta forma se evita la posterior pérdida a través de los poros, aunque se produce un mayor desaprovechamiento de la madera. El resto de robles normalmente se cuarteán directamente por aserrado.

De cada cuarterón se obtienen dos duelas, que todavía sin forma definitiva se dejan secar durante un periodo de entre 18 y 36 meses. El proceso de secado es necesario porque la madera fresca contiene un 35-60% de agua y sus compuestos extraíbles serían perjudiciales en el objetivo de mejorar la calidad de los vinos, y por ello es necesario someterla a un proceso de secado. El secado idóneo es el que se realiza de modo natural, colocando las duelas en pilas a la intemperie. Durante esta etapa se produce la contracción de las fibras y se reduce la humedad hasta un valor próximo al 15%. Al estar la madera al aire libre, ésta pasa por fases de deshidratación, fases de re humectación de los primeros milímetros de la madera y fases en las que la madera tiene una higrometría constante. Se pasa de una madera verde agresiva a una madera seca aromática, en la que los elementos solubles son más suaves y más agradables, perdiendo amargor y astringencia. Así, se produce una disminución del contenido en elagitaninos y de determinados componentes volátiles que se relacionan con la aparición de un carácter vegetal en vinos. También se produce el incremento de compuestos provenientes de una cierta hidrólisis de la lignina (aldehídos fenólicos y fenoles volátiles) de algunos lípidos.

Una vez que la madera está lista, comienza el trabajo del tonelero. Lo primero que se debe hacer es dar forma a las duelas, que deberán presentar su medida definitiva, la cara externa alisada y curvada la interna, los extremos estrechados y los cantos en bisel.

A continuación se procede al armado del casco. Las duelas se colocan verticalmente, y por medio del aro armador se juntan sus cantos hasta completar una circunferencia. Una vez que se ha dado esta forma, se



introducen dos aros metálicos provisionales (el collero y el tripero) que se emplearán durante todo el proceso de fabricación de la barrica para que no se desajusten las duelas. Es importante insistir en que entre las duelas no hay ningún elemento que las ensamble, sino que se fijan por la presión que ejercen unas sobre otras. Por esta razón es importante que la barrica retenga siempre una humedad en torno al 80%, para que la madera se hinche y quede compacta.

El número de duelas puede diferir de una barrica a otras, ya que debemos tener en cuenta que a través de las juntas entre duelas también hay penetración de aire, por lo que puede interesar incluir más o menos, en función de los vinos a los que van destinados. Las barricas bordelesas requieren de 28 a 32 duelas y entre 10 y 18 tablas para los fondos. Para garantizar la resistencia a la presión que ejerce el vino, se alternan las duelas anchas y estrechas. Una de ellas será mayor que el resto (la duela maestra), ya que se perfora para incluir la corchera u orificio de llenado. A continuación se procede a la curvatura de las duelas de la barrica para formar el ensanchamiento o barriga central. Para ellos se coloca un brasero en el interior del casco, se moja la barrica y con una cuerda y una sirga que abraza la parte inferior de la barrica, se presiona poco a poco la madera. La combinación del fuego, el agua y la soga acabarán otorgando la forma definitiva a la barrica. Las llamas del brasero realizaran un tostado al interior de la barrica.

Antes de colocar los fondos es necesario preparar los extremos de la barrica. Esta fase se conoce como descabezado, mediante el cual se biselan los bordes de la barrica, se igualan los cantos y se abren los jables, es decir canales por donde se ajustaran los fondos.

Para realizar los fondos se unen varias tablas, normalmente en número impar, por medio de clavos de doble punta. Entre las tablas habitualmente se colocan tiras de anea para facilitar la estanqueidad, y finalmente tras trazar una circunferencia con la medida correspondiente, se cierra. Los bordes de la tapa adquieren forma de cuña para provocar un correcto encaje en el jable.

El aro armador se quita para encajar los fondos y a continuación se introduce el jable en una masa de engrudo (agua y harina) para facilitar correcto ensamblaje y evitar fugas.

Finalmente se colocan los aros definitivos, que son más finos que los aros de armar para facilitar el movimiento de las barricas y se llena de agua hirviendo y vapor para provocar su hinchado y evitar fugas.



1. Cortado por hendido



2. Armado de la barrica



3. Domado



4. Tostado



5. Fondos de barrica



6. Preparado de los extremos



7. Aros definitivos



8. Terminado de la barrica

IMAGEN 4.3. PROCESO DE FABRICACIÓN DE BARRICAS



#### 4.4. FENÓMENOS DE ENVEJECIMIENTO

Durante la crianza mixta de los vinos en barrica se producen una serie de fenómenos o transformaciones de carácter físico, químico, o incluso biológico, que logran por una parte una estabilización natural de los mismos, permitiendo hasta su consumo una vida más larga, y por otra parte una serie de cambios y de mejoras en sus caracteres sensoriales. Todos estos sucesos se producen de manera simultánea, por lo que pueden influir unos sobre otros, y además algunos pueden ser modificados y controlados por el enólogo de la bodega, pudiendo de este modo mejorar las prestaciones buscadas con la crianza.

61

Los fenómenos que suceden durante la crianza, pueden resumirse en los siguientes:

- Entrada de aire u oxígeno a través de la madera o de los trasiegos.
- Pérdida de vino a través de la madera o de los trasiegos.
- Precipitación de diversas sustancias del vino en la barrica.
- Formación de ésteres en los vinos.
- Transformación de los polifenoles en los vinos.
- Cesión de sustancias contenidas en la madera.

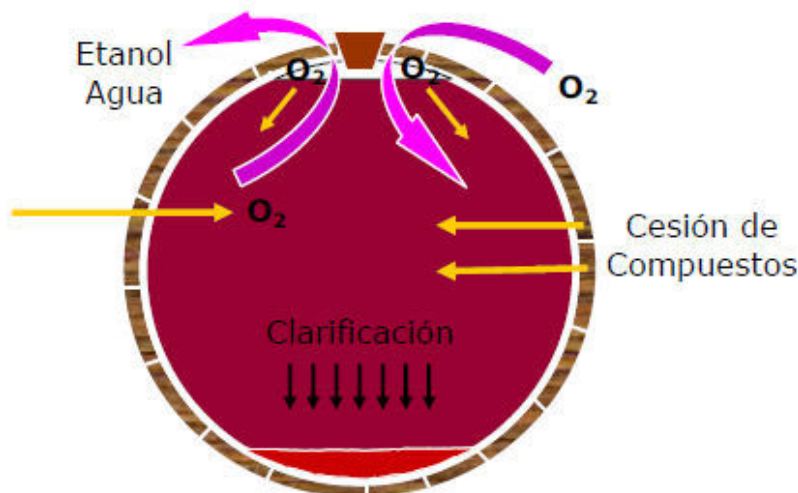


IMAGEN 4.4. FENOMENOS QUE SUCEDEN DENTRO DE LAS BARRICAS EN LA CRIANZA

En primer lugar, el roble aporta al vino aromas y compuestos fenólicos que mejoran la calidad aromática y gustativa. Por otra parte la crianza en barrica permite una oxigenación moderada, que tiene lugar a través de los poros de la

madera, a través de las inter duelas y/o a través del esquive. Esta microoxigenación natural proporciona el sustrato necesario para que las reacciones de polimerización y combinación de antocianos y las procianidinas tengan lugar. De este modo, se producirá una estabilización del color del vino y una suavización de la astringencia. Asimismo, se producirá una cierta precipitación de la materia colorante del vino, evitando que esta parte inestable del color precipite después en la botella.

Finalmente la conservación de vino en las barricas entraña una evaporación, no menos apreciable, de agua y alcohol, lo que comportará mermas y contribuirá a encarecer el proceso.

#### **4.4.1 FACTORES INFLUYENTES DURANTE LA CRIANZA DE VINOS EN BARRICA.**

Las características finales del vino envejecido en barricas de roble dependen de diversos factores, entre los que se podrían destacar el volumen de la barrica, factor relacionado con la relación superficie madera/volumen vino, donde las barricas de menor tamaño representan una mayor relación, provocando mayor velocidad de algunos procesos que se llevan a cabo durante la crianza, el origen botánico y geográfico del roble, el sistema de secado, el grado de tostado de las duelas y la edad de la barrica. Otro factor a tener en cuenta, el cual no depende directamente de la barrica utilizada en el proceso de envejecimiento, es el tipo de vino a envejecer. Este factor podría condicionar al envejecimiento ya que cada vino presenta características fisicoquímicas propias y diferentes al resto, lo que parece tener cierta correlación con el resultado del proceso de envejecimiento.

##### **4.4.1.1 ORIGEN DEL ROBLE**

La madera del roble americano tiene mayor densidad y resistencia y menos porosidad y permeabilidad que el roble europeo. Esto condiciona su comportamiento mecánico, sobre todo a la hora de la fabricación de la barrica. La composición química también es diferente. El primero en general, es más rico en componentes volátiles y derivados de la degradación de la lignina, pero muy pobre en elagitaninos. Estas diferencias repercuten principalmente en el perfil aromático de los vinos envejecidos en estas barricas, ya que en función del origen de la madera del roble, los vinos podrán presentar mayor o menor concentración de ciertos compuestos aromáticos; y en el color de los vinos, puesto que la estructura morfológica, dependiendo de la especie, podría modificar la capacidad de microoxigenación de las barricas, lo que podría influir en la estabilidad del color de los vinos. Del mismo modo, la mayor o menor presencia de compuestos antioxidantes, tales como elagitaninos, podría condicionar la evolución del color.

#### 4.4.1.2. EL VOLUMEN DE LA BARRICA

Cuanto menor sean los volúmenes de las barricas mayor será la superficie de madera por unidad de volumen de vino, de manera que los procesos de transferencia de sustancias de la madera al vino se producirán a mayor velocidad. Del mismo modo el volumen de la barrica también condicionará el proceso de oxidación de las sustancias presentes en el vino debido a la penetración de oxígeno, presentándose un carácter oxidativo más marcado en aquellos recipientes con menor volumen.

#### 4.4.1.3. EL TIPO DE TOSTADO

El tostado es una etapa esencial de la fabricación tradicional de barricas. El tostado permite aumentar la cantidad y la complejidad de las aportaciones del roble al vino al inducir la aparición de nuevas sustancias volátiles y odorantes, producidas por la degradación térmica de la madera, la cual afecta principalmente a polímeros presentes en la madera como la hemicelulosa y la lignina.

El tostado también permite eliminar el exceso de tanino y provoca una reducción en el contenido de gama-lactonas y otros compuestos de carácter vegetal presentes en el tostado. Por ello lo que se intenta buscar es un equilibrio entre la cantidad y la calidad de las aportaciones de la madera al vino, jugando con la intensidad del tostado en barricas.

#### 4.4.1.4 LA EDAD DE LA BARRICA

La madera de roble aporta una serie de sustancias que contribuyen al aroma y al sabor del vino. Esta capacidad de cesión de compuestos va disminuyendo a medida que aumenta el número de usos de una barrica, pudiendo incluso llegar a perder dicha capacidad, debido principalmente al agotamiento de dichas sustancias.

El uso repetido de una barrica además puede presentar otros problemas como contaminación por bacterias y levaduras del género *Brettanomyces* y *Dekkera*. Además se producen precipitaciones que van obstruyendo los poros de la madera, lo que disminuirá poco a poco su capacidad de oxigenación. Un indicio en el aumento de la población de estos microorganismos es el aumento de la concentración de ciertos compuestos como el 4-etilfenol y el 4-etilguayacol.

Una posibilidad de alargar la vida de la barrica es a través de un rascado de su superficie interna, para eliminar los depósitos y poner de nuevo en contacto el vino con la madera. Esta práctica, que realizan muchas tonelerías, puede ser interesante, ya que permitirá un cierto incremento de la capacidad de oxigenación, así como de cesión de sustancias, no obstante, algunos toneleros

también procedes a hacer el tostado de la madera a fin y efecto de producir nuevas moléculas aromatizantes, lo cual resulta arriesgado considerando que esas barricas ya han tenido vino y por lo tanto pueden contener restos de compuestos fenólicos que podrían descarboxilarse por exposición a alta temperatura, produciendo fenoles volátiles como el 4-etilguayacol y otros derivados y el 4-etilfenol.

## 4.5. CARACTERÍSTICAS CROMÁTICAS DE LOS VINOS DE CRIANZA

### 4.5.1. EL COLOR DE LOS VINOS

El color es una de las características organolépticas del vino tinto que van a definir su calidad. En el proceso de cata, es el primer atributo en ser evaluado y va a ofrecer información sobre calidad, posible aroma, ciertas características gustativas y el estado de conservación del vino.

El color del vino tinto, así como parte de las características que definen su calidad, están en gran medida relacionadas con su composición en compuestos fenólicos.

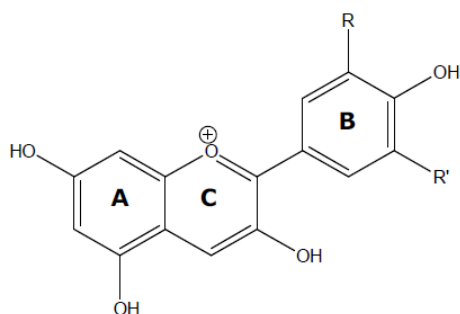
Los compuestos fenólicos presentes en el hollejo de la uva tinta van a ser los mayores responsables del color del vino tinto. Particularmente los antocianos y taninos. Su clasificación y caracterización general, se desarrolló en el capítulo primero del presente texto, no obstante resulta válido volver a mencionar los aspectos más relevantes que guardan relación al color y estabilidad de los vinos tintos, objeto de este capítulo.

### ANTOCIANOS

Los antocianos son responsables del color de los vinos tintos y están involucrados en las reacciones de polimerización que suceden durante el envejecimiento.

Su estructura se caracteriza por un esqueleto básico de quince átomos de carbono (C6-C3-C6) de tipo 2-fenil benzopirona. Son sales de flavilio (de núcleo favilio polihidroxilado y/o metoxilado) y glucósidos (están unidos por enlace glucosídico a una molécula de azúcar). Los antocianos se llaman también antocianinas y sus derivados privados del azúcar se denominan antocianidinas (o antocianidoles). Son más estables bajo la forma heterosídica que bajo la forma aglicona.

En *Vitis vinifera* se distinguen cinco tipos de moléculas de antocianinas, dependiendo del número de hidroxilos (OH) y grupos metoxilo (OCH<sub>3</sub>) en el anillo B (Figura 2.1.1). Existe una mayor diversidad de estos compuestos debido a la acilación de los azúcares con los ácidos acético, p-cumárico y cafeico. En otras especies del mismo género, como *Vitis riparia* o *Vitis rupestris*, los antocianos aparecen como diglucósidos, con dos moléculas de glucosa en las posiciones 3 y 5.



Antociano	R	R'
Pelargonidina	H	H
Peonidina	OCH <sub>3</sub>	H
Cianidina	OH	H
Delfinidina	OH	OH
Petunidina	OCH <sub>3</sub>	OH
Malvidina	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>

La variabilidad debida a esta diversidad estructural permite discriminar variedades y especies. En función del perfil antociánico y de la concentración, que varía entre 500 y 3000 mg/kg, es posible clasificar estadísticamente vinos elaborados con distintas variedades. Hay factores que pueden incidir en el nivel de antocianos en uvas como son la temperatura, las condiciones de insolación y del terreno y las prácticas vitícolas: el sistema de conducción, la fertilización o el riego.

Los antocianos se localizan en el hollejo de las uvas tintas, en las tres o cuatro primeras capas celulares de la hipodermis, excepto en variedades tintoreras donde también se hallan en la pulpa.

Además están presentes en las hojas, sobre todo al final del ciclo vegetativo. A nivel sub celular, estas moléculas hidrosolubles se encuentran normalmente dentro de las vacuolas, donde se pueden acumular en unas vesículas esféricas denominadas “antocianoplastos” o “inclusiones antociánicas vacuolares”. En el transcurso de la maduración ocupan cada vez más espacio en detrimento del citoplasma.

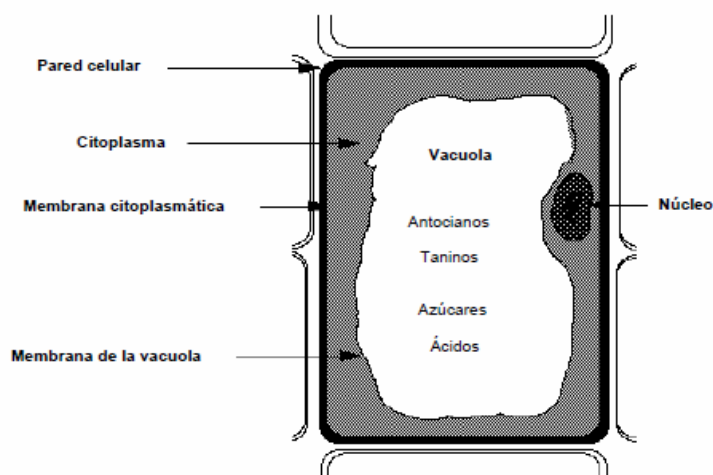


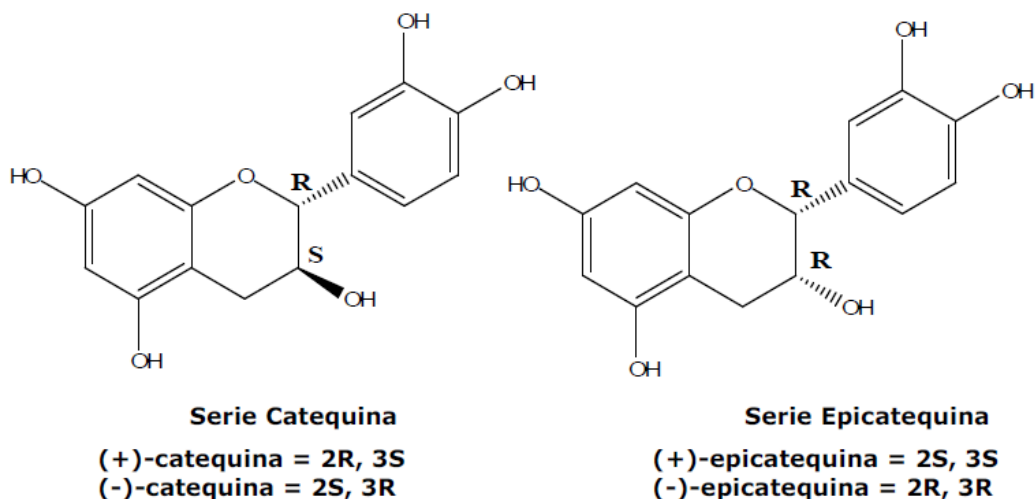
IMAGEN 4.5. REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DE LA LOCALIZACIÓN DE ANTOCIANOS A NIVEL SUBCELULAR.

## TANINOS

Los taninos presentes en la uva y en los vinos juegan un papel preponderante en la calidad de los vinos, al conferir propiedades de, de color y de estructura. También contribuyen a la estabilización del color durante el envejecimiento.

La estructura de los taninos se basa en polímeros más o menos complejos formados por unidades de flavan-3-oles o 3-flavanoles. Los flavan-3-oles, comúnmente llamados catequinas poseen dos ciclos bencénicos unidos por un heterociclo oxigenado saturado (núcleo fenil-2cromano). Esta estructura presenta dos carbonos asimétricos (C2 y C3) que originan cuatro isómeros La (+)-catequina y la (-)-epicatequina corresponden a las formas más abundantes, así como los derivados de la epicatequina en forma de éster gálico.

Los taninos naturales de la uva son las proantocianidinas. Su estructura se basa en polímeros más o menos complejos de los flavan-3-oles o 3-flavanoles. Éstos son monómeros formados por dos anillos bencénicos unidos por un heterociclo oxigenado, saturado, pudiendo encontrarse cuatro isómeros: (+)catequina, (-)epicatequina, (-)catequina y (+)epicatequina. Los más abundantes son los dos primeros, así como también los derivados de la epicatequina en forma de éster gálico. Los taninos son complejos derivados de los compuestos anteriores como las procianidinas dímeras, oligoméricas y polímeras. Las procianidinas oligoméricas son moléculas de 3 a 10 unidades de flavanoles y las polímeras están formadas por más de 10, alcanzando un peso molecular superior a 3000.



Los oligómeros y polímeros de estos flavan-3-oles se conocen también con el término de proantocianidinas (o proantocianidoles), porque en presencia de ácidos minerales liberan antocianidinas por ruptura de las uniones intermonoméricas. Dentro de las proantocianidinas, reciben el nombre de procianidinas aquellas que derivan de la catequina y la epicatequina, que en hidrólisis ácida generan la molécula de cianidina; y el nombre de prodelfinidinas

a aquéllas derivadas de la galocatequina y la epigalocatequina, que se hidrolizan en delfinidina en medio ácido.

Las procianidinas oligoméricas corresponden a polímeros formados por un número amplio de unidades flavanoles (de tres a una decena). Las formas poliméricas representan la mayor parte de los 3- flavonoles. En los hollejos de algunas variedades se han encontrado fracciones con grado de polimerización superior a 80 unidades.

Los valores de concentración de las procianidinas se sitúan generalmente en valores alrededor de 200-700 mg/kg de uva. Existe una amplia variabilidad en las concentraciones de catequinas y proantocianidinas en raspones, pieles y semillas, en relación con la variedad de uva. Así, las uvas Pinot Noir presentan valores globales muy altos de catequinas y proantocianidinas. La variedad Cabernet Sauvignon también ha sido descrita como una variedad con contenidos elevados de catequina y proantocianidinas.

A diferencia de lo que sucede con los antocianos, las variedades blancas no son menos ricas en taninos que las variedades tintas.

Los 3-flavanoles (flavan-3-oles), tanto monómeros como en formas más o menos polimerizadas, se localizan principalmente en las semillas, aunque se han localizado también trazas de monómeros y dímeros en la pulpa. Otra fuente importante de taninos es el hollejo de las uvas, donde se han identificado tres tipos de taninos: taninos presentes bajo forma libre en el jugo vacuolar (localizados en forma condensada en las células próximas a la epidermis y como granulaciones difusas en las células internas del mesocarpio), taninos unidos fuertemente a la membrana proteofosfolípídica (tonoplasto) y taninos ligados a los polisacáridos de la pared celular.

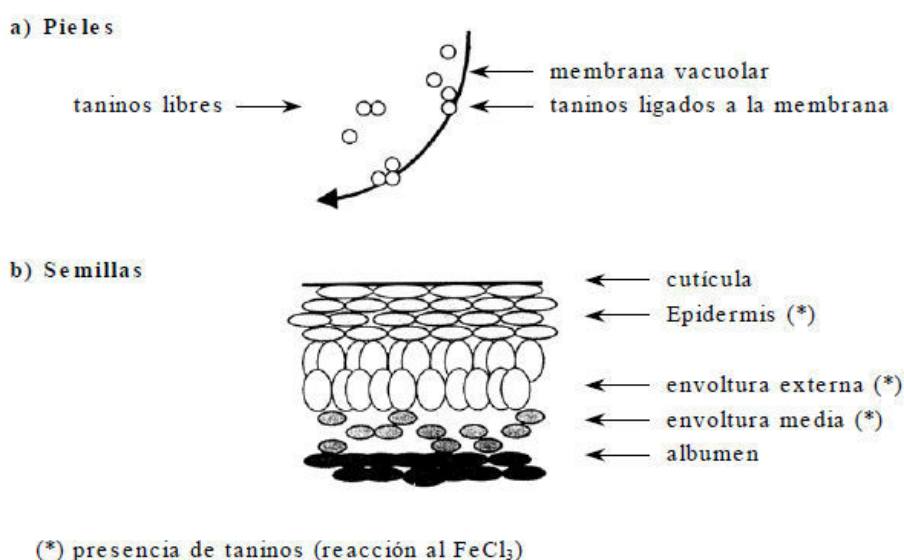


IMAGEN 4.6. LOCALIZACIÓN DE LOS TANINOS EN EL GRANO DE UVA

La extracción en la vinificación de los taninos de la semilla puede ser debida a que éstos se encuentran localizados en las capas superficiales de la misma.

Estos compuestos ocupan una posición de defensa del embrión en las envolturas externas e internas y su difusión al medio exterior depende de la solubilización de la cutícula.

Los taninos de los hollejos difieren de los de las semillas por la presencia de prodelphinidinas, mayor grado de polimerización y menor porcentaje de subunidades galoiladas.

#### **4.5.2. EXTRACCIÓN DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS Y ESTABILIDAD DEL COLOR DEL VINO.**

68

El color del vino tinto y su posterior estabilidad se deben principalmente a la presencia de antocianos y taninos. Estos compuestos se extraen de la uva durante el proceso de elaboración del vino y se irán modificando a lo largo del tiempo. Todas las modificaciones que se dan en el color del vino, y en otras características asociadas a los compuestos fenólicos, dependen de numerosos factores. La estabilidad del color será función, entre otros, del grado de extracción de antocianos y taninos, de las condiciones del medio y de las posteriores modificaciones de estas moléculas durante el envejecimiento.

El vino tinto es un vino de maceración, dándose una extracción fraccionada de la uva. Los compuestos fenólicos se encuentran localizados en diferentes partes de la uva y presentan distinta solubilidad y capacidad de difusión, en función de la fase acuosa o alcohólica presente en el medio, así como de la mayor o menor disgregación de las paredes celulares del hollejo.

En función de las condiciones del medio, como pH, presencia de anhídridos sulfurosos o de cofactores y de las condiciones de vinificación, como tiempo de maceración, remontados y temperatura, el color del vino y su estabilidad cambiarán.

Las modificaciones que se dan durante el envejecimiento como la evolución del color hacia tonos más teja y la pérdida de astringencia, se deben a transformaciones de degradación y estabilización de los compuestos fenólicos. Las reacciones de estabilización tienen su origen, la mayoría de las veces, en la formación de combinaciones entre antocianos y taninos. Así, el color de los vinos tintos es debido a la presencia, además de los antocianos libres, de combinaciones polifenolantocianos, más concretamente de tipo tanino-antocianos y de taninos condensados y de fenómenos de co-pigmentación.

##### **4.5.2.1. POTENCIAL FENÓLICO DE LA UVA.**

La calidad de un vino está condicionada por la calidad de la uva. Ésta marca un potencial, y a partir de él, lo único que se puede hacer es trasladarlo al vino. La calidad en la uva viene marcada por factores intrínsecos, como son la variedad y el suelo, y por otros culturales que van a condicionar su producción, composición, estado sanitario e integridad.



El estado de madurez de la uva va a condicionar el vino que se obtendrá y sus características. La concentración de polifenoles tiende a aumentar durante toda la maduración, aunque no linealmente. Los antocianos aparecen durante el envero y se acumulan durante la maduración, produciéndose al final un descenso en su concentración que suele coincidir con la sobre maduración de la uva. La cantidad de taninos en el hollejo también va a aumentar durante el periodo de madurez, alcanzando un máximo para después mantenerse más o menos constante. En cambio, la concentración de taninos de las semillas desciende desde el envero, al mismo tiempo que aumenta su grado de polimerización.

Así mismo, se ha constatado que la extracción de los compuestos fenólicos no depende únicamente de la cantidad en la que éstos se encuentren en la uva. Las paredes celulares van a formar una barrera a la difusión de antocianos, taninos y otros polifenoles de la uva al vino. El proceso de maduración implica una solubilización de los polisacáridos de la pared celular del hollejo. La degradación de la pared celular durante la maduración facilitará, de esta manera, la extracción de la materia colorante durante la vinificación

Los análisis clásicos de maduración (peso de 100 granos, grado Baumé, acidez total, pH, ácido tartárico y ácido málico) proporcionan información de la madurez de la pulpa, pero no sobre la de la piel ni de la pepita. Para cubrir este vacío surge el concepto de **MADUREZ FENÓLICA** (Anexo II), que va a tener en cuenta el contenido total de compuestos polifenólicos y su facilidad de extracción del hollejo y de la pepita de la uva. Teniendo en cuenta tanto el contenido como la capacidad de difusión de los compuestos fenólicos, se podría adaptar la estrategia de vinificación, en función de los vinos que se pretendan elaborar. Además, el estudio del potencial fenólico podría permitir anticipar problemas potenciales en la estabilidad y pardeamiento del vino.

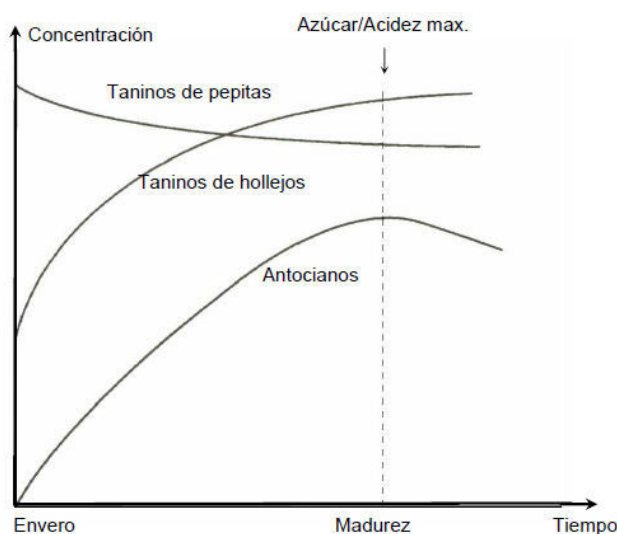


IMAGEN 4.7. EVOLUCIÓN DEL CONTENIDO EN ANTOCIANOS Y TANINOS DURANTE LA MADURACIÓN (GLORIES, 1999)

#### 4.5.2.2. MACERACIÓN.

Es en el periodo de maceración de los hollejos con el mosto-vino cuando los compuestos fenólicos de la uva van a difundir al vino. Sólo una parte del total de los fenoles de la uva serán extraídos de las diversas fuentes como las pieles, las semillas y la pulpa

La extracción de los compuestos fenólicos durante la maceración sigue una curva exponencial simple. Los antocianos difunden siguiendo modelo exponencial en dos fases, con un incremento y un posterior descenso. La velocidad de extracción es proporcional al gradiente de concentración entre los sólidos y el mosto-vino, aunque el proceso total es más complejo.

Los antocianos monómeros, cuya disolución no necesita la presencia de etanol, son extraídos en primer lugar, alcanzando un máximo en los primeros días de la fermentación para después decrecer. Esta disminución puede ser debida a una degradación de las moléculas, a una adsorción en las paredes de las levaduras y partes sólidas de la uva y a una inclusión en cristales de bitartrato potásico. Así mismo, los antocianos pueden polimerizarse con la procianidinas de la uva y/o reaccionar con otros compuestos del vino como el ácido pirúvico, el acetaldehído, etc. Estas polimerizaciones y reacciones van a ser importantes para la estabilidad del vino, puesto que protegerá a los antocianos de degradaciones.

La disolución de los taninos de los hollejos empieza conjuntamente a la de antocianos, aunque se desarrolla más lentamente y se va a ver favorecida en el momento de la aparición del etanol

Por otro lado, es necesario un tiempo de maceración mayor para la extracción de los taninos de las semillas, debido a la necesidad de una eliminación previa de los lípidos presentes en éstas. Durante la maceración se observa un aumento en la concentración de taninos hasta un máximo, manteniéndose constante después. Al pH del vino hay una formación y ruptura de enlaces entre flavanoles continua.

Teniendo en cuenta esta variabilidad, se podrá cambiar el tiempo de maceración en función del tipo de vino que se desee obtener. Estos vinos suelen pasar un tiempo de afinamiento en botella, por lo que con el aumento del tiempo de maceración la astringencia no tiene por qué volverse excesiva e incluso puede disminuir después de este periodo.

La duración del encubado, e independientemente de otros factores, determina el tipo de vino tinto a elaborar: tinto joven o tinto de crianza, estando por lo tanto definidos por el momento del descube. Los encubados cortos de unos pocos días permiten la obtención de vinos tintos jóvenes de bastante color (AA) pero con un bajo nivel de taninos (TA), proporcionando a los vinos sensaciones gustativas de mayor suavidad, mientras de los encubados largos logran vinos tintos aptos para la crianza, también de bastante color (AB) pero con un nivel muy elevado de taninos (TB), necesarios para la estabilización del color, así

como también aumentando y mejorando las sensaciones gustativas, a la vez que alargan la vida de los vinos. Las maceraciones largas no aumentan la extracción de antocianos, sin embargo elevan la estabilidad del color por su combinación con los taninos, haciendo que los vinos sean más aptos para crianza.

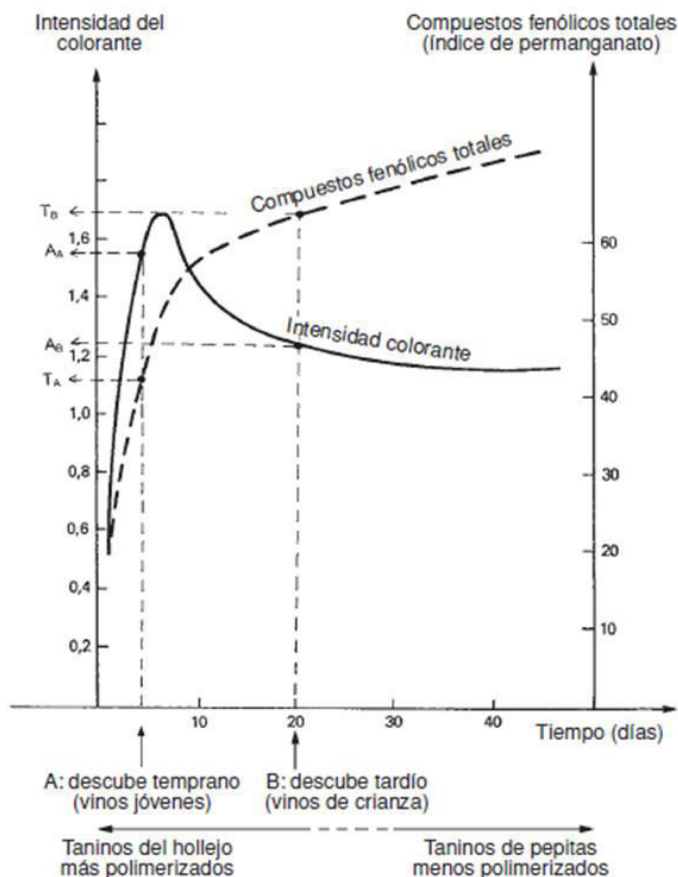


IMAGEN 4.8. EXTRACCIÓN DE POLIFENOLES DURANTE LA MACERACIÓN

#### 4.5.2.2.1 Variedades de uva y maceración

La variedad de uva y su grado de maduración son factores de capital importancia en la elaboración de los vinos tintos, pudiendo determinar por sí solos, su destino hacia vinos jóvenes o para crianza. El control de la maduración fenólica, Índices de maduración, junto al realizado diariamente durante la fermentación alcohólica y la maceración, son de una gran importancia para decidir el descube de la vendimia y el destino del vino.

Así si la maduración fenólica es precoz, esto es cuando el máximo de antocianos se alcanza antes de la maduración de la pulpa, ello indica una mala adaptación de las variedades a las condiciones eco climáticas del viñedo, y entonces el vino resultará desequilibrado. Lo mismo sucede cuando el máximo de polifenoles se logra después del óptimo de madurez de la pulpa, inducido



también por una deficiente adaptación del viñedo a unas condiciones del terruño tardías, que podría solventarse con una cierta sobre maduración de la vendimia. Lo ideal es que ambas maduraciones, pulpa y polifenólica del hollejo, coincidan en el tiempo, logrando de este modo obtener el máximo potencial de la variedad cultivada en un determinado ecosistema.

En las vendimias inmaduras, además de contener el hollejo un nivel más reducido de polifenoles, éste presenta un mayor espesor que en las condiciones óptimas de madurez, contando además con unas paredes celulares más potentes, lo que dificultará todavía más su extracción en el transcurso de la fermentación alcohólica.

Las vendimias ricas en polifenoles pueden ser aptas para elaborar vinos de guarda, pudiendo fijarse un valor superior a los 60 a 70 IPT, pero también es importante considerar el equilibrio entre los Antocianos y los taninos, existiendo variedades muy coloreadas y pobres en taninos poco aptas para producir vinos de crianza. De una manera muy generalista se podría fijar el límite de una proporción de taninos/antocianos de 4/1, por debajo de la cual la vendimia solamente puede ser apta para producir vinos rosados o tintos jóvenes, o por el contrario por encima de este valor para obtener vinos de guarda, llegando en ocasiones hasta una cuantía de 10/1.

La cantidad de polifenoles y el equilibrio entre taninos y antocianos descritos anteriormente son factores muy importantes, pero además también lo es la calidad de los taninos, es decir su grado de polimerización, que les confiere una suavidad y una redondez, a la vez que cuerpo o volumen en la boca, propios de los grandes vinos tintos de buenas añadas. En los vinos este carácter proviene en su mayor parte de la vendimia y de sus condiciones de maceración, pero también puede ser adquirido en parte, aplicando determinadas técnicas de elaboración y de crianza. La calidad de los taninos puede ser determinada mediante ensayos en laboratorio (desarrollados en pág 943 de “Tratado de Enología” de José Hidalgo Togores. Tomo I – 2da Edición). En cuanto a las variedades de uva, de un modo general e independiente de las condiciones de cultivo y de maduración, se pueden seguir las siguientes normas para la conducción de la maceración:

La Cabernet Sauvignon no necesita de una maceración muy larga, pues la superficie de sus hollejos es muy elevada, con lo que la cesión de antocianos y taninos dulces del hollejo es importante, debiendo evitarse la excesiva extracción de los taninos de las pepitas durante la última etapa de la maceración, evitando de este modo la aparición de aromas herbáceos y sabores astringentes.

La Garnacha es una variedad poco favorable a la obtención de vinos para guarda, mejorando en todos los casos con vendimias procedentes de viñedos

viejos de escasa producción, y con maceraciones largas, especialmente las que aumentan la extracción de los taninos de las pepitas.

La Merlot necesita una maceración algo más larga que la Cabernet sauvignon, debiendo extraerse de las pepitas una buena cantidad de sus taninos, para utilizarlos como agentes estabilizantes del color durante la crianza, y mejorando gustativamente con su polimerización con los polisacáridos de las paredes microbianas.

La Pinot Noir es una variedad muy difícil de cultivar y también de elaborar, pues es relativamente pobre en antocianos, y sus pepitas son de gran tamaño acompañadas de elevada riqueza tánica. Los mejores vinos se obtienen con vendimias sobre maduras, donde se incrementa el nivel de los taninos dulces del hollejo, aplicando maceraciones largas para aumentar la extracción de color, pero procurando evitar la maceración de las pepitas, mediante la supresión de los remontados en favor de los bazuqueos, o eliminando periódicamente las pepitas depositadas en el fondo del depósito y desprendidas del sombrero. La reducción de los taninos de las pepitas, equilibran el vino disminuyendo su astringencia, y evitando durante su evolución la aparición de tonos anaranjados. La práctica del «délestage» aumenta la extracción de antocianos, y la fermentación maloláctica en barrica permite aumentar el tiempo de maceración previa sin que aparezcan sabores astringentes.

La Prieto picudo es una variedad de gran superficie de hollejo, pero no es excesivamente polifenólica, por lo que conviene en todos los casos realizar maceraciones largas y también aplicar todas aquellas técnicas que aumenten la extracción de antocianos y taninos, prestando especial atención a los contenidos en las pepitas.

La Syrah es una vinífera fácil de elaborar, pues es muy rica en antocianos y especialmente en taninos dulces del hollejo, pudiendo aplicarse de manera indistinta maceraciones cortas o largas, pues las pepitas y sus taninos son poco importantes y no influyen apenas en la elaboración.

La Tempranillo presenta unas bayas de mediano tamaño, con un buen contenido en antocianos, pero relativamente pobre en taninos, tanto del hollejo como también de las pepitas. Conviene por lo tanto aplicar maceraciones largas, combinando operaciones de remontado y de bazuqueo, utilizando todas aquellas técnicas que aumenten la extracción, y especialmente las de maceración de las pepitas. La polimerización de los taninos con los polisacáridos parietales debe ser forzada, para aumentar las sensaciones grasas y de volumen en la boca, así como también con los antocianos para estabilizar el color de los vinos. Las clarificaciones con proteínas deben ser

calculadas con esmero, pues se trata de eliminar exclusivamente el exceso de los taninos astringentes procedentes de las pepitas.

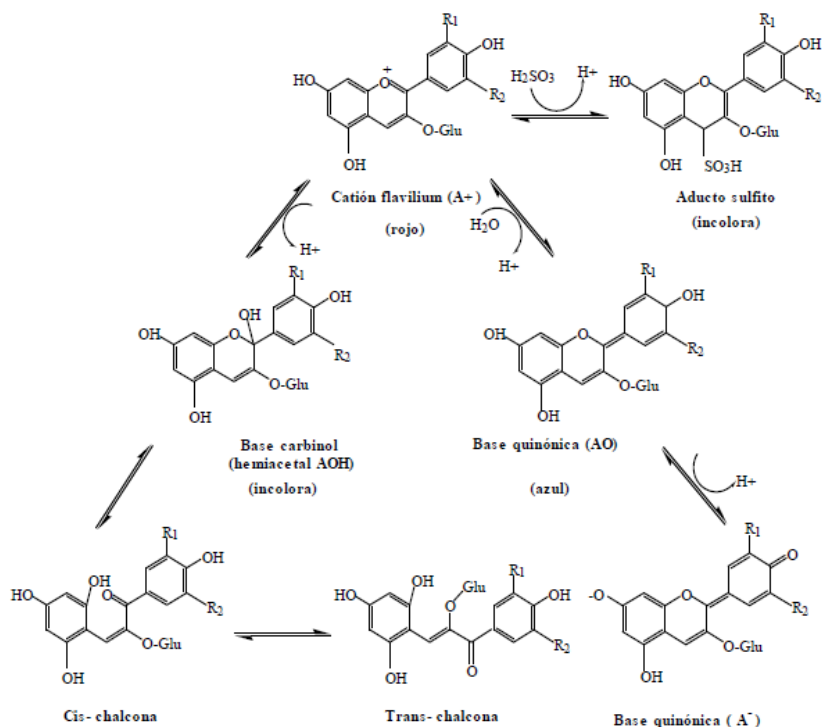
#### 4.5.2.3. CONDICIONES DEL MEDIO.

##### 1. pH

El color de los antocianos en disolución es dependiente del medio en el que se encuentren. Estos equilibrios están regulados por el pH de la solución. Cuando el pH del medio es bajo, la molécula se encuentra en forma de catión flavilium de color rojo vivo. A medida que el pH se eleva, los antocianos se transforman en una base quinónica (AO) de color azulado, variando el color desde el malva al azul, e incluso amarillo, a valores de pH superiores a 7. Todas estas reacciones son reversibles.

En medio acuoso, y al pH del vino (3-4), los cationes flavilium están también en equilibrio, a través de fenómenos de transferencia de protones y de reacciones de hidratación, con compuestos de adición incoloros (hemiacetal). El hemiacetal, en equilibrio con su isómero abierto (cischalcona), es en realidad la forma más abundante de la malvidina-3- glucósido en un medio acuoso a pH entre 2 y 7. Finalmente, cuando las chalconas sufren oxidación, pasan de manera irreversible hacia ácidos fenólicos incoloros, produciéndose una destrucción del color.

En vinos con un pH elevado el color tenderá a ser menos vivo, más apagado, mientras que a pH más ácidos las tonalidades lo harán hacia otras más rojizas.



IIIMAGEN 4.9. CAMBIOS EN LA ESTRUCTURA DE LOS ANTOCIANOS EN UN MEDIO ACUOSO Y EN FUNCIÓN DEL PH

## 2. Presencia de anhídrido sulfuroso.

La habilidad del  $\text{SO}_2$  para extraer antocianos, debido a que ayuda a la degradación de las estructuras de la piel, es conocida desde hace tiempo, y muchos métodos de obtención de antocianos de los orujos utilizan grandes cantidades de éste (Mazza, 1995). Este efecto es más importante en vinos procedentes de vendimias putrefactas, puesto que, además de permitir una mayor solubilización de los compuestos fenólicos, el anhídrido sulfuroso evitará su oxidación debida al enzima lacasa presente en este tipo de vendimias.

La presencia de anhídrido sulfuroso en los vinos tintos produce también una decoloración de los antocianos. Al pH del vino, la mayor parte del anhídrido sulfuroso libre se encuentra bajo la forma de anión  $\text{HSO}_3^-$ , que se combina con los antocianos bajo la forma de catión flavilium, produciéndose un complejo incoloro. Transcurrido un cierto tiempo se produce una des combinación de este compuesto, por lo que la pérdida de intensidad de color será temporal.

## 3. Fenómeno de copigmentación.

La copigmentación es un fenómeno debido a asociaciones moleculares entre pigmentos y otras moléculas orgánicas (normalmente no coloreadas) en solución. En general, esto resulta en un aumento de la absorbancia (efecto hiperocrómico) y, en ciertos casos, en un cambio en la longitud de onda del máximo de absorbancia del pigmento (efecto batocrómico).

Los antocianos pueden unirse de forma no covalente con otros compuestos fenólicos presentes en el medio, los cuales pueden ser otra molécula de antociano (auto asociación o copigmentación intramolecular), u otra molécula diferente como los ácidos cinámicos, flavanoles y flavonoles y sus glicósidos (copigmentación intermolecular).

Estos compuestos reciben el nombre de cofactores o copigmentos. El resultado que se produce es, como ya se ha comentado, un aumento de la cantidad de color, así como un cambio de tonalidad hacia el color púrpura y azul (Vivar-Quintana et al., 2002).

El incremento en la intensidad y estabilidad del color, resultante de la copigmentación, es debido a un cambio en el equilibrio de la hidratación hacia formas flavilium, que luego son atrapadas por los cofactores, o hacia bases quinónicas en los complejos antociano-copigmento. Entre los antocianos y los cofactores se forma una estructura en capas, en número variable de dos a diez. Esto es importante en el rango del pH del vino donde predominan las formas hidratadas de los, pues la inclusión de los cationes flavilium en los complejos de copigmentación desplaza el equilibrio hacia la formación de más cationes.

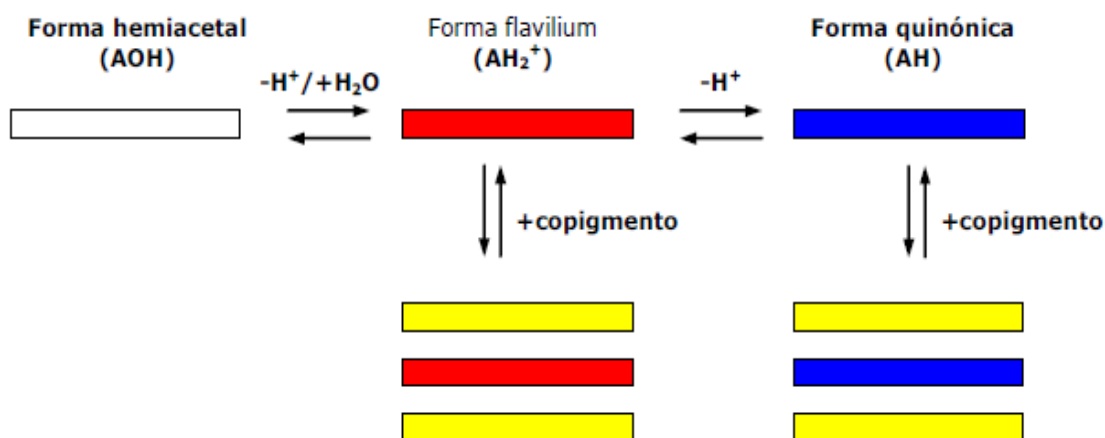


IMAGEN 4.10. PRINCIPIO DEL PROCESO DE COPIGMENTACIÓN

La copigmentación suele ser un efecto marcado en vinos jóvenes. Además, influye sobre las reacciones de oxidación, condensación y polimerización de sustancias fenólicas, ya que disminuye la cinética de las reacciones que se producen durante el envejecimiento de los vinos.

La cinética de las reacciones de oxidación depende de la concentración de sustancias fenólicas en forma libre, no de su concentración en valor absoluto. Determinados flavonoides son fuertes copigmentos y rápidamente participan en reacciones de copigmentación, lo que hace que la concentración en forma libre de tales compuestos disminuya y, de este modo, no estén disponibles para reacciones de oxidación y polimerización.

#### 4.6. EVOLUCIÓN DEL COLOR Y LOS COMPUESTOS FENÓLICOS EN LA CRIANZA

Durante el proceso de envejecimiento del vino, la concentración de antocianos libres va disminuyendo hasta incluso desaparecer, sin que el color rojo del vino se pierda en la misma proporción, esta disminución se debe a reacciones de degradación y estabilización. Las reacciones de estabilización tienen, la mayoría de las veces su origen en la formación de combinaciones entre antocianos y taninos y otros compuestos derivados de los antocianos.

Los antocianos libres son inestables y deben estar combinados con taninos u otros compuestos del vino para formar pigmentos estables, que realmente son los responsables del color de los vinos con el tiempo

##### 4.6.1. REACCIONES DE CONDENSACION ANTOCIANO-TANINO

Estas reacciones están basadas en procesos de adición donde los antocianos y los taninos pueden actuar tanto como agentes electrofílicos, moléculas que



presentan una deficiencia de electrones y tienden a unirse con moléculas con exceso de electrones, como nucleofílicas. Así, se han descrito las siguientes condensaciones antociano-tanino:

#### 4.6.1.1. CONDENSACION TANINO-ANTOCIANO (T-A<sup>+</sup>).

Las procianidinas en medio ácido como el vino, se pueden hidrolizar formando un carbocatión o catequina activada, reaccionando así con los antocianos bajo la forma hemiacetálica, produciendo un complejo incoloro que se colorea seguidamente de rojo anaranjado después de su deshidratación. Además, se ha encontrado que estos tipos de uniones contribuyen a una pérdida de la astringencia de los vinos.

77

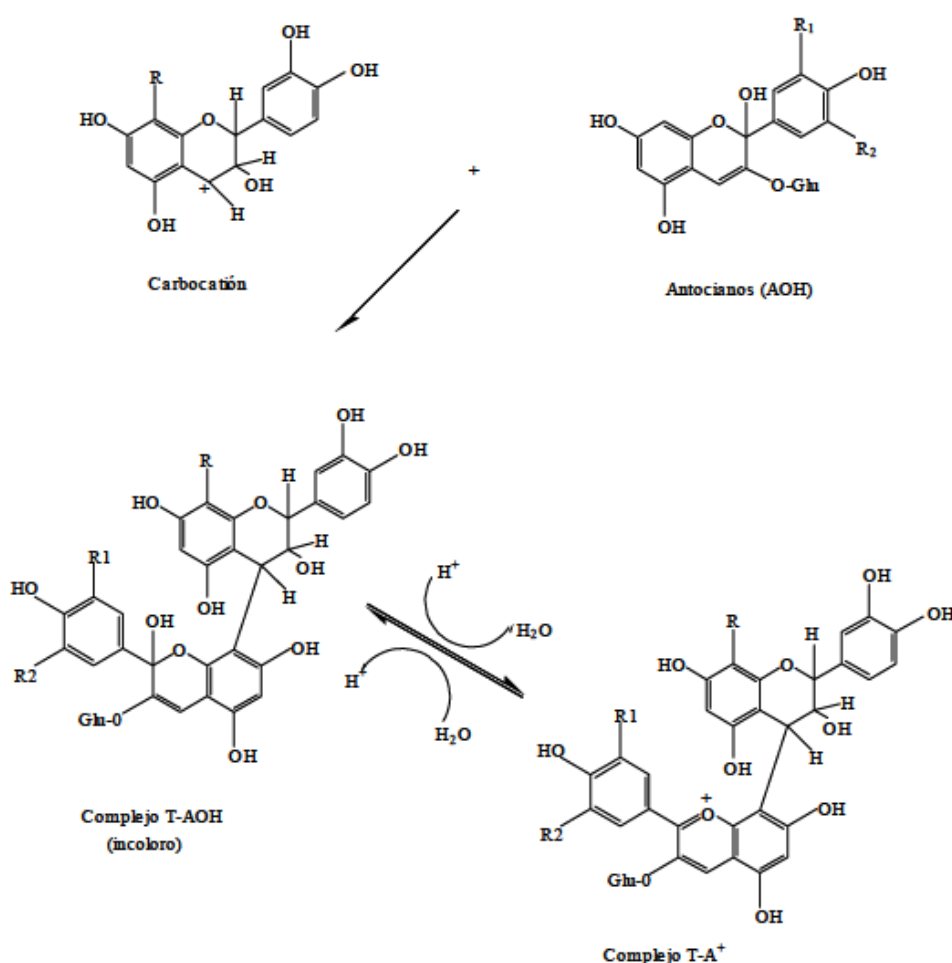


IMAGEN 4.11. CONDENSACIÓN TANINO-ANTOCIANO

Esta condensación se ve favorecida por la ausencia de oxígeno y la temperatura, lo que explica la evolución de los vinos almacenados en ambientes reductores como depósitos o botellas. Este tipo de reacción depende de la concentración de antocianos en el medio y el color varía con la naturaleza del carbocatión y el grado de polimerización.

#### 4.6.1.2. CONDENSACIÓN ANTOCIANO-TANINO (A<sup>+</sup>-T).

Los antocianos bajo su forma catiónica (A<sup>+</sup>) reaccionan con las posiciones C6 ó C8 de los taninos, formando un flaveno incoloro (A-T), el cual, posteriormente, se puede colorear de rojo (A<sup>+</sup>-T) en presencia de oxígeno, estableciéndose un estado de equilibrio entre ambas formas.

Los compuestos de condensación entre antocianos y taninos (T-A<sup>+</sup> y A<sup>+</sup>-T) son de color similar a los antocianos. Pero los compuestos A<sup>+</sup>-T son resistentes a la decoloración por SO<sub>2</sub> debido a la sustitución de la posición 4 del anillo C del antociano.

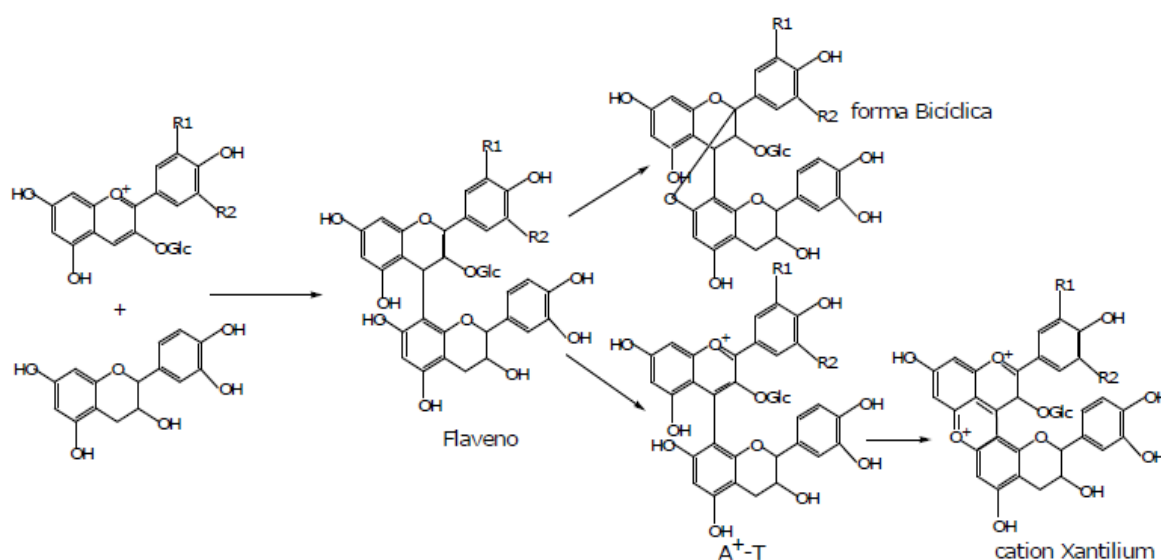


IMAGEN 4.12. CONDENSACIÓN ANTOCIANO-TANINO

#### 4.1.6.3. POLIMERIZACIÓN POR PUENTE DE ETILO

Los antocianos y los taninos también pueden unirse por medio de una reacción en la que interviene el acetaldehído. Esto da lugar a productos enlazados por puente de etilo, incluyendo taninos (T-etil-T), aductos de taninos-antocianos (T-etil-A) y antocianos entre sí (A-etil-A). El tamaño molecular de estos productos es variable. El acetaldehído puede proceder de la oxidación del etanol aunque también puede tener su origen en las levaduras, las bacterias acéticas y la autoxidación de compuestos fenólicos. El acetaldehído podría ser sustituido en esta reacción por otros aldehídos y ácidos tales como el Furfural, hidroxifurfural y ácido glicoxílico, los cuales son productos de degradación de los azúcares durante el proceso de tostado de las barricas de roble y posteriormente extraídos durante el envejecimiento.

Los pigmentos del tipo T-etil-A y A-etil-A son de color púrpura y mucho más resistentes a la decoloración por hidratación y SO<sub>2</sub> que los antocianos libres. Esta resistencia a la decoloración podría deberse a la propia asociación entre moléculas unidas por puente etilo. Se ha demostrado que la forma más significativa de polimerización entre antocianos en el vino es A+-etil-AOH. Esto significa que la conversión de los pigmentos de la uva (70-80%AOH, 20-25% A+) a derivados con puentes de etilos (50% AOH, 50% A+) no sólo produce un leve cambio de rojo a púrpura, sino que también aumenta la intensidad de color.

La formación de grandes polímeros unidos por puente etilo no es muy estable, pero la ruptura de estos polímeros podría generar especies que interviniesen en la formación de pigmentos mucho más estables, tales como los piranoantocianos.

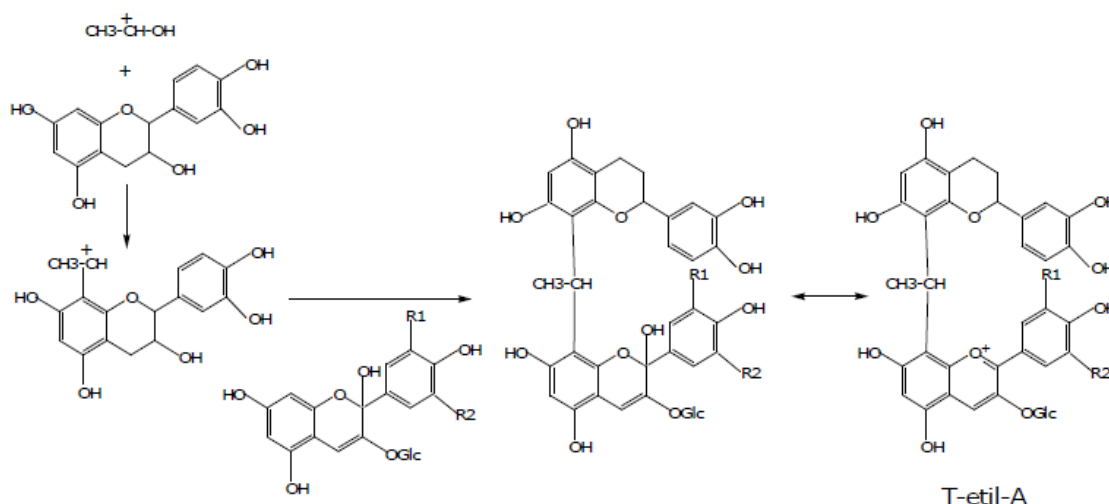


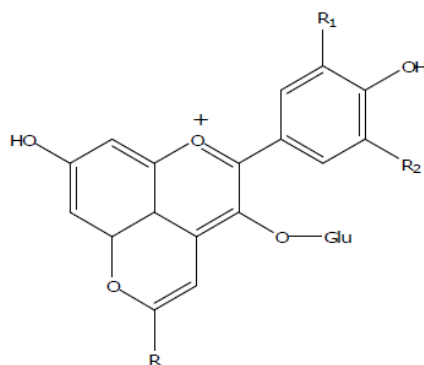
IMAGEN 4.13. POLIMERIZACIÓN POR PUENTE DE ETILO

#### 4.6.2. FORMACIÓN DE NUEVOS PIGMENTOS DERIVADOS DE LOS ANTOCIANOS.

En el vino se han identificado pigmentos nuevos derivados de los antocianos y conocidos con el nombre de piranoantocianos. Estos pigmentos se originan por reacción de los antocianos con compuestos de bajo peso molecular, principalmente metabolitos producidos por levaduras, como acetaldehído, ácido pirúvico o vinilfenoles, por medio de una reacción de cicloadición.

También puede incluir especies de mayor peso molecular, en las cuales la unidad de piranoantocianos está unida a moléculas de tanino.

Los pigmentos formados absorben a longitudes de onda más bajas que los antocianos, por lo que podrían influir en el cambio de color rojo malva a rojo anaranjado que sufren los vinos durante el envejecimiento. Son muy estables y resistentes a la variación del pH y el sulfuroso.



Piranoantociano

(R=H, tanino.....)

IMAGEN 4.14. ESTRUCTURA DE LOS PIRANOANTOCIANOS

### 4.6.3. POLIMERIZACIÓN DE TANINOS

En el vino, los taninos son muy reactivos y con el tiempo se producen reacciones de polimerización que tienden a incrementar el tamaño medio de la fracción procianidínica. La polimerización de estos compuestos se puede llevar por las siguientes vías:

#### 4.6.3.1. CONDENSACIÓN DIRECTA (T-T)

En ausencia de oxígeno y con temperaturas elevadas, las procianidinas se hidrolizan formando un carbocatión, que reacciona con la carga negativa de otra procianidina, formando un polímero de mayor peso molecular mediante uniones C4-C8 o C4-C6. Los compuestos formados son de color amarillo, pudiendo precipitar en función de su complejidad, aunque continúan presentando las mismas propiedades de astringencia que un tanino menos polimerizado.

Durante el envejecimiento del vino, la polimerización de las proantocianidinas es mayor que la despolimerización de las mismas, de manera que los oligómeros de procianidinas reaccionan entre sí aumentando el tamaño de los polímeros. Aún así la ruptura de los enlaces C-C de las proantocianidinas también produce una reducción del tamaño promedio de las cadenas de procianidinas y la acumulación de proantocianidinas oligoméricas. Esta

transformación de proantocianidinas a especies de menor peso molecular podría generar un aumento del amargor de los mismos.

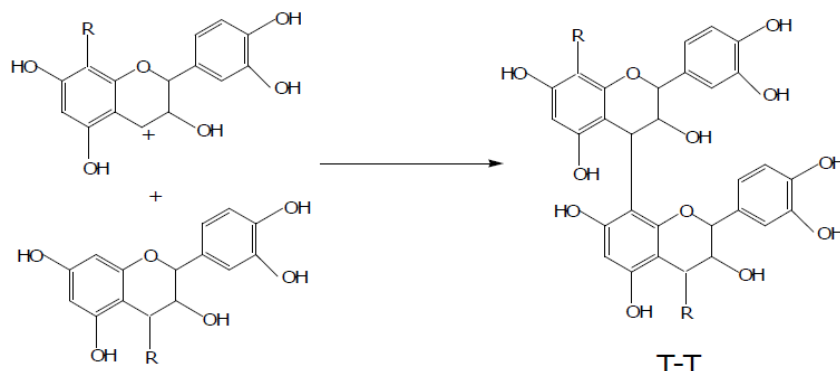


IMAGEN 4.15. CONDENSACIÓN DIRECTA TANINO-TANINO

#### 4.6.3.2. CONDENSACIÓN MEDIADA POR ACETALDEHÍDO

Este tipo de reacciones comienzan con una protonación del acetaldehído en medio ácido seguido con una adición nucleofílica de los flavanoles al C6 o C8. El aducto de etanol formado sufre una deshidratación generando un nuevo intermedio carbocationico el cual sufre el ataque nucleofílico de otro flavanol. Los compuestos resultantes son de color amarillo y su astringencia se ve atenuada por lo participan en las sensaciones de volumen en la boca. Estos compuestos también pueden sufrir procesos de descomposición y recombinación, aunque estas reacciones se producen a mayor velocidad en epicatequina que con catequina. La cinética de la reacción de condensación mediada por acetaldehído es mayor que la condensación directa de taninos generando polímeros rápidamente, los cuales son muy lábiles y se rompen formando oligómeros de vinilflavanol, que a su vez pueden reaccionar con los antocianos generando flavanilpiroantocianos, pudiendo originar moléculas de elevado tamaño que podrían precipitar debido a su insolubilidad.

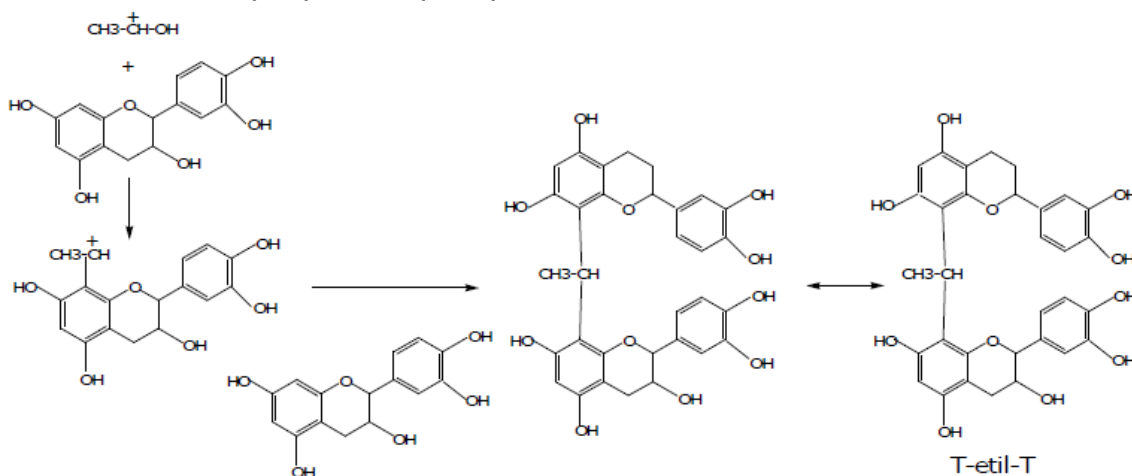


IMAGEN 4.16. CONDENSACIÓN MEDIADA POR PUENTE DE ETILO

#### 4.6.4. INFLUENCIA DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL VINO EN LA EVOLUCIÓN DEL COLOR.

Las reacciones que se han descrito tienen lugar en el vino a lo largo de la elaboración y envejecimiento, y condicionan la evolución del color, la astringencia y las características sensoriales. La capacidad de un vino para envejecer depende de numerosos factores ligados a su composición, riqueza polifenólica, proporción entre antocianos y taninos, concentración de polisacáridos y factores que favorecen la formación de piranoantocianos.

82

##### 4.6.4.1. CONCENTRACIÓN DE ANTOCIANOS Y TANINOS.

La concentración de estos compuestos en el vino depende de la variedad y madurez de la uva, pero también está influenciada por las condiciones de maceración y las prácticas de elaboración utilizadas.

Cuando la concentración de antocianos sea muy superior a la de taninos, todas las reacciones anteriormente descritas pueden tener lugar. La polimerización de taninos entre sí no se verá favorecida, debido a la baja concentración de estos compuestos.

También se puede producir la combinación entre antocianos y taninos pero sin que todos los antocianos lleguen a combinarse. Por lo tanto, muchos se oxidarán, evolucionando irreversiblemente hacia fenoles incoloros, produciéndose una importante destrucción del color.

La situación ideal de equilibrio se dará cuando se obtenga una concentración balanceada de antocianos y taninos, donde todas las reacciones sean igualmente probables. En este caso, una buena elaboración y una correcta crianza favorecerán las reacciones de combinación y, por tanto, la estabilización del color y una disminución de la astringencia. Por último, cuando la concentración de antocianos sea inferior a la de taninos, también podrán tener lugar todas las reacciones, pero habrá una que predomine sobre las demás. Todos los antocianos disponibles podrán ser polimerizados, pero los taninos que se encuentran en exceso podrían evolucionar hacia una condensación entre ellos. Entonces, en el vino predominarán tonalidades amarillas y sabor astringente.

##### 4.6.4.2. pH DEL VINO.

A pH bajo se favorece la ruptura de los taninos poliméricos catalizada por ácidos. Este es el paso clave en la formación de polímeros T-A<sup>+</sup> y tanino-piranoantociano. La protonación del acetaldehído, factor clave en la formación de derivados por puente de etilo, también se ve favorecida por la elevada acidez. Finalmente, la hidratación de los antocianos depende del pH.

Valores elevados de pH incrementan el potencial competitivo de los antocianos frente a los taninos en reacciones de adición nucleofílicas. Sin embargo, en los

rangos de pH del vino, la formación de especies T-A<sup>+</sup> y T-etil-A nunca está limitada por la disponibilidad de la forma hidratada.

#### 4.6.4.3. PRESENCIA DE OXÍGENO

En los vinos, la oxidación enzimática prevalece en las etapas tempranas de la elaboración, mientras que las oxidaciones químicas comienzan a predominar al final del proceso. Las oxidaciones químicas se deben a compuestos fenólicos y a otros componentes importantes del vino, como el etanol y el ácido tartárico.

El oxígeno soluble, tanto en el mosto como en el vino, juega un papel importante en diversos procesos bioquímicos, tanto durante la fermentación alcohólica como en las reacciones de oxidación y/o polimerización de compuestos polifenólicos que se producen durante el envejecimiento del vino. El acetaldehído procede fundamentalmente de la oxidación del etanol y, aunque también puede proceder del metabolismo de las levaduras, éste puede ser considerado como un marcador de oxidación al igual que los pigmentos que forma. Por otra parte, todos los pasos de cicloadición requieren una etapa de oxidación para recuperar el catión flavilium en las estructuras finales y también es necesario en reacciones directas de especies A<sup>+</sup>-T (Fulcrand et al., 2004).

Por ello, es necesario un cierto aporte de oxígeno, mediante remontados, al inicio de la fermentación alcohólica, asegurando una fermentación regular y completa ya que las levaduras consumen totalmente el oxígeno; tras la fermentación alcohólica y fermentación maloláctica se realizan varios trasiegos, cuyo objetivo es eliminar y/o evitar la formación de compuestos sulfhídricos y retirar las lías gruesas.

Finalmente durante el envejecimiento del vino, si éste se produce en bodega de roble, por un lado se produce la cesión de compuestos fenólicos y aromas propios de la madera al vino, además de una microoxigenación natural (aporte de pequeñas cantidades de oxígeno), al difundirse oxígeno a través del esquivo de la bodega, entre las uniones de las duelas y los poros de la madera. Este oxígeno influye notablemente en la composición fenólica del vino, generando nuevos pigmentos que incrementan y estabilizan el color del vino. Pero el aporte de oxígeno debe ser tomado con precaución. Demasiado puede llevar a la formación de moléculas muy grandes, con alto peso molecular, que sean incapaces de permanecer en disolución, provocando la precipitación de material polimérico y dejando los vinos con una reducida intensidad de color. Además, si hay un exceso de oxígeno, se puede dar la oxidación de un gran número de sustancias. Muchas de estas reacciones oxidativas son irreversibles y disminuyen el desarrollo y persistencia de los compuestos fenólicos en el vino.



#### 4.6.4.4. LEVADURAS.

Las cepas de levaduras pueden influir en la proporción relativa de los piranoantocianos, derivados etilados y de los productos de condensación en el vino. La cantidad de acetaldehído y de ácido pirúvico liberado por metabolismo de estos microorganismos durante el proceso de fermentación depende de la cepa de levadura utilizada.

Las levaduras también pueden contribuir a la estabilidad del color porque van a liberar polisacáridos, que contribuyen a la estabilización de los polímeros formados, debido a su papel de coloide protector.

Así mismo, diferentes cepas de levadura van a presentar distinta capacidad para retener o adsorber compuestos fenólicos sobre su pared celular, lo cual va afectar al color del vino.



## CAPITULO 5: MICROOXIGENACIÓN DE VINOS

### 5.1. INTRODUCCIÓN

Durante el proceso de elaboración y crianza de un vino el oxígeno está presente y la cantidad que entra en contacto puede ser muy importante, si además este aporte se realiza en forma violenta, no controlado y en un momento inadecuado, la calidad del vino se puede ver afectada negativamente, dando lugar a oxidaciones no deseadas y alteraciones microbiológicas, pero si el aporte de oxígeno se hace de manera adecuada y controlada el efecto que va a producir en el vino puede ser beneficioso.

La crianza en barriles es una técnica onerosa y en la actualidad existen alternativas de menor costo como el uso de chips de roble para llevar a cabo el envejecimiento de los vinos, esta puede desarrollarse en depósitos de acero inoxidable y en conjunto con otras técnicas permite alcanzar una calidad comparable a la obtenida mediante el sistema tradicional en barricas. Existen métodos compatibles y complementarios que combinados permiten lograr un producto de elevada calidad con un menor costo que las barricas y hacer cada vez menos perceptible su diferencia. La crianza de vinos sobre lías, la utilización de chips de madera y la microoxigenación suponen alternativas para alcanzar tal fin. Al uso de chips para impartir al vino los flavors del roble se suman la microoxigenación y la optimización de la crianza sobre lías, que permiten mejorar las propiedades sensoriales del vino y otorgarle estabilidad fisicoquímica.

La técnica de microoxigenación de vinos se ha extendido en los últimos años en la industria vitivinícola mundial. La oxigenación controlada de los vinos tintos se puede aplicar en diferentes momentos de la vida del vino, y con diversas finalidades, entre otras la reducción de la astringencia, la estabilización del color, la eliminación de olores de carácter reductor, etc. La microoxigenación es un tratamiento post-fermentativo que consiste en la oxigenación continuada del vino. Los principales beneficios de la microoxigenación son el incremento de la intensidad colorante, la estabilización del color, la estructuración y armonización de los compuestos responsables de las propiedades responsables en la boca.

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

## 5.2. MICROOXIGENACIÓN

El envejecimiento del vino en barrica produce una mejora en la estructura y el color de los vinos, considerándose como el factor principal de estos cambios esta disponibilidad de pequeñas cantidades de oxígeno aportado por su difusión a través de la madera de la barrica. Entre las reacciones favorecidas están la generación de piranoantocianos y también la formación de acetaldehído, que es responsable de uno de los mecanismos de la unión de procianidinas y antocianos.

Intentando imitar este fenómeno observado en barrica, nace en la década de los noventa la técnica de la microoxigenación, que consiste en el aporte de pequeñas cantidades de oxígeno al vino de forma lenta y continua durante su elaboración y/o conservación, tal que la velocidad de aporte sea menor a la velocidad de consumo por parte del vino, evitando su acumulación. Esta técnica permite obtener vinos más aromáticos y con una mejor estabilidad de su estructura y color y más resistentes a la oxidación. El efecto de la microoxigenación sobre el color de los vinos podría ser, por tanto comparable a la crianza de vinos en madera pero más económico y permite trabajar a mayor escala, permitiendo al igual que ocurre con los vinos envejecidos en madera, estabilizar el color y la estructura tánica de los vinos tintos. También se reducen los aromas herbáceos de vinos elaborados con uvas poco maduras.

### 5.2.1. PRINCIPALES MOMENTOS PARA LA APLICACIÓN DE LA MICROOXIGENACIÓN.

Se han determinado dos periodos básicos para la aplicación de la microoxigenación: cuando la fermentación alcohólica ha terminado y todavía no ha comenzado la fermentación maloláctica, momento en que la adición de oxígeno induce la polimerización y la suavización de los taninos y durante el envejecimiento (después de fermentación maloláctica), etapa en la que el vino necesita oxígeno, normalmente aportado durante las operaciones de trasiego y relleno. Los trasiegos (tanto de los vinos almacenados en grandes depósitos como almacenados en barricas) pueden evitarse utilizando la microoxigenación, ahorrándose la bodega trabajo y gente.

Cuando el oxígeno se agrega antes de la fermentación maloláctica, hace posible crear polímeros complejos de antocianinas y taninos unidos por puente de etilo (a partir de etanol).

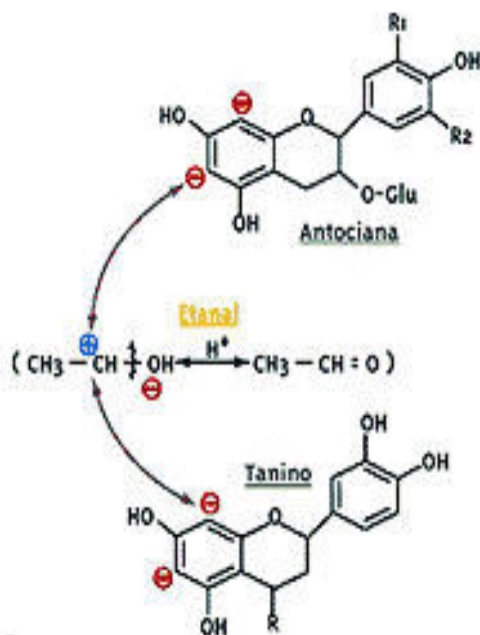


IMAGEN 5.1. UNION ANTOCIANO-TANINO POR PUENTE ETANAL

La producción de etanal es uno de los elementos claves para el éxito de la microoxigenación, además, dependiendo de la concentración relativa de taninos y antocianos, es posible obtener polímeros y resultados completamente diferentes, por lo tanto se debe tener en cuenta el balance de taninos-antocianinas. Si el desequilibrio es favorable hacia el lado de los taninos (mucho más taninos que antocianos), el suministro de oxígeno llevara a polímeros largos y el impacto sobre los vinos es más bien negativo, el color tiende a amarillo y se obtiene sensación de aspereza y sequedad.

En contraste, cuando la relación es favorable a los antocianos, la polimerización es limitada y el impacto en los vinos es positiva, mejor color, oxidación más grasa y mejor resistencia.

La relación tanino/antociano desafortunadamente no es estable en el tiempo y tiende a aumentar durante la vida del vino debido a la extrema fragilidad de los antocianos. Por lo tanto, es necesario intentar reequilibrar esta relación lo antes posible a través de un ensamblaje temprano.

Durante el envejecimiento, puede aplicarse microoxigenación con el fin de lograr la estabilidad de la materia colorante. Además se trata de redondear al vino y aportarle mayor complejidad al producto final al igual de lo que ocurre al envejecer el vino en barricas, con la diferencia que ese es un proceso más lento. Es recomendable realizar un seguimiento de los parámetros analíticos del vino, principalmente de los niveles de acidez volátil y de anhídrido sulfuroso. Asimismo deberían llevarse a cabo catas sucesivas para el control sensorial del producto.

### 5.2.2. FASES DE LA MICROOXIGENACIÓN

Durante la microoxigenación se pueden observar dos fases distintas en la evolución del vino. La primera fase, llamada fase de estructuración, se caracteriza por un aumento de la agresividad y la intensidad tánica en el paladar, al mismo tiempo disminuyen los aromas fermentativos y varietales y la complejidad del vino. En esta fase se refuerza la estructura tánica y se estabiliza la materia colorante, obteniéndose vinos más equilibrados. El final de esta fase viene determinado por la inversión de estas tendencias organolépticas. Una vez terminada la fase de estructuración comienza la etapa de armonización, etapa en la que el vino se va haciendo cada vez más complejo, sus taninos se van redondeando y el vino comienza a ser suave y accesible.

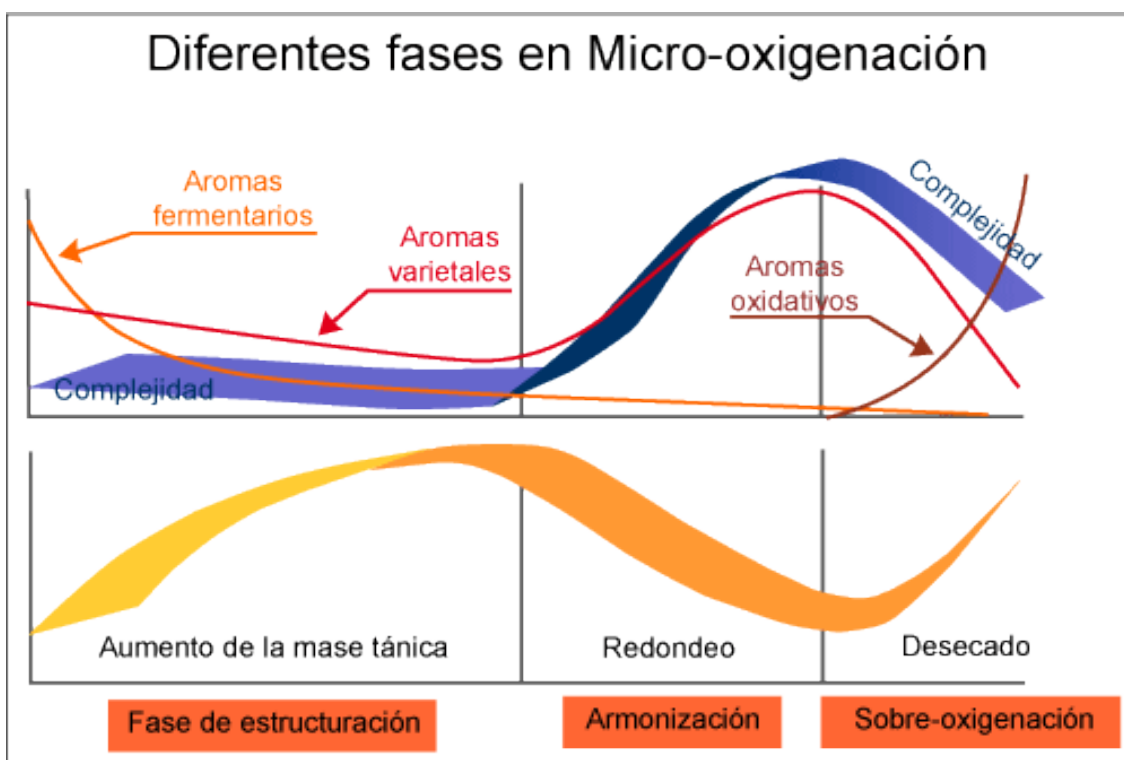


IMAGEN 5.2. FASES DE LA MICROOXIGENACION-LEMAIRE 1995, ROIG Y YERLE 2003

Los objetivos de esta fase son los mismos que se buscan cuando el vino se envejece en bodega: expresar al máximo las cualidades cromáticas, aromáticas y gustativas, desarrollando al máximo la complejidad aromática, mejorando la calidad tánica, estabilizando el color y eliminando olores a reducido y caracteres herbáceos. Las dosis de oxígeno en esta etapa deben ser bajas, evitando el riesgo de acumulación de oxígeno disuelto. El vino en esta etapa es sensible y se corre el riesgo de desecación y sobre-evolución, que serán mayores cuanto menor sea la estructura del vino. Por lo tanto ambas fases

están relacionadas, es decir, cuanto mayor sea la fase de estructuración más necesaria es la fase de armonización y más tiempo requiere.

### 5.2.3. FUNDAMENTO Y EQUIPO DE MICROOXIGENACION

El fundamento de la técnica de microoxigenación surge de los intercambios gaseosos que ocurren en las barricas durante la crianza del vino, esta técnica por lo tanto pretendía realizar este aporte de igual manera, de forma controlada a los vinos que se mantenían en tanques de acero inoxidable y conseguir similares mejoras sensoriales.

Sin embargo, hoy en día la microoxigenación se aplica en diferentes etapas de la vinificación con distintos objetivos. En definitiva la microoxigenación se fundamenta en aportar al vino pequeñas cantidades de oxígeno de forma continua, a través de un microdifusor poroso que facilita la disolución del oxígeno en el vino, teniendo en cuenta que la velocidad de aporte de oxígeno al vino debe ser inferior a la velocidad de consumo de oxígeno del mismo, de forma que no se produzca una acumulación de oxígeno disuelto, y por lo tanto la aparición de efectos negativos.

Los sistemas más simples consisten en una fuente de oxígeno, un controlador para la dosificación de este oxígeno y un microdifusor poroso. Una de las partes más importantes del equipo de microoxigenación es la dosificación del oxígeno. El difusor es un cilindro cerámico perforado que convierte el flujo de oxígeno en finas burbujas, las cuales se dispersan rápidamente en el vino. El llenado de la cámara de dosificación y su expansión son realizados mediante dos electroválvulas controladas por medio de un programador. La adición de oxígeno en forma de micro burbujas incrementa la superficie de contacto entre el gas y el vino, y por tanto una buena disolución del oxígeno en él. Se considera normalmente que las dimensiones mínimas del depósito deben ser de 2,5 metros de altura y la posición del difusor en él, a unos 10 o 20 cm del fondo, evitando así el contacto con las lías ya que estas absorben oxígeno; de esta forma, las micro burbujas se disuelven en el vino durante el recorrido antes de llegar a la superficie.

Los sistemas de adición de oxígeno se pueden clasificar en sistemas de microoxigenación activos y sistemas de microoxigenación pasivos. **Los sistemas activos** pueden ser másicos o volumétricos. El sistema volumétrico está formado por una primera cámara de dosificación en la que el volumen de oxígeno es ajustable (se alimenta de una botella de oxígeno) y una segunda cámara llamada cámara de expansión que transfiere el oxígeno al difusor de cerámica con un punto de burbuja de 300 hPa. El número de secuencias de inyección es ajustable por el programador y determina la cantidad de oxígeno inyectado ( $\text{cm}^3$ ) por litro de vino y por mes. El volumen de gas inyectado está en función de la diferencia de presión entre las dos cámaras, que debe ser constante para garantizar un flujo estable de oxígeno hacia el vino.

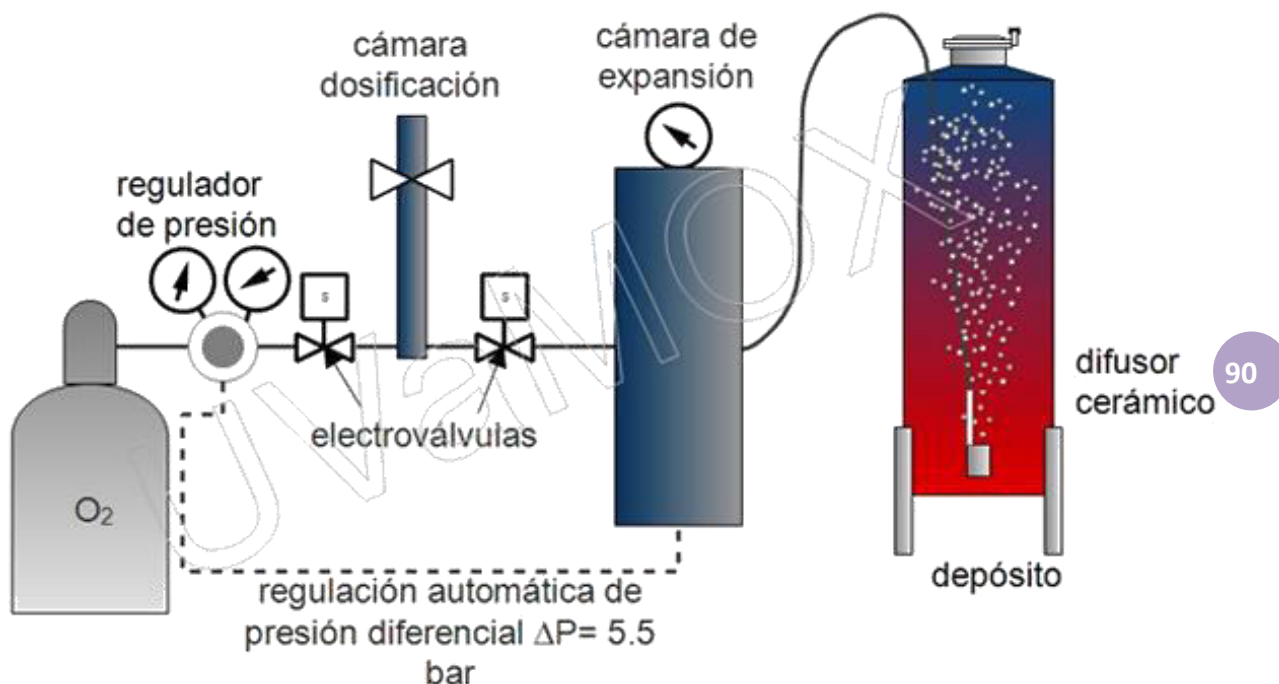


IMAGEN 5.3. EQUIPO PARA MICROOXIGENACIÓN VOLUMÉTRICO

El control del proceso de microoxigenación tiene como objetivo asegurar que todo el oxígeno dosificado sea disuelto en el vino antes de llegar a la superficie. Además, se deben controlar factores como la temperatura del vino, la posición del difusor, el tamaño de las burbujas y la presencia de otros gases en el vino (CO<sub>2</sub>) que pueden influir en la distribución del oxígeno dosificado haciendo que no sea uniforme o igual para todos los vinos. El control de la temperatura es esencial en un tratamiento de microoxigenación, lo correcto es trabajar entre 15 y 20°C, con temperatura mínima de 12-13°C y máxima de 24°C. A baja temperatura aumenta la solubilidad del oxígeno en el vino, su consumo se ralentiza y existe el riesgo de acumulación de oxígeno disuelto en el vino. Esta acumulación provocaría reacciones de oxidación si posteriormente se produce un aumento de la temperatura. Por el contrario, a altas temperaturas la solubilidad del oxígeno en el vino es menor y su disolución es más lenta que su consumo del oxígeno; en este caso las reacciones son extremadamente rápidas y pueden conducir de nuevo a la oxidación. Además, la temperatura también influye en el mecanismo de dosificación.

Otros sistemas de microoxigenación emplean una tecnología más sofisticada, en lugar de dosificar el oxígeno volumétricamente (que depende del ajuste fino de la presión), lo hacen másicamente. Es decir que dosifican en mg/L.mes para ello utilizan microelectrónica inteligente que, con cálculos avanzados basados en la ley de los gases ideales, considerando la presión de inyección del gas y la presión hidrostática de la cerámica por la altura de vino, así como las condiciones ambientales y considerando todas estas variables calculan los correspondientes mg/L.mes.

Una característica común en la microoxigenación activa es el empleo de un único difusor en el depósito, independientemente del volumen de vino a tratar. El volumen de vino y, por tanto, el tamaño del depósito influirán tanto en el caudal de oxígeno a dosificar (para una determinada dosis de consigna), como en las condiciones en las que se ha de inyectar el oxígeno. La altura de vino por encima del difusor condiciona el proceso tanto por presión hidrostática del difusor y la distancia a recorrer por las micro burbujas, como por la velocidad de ascenso de las burbujas que dependerá de su tamaño y determinará el tiempo disponible para que el oxígeno se disuelva en el vino. Es imprescindible que el oxígeno dosificado se disuelva en el vino durante su ascenso desde el punto de inyección, Los ensayos preliminares del sistema de Laplace y Durcournau demostraron la necesidad de que la columna de vino recorrida por las micro burbujas del oxígeno dosificado fuese de al menos 2,5 m de altura. Muchos autores destacan que con una altura de 2,2 m es suficiente para garantizar la disolución de las dosis habituales en microoxigenación, ya que no han observado problemas de oxidación en el vino. En los trabajos realizados se comprobó que con dosis de hasta 5 ml/L mes, una altura de la columna de líquido de 2 m era suficiente para garantizar la disolución completa del oxígeno.

**Los sistemas pasivos** son aquellos que utilizan como fuente de oxígeno el aire atmosférico en lugar de un gas a presión. Dentro de estos sistemas que consideramos pasivos existen dos desarrollos tecnológicos claramente diferentes. El primero de ellos sustituye la cerámica porosa de los sistemas de microoxigenación activa por un material permeable al oxígeno que se introduce en el depósito con el vino a micro oxigenar. El segundo se basa en el uso de depósitos contruidos de un material con una permeabilidad al oxígeno conocida. Es decir que, en lugar de disponer de un sistema que inyecta puntualmente oxígeno gaseoso en un depósito, es el propio depósito el que se convierte en el sistema dosificador de oxígeno molecular por difusión.

El primer enfoque de los sistemas pasivos viene a satisfacer las demandas de algunos enólogos que han destacado la necesidad de reutilizar barricas viejas o de dotar a sus barricas nuevas de una tasa de transferencia de oxígeno (TTO) superior. No es posible utilizar los sistemas de microoxigenación activos debido al volumen de las barricas y al costo derivado que su aplicación pudiera tener. Así, los australianos Kelly y Wollan realizaron una aproximación teórica de la madera de las duelas de una barrica como si se tratase de una membrana semipermeable y establecieron en 2,5 ml/L.mes la dosis que, como máximo, podría dosificar una barrica nueva, muy por debajo de las necesidades de oxígeno de algunos vinos. Con el fin de resolver la necesidad que tienen algunos vinos de recibir dosis de 2 a 8 ml de oxígeno por litro y mes desarrollaron un sistema de oxigenación complementario para las barricas, basado en la difusión de oxígeno molecular del aire a través de tubos fabricados con polímeros semipermeables. La principal ventaja de este sistema de dosificación, que se basa en la ley de Fick como lo hace la madera de roble, es la desaparición de las microburbujas características de los sistemas de

microoxigenación activa por inyección y por ello los requerimientos de diseño para asegurar la disolución del oxígeno. La tasa de gas que permea por una membrana depende de las características de la membrana, su espesor y la superficie disponible. Así pues, propusieron el uso de tubos de polidimetilsiloxano (silicona) y desarrollaron un sistema denominado (barrel) mate™ que no es más que un ventilador que renueva automáticamente y de forma programada el aire contenido en los tubos de silicona. Estos tubos tienen una longitud y espesor precisos para lograr las dosificaciones requeridas al ser introducidos en la barrica.

92

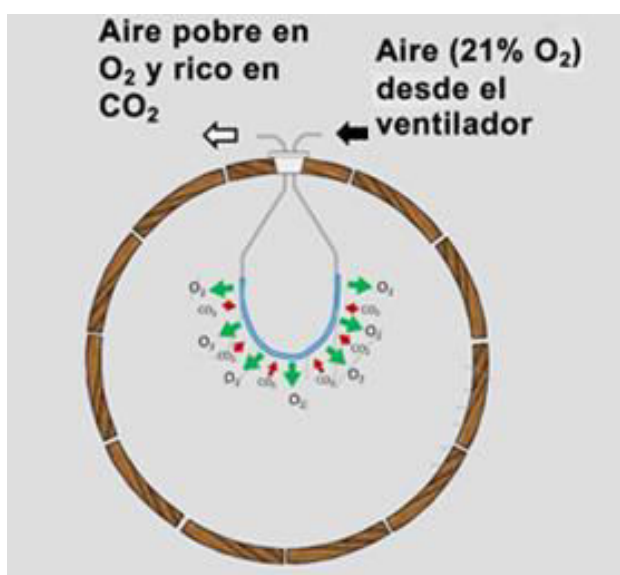


IMAGEN 5.4. SISTEMA DE MICROOXIGENACIÓN PASIVA EN BARRICAS

Este mismo principio se puede para aplicar en depósitos existentes en bodega utilizando tubos más largos e incluso sistemas de agitación sumergibles para lograr una buena homogenización del oxígeno dosificado. Con esta misma idea existen en el mercado depósitos diseñados para usar el aire atmosférico, se trata de depósitos de polietileno que cuentan con un tubo de difusión de dimetilsilicona que trabaja con aire a la presión atmosférica. La gran ventaja de estos sistemas reside en la capacidad de, modificando la longitud y características de los tubos, conseguir diferentes dosis de oxigenación (desde 0 a 50 ml/L.año).

El principal inconveniente de estos sistemas es la falta de renovación del aire dentro del tubo. Así, en la primera versión de estos depósitos se observó una acumulación de dióxido de carbono que evitaba que el diferencial de concentración de oxígeno entre el vino y el gas dentro del tubo fuese el habitual que tendría con el aire atmosférico. De esta manera la dosificación de oxígeno bajaba rápidamente en los primeros días de uso, ya que el tubo no trabajaba en las condiciones en las que se determinó su permeabilidad nominal.

Estos sistemas utilizan el oxígeno atmosférico al igual que la barrica y lo incorporan por difusión al vino como sucede en la madera. Sin embargo, el aporte es distinto ya que se realiza en la superficie del tubo y es función de su



longitud y diámetro característicos de cada tipo de tubo, mientras que en el caso de la barrica la relación superficie de difusión/volumen de vino es mayor ( $2,01\text{m}^2/225\text{L}$ ).

Existen otros materiales naturales con los que se pueden hacer depósitos que también permiten la microoxigenación del vino. Entre estos materiales destaca la cerámica (gres) y hormigón de granulometría determinada, lo que en teoría permitiría construir depósitos con una porosidad conocida y por ello de la TTO conocida. Sin embargo, ningún fabricante detalla las tasas de transferencia de oxígeno de sus depósitos y pocos productos se ofrecen como una alternativa a las barricas.

#### 5.2.4. EFECTOS DE LA MICROOXIGENACIÓN

Cuando se controla, la oxigenación permite un cambio en el perfil de los vinos. Sus impactos son múltiples y afectan a todos los componentes: color, aromático, estructura. Si su dosis es adecuada la microoxigenación conducirá a vinos de buena calidad y si es excesiva o deficitaria redundará en mermas de la calidad. Por lo tanto según sean las dosis y el momento en el cual se aplique se obtendrán efectos positivos o negativos, algunos de los principales efectos de la aplicación de la microoxigenación son los siguientes:

##### 5.2.4.1. EFECTO POSITIVOS DE LA MICROOXIGENACIÓN

**Efecto sobre las levaduras:** Una correcta adición de oxígeno puede conferirles a las levaduras una mayor tolerancia al etanol y mayor actividad fermentativa, pudiendo de esta forma, decrecer la cantidad de compuestos azufrados que se forman y conseguir también un final más rápido de fermentación. En general, las levaduras necesitan 8-10 mg/L de oxígeno durante la fase inicial de crecimiento para que este sea óptimo. Al inicio de la fermentación, el mosto está saturado de oxígeno y no es necesario el aporte externo, pero al transcurrir el proceso fermentativo, al final de la fase de crecimiento, las levaduras todavía necesitan oxígeno y este es el momento correcto para su incorporación al medio. El momento en que se realiza la adición de oxígeno es un punto importante de control porque si se añade antes, las levaduras lo utilizarán para multiplicarse y no para formar compuestos de interés cuando se alcanza aproximadamente un contenido de alcohol del 10%, tampoco se debe adicionar oxígeno porque las levaduras ya no lo consumen y el oxígeno podría impactar directamente sobre el vino.

La adición de oxígeno al vino también puede ayudar a evitar paradas de fermentación, las levaduras asimilan más nitrógeno cuando hay oxígeno en el medio, en ausencia de este, los ácidos grasos de cadena corta se acumulan y se pueden secretar al vino, contribuyendo a problemas de parada de fermentación.

**Efecto sobre las características cromáticas y la estabilidad de color de los vinos:** Los compuestos fenólicos, en especial los antocianos y los taninos, ya que son los principales responsables del color y la estructura, son uno de los constituyentes más importantes del vino en términos de su alta concentración y por el papel que desempeñan en las propiedades organolépticas del vino. Los antocianos son compuestos muy inestables y participan en diferentes reacciones durante la fermentación y la maduración de los vinos para formar pigmentos más complejos. La estabilidad de los antocianos se puede alcanzar por distintos mecanismos.

- a) Reacciones directas entre antocianos y flavanoles.
- b) Reacciones entre antocianos y flavanoles, mediadas por acetaldehído, resultando un nuevo pigmento que posee un puente de etilo y que puede ser desprotonado para dar lugar a un compuesto coloreado.
- c) Formación de piranoantocianos a través de la reacción entre antocianos y otros compuestos como el ácido pirúvico, acetaldehído, vinilfenoles y vinilflavanoles.

El resultado de todas estas reacciones es la formación de compuestos estables que estabilizan el color del vino, ya que parcialmente resisten la decoloración por sulfuroso y son más estables al pH del vino. Su formación, importancia relativa y la estructura final de los nuevos pigmentos no solo dependen de la composición fenólica inicial del vino sino también de la presencia de determinados metabolitos de las levaduras y de la exposición al oxígeno, por lo que su formación se ve favorecida por la microoxigenación. Así, la formación de acetaldehído necesario para la formación de compuestos coloreados mediados por puentes de etilo y formados por la reacción entre antocianos y flavanoles necesita oxígeno así como la formación de piranoantocianos. La ruta de cicloadición del antociano con moléculas como el ácido pirúvico requiere un paso de oxidación para recuperar la estructura flavilio antes de llegar al producto final.

**Efecto sobre el cuerpo y la astringencia:** Hay diferentes sustancias fenólicas implicadas en el amargor, astringencia y complejidad del vino tinto, pero son principalmente los flavanoles los compuestos mayormente responsables, que son moléculas muy reactivas. Las de bajo peso molecular son fundamentalmente amargas, mientras que los polímeros de alto peso molecular son básicamente astringentes y solo ligeramente amargos, ya que la astringencia parece estar muy ligada a la longitud del tanino. Los taninos sufren reacciones de despolimerización y re polimerización durante el envejecimiento, debido al medio ácido del vino. Estas transformaciones pueden ocurrir en ausencia o presencia de oxígeno, pero diversos estudios parecen demostrar que las estructuras resultantes serán diferentes y los formados en presencia de

oxígeno no son tan reactivos frente a las proteínas, por tanto, menos astringentes.

**Efecto sobre el aroma:** Aumenta las notas afrutadas y disminuye las notas vegetales, esta disminución de aromas herbáceos no estaría relacionado con los llamados compuestos C6 sino a la reducción de otros compuestos como pirazinas y tioles, que son oxidados por el oxígeno. La microoxigenación también ayuda a disminuir los olores a reducción, atribuidos a compuestos azufrados, durante la fermentación, una adición controlada de oxígeno puede disminuir el impacto de compuestos azufrados y garantizar la salud de las levaduras y subir el potencial redox, así compuestos como los tioles, serán oxidados a compuestos con un umbral de detección menor como los sulfitos.

**Simula el envejecimiento en barrica:** La microoxigenación busca frecuentemente simular la lenta absorción de oxígeno que ocurre en las barricas y que le da un color más estable y una mayor complejidad en boca. Nevares y Del Álamo indicaron que el ritmo natural de permeación de oxígeno en barricas de roble francés esta entre 1,66 ml/litro/mes y 2,5 ml/litro/mes. La microoxigenación por lo tanto se puede usar como una técnica alternativa al uso de barrica, ya que como las barricas son caras ocupan mucho espacio y tienen una vida útil muy limitada, la microoxigenación es una técnica más económica. Estudios realizados por Cano-López et al. estudiaron la evolución de los compuestos fenólicos en un vino durante tres meses en tres situaciones diferentes: tanque de acero inoxidable con microoxigenación, envejecimiento en barrica nueva y envejecimiento en barrica usada. Los resultados indicaron que el vino micro oxigenado y el de la barrica eran similares cromáticamente y notablemente superiores al de la barrica usada, pero no evolucionaron igual durante el envejecimiento en botella posterior, observándose una degradación mayor en la muestra micro oxigenada, esto puede deberse a que los compuestos fenólicos extraídos de la madera también tengan un papel importante en la protección del color de los vinos durante el envejecimiento, por lo tanto es común complementar la microoxigenación, con la adición de chips de madera.

Para alcanzar los efectos beneficiosos antes mencionados a través de la microoxigenación hay que tener en cuenta que el vino al que se aplicará tal tratamiento debe cumplir con algunos requisitos mínimos, relacionados con su riqueza en compuestos fenólicos:

- Tener un Índice de Polifenoles Totales (IPT) (densidad óptica a 280nm) superior a 30.
- Tener una relación de antocianos – taninos equilibrada (según la bibliografía se recomienda que sea de 1 a 4).
- Presentar una intensidad colorante (IC) con valores entre 8 y 16 como recomendados.

### 5.2.4.2. EFECTOS NEGATIVOS DE LA MICROOXIGENACIÓN

**Oxidación de compuestos fenólicos:** Los antocianos libres y otros compuestos fenólicos son muy sensibles a la oxidación, transformándose irreversiblemente en compuestos incoloros o amarillos, con la consiguiente pérdida de color.

**Desarrollo de bacterias acéticas:** El oxígeno puede favorecer el desarrollo de bacterias acéticas que oxidan el etanol dando ácido acético y que elevan por tanto la acidez volátil. Las bacterias acéticas están presentes en el vino en todas las etapas de la vinificación, por lo cual si las condiciones de temperatura, de pH y de oxígeno son favorables actuaran incluso aunque la concentración de SO<sub>2</sub> libre sea la adecuada para proteger al vino.

**Desarrollo de Brettanomyces:** Un aumento de oxígeno disuelto puede favorecer el crecimiento de levaduras del género Brettanomyces, que son levaduras de contaminación responsables de la aparición en el vino de 4-etilfenol y 4-etilguayacol que aportan aromas a establo, cuero, sudor de caballo, que no son deseables en el vino. Estas levaduras pueden desarrollarse al final de la fermentación alcohólica para crecer en presencia de azúcares residuales. Estas levaduras son capaces de consumir el oxígeno disuelto.

Estos efectos negativos estan relacionados con un aporte excesivo del oxígeno y se pueden reducir con una oxígebación lenta que permita el consumo de oxígeno a medida que se adiciona (microoxigenación), a diferencia de una oxigenación violenta (macrooxigenación).

### 5.2.5. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA DOSIS DE OXÍGENO APLICADA

El oxígeno a agregar va a depender del varios factores además del efecto que se quiera alcanzar, si lo que se busca es eliminar aromas de reducción la dosis a agregar es menor que la necesaria para conseguir modificaciones en el color y la estructura del vino.

Momento	Dosis		Duración
	ml/L/mes	mg/L/mes	
Antes de FML	10-50	15-65	2-4 semanas
Tras la FML	0,1-5,0	0,15-6,5	1-6 meses

TABLA 5.1. DOSIS DE OXÍGENO ANTES Y DESPUÉS DE LA FML Y DURACIÓN DE LA APLICACIÓN

### 5.2.5.1. CONCENTRACIÓN DE SO<sub>2</sub>

El SO<sub>2</sub> no reacciona directamente con el oxígeno, pero sí que actúa como antioxidante, reaccionando con los productos intermedios que se forman durante la ruta de reducción del oxígeno, lo que afecta fundamentalmente a la producción de acetaldehído, y/o ligándose de forma irreversible al acetaldehído que se forme, lo que evita que el acetaldehído generado en la microoxigenación participe en reacciones de condensación y polimerización. Además, el SO<sub>2</sub> tiene la capacidad de reducir los polifenoles oxidados y regenerar sus formas iniciales, parando de esta forma la polimerización regenerativa. Los efectos de la microoxigenación en presencia de altas cantidades de SO<sub>2</sub> se logran con mayor dificultad y tardan más tiempo en producirse.

97

### 5.2.5.2. MOMENTO DE LA APLICACIÓN

La microoxigenación puede ser aplicada en cualquier momento de la elaboración o maduración del vino. Si nos centramos en la principal aplicación de la microoxigenación, es decir, la estabilización del color del vino, se ha observado que la aplicación entre el final de fermentación alcohólica e inicio de la fermentación maloláctica da lugar a los resultados más efectivos, ya que la aplicación de oxígeno permite obtener vinos con una intensidad colorante más elevada. Este mayor efecto está justificado por dos razones; por una parte, debido a que al finalizar la fermentación alcohólica el contenido de SO<sub>2</sub> libre es prácticamente cero y, por otra parte, en este momento el contenido de antocianos monoméricos es mayor y, por tanto, la microoxigenación estabiliza a estos antocianos y limita la polimerización de taninos.

Al finalizar la fermentación maloláctica se asegura una cantidad de acetaldehído suficiente para el desarrollo de nuevos pigmentos, pero las dosis a aplicar deben ser menores, ya que el vino tiene menor contenido de antocianos libres, y se podría ver favorecida la polimerización de taninos produciendo vinos más secos o incluso provocar la sobre oxidación del vino.

Además, los niveles de acetaldehído no deben sobrepasar sus umbrales de detección, especialmente tras la fermentación maloláctica. Por ello, la dosis de oxígeno aplicada tras la fermentación maloláctica debe ser menor que entre el fin de la fermentación alcohólica y el inicio de la fermentación maloláctica, no comprometiendo así a la calidad aromática del vino.

### 5.2.5.3. COMPOSICIÓN FENÓLICA INICIAL DEL VINO

La capacidad de consumir oxígeno de un vino es proporcional a la concentración de polifenoles, ya que son los responsables del 60 % del consumo de oxígeno, mientras que el etanol representa un 20 % y el SO<sub>2</sub> el 12 %. Además de la concentración de polifenoles lo que se tiene en cuenta es el equilibrio entre ellos, de forma tal que el acetaldehído producido intervenga en

las reacciones de condensación entre taninos y/o entre antocianos y taninos aumentando el color y cuerpo del vino.

#### 5.2.5.4. LA TEMPERATURA

A la hora de agregar oxígeno hay que tener en cuenta la temperatura de trabajo, a bajas temperaturas la solubilidad del oxígeno es mayor y la reactividad es menor, es decir que reacciona de manera más lenta, reduciéndose el consumo y posibilitando una acumulación de oxígeno en el vino. Por el contrario temperaturas más alta, mayores a 22°C, todas las reacciones químicas se aceleran, se incrementa la velocidad de formación de quinonas, se consume todo el oxígeno y hay menor selectividad en las reacciones. Por lo tanto es importante mantener la temperatura entre los 16-18°C o disminuir la velocidad de suministro si la temperatura no se puede controlar.

98

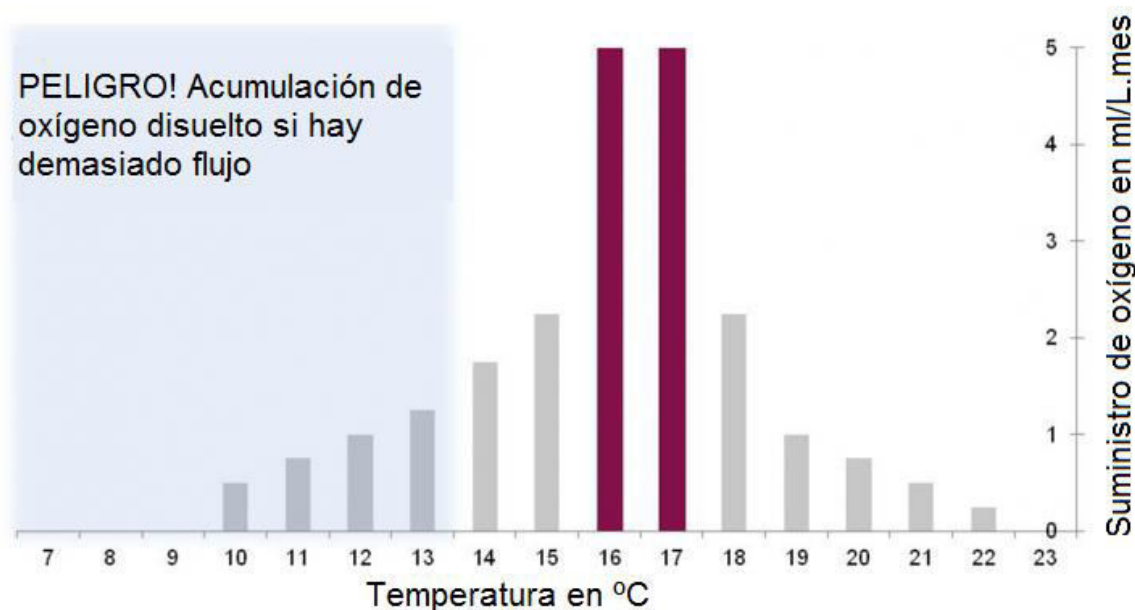


IMAGEN 5.5. TASA DE SUMINISTRO DE OXIGENO SEGUN LA TEMPERATURA

#### 5.2.5.5. LA TURBIDEZ

La turbidez se debe a la presencia de coloides y lías en suspensión que, con el tiempo, van precipitando. Las lías situadas en el fondo del depósito consumen oxígeno. Para evitar consumos no controlados de oxígeno se deberá micro oxigenar el vino cuando tenga una turbidez menor a 100 NTU. Además, la presencia de turbios dificulta una oxigenación homogénea.

#### 5.2.5.6. LA SUPERFICIE DE CONTACTO ( $m^2/m^3$ )

Determina la cantidad de oxígeno disuelto, así, cuanto mayor sea la superficie de contacto entre el aire atmosférico y el vino mayor será la cantidad de oxígeno disuelto en él. Por tanto, es primordial conseguir la mayor superficie de contacto entre el oxígeno y el vino, asegurando la total difusión de éste. Esto depende del tipo de difusor usado, de las dimensiones del tanque y de la posición del difusor en el tanque. La mayor superficie de contacto se consigue con un difusor que permita la formación de burbujas lo más pequeñas posibles. También son importante las dimensiones del tanque y la posición del difusor con respecto del fondo del tanque para darle a las burbujas de oxígeno el tiempo necesario para disolverse y para que la presión impida el aumento de tamaño.

99

#### 5.2.6. PARÁMETROS A CONTROLAR DURANTE LA MICROOXIGENACIÓN

El control durante la microoxigenación debe ser cuidadoso y constante, ya que la evolución del vino puede complicarse. Así, por ejemplo, una excesiva oxidación de antocianos o una gran polimerización de compuestos fenólicos producirán pérdidas de color y una mayor sensación de sequedad en boca. Además, cada vino evoluciona de diferente forma.

Hay varios parámetros que nos pueden indicar cómo va evolucionando el vino que está siendo micro oxigenado. Dependiendo del nivel tecnológico de las bodegas, el control puede ser básico, intermedio o especializado:

**Parámetros a nivel básico:** Temperatura,  $SO_2$  libre y total, control del inicio y final de la fermentación maloláctica, cata de los vinos. El control de la concentración de  $SO_2$  libre puede ser efectiva durante la microoxigenación de los vinos, siempre que no sea posible la medida de oxígeno disuelto, ya que un rápido descenso indicaría altos niveles de oxigenación. Por tanto, los descensos de  $SO_2$  libre son importantes: una disminución a valores más bajos de 10 ppm supone que el vino se expone a una importante oxidación.

**Parámetros a nivel intermedio:** Oxígeno disuelto en el vino, turbidez y acidez volátil.

**Parámetros a nivel especializado:** Color, composición fenólica, concentración de acetaldehído, formación de nuevos pigmentos, control de la población de bacterias acéticas y levaduras del género *Brettanomyces*.

## CONCLUSIONES

Entender la participación de los compuestos fenólicos en aquellos fenómenos que conducen a la estabilización del vino en cuanto a su atributo de color (entre otros), o bien su deterioro en términos de envejecimiento y oxidación, es de fundamental importancia, para saber desde qué variables interferir para promover y acentuar los efectos positivos y evitar o disminuir los que impactan negativamente. Para lograr este cometido, deberá ser punto de partida, el adquirir los conocimientos pertinentes necesarios para establecer un marco teórico adecuado que abarque fundamentalmente las características estructurales más esenciales de éstos compuestos y que explican sus comportamientos frente a otras sustancias, y los factores que mayor influencia ejercen en cada fenómeno del cual pueden formar parte.

Así, de esta manera, se pueden establecer conclusiones concretas respecto a la relación que guardan estos compuestos presentes en el vino, y distribuidos de manera tan heterogénea, con la facultad que poseen para desarrollar reacciones de diversas naturalezas y que impactan en gran medida en sus propiedades finales.

Entre ellas, que:

- i. La exposición controlada al oxígeno es fundamental para producir vinos de calidad, especialmente en el caso de los tintos. La oxigenación de mostos y vinos es inevitable durante el proceso de elaboración ya que están constantemente expuestos al aire, razón por la cual el manejo y control de oxígeno y por ende de las oxidaciones son factores determinantes para la obtención del mejor resultado tanto en la producción como en la crianza. Las reacciones de oxidación son fenómenos complejos que están gobernados por un gran número de factores como la composición polifenólica, agentes catalizadores, tanto enzimas como metales de transición en especial el hierro y el cobre y por supuesto el oxígeno entre otros y conocer los mecanismos del proceso de oxidación permite mejorar o desarrollar nuevas técnicas para su control.
- ii. La oxidación controlada de los mostos y la hiperoxidación son prácticas útiles cuando se vinifican materias primas ricas en polifenoles y sobre todo cuando la relación entre la concentración en ácidos hidroxycinámicos y glutatión, indica que es una variedad sensible a la oxidación. Este tipo de práctica no se puede aplicar indiscriminadamente, se debe aplicar sólo cuando sea necesario, por ejemplo en mostos con alta sensibilidad a la oxidación para preservar todo lo posible el perfil aromático y sobre todo el color de los vinos.





- iii. El color del vino es consecuencia de a la presencia de las antocianinas, en forma libre y combinadas a las procianidinas, que contribuyen a los componentes rojo, amarillo y azul del color del vino, en función del pH del medio, a las procianidinas y flavonoles que contribuyen al componente amarillo, pero también, de los mecanismos implicados en esas transformaciones complejas que ocurren entre tales compuestos y de las estructuras químicas de los compuestos resultantes.
- iv. La microoxigenación es una técnica desarrollada con la intención principal de replicar la lenta oxidación observada durante el envejecimiento en barricas en un tiempo menor y con menor costo, en la cual pequeñas cantidades de oxígeno son agregadas al vino de manera lenta con la esperanza de que mejore las características sensoriales, estas mejoras solo se verán si se hace de forma muy controlada, en el momento indicado y en un vino que cumpla con las características necesarias para que los fenómenos de estabilización tanto de aroma como de color se puedan dar, la microoxigenación puede ser además acompañada de otras técnicas como la crianza sobre lias o la fermentación con duelas de roble con el fin de conseguir un producto cada vez más competitivo no solo en costos sino también en calidad con los vinos criados en barricas.

## ANEXO I : ORIGEN DE LOS POLIFENOLES

En la formación de polifenoles, participan dos rutas metabólicas, la vía de los policétidos, minoritaria en plantas superiores, y la vía del ácido siquímico. A veces, ambas vías pueden participar conjuntamente en la formación de fenoles complejos. La vía de los policétidos discurre de un modo similar a la de los ácidos grasos; sobre una molécula de arranque, o cebador, que en la mayoría de los casos es el acetil CoA, se van adicionando sucesivamente unidades de malonilCoA, con pérdida de un átomo de carbono, de modo que por cada malonil utilizado se integran dos átomos de carbono.

Las enzimas que participan se hallan asociadas, formando un complejo multi enzimático que cataliza todos los pasos de la biosíntesis, y los compuestos que abandonan el complejo son los ácidos policétidos íntegramente formados. Estas estructuras, donde se da una alternancia de átomos con y sin oxígeno, son muy inestables, pero en las plantas se estabilizan originando compuestos aromáticos de tipo fenólico.

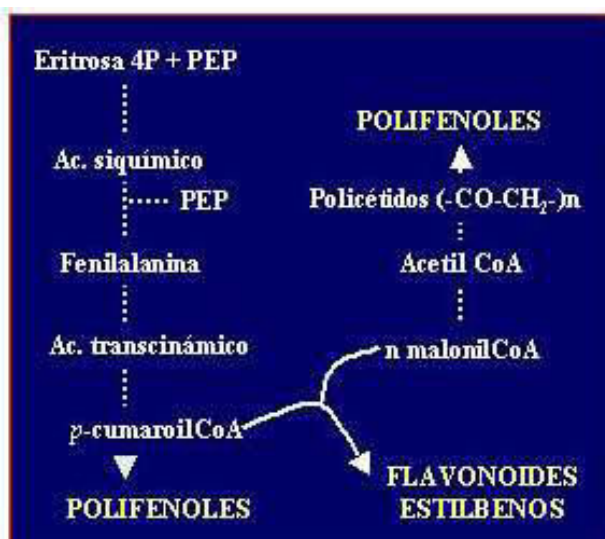
La ruta del ácido siquímico, que es dependiente de luz, se inicia en los plastos por condensación de dos productos típicamente fotosintéticos, la eritrosa 4-P con el fosfoenolpiruvato (PEP), y por diversas modificaciones se obtiene el ácido siquímico, del cual derivan directamente algunos fenoles en los vegetales. Pero la vía del ácido siquímico normalmente prosigue, y la incorporación de una segunda molécula de PEP conduce a la formación de fenilalanina, que por acción de la enzima fenilalanina amonioliasa (PAL) se transforma en el ácido transcinámico. Posteriormente, el ácido cinámico es transformado en ácido p-cumárico por incorporación de un grupo hidroxilo a nivel de anillo aromático y la acción de una CoA ligasa lo transforma en p-cumaroilCoA, que es el precursor de la mayoría de los fenoles de origen vegetal, entre los que se encuentran los polifenoles del vino.

La acción del PAL es fundamental para la vida de las plantas y por ello está estrictamente modulada. Entre otros factores, esta enzima es activada por la luz, y depende además de la concentración de diferentes hormonas vegetales. También, en general, la actividad PAL aumenta cuando a los vegetales se les somete a situaciones de estrés, como la falta de agua, infecciones fúngicas o bacterianas y radiaciones UV.

Otro factor que activa la enzima PAL es el frío, y por ello, las plantas sometidas a bajas temperaturas suelen presentar coloraciones rojizas en tallos y hojas. También es conocido que al florecer las plantas en primavera que siguen a inviernos muy fríos, las flores desarrollan colores muy intensos.

Los fenoles desempeñan importantes funciones fisiológicas en los vegetales, en general y debido a su condición de polifenoles se oxidan con mucha facilidad y de esta manera actúan como antioxidantes. Los fenoles también se comportan como inhibidores del crecimiento de las plantas, aunque se han

encontrado algunas estructuras, que de forma específica lo activan, al inhibir la degradación de una hormona vegetal que es la auxina.



Esquema de la biosíntesis de polifenoles en plantas

## ANEXO II – DETERMINACION DE MADUREZ FENÓLICA.

### MADUREZ POLIFENÓLICA.

La madurez polifenólica puede ser determinada mediante el método de SaintCricq, consistente en la extracción de un modo suave reproduciendo las condiciones industriales de maceración (pH 3,6) y en condiciones extremas (pH 1), de los polifenoles que contienen los granos de uva. La diferencia entre ambos resultados indica la extractabilidad de los compuestos fenólicos y, por tanto, refleja la maduración fenólica de la uva.

El procedimiento consiste en pesar dos fracciones de 25 g del triturado de uva en vasos de precipitados de 250 mL. A uno de ellos se le adicionan 25 mL de una disolución a pH 1 (HCl 0,1 N) y al otro, 25 mL de una disolución a pH 3,6, (5 g de ácido tartárico, 4,5 mL de NaOH al 32% y agua destilada hasta un volumen final de 1 L). Se deja macerar a temperatura ambiente durante 4 h agitando cada 15 min. Transcurrido este tiempo, se centrifuga a 4500 rpm durante 15 min.

En el sobrenadante centrifugado se determinan antocianos totales a las muestras obtenidas a ambos pH y compuestos fenólicos totales

(CFT) en el extracto a pH 3,6.

### Materiales y Métodos

La concentración de antocianos en la disolución a pH 3,6 representa el potencial de antocianos fácilmente extraíbles de la uva durante el proceso de vinificación y los de la disolución a pH 1 representan el potencial total de antocianos de la uva.

Los CFT a pH 3,6 representan la cantidad de compuestos fenólicos de la uva que pueden ser extraídos fácilmente durante el proceso de vinificación.

A partir de estos parámetros se calculan el Índice de madurez celular, también llamado extractabilidad de los antocianos (EA) y el Índice de madurez de las pepitas (Mp).

$$EA (\%) = [(ApH 1 - ApH 3,6)/ApH 1]*100$$

$$Mp (\%) = [(CFTpH 3,6 - ApH 3,6 * 40 / 1000) / CFTpH 3,6]*100$$



## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. José Hidalgo Togores - Tratado de Enología - 2<sup>da</sup> Edición, 2011.
2. V. Felipe Laurie - Consideraciones químico-enológicas relativas a las oxidaciones no enzimáticas en vino
3. Sandra Rebolo López Lugo - Composición fenólica de vinos tintos gallegos con D.O., 2007.
4. Romero Cascales - Extracción de compuestos fenólicos de la uva al vino. Papel de las enzimas de maceración, 2008.
5. Dora Blanco Vega - formación y evolución de pigmentos tipo piranoantocianos en la elaboración de vinos tintos y rosados, 2013.
6. Tabita Ana Cenusa - Determinación de los polifenoles en vinos, mediante un sensor de nano partículas de Cerio, 2016.
7. Russet Riquelme Montero - Evaluación y control de polifenoles en mostos y vinos, 2008.
8. Ángel Antonio Mendoza- vinificaciones clásicas y no convencionales.
9. Monserrat Sánchez Iglesias - Incidencia del tratamiento de Microoxigenación sobre la composición fenólica y el color en vinos tintos jóvenes y crianza de Castilla y León.
10. Encarna Gómez Plaza - Fundamentos de microoxigenación de vinos tintos: factores influyentes y aplicaciones - Acenología
11. Nathalie Estefanía Guillou Calderón - Mecanismos y efectos asociados a procesos de oxidación de compuestos fenólicos en vino, 2012.
12. Silvia Paladino – Factores que gobiernan la oxidación de los vinos.
13. V. Felipe Laurie, Álvaro Peña-Neira - Oxígeno y vinos tintos.
14. Christine Lagarde-Pascal et Laurent Fargeton - La oxigenación de mostos de uvas blancas: puesta en práctica y efecto sensorial.
15. Diego Hernando Arroyo Almeida - Los taninos de la madera en el envejecimiento del vino, 2013.
16. Laurent Fargeton - Como funciona la microoxigenación. [www.mon-viti.com](http://www.mon-viti.com), 2016.
17. Laurent Fargeton – reglas y puntos clave en el control de la microoxigenación. [www.mon-viti.com](http://www.mon-viti.com) , 2016.
18. Bautista Ortín, A. B.; Iniesta Ortiz, J. A.; Pardo Minguez, F.; López Roca, J. M.; Gómez Plaza, E.;- estabilización de los vinos tintos utilizando la microoxigenación conjuntamente con taninos enológicos y virutas de roble. Una alternativa a la crianza en barricas.
19. María San Martín Larrasoña – Microoxigenación: Evolución polifenolica a corto-medio plazo, 2012.