

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

MEMORIA DE TÍTULO

**EFFECTO DE LA MICROOXIGENACIÓN Y NANOOXIGENACIÓN SOBRE LAS
CARACTERÍSTICAS SENSORIALES Y LAS FRACCIONES FLAVÁNICAS Y
POLISACARÍDICAS DE UN VINO.**

DAVID MATÍAS ARAYA LAGOS

SANTIAGO, CHILE
2016

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

MEMORIA DE TÍTULO

**EFFECTO DE LA MICROOXIGENACIÓN Y NANOOXIGENACIÓN SOBRE LAS
CARACTERÍSTICAS SENSORIALES Y LAS FRACCIONES FLAVÁNICAS Y
POLISACARÍDICAS DE UN VINO.**

**MICROOXYGENATION AND NANOXYGENATION EFFECT ON THE
SENSORY CHARACTERISTICS AND FLAVANICS AND POLYSACCHARIDES
FRACTIONS OF WINE.**

DAVID MATIAS ARAYA LAGOS

SANTIAGO, CHILE
2016

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

MEMORIA DE TÍTULO

**EFECTO DE LA MICROOXIGENACIÓN Y NANOOXIGENACIÓN SOBRE LAS
CARACTERÍSTICAS SENSORIALES Y LAS FRACCIONES FLAVÁNICAS Y
POLISACARÍDICAS DE UN VINO.**

**Memoria para optar al Título
Profesional de Ingeniero Agrónomo.**

DAVID MATIAS ARAYA LAGOS

	Calificaciones
PROFESORES GUÍAS	
Sr. Álvaro Peña N. Ingeniero Agrónomo, Enólogo, Dr.	6,5
Sr. Elías Obreque S. Ingeniero Agrónomo, Enólogo, Dr.	6,0
PROFESORES EVALUADORES	
Sr. Hugo Nuñez K. Ingeniero Agrónomo, Mg. Sc	6,0
Srta. Loreto Prat D. Ingeniero Agrónomo, Mg. Sc. Dr.	6,8

SANTIAGO – CHILE
2016

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi familia (Fernando, Ruth y María José) enormemente por ser fundamentales en toda mi vida, y que sin ellos, esta memoria no sería posible.

A mis profesores guías Alvaro Peña y Elías Obreque, por su dedicación, entrega, orientación y enseñanzas. Mencionar también a todo el Departamento de Agroindustria y Enología de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, quienes siempre tuvieron disposición de ayudarme en este proceso.

Agradecer a CONICYT, proyecto FONDECYT 1140882 por haber financiado este trabajo de investigación.

A mis amigos de Universidad, importantes en todo mi proceso universitario, pilares fundamentales para mi desarrollo profesional. A mi polola Natalia por la paciencia, a amigos del Barros Borgoño por el apoyo, muchas gracias.

INDICE

RESUMEN	1
SUMMARY	2
INTRODUCCION	3
MATERIALES Y MÉTODOS	5
Lugar del estudio	5
Materiales	5
Equipamientos.....	5
Metodología	5
Diseño experimental y Tratamientos	5
Procedimiento	6
Variables medidas	6
Evaluación sensorial.....	7
Análisis estadístico	8
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	9
Análisis químicos	9
pH y acidez de titulación.....	9
Contenido de taninos totales	10
Concentración de las fracciones mono, oligo y polimérica de proantocianidinas	11
Contenido de polisacáridos neutros, ácidos y oligosacáridos	14
Análisis sensorial	16
CONCLUSIONES	20
BIBLIOGRAFÍA	21
ANEXOS	25

RESUMEN

La incorporación de oxígeno en la producción de vinos es ampliamente utilizada, debido a los efectos benéficos en la composición del vino. En la actualidad, se han desarrollado diversas técnicas para adicionar el oxígeno de forma controlada, tales como, la micro-oxigenación (MOX) y nano-oxigenación (NOX). No obstante lo anterior, limitada información existe acerca del efecto de ambas técnicas en la composición química y sensorial del vino. En este estudio se evaluó el efecto de la MOX y NOX sobre las características sensoriales y la fracción polisacarídica y flavánica de un vino Syrah. Las aplicaciones de oxígeno fueron realizadas finalizada la fermentación maloláctica y los muestreos se realizaron durante cuatro meses. Los resultados del estudio demostraron que la adición de oxígeno provocó un aumento de la fracción polimérica de proantocianidinas, mientras que los vinos con adición de oxígeno presentaron menores contenidos de polisacáridos neutros y mayores contenidos de polisacáridos ácidos durante el estudio. En el análisis sensorial, los tratamientos de oxígeno en la fase gustativa aumentaron la astringencia, amargor, cuerpo y persistencia, y en la fase olfativa las notas a acetaldehído, vegetal y especiado. En resumen, la adición de oxígeno mediante las técnicas de MOX y NOX, modifica las características sensoriales y la composición polifenólica y polisacarídica de un vino Syrah.

Palabras clave: Oxígeno, MOX, NOX, fracción flavánica, fracción polisacarídica.

SUMMARY

The oxygen incorporation in wine production is widely used, due to the beneficial effects associated with the composition of the wine. Currently, various techniques have been developed to add oxygen in a controlled manner, such as, the micro-oxygenation (MOX) and nano-oxygenation (NOX). Notwithstanding, limited information exists about the effect of both techniques in the chemical and sensory composition of wine. In this study the effect of MOX and NOX on the sensory characteristics and the polysaccharide and polyphenolic fraction of a Syrah wine were evaluated. Oxygen applications were made completed malolactic fermentation and samples were taken for four months. The study results showed that the addition of oxygen caused an increase of the polymer fraction of proanthocyanidins, while the wines with addition of oxygen had lower content of neutral polysaccharides and higher contents of acidic polysaccharides during the study. In sensory analysis , oxygen treatments in the gustatory phase increased astringency, bitterness, body and persistence, and notes olfactory phase acetaldehyde, vegetable and spicy. In summary, the addition of oxygen by techniques NOX and MOX modifies the polyphenolic and polysaccharide composition of a Syrah wine.

Keywords: Oxygen, MOX, NOX, flavanic fraction, polysaccharide fraction.

INTRODUCCION

Los compuestos fenólicos juegan un rol importante en las características de la uva vinífera influyendo directa o indirectamente sobre las características sensoriales de los vinos (Ojeda, 2007). Según la estructura química, se clasifican en compuestos no flavonoides y flavonoides. Dentro de los compuestos flavonoides, los flavanoles (proantocianidinas o taninos condensados) (Zamora, 2003) corresponden a la tercera familia de flavonoides más abundantes en el fruto de la vid, los cuales participan en el amargor, astringencia y estabilización a la materia colorante de los vinos (Monagas et al., 2005). Estos compuestos se pueden encontrar como monómeros, oligómeros [2-4 unidades de monómeros (Sun et al., 1998)] y polímeros [desde 5 unidades de monómeros (Monagas et al., 2003)]. Dentro de los monómeros existen dos grupos: las procianidinas representadas por (+)-catequina y su diastoisómero (-)-epicatequina, y las prodelfinidinas representadas por (-)-epigallocatequina y (-)-galocatequina (Gawel, 1998). Asimismo, la concentración de los taninos condensados, la composición de las procianidinas, el tamaño del polímero, el grado de galoilación y la formación de derivados, afectan las propiedades organolépticas de los vinos (Vidal et al., 2004). Así, se ha observado que los monómeros se presentarían más amargos y menos astringentes que los polímeros (Peleg et al., 1999; Broussaud et al., 2001), mostrando una relación inversa a medida que aumentan de tamaño. Sin embargo, la polimerización posterior conduce a la insolubilidad y por lo tanto a una pérdida de la sensación (Peña-Neira, 2009).

Otras moléculas de gran importancia en el vino son los polisacáridos, que corresponden a carbohidratos complejos en los que se unen entre si un gran número de azúcares simples a través de enlaces glicosídicos (McMurry, 2008). Las familias de polisacáridos tienen distintas composiciones y estructuras, distinguiéndose los polisacáridos pépticos neutros (arabinogalactanos), polisacáridos pépticos ácidos (homogalacturanos y rhamnogalacturanos), manoproteínas y polisacáridos comerciales (carboximetilcelulosa y goma arábiga) (Ayestarán et al., 2004). Se ha reportado que los polisacáridos cumplirían diferentes funciones en el vino, tales como, impedir o limitar los procesos de agregación y floculación y con ello la cristalización de sales de tartrato, influir en la flora fermentativa, interactuar con compuestos aromáticos y contribuir a las propiedades organolépticas de los vinos, estabilizando el sabor (untuosidad y suavidad), color y aroma (Ayestarán et al., 2004).

Diversos estudios han demostrado que uno de los factores de alta relevancia en la disponibilidad de polifenoles y polisacáridos corresponde al oxígeno (Bautista et al., 2008, Cano-López et al., 2006, Rodriguez-Mendez et al., 2014 y Wirth et al., 2010). Actualmente, el oxígeno desempeña un papel muy importante en el proceso de vinificación. Por una parte, es responsable de la oxidación de distintos compuestos del vino, y por otro lado, su presencia en una dosis adecuada, aportaría a la intensificación de las características sensoriales beneficiosas del vino (Gómez-Plaza y Cano-López, 2011). Durante la crianza del vino en barricas de madera, la madera permite el paso de pequeñas cantidades de

oxígeno lo que se ha denominado como microoxigenación (MOX). Sin embargo, en la actualidad es posible microoxigenar los vinos con tecnología y equipamiento especializado durante el proceso de vinificación o finalizada la fermentación alcohólica. La MOX es una técnica que consiste en la incorporación de cantidades pequeñas de oxígeno en los vinos con el objetivo de mejorar el color, el aroma y la estructura (Paul, 2002). La MOX fue desarrollada formalmente en Francia a mediados de 1990 en un intento de reproducir las condiciones de barril para el vino de crianza en grandes depósitos acero inoxidable (Gómez-Plaza y Cano-López, 2011). Actualmente, no sólo es una alternativa de crianza en barrica de roble sino que se ha convertido en una poderosa herramienta para los productores para producir vinos de color estable y reducir la duración de su proceso de producción. Por otro lado, la nano-oxigenación (NOX) es una técnica recientemente que permite la inyección de cantidades muy pequeñas de oxígeno de manera totalmente homogénea en nanogramos de oxígeno disuelto en mililitros de vino (Paetzol, 2012). Aunque las potencialidades de esta técnica son auspiciosas, los efectos de la aplicación de NOX sobre las características de los vinos han sido limitadamente reportados.

En su forma de aplicación más común, la MOX se lleva a cabo mediante la adición de burbujas de de oxígeno en el vino a una velocidad y concentración controlada. La MOX afecta en gran medida al etanol, oxidándolo a etanal, el cual sería utilizado como de puente de enlace para reacciones de polimerización entre antocianos y taninos o en la formación de moléculas de mayor tamaño entre éstos últimos y otros polifenoles (Caillé et al., 2010). Diversos estudios han reportado la importancia de la adición de oxígeno sobre las características de los vinos y sus efectos sobre sus propiedades, modos de aplicación y dosis (Sanchez-Iglesias, 2009). Desde el punto de vista sensorial, las técnicas de adición de oxígeno se han recomendado para mejorar la expresión de los aromas frutales, reducir la astringencia y el carácter vegetal de los vinos (González-Sanjose et al., 2008; Parpinello et al., 2012) Además, diversos estudios demuestran el efecto de la adición de oxígeno sobre los antocianos, taninos, proteínas y levaduras. No obstante lo anterior, escasa información ha sido publicada con respecto al efecto de la MOX y NOX sobre las las distintas fracciones de polisacáridos y proantocianidinas (mono, oligo y polimérica), las cuales contribuyen fuertemente a las particularidades sensoriales de los vinos.

Objetivo

Determinar el efecto de micro-oxigenación (MOX) y nano-oxigenación (NOX) sobre las características sensoriales y las fracciones flavánicas y polisacarídicas durante la vinificación de un vino del cv. Syrah.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar del estudio

El estudio se realizó en la Bodega de la Viña Carmen, ubicada en Alto Jahuel, Región Metropolitana. Los análisis químicos de vinos se realizaron en los laboratorios de Química Enológica y de Análisis Cromatográfico del Departamento de Agroindustria y Enología de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

Materiales

Para el siguiente estudio se utilizarán vinos del cv. Syrah de la vendimia 2014 de la bodega de Santa Rita, proveniente del viñedo de Viña Carmen ubicado en la comuna de Pumanque en la Región del Libertador General Bernardo O'Higgins.

Equipamientos

Los análisis fenólicos se realizaron en un espectrofotómetro UV-VIS Pharmaspec, modelo UV-1700 (Shimadzu, Kyoto, Japón). En el caso de fraccionamiento de taninos y taninos totales se utilizó el espectrofotómetro Jasco V 530 UV/VIS (Tokyo, Japón). Para el fraccionamiento de polisacáridos se utilizó cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) Agilent 1260 Infinity Series (Germany), acoplado a un detector de índice de refracción marca Agilent. Para los tratamientos de oxígeno se utilizó microoxigenador Oenodev y un nanooxigenador Paetzold.

Metodología

Diseño experimental y Tratamientos

El estudio consta de dos ensayos independientes entre sí. El primero asociado a la adición de oxígeno mediante la técnica de nanooxigenación (NOX) y el segundo asociado a la adición de oxígeno mediante la técnica de microoxigenación (MOX). En ambos ensayos se evaluará el efecto de estas técnicas sobre características químicas y sensoriales de un vino del cv. Syrah.

Ambos ensayos constaron con un diseño experimental completamente aleatorizado en parcelas divididas, con 2 factores: factor oxigenación (testigo/MOX y testigo/NOX) y factor tiempo, una medición para el testigo (t0) antes de los tratamientos de oxígeno y cuatro tiempos (t1,t2,t3,t4) para la MOX, NOX y testigo, es decir, 13 tratamientos, cada

uno con dos repeticiones. La unidad experimental será una cuba de acero inoxidable de 5.700L y la unidad muestral será una botella de vidrio de 750 mL. El diseño experimental para el análisis sensorial es un diseño en bloques completamente aleatorizado, considerándose cada panelista como un bloque.

Procedimiento

La uva del cultivar Syrah fue cosechada y vinificada en la bodega ubicada en Alto Jahuel. Las vinificaciones fueron realizadas en cubas de acero inoxidable de 5.700 litros de acuerdo al protocolo de la empresa. Las dosis de oxígeno se realizó después del término de la fermentación maloláctica en dosis de 3ml/L/mes para MOX y 0,04mg/L/mes para NOX entre Octubre y Enero (t1, t2, t3 y t4 respectivamente). Se tomaron muestras antes de la primera aplicación de oxígeno (t0) sólo en el testigo. Las muestras fueron tomadas en botellas de 750 ml que fueron inertizadas con nitrógeno previo al muestreo y una vez llenadas, se les colocó parafilm y luego la tapa rosca. Una vez en el laboratorio, las muestras fueron refrigeradas a 4°C para luego ser analizadas.

Variables medidas

pH. Se midió mediante potenciometría con la utilización de 200 mL de muestra (Bordeau y Scarpa, 1998).

Acidez de titulación. Se midió mediante la titulación con una base fuerte y con la presencia de un indicador ácido-base (azul de Bromotimol) (García, 1990).

Taninos totales. La muestra de vino se diluyó en agua destilada (1:50 v/v). Luego, 4 mL del vino diluido fueron colocados en dos tubos de ensayo (A y B), a los cuales se les adicionó 2 mL de agua destilada y 6 mL de HCl al 37% v/v. Al tubo A se colocó en un baño de agua a 100 °C durante 30 minutos, mientras el tubo B se mantuvo a 20°C en oscuridad. Una vez fríos los tubos, se les adicionó 1 mL de etanol al 95%. Después se midió la absorbancia a 550 nm contra un blanco de agua, en cubetas de 10 mm de paso óptico. Posteriormente la diferencia de las absorbancias de cada tubo se multiplicó por el factor 19,3. La concentración de taninos totales obtenidos se expresaron en g/L de (+)-catequina (Bate-Smith, 1981).

Fraccionamiento de taninos. La separación de los taninos se realizó mediante cartuchos Waters Sep-Pak C18 (Monagas et al., 2003). La muestra de 10 mL de vino previamente filtrada con una membrana de celulosa de 0,45 µm, se concentró hasta sequedad en un rotavapor a 30 °C, luego se restituyó con 20 mL de tampón fosfato pH 7,0. Cuando fue necesario, se ajustó el pH a 7,0 con soluciones de NaOH o HCl. Dos cartuchos Sep-Pak C18 fueron conectados en serie, en la parte superior se colocó un cartucho Waters Sep-Pak tC18 Environmental y en la parte inferior un Waters Sep-Pak Plus tC18, estos fueron condicionados con 10 mL de metanol, 20 mL de agua destilada y 10 mL de tampón fosfato pH 7,0. Posteriormente se agregaron las muestras a través de los cartuchos e

inmediatamente los ácidos fenólicos se eliminaron por elución con 10 mL de tampón fosfato pH 7,0 al 12,5% v/v en agua destilada. Después de secar los cartuchos durante dos horas con Nitrógeno, la elución de los monómeros y oligómeros de flavan-3-oles (fracciones FI y FII, respectivamente) se realizó con 25 mL de acetato de etilo, seguida por la elución de las proantocianidinas poliméricas (fracción FIII) con 15 mL de metanol. Para separar las fracciones FI y FII, el acetato de etilo se concentró hasta la sequedad en un rotavapor a 30°C, luego se restituyó en 10 mL de tampón fosfato pH 7,0 y finalmente se re-depositó en la misma serie de cartuchos re-acondicionada como se describió anteriormente. Éstos nuevamente se secaron con N₂ durante 2 horas y los monómeros se separaron de los oligómeros por elución secuencial con 25 mL de éter dietílico (FI) y 15 mL de metanol (FII). Las tres fracciones fueron concentradas hasta la sequedad en un rotavapor a 30°C y redisueltas en 4,5 mL de metanol. El contenido total de cada fracción se determinó mediante el ensayo de la vainillina. La concentración de las fracciones obtenidas (FI, FII y FIII) se determinaron según el método descrito por Sun et al. (1998). La muestra seca se restituyó con 4,5 mL de metanol, posteriormente en un tubo de ensayo se adicionó 1 mL de la muestra restituida, más 2,5 mL de H₂SO₄ al 25% v/v en metanol y 2,5 mL de vainillina al 1% p/v en metanol. Se preparó simultáneamente un blanco de la misma forma, pero sustituyendo la vainillina al 1% p/v en metanol, por metanol puro. En el caso de la FI la absorbancia se midió a 500 nm de manera inmediata previo baño maría a 30°C por 15 minutos. Para las fracciones FII y FIII, la reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente y la lectura se realizó por 1800 y 5000 s respectivamente. Todas las mediciones se realizaron en el espectrofotómetro UV-vis Jasco modelo V-530.

Fraccionamiento de polisacáridos según peso molecular. Para determinar el contenido de las diferentes fracciones de polisacáridos presentes en las muestras se utilizó el método propuesto por Ayestarán et al. (2004), con modificaciones de acuerdo a las condiciones del laboratorio de Análisis Cromatográfico detalladas a continuación. Para la identificación de los polisacáridos, se centrifugaron 25 mL de muestra (3.500 rpm, 30 min), para posteriormente tomar 10 mL del sobrenadante y concentrarlos en un rotavapor (35 °C). La fracción insoluble obtenida (alrededor de 2 mL) se precipitó con 10 mL de solución 0,3 M HCl en etanol refrigerado al 96% v/v, refrigerándose por 18 a 24 horas. Luego se procedió a centrifugar las muestras (3.500 rpm, 25 min). El precipitado obtenido se lavó con 1 mL de etanol ácido refrigerado (96% v/v), y finalmente los residuos se secaron en estufa a 50 °C por 1 hora. La fracción obtenida fue reconstituida en fase móvil de Formiato de Amonio 30 mM, filtrándola por medio de membranas de 0,22 µm.

Las fracciones de mezclas de polisacáridos según el peso molecular se detectaron con cromatografía líquida de alta eficacia, donde el flujo y volumen de inyección fue de 0,6 mL/min y 100 µL, respectivamente. Para la cuantificación de las fracciones se utilizó una curva de calibración a partir de estándares de Dextranos y Pectinas.

Evaluación sensorial

Se trabajó con un panel entrenado, conformado por 8 evaluadores. Se utilizó una pauta no estructurada de calidad de 15 cm, donde 0 cm representa la ausencia del atributo y 15 cm la máxima intensidad del atributo.

Los atributos sensoriales que se analizaron son de carácter olfativo (frutos rojos, vegetal, especiado, acetaldehído) y de carácter gustativo (acidez, cuerpo, astringencia, amargor y persistencia), como se aprecia en el anexo I.

Análisis estadístico

Para los ensayos, dado el carácter industrial de este, se realizó con un diseño completamente aleatorizado con estructura de parcelas divididas y para el análisis sensorial se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) y al encontrarse diferencias significativas se realizó una prueba de comparaciones múltiples de Tukey. Se utilizó el programa estadístico Infostat para el análisis de los datos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis químicos

pH y acidez de titulación

La acidez de titulación es la cantidad total disponible de iones hidrógenos en solución y da una medida de los protones que están unidos a aniones como también de todos los libres (Bordeu y Scarpa, 1998). Del mismo modo, el pH es la medida de la concentración de iones hidrógenos libres. Según Bordeau y Scarpa (1998), el pH es una de las determinaciones más importantes ya que ejerce influencia sobre la presencia de microorganismos, sobre el matiz del vino, el sabor, potencial redox, sobre la razón sulfuroso libre/ sulfuroso combinado, etc. En este estudio, los valores de pH no presentaron diferencias significativas entre los distintos tratamientos, mientras que la acidez titulable presentó diferencias significativas entre el tratamiento de NOX y el control, en todos los tiempos, provocando una disminución de la acidez titulable en el t4, al igual que la técnica de MOX. De acuerdo a las diferencias entre los tiempos de cada tratamiento, existe una variabilidad entre los tiempos t2,t3 y t4, lo cual en el caso de la acidez titulable disminuye a finales de estos tiempos en los tratamientos con oxígeno. Esta última observación demostraría que las técnicas de adición de oxígeno provocan una disminución de la acidez titulable, lo cual podría estar relacionado eventualmente con disminuciones del ácido tartárico (Zamora 2003).

Cuadro 1. Valores de pH y acidez titulable de los vinos del ensayo, entre el testigo y MOX y entre testigo y NOX.

pH					
Tr/t	0	1	2	3	4
Testigo	3,45±0,1C	3,44±0,10aC	3,47±0,10aC	3,25±0,10aA	3,31±0,10aB
MOX	-	3,43±0,13aC	3,43±0,10aC	3,25±0,10aA	3,32±0,10aB
Testigo	3,45±0,1C	3,44±0,12aC	3,47±0,10aC	3,25±0,10aA	3,31±0,10aB
NOX	-	3,44±0,14aC	3,5±0,10aC	3,24±0,20aA	3,20±0,10aB
Acidez titulable (g ácido sulfúrico/L)					
Testigo	3,45±0,14 A	3,5±0,10 aA	3,5±0,14 aA	3,5±0,14 aA	3,8±0,14 bB
MOX	-	3,5±0,50 aA	3,5±0,50 aA	3,5±0,20 aA	3,1±0,50 aB
Testigo	3,45±0,14 A	3,5±0,14 aA	3,5±0,10 aA	3,5±0,14 aA	3,8±0,14 bB
NOX	-	3,7±0,1 bB	3,7±0,10 bB	3,8±0,20 bB	3,35±0,1aA

Tr, Tratamientos; t, Tiempo. Letras minúsculas distintas en sentido vertical y letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias estadísticamente significativas entre el Testigo y MOX/Testigo y NOX, y entre tiempo de los distintos tratamientos respectivamente ($p \leq 0,05$ Test de Tukey).

Contenido de taninos totales

Diversos autores mencionan que las concentraciones de taninos totales en un vino tinto varían entre 1,5 y 5 mg/L de (+)-catequina, y dependerían fuertemente de la variedad de la uva, su grado de madurez, maceraciones prolongadas, alto contenido de etanol, niveles de SO₂, frecuencia e intensidad de remontajes, temperatura de fermentación y edad del vino (Zoecklein et al., 2001; Monagas et al., 2005; Sacchi et al., 2005). En la Figura 1, se muestran el contenido de los taninos totales de los tratamientos de MOX y NOX. Se observa que el contenido de estos compuestos se situaron entre 2,4 a 3,8 g/L de (+)-catequina. Además se observó que los tratamientos con MOX y NOX presentaron una concentración menor de taninos totales con respecto control, lo cual estaría relacionado con las adiciones de oxígeno que provocarían una disminución de estos compuestos. Los monómeros de taninos son compuesto que se polimerizarían entre ellos o con otras moléculas como antocianos, generando moléculas más estables, lo cual podría estar relaciona con la disminución significativa de los taninos totales en los vinos (Cejudo-Bastante, 2011).

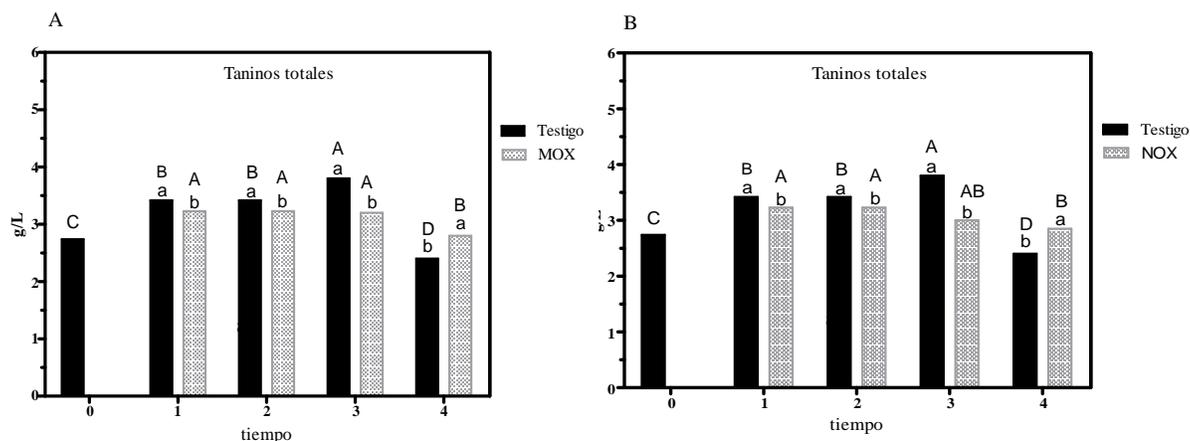


Figura 1. Resultados de taninos totales expresados en g/L de catequina, entre (A) testigo/MOX y (B) testigo/NOX. Letras minúsculas distintas indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. Letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre tiempos de cada tratamiento respectivamente ($p \leq 0,05$ Test de Tukey).

Concentración de las fracciones mono, oligo y polimérica de proantocianidinas

De acuerdo a lo reportado por Sun et al. (1998), la fracción monomérica de las proantocinidinas constaría de unidades de (+)-catequina, (-)-epicatequina y (-)-epicatequina-3-*O*-galato, mientras que la fracción oligomérica estaría formada por 2-4 unidades de flavan-3-oles. La fracción polimérica se compone por 5 o más unidades monoméricas de flavan-3-ol. Según Zamora (2003), los flavanoles monoméricos tienen una tendencia a polimerizarse y formar estructuras cada vez más complejas, conforme avanza el proceso de vinificación y/o frente a un aumento en la edad del vino. Esto último se debería a que la presencia de oxígeno que produce la formación de acetaldehído por oxidación de los peróxidos a partir de etanol, que actúa como puente de unión entre antocianos y flavanoles, originando polímeros muy estables (Vivas y Glories, 1996). Adicionalmente, se produciría un aumento en la polimerización de proantocianidinas (taninos condensados), lo que se traduciría en una precipitación de la materia colorante inestable en la bodega o cuba y no en la botella, originando vinos más estables en términos de color y taninos, con una consiguiente disminución de la astringencia.

En este estudio se observó que en los tres últimos muestreos, los tratamientos con MOX y NOX presentaron concentraciones significativamente mayores de la fracción polimérica de flava-3-oles con respecto al control. Asimismo, se observó que en los últimos dos muestreos, los tratamientos con adición de oxígeno presentaron concentraciones mayores de oligómeros de flavanoles. Sin embargo, el aumento de ambas fracciones no estaría relacionado con la concentración de la fracción monomérica, pues en este estudio se

observó que el contenido de monómeros fue menor sólo en dos muestreos de los tratamientos con NOX. De cualquier modo, este aumento de ambas fracciones en los tratamientos con MOX y NOX demostraría que la adición exógena de oxígeno provoca una polimerización de los monómeros de flavan-3-ol, generando moléculas más complejas que modificarían las propiedades sensoriales de los vinos. Esta aseveración es concordante con lo observado por Sartini et al. (2007), los cuales demostraron que los flavan-3-oles monoméricos son compuestos con una elevada reactividad en un medio oxidante y pueden generar compuestos altamente polimerizados.

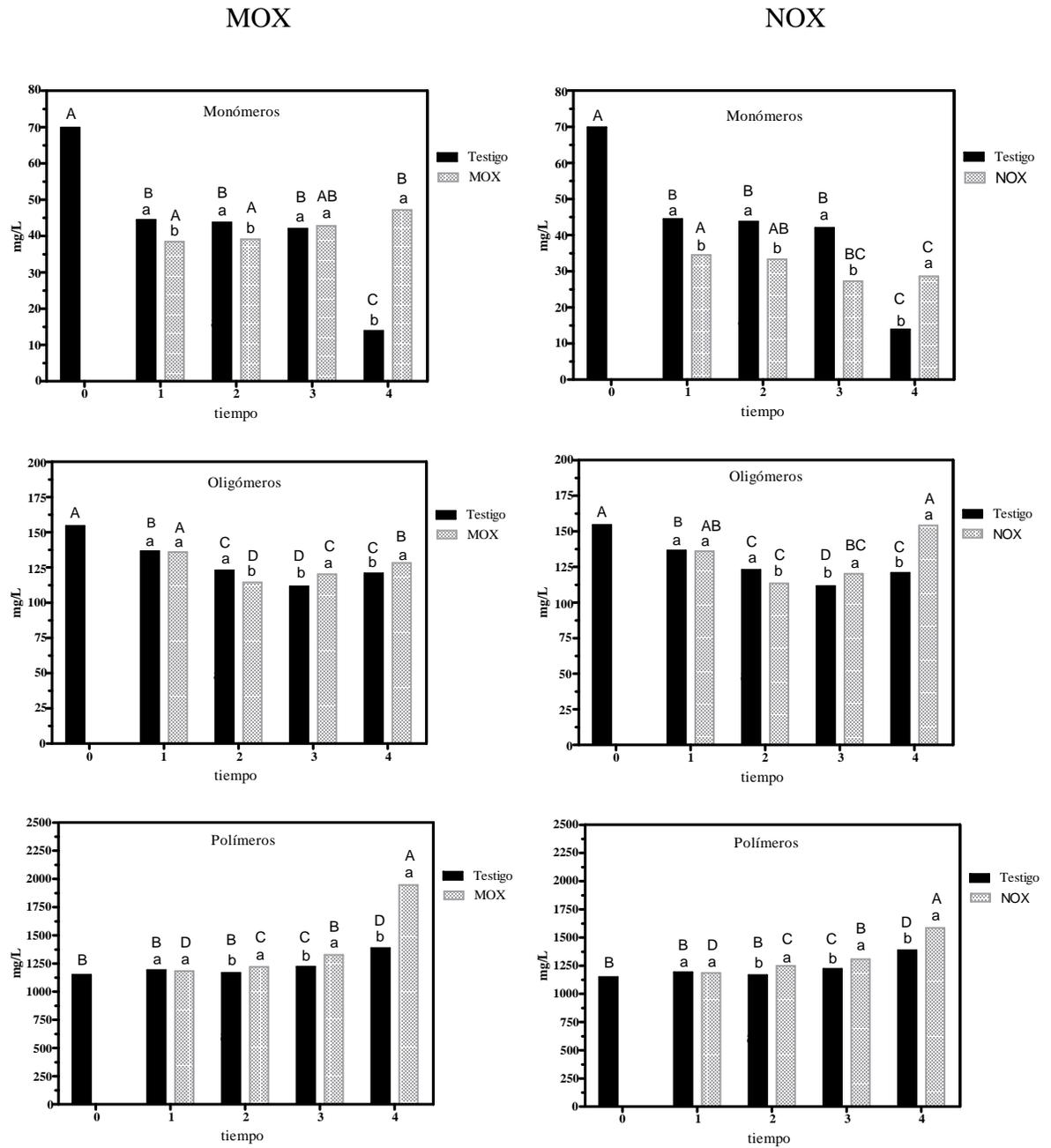


Figura 3. Contenido de la fracción mono, oligo y polimérica de vinos Syrah con adición de oxígeno mediante MOX y NOX. Letras distintas en un mismo tiempo indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. Letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre tiempos de cada tratamiento respectivamente ($p \leq 0,05$ Test de Tukey).

Contenido de polisacáridos neutros, ácidos y oligosacáridos

Junto a los polifenoles y proteínas, los polisacáridos forman uno de los mayores grupos de macromoléculas en el vino. En el vino, los polisacáridos provienen de la degradación enzimática de las paredes celulares de las bayas de uva durante su maduración, mientras que otros derivan de los tratamientos de vinificación y de las paredes de las levaduras durante la fermentación alcohólica (Flanzy, 2003). Dentro de los polisacáridos derivados de la degradación enzimática de las paredes celulares de las bayas de uva, se encuentran la hemicelulosas y pectinas. Las pectinas están constituidas de azúcares ácidos como el ácido galacturónico y azúcares neutros como la ramnosa, galactosa y arabinosa. De este modo, el carácter ácido o neutro de un polisacárido depende del tipo de azúcares con los que estén constituidos. Uno de los polisacáridos pécticos más abundantes son los ramnogalacturonanos. Además, se encuentran polisacáridos simples como los homogalacturonanos, arabinogalactanos y arabinogalactanos unidos a proteínas (Flanzy, 2003).

En este estudio, se observó una disminución del contenido de polisacáridos neutros, ácido y oligosacáridos entre el primer y cuarto muestreo en todos los tratamientos, lo cual podría estar relacionado con la disminución de los monómeros de flavanol, los cuales han sido descrito como moléculas altamente reactivas, capaces de interactuar con diferentes compuestos como polisacáridos (Marie-Agnès et al., 2010). Según Riou et al., (2002) los principales polisacáridos neutros del vino, incluye a las manoproteínas, (originadas de las levaduras), los arabinogalactanos y arabinanos, mientras que los polisacáridos ácidos comprenderían los homogalacturonanos y ramnogalacturonanos I y II (provenientes de la uva). Otros autores han mencionado que estos compuestos interactuarían con los flavanoles, (Dols-Lafargue et al., 2007), lo cual generaría un equilibrio coloidal, evitando la precipitación de moléculas como taninos y la inestabilidad del vino (Freitas y Mateus, 2001).

Comparativamente, se observó que los tratamientos con MOX y NOX presentaron un contenido significativamente menor de polisacáridos neutros con respecto al vino sin adición de oxígeno en todos los muestreos. Esta observación implicaría que la adición de pequeñas cantidades de oxígeno mediante las técnicas de MOX y NOX reduciría esta fracción polisacáridica, ya sea por oxidación (Duan y Kasper, 2011) o por favorecer la polimerización o interacción con otros componentes del vino (Riou et al., 2002; Dols-Lafargue et al., 2007). Contrariamente, se observó que los vinos sometidos a MOX y NOX presentaron un contenido de polisacáridos ácidos mayor que los vinos controles en 3 y 2 muestreos, respectivamente. Esta observación podría relacionarse con el hecho que la adición de oxígeno permitiría una mayor protección de estos compuestos, favoreciendo a su disponibilidad en el tiempo.

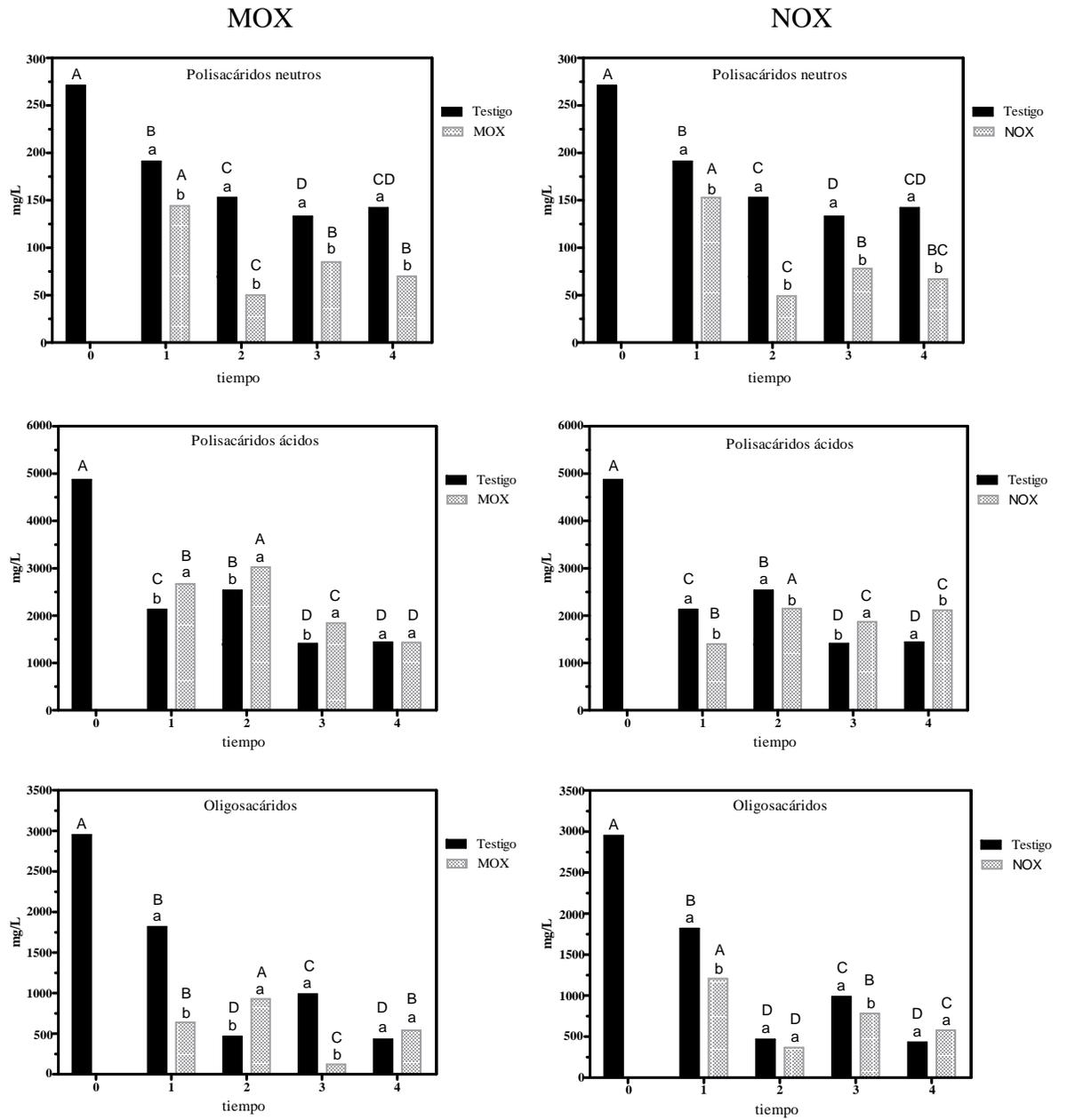


Figura 4. Contenido de la fracción neutra, ácida y oligosacárida de vinos Syrah con adición de oxígeno mediante MOX y NOX. Letras distintas en un mismo tiempo indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. Letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre tiempos de cada tratamiento respectivamente (p 0,05 Test de Tukey).

Análisis sensorial

Los vinos fueron evaluados sensorialmente por los panelistas quienes describieron las características o notas a frutos rojos, vegetal, especiados y acetaldehído de los vinos del estudio (Cuadro 3). Se observó que estas propiedades no cambiaron estadísticamente durante el tiempo del estudio en cada uno de los tratamientos. No obstante lo anterior, los panelistas percibieron que los vinos con MOX y NOX presentaron menores notas a vegetal, especiados y acetaldehído luego de 30 días de la aplicación de oxígeno (t1) con ambas técnicas. Sin embargo, luego de 120 días (t4) los panelistas percibieron que los vinos con adición de oxígeno presentaron mayores valores de estas notas. A partir de ambas observaciones, pareciera que los efectos beneficiosos de disminuir las notas vegetales de los vinos, se obtendría en el primer mes de la adición de oxígeno. Además, para lograr vinos especiados y con mayores notas a acetaldehído debiese aplicarse oxígeno por un tiempo mayor. En el caso del acetaldehído, es un compuesto que se genera por la oxidación del etanol (Fulcrand et al., 2006), por lo que su aumento en las últimas etapas del estudio, está en estrecha relación con la mayor cantidad de oxígeno adicionado en todo el ensayo. Es interesante notar que luego de 90 días (t3) del ensayo, el descriptor de frutos rojos fue menos percibido en los vinos con MOX y mayor en aquellos con NOX, ambos comparados con respecto al control. Esto indicaría que la técnica de adición de oxígeno mediante MOX, provocaría una disminución de éste parámetro en los vinos del estudio. De cualquier modo, es importante mencionar que el uso de estas técnicas de adición de oxígeno modifica el perfil olfativo de los vinos, ya sea por la amplificación o disminución de algunos compuestos, lo cual está en estrecha relación con lo reportado previamente por diversos autores (Parish et al., 2000; Castellari et al., 2000; Cabanillas et al., 2001; Pérez-Magariño, 2003 y González-Sanjosed, 2003) .

Cuadro 3. Descripción olfativa de los vinos del ensayo.

t1				
	Fruto Rojos	Vegetal	Especiado	Acetaldehido
MOX	7,51±2,33 aB	5,29±3,21 aA	6,68±3,71 aA	5,53±3,86 aA
Testigo	6,86±2,70 aA	6,21±3,12 bB	8,02±2,31 bA	5,56±1,89 aA
NOX	6,88±2,54 aA	5,68±3,41 aA	6,21±2,65 aA	4,86±2,41 aA
Testigo	6,86±2,70 aA	6,21±3,12 bB	8,02±2,31 bA	5,56±1,89 bA
t2				
MOX	6,46±3,16 aB	5,41±3,77 aA	6,53±4,21aA	9,51±2,87 bB
Testigo	6,85±3,65 aA	5,82±1,98 aB	6,65±2,53 aA	6,01±2,66 aB
NOX	7,21±3,77 aA	5,57±2,85 aA	6,67±3,44aA	4,86±2,16 aA
Testigo	6,85±3,65 aA	5,82±1,98 aB	6,65±2,53 aA	6,01±2,66 bB
t3				
MOX	3,99±2,67 aA	6,16±3,19 bA	6,01±1,84 aA	9,38 ±2,45 bB
Testigo	7,16±2,86 bA	5,56±1,94 aB	7,41±2,44 bA	4,06±2,31 aAB
NOX	7,10±3,66 aA	6,26±2,47 bA	7,50±3,51 aA	5,31±2,73 bA
Testigo	7,16±2,86 aA	5,56±1,94 aB	7,41±2,44 aA	4,06±2,31 aAB
t4				
MOX	6,20±2,36 aB	7,26±3,12 bA	6,88±1,86 bA	7,80±2,76 bAB
Testigo	6,60±2,19 aA	2,00±1,90 aA	5,30±2,69 aA	3,20±2,66 aA
NOX	8,60±2,44 bA	4,96±2,74 bA	8,49±2,51 bA	4,65±2,15 bA
Testigo	6,60±2,19 aA	2,00±1,90 aA	5,30±2,69 aA	3,20±2,66 aA

Promedios ± desviación estándar, con una misma letra minúscula en sentido vertical y letras mayúsculas del mismo tratamiento en sentido vertical entre tiempos, indican diferencias estadísticamente no significativas entre testigo/MOX y testigo/NOX, a una prueba de Tukey con un nivel de significancia del 5%.

En el Cuadro 4 se observa los resultados de la evaluación gustativa realizada por los degustadores. Los parámetros evaluados fueron acidez, cuerpo, astringencia amargor y persistencia. Puntualmente, los panelistas percibieron que los vinos con NOX fueron menos ácidos, astringentes y amargos con respecto al control a los 30 días (t1) del estudio. Contrariamente, los vinos con MOX presentaron mayores valores de acidez, astringencia amargor a los 90 días (t3) del estudio. Este comportamiento fue consistente con lo observado a los 120 días (t4) del estudio, donde tanto los vinos con MOX y con NOX presentaron mayores valores de los parámetros evaluados, con excepción de la persistencia. En el caso de la astringencia, los resultados de este estudio estarían en contradicción con lo señalado por algunos autores que señalan que el uso de estas tecnología provocaría una disminución de la astringencia (Llaudy et al., 2006; Arfelli et al., 2011). Sin embargo, este aumento de la astringencia podría estar relacionado con un mayor contenido de polímeros de flavanol detectados en los vinos con MOX y NOX, los cuales han sido descrito como compuestos más astringentes que aquellos con un menor grado de polimerización (Vidal et al., 2003). Además, es probable que en las últimas etapas de este estudio, los vinos aún estuvieran en la “fase de estructuración”, caracterizada por una menor intensidad aromática, taninos más agresivos, menos complejidad y un menor volumen en boca. En este período el vino evoluciona hacia una mayor agresividad y menor armonía. Esta fase puede variar en el tiempo e intensidad en función de diferentes parámetros tales como estructuración inicial del vino, precocidad del aporte de O₂, cantidad de O₂ aportado, temperatura, tasa y SO₂ libre y aireaciones violentas (Lemaire, 1995).

Cuadro 4. Descripción gustativa de los vinos del ensayo.

t1					
	Acidez	Cuerpo	Astringencia	Amargor	Persistencia
MOX	7,51±2,61 aA	7,42±2,69 bA	8,91±2,81 aA	6,83±2,48 aB	6,19±2,58 aA
Testigo	7,71±3,15 aB	6,72±2,15 aA	8,55±2,99 aC	6,76±3,21 aB	7,05±2,11 bA
NOX	6,45±2,11 aA	7,41±2,49 bA	7,83±2,74 aA	4,59±2,10 aA	7,01±2,87 bA
Testigo	7,71±3,15bB	6,72±2,15aA	8,55±2,99 aC	6,76±3,21 aB	7,05±2,11 bA
t2					
MOX	5,69±2,73 aA	6,87±2,89 bA	7,54±2,69 bA	5,12±2,15 bA	7,38±2,40 bA
Testigo	5,10± 1,89 aB	5,31±2,13 aA	7,75±3,11 bBC	4,28±3,02 aB	5,85±2,00 aA
NOX	5,52±2,11 aA	5,91±2,74 aA	6,73±2,10 aA	5,14±2,14 bA	6,09±2,04 bA
Testigo	5,10± 1,89 aB	5,31±2,13 aA	7,75±3,11 bBC	4,28±3,02 aB	5,85±2,00 aA
t3					
MOX	7,53±3,01 bA	6,04±2,09 aA	8,52±2,01 bA	6,78±3,19 bB	6,08±2,01 aA
Testigo	5,88±2,08 aB	6,82±2,17 aA	6,35±2,11 aB	4,70±2,08 aB	6,71±2,70 aA
NOX	5,97±2,86 aA	6,43±2,96 aA	6,21±1,94 aA	5,56±2,59 bA	7,30±2,84 bA
Testigo	5,88±2,08 aB	6,82±2,17 aA	6,35±2,11 aB	4,70±2,08 aB	6,71±2,70 aA
t4					
MOX	7,06±2,81 bA	6,06±3,21 bA	9,08±2,07 bA	7,90±2,51 bB	7,12±2,17 bA
Testigo	2,80±2,75 aA	4,50±1,39 aA	4,00±1,79 aA	2,60±2,99 aA	6,30±2,69 aA
NOX	6,56±3,04 bA	6,54±2,03 bA	9,54±1,89 bA	6,90±3,01 bB	7,24±2,51 bA
Testigo	2,80±2,75 aA	4,50±1,39 aA	4,00±1,79 aA	2,60±2,99 aA	6,30±2,69 aA

Promedios con una misma letra minúscula en sentido vertical y letras mayúsculas del mismo tratamiento en sentido vertical, indican diferencias estadísticamente no significativas entre testigo y MOX / testigo y NOX, a una prueba de Tukey con un nivel de significancia del 5%

CONCLUSIONES

El oxígeno aplicado mediante las técnicas de MOX y NOX, modifica la concentración de compuestos fenólicos y polisacáridos de un vino de la variedad Syrah. En relación a los flavanoles, la aplicación de oxígeno mediante ambas técnicas, generó un aumento de la fracción polimérica de proantocianidinas. Asimismo, los vinos tratados con ambas técnicas presentaron menores contenidos de polisacáridos neutros y mayores contenidos de polisacáridos ácidos durante el estudio. En el análisis sensorial, los vinos con adición de oxígeno (MOX Y NOX) presentaron una mayor astringencia, amargor, cuerpo y persistencia, y un aumento a las notas a acetaldehído, vegetal y especiado, en el último periodo de estudio.

BIBLIOGRAFÍA

Arfelli, G.; E. Sartini; C. Corzani and A. Fabiani. 2011. Chips, lees, and microoxygenation: influence on some flavors and sensory profile of a bottled red Sangiovese wine. *European Food Research and Technology*, 233: 1-10.

Ayestaran, B.; Z. Guadalupe and Leon, D. 2004. Quantification of major grape polysaccharids (Tempranillo V.) released by maceration enzymes during fermentation process. *Analytica Chimica Acta*.513: 29-39.

Bate-Smith, E. 1981. Astringent tannins of the leaves of Geranium species. *Phytochem.* 20: 211-216.

Bautista, A.; J. Iniesta-Ortiz; F. Pardo; J. López-Roca y E. Gómez-Plaza. 2008. Establización del color de los vinos tintos utilizando la micro-oxigenación conjuntamente con taninos enológicos o virutas de roble. Una alternativa a la crianza en barricas. *Enólogos*, 52 (2008): 38-41.

Bordeu, E. y J. Scarpa. 1998. Análisis químico del vino. Santiago de Chile: Ediciones Universidad Católica de Chile. 253p.

Broussaud, F.; V. Cheynier and A. Noble. 2001. Bitterness and astringency of grape and wine polyphenols. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 7: 33-39.

Cabanillas, P.; J.M. Canals; N. Rozès; L. Arola; F. Zamora. 2001. Influencia de la microoxigenación en el color y las características organolépticas de los vinos tintos. *Tecnología del Vino*, 2:51-55.

Caillé, S.; J. Wirth; J. B. Diéval; S. Vidal and V. Cheynier. 2010, February. Sensory characteristics changes of red Grenache wines submitted to different oxygen exposures pre and post bottling. *Analytica Chimica Acta*, 660(2): 35-42.

Cano-López, M.; F. Pardo-Minguez; J. López-Roca and E. Gómez-Plaza. 2006. Effect of microoxygenation on anthocyanin and derived pigment content and chromatic characteristics of red wines. *American Journal of Enology and Viticultur*, 53(3): 325-331.

Castellari, M.; A. Versari; U. Spinabelli; S. Galassi; A. Amati. 2000. An improved HPLC method for the analysis of organic acids, carbohydrates, and alcohols in grape musts and wines. *Journal of Liquid Chromotography*. 23(13): 2047-2056.

- Cejudo-Bastante, M.; M. Perez and I. Herмосín. 2011. Effect of wine micro-oxygenation treatment and storage period on colour-related phenolics, volatile composition and sensory characteristics. *Food Science and Technology*. 44: 866-874
- Dols-Lafargue, M., E. Gindreau, C. Le Marrec, G. Chambat, A. Heyraud and A. Lonvaud-Funel. 2007. Changes in red wine soluble polysaccharide composition induced by malolactic fermentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55: 9592-9599.
- Duan, J and D. Kasper. 2011. Oxidative depolymerization of polysaccharides by reactive oxygen/nitrogen specie. *Glycobiology*. 21(4): 401-409.
- Flanzy, C. 2003. Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos. Ediciones mundiprensa, Madrid, España. 805p.
- Freitas, V. and N. Mateus. 2001. Nephelometric study of salivary protein-tannin aggregates. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 82(2): 113-119.
- Fulcrand, H.; Dueñas, M.; Salas, E. and Cheynier, V. 2006. Phenolic reactions during winemaking and aging. *American Journal of Enology and Viticulture*. 57(3): 289-297.
- García, J. 1990. Técnicas analíticas para vinos. Barcelona, España: GAB. 300p.
- Gómez-Plaza, E. and M. Cano-López. 2011. Corrigendum to a review on micro-oxygenation of red wines: claims, benefits and the underlying chemistry. *Food Chemistry* 127(4): 1835
- Gawel, R. 1998. Red wine astringency: a review. *Australian Journal of Grape and Wine* 4(2): 74-95
- Gonzalez-Sanjose, M.L.;M, Ortega-Heras, and S. Perez-Magarino. 2008. Microoxygenation Treatment and Sensory Properties of Young Red Wines. *Food Science and Technology International*. 14:123-130
- Llaudy, M. C.; R. Canals; S. González-Manzano; J.M Canals; C. Santos-Buelga; F. Zamora. 2006. Influence of micro-oxygenation treatment before oak aging on phenolic compounds composition, astringency, and color of red wine. *Journal Agriculture Food Chemistry*. 54: 4246-4252.
- Marie-Agnès, D; R.Canal-Llauberes; M. Lumley ; P. Williams; S. Jean-Marc; H. Fulcrand; D. Thierry; V. Cheynie. 2010. Effect of macerating enzyme treatment on the polyphenol and polysaccharide composition of red wines. *Food Chemistry* 118 (2010) 369–376
- McMurry, J. 2008. Química Orgánica. 7ma ed. Cepage Learning Editores. Santa Fe, México. 1002p.

Monagas, M.; C. Gómez-Cordovés; B. Bartolomé; O. Laureano and J.M. Ricardo. 2003. Monomeric, oligomeric, and polymeric flavan-3-ol composition of wines and grapes from *Vitis vinifera* L. Cv. Graciano, Tempranillo, and Cabernet sauvignon. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 51(22): 6475-6481

Monagas, M.; B. Bartolomé and C. Gomez-Cordovés. 2005. Updated knowledge about the presence of phenolic compounds in wine. *Critical Reviews in Food Sciences and Nutrition* 45(2): 85-118.

Obreque-Slier, E.; A. Peña-Neira; R. López-Solís; F. Zamora; J.M. Ricardo da Silva and O. Laureano. 2010. Comparative study of the phenolic composition of seeds and skins from Carménere and Cabernet Sauvignon grape varieties (*Vitis vinifera* L.) during ripening. *Journal of agricultural and Food Chemistry* 58(6): 3591-3599.

Ojeda, H. 2007. Los compuestos fenólicos de la uva. *Revista Enología* 4(1): 1-11.

Paetzol Equipament. 2012. Libro técnico: Deos, crianza matricial por nano-oxigenación. Caudajac, Francia. 46p.

Parpinello, G.P.; F. Plumejeau; C. Maury and A. Versari. 2012. Effect of micro-oxygenation on sensory characteristics and consumer preference of Cabernet Sauvignon wine. *Journal of Science Food and Agriculture*. 92:1238-1244.

Paul, R. 2002. Micro-oxygenation – Where now?. Proceedings of the ASVO seminar uses of gases in winemaking. *Australian Society of Viticulture and Oenologie*. 23–27

Peña-Neira, A. 2009. Composición fenólica de uvas y vinos. *Revista Vendimia (Mayo)*: 26-27.

Peleg, H.; K. Gacon; P. Schlinch and A. Noble. 1999. Bitterness and astringency of flavan-3-ol monomers, dimers and trimers. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 79: 1123-1128.

Riou, V.; A. Vernhet; T. Doco and M. Moutounet,. 2002. Aggregation of grape seed tannins in model wine-effect of wine polysaccharides. *Food Hydrocolloids* 16 (1): 17-23.

Rodriguez-Mendez, M.; C. Apetrei; M. Gay; C. Medina-Plaza; J. de Saja; S. Vidal; O. Aagaard. et al., 2014, ene. Evaluation of oxygen exposure levels and polyphenolic content of red wines using an electronic panel formed by an electronic nose and an electronic tongue. *Food Chemistry*,155(1): 91-97.

Roig, G y S, Yerle. 2003. Balance y perspectivas de 10 años de microoxigenación. [En línea]. Disponible en: http://www.acenologia.com/ciencia62_2.htm. Consultado el: 13 de Agosto 2014

Sacchi, K. L., L. F. Bisson, and D.O. Adams. 2005. A review of the effect of winemaking techniques on phenolic extraction in red wines. *American Journal of Enology and Viticulture*. 56 (3): 197-206.

Sanchez-Iglesias, M. 2009. Effect of micro-oxygenation and wood type on the phenolic composition and color of an aged red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57(24): 150-160.

Sartini, E.; G. Arfelli; A. Fabiani and A. Piva. 2007. Influence of chips, lees and microoxygenation during aging on the phenolic composition of a red Sangiovese wine. *Food Chemistry*. 104:1599-1604.

Sun, B. S., C. Leandro, J. M. Ricardo da Silva, and I. Spranger, 1998. Separation of grape and wine proanthocyanidins according to their degree of polymerization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 1390-1396.

Vidal, S.; F. Leigh; A. Noble; M. Kwiatkowski; V. Cheynier; E. Waters . 2004. Taste and mouth-feel properties of different types of tannin-like polyphenolic compounds and anthocyanins in wine. *Analytica Chimica*. 513: 57–65

Vivas, N. y Y, Glories. 1996. Modélisation et estimation du bilan des apports d'oxygène au cours de l'élevage des vins rouges. *Progress Agricole et Viticole*, 113, (10):222-227

Wirth, J.; C. Morel-Salmi; J. Souquet; J. Dieval; O. Aagaard; S. Vidal et al., 2010, abr. The impact of oxygen exposure before and after bottling on the polyphenolic composition of red wines. *Food Chemistry*, 123(1): 107-116.

Zamora, F. 2003. Elaboración y crianza del vino tinto: aspectos científicos y prácticos. Madrid España: Ediciones Mundi Prensa. 225p.

Zoecklein, B.; K. Fugelsang; B. Gump and F. Nury. 2001. Análisis y producción de vinos. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 613p.

ANEXOS**Pauta de Evaluación Sensorial****Fase Olfativa**

0	Frutos rojos	15
0	Vegetal	15
0	Especiado	15
0	Acetaldehído	15

Fase Gustativa

0	Acidez	15
0	Cuerpo	15
0	Astringencia	15
0	Amargor	15
0	Persistencia	15

Comentarios: