

**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS**  
**ESCUELA DE PREGRADO**

**MEMORIA DE TÍTULO**

**MECANISMOS Y EFECTOS ASOCIADOS A PROCESOS DE OXIDACIÓN DE  
COMPUESTOS FENÓLICOS EN VINOS**

**NATHALIE ESTEFANÍA GUILLOU CALDERÓN**

Santiago, Chile  
2012

**UNIVERSIDAD DE CHILE**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS**

**ESCUELA DE PREGRADO**

**MEMORIA DE TÍTULO**

**MECANISMOS Y EFECTOS ASOCIADOS A PROCESOS DE OXIDACIÓN DE  
COMPUESTOS FENÓLICOS EN VINOS**

**MECHANISMS AND EFFECTS ASSOCIATED TO PROCESSES OF  
OXIDATION OF PHENOLIC COMPOUNDS IN WINES**

**NATHALIE ESTEFANÍA GUILLOU CALDERÓN**

Santiago, Chile

2012

**UNIVERSIDAD DE CHILE**

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE PREGRADO

**MECANISMOS Y EFECTOS ASOCIADOS A PROCESOS DE OXIDACIÓN DE  
COMPUESTOS FENÓLICOS EN VINOS**

Memoria para optar al Título Profesional de:  
Ingeniero Agrónomo

NATHALIE ESTEFANÍA GUILLOU CALDERÓN

	<b>Calificaciones</b>
<b>Profesores Guía</b>	
Elías Obreque S. Ingeniero Agrónomo, Dr.	6,7
Álvaro Peña N. Ingeniero Agrónomo Enólogo, Dr.	7,0
<b>Profesores Evaluadores</b>	
Eduardo Loyola M. Ingeniero Agrónomo Enólogo, Dr.	6,6
Herman Silva R. Prof. Biología, Dr.	6,2

Santiago, Chile  
2012

## INDICE

<b>RESUMEN.....</b>	<b>1</b>
Palabras claves.....	1
<b>SUMMARY.....</b>	<b>2</b>
Keywords.....	2
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>3</b>
Objetivo.....	4
<b>MATERIALES Y MÉTODO.....</b>	<b>5</b>
Lugar de estudio .....	5
Fuentes de información .....	5
Método.....	5
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>6</b>
1. Oxígeno.....	6
1.1. Definición y estructura química.....	6
1.2. Importancia.....	6
1.3. Fuentes de oxígeno en la elaboración de vinos.....	7
2. Oxidación y reducción.....	8
2.1. Definición.....	8
3. Los compuestos fenólicos de la uva.....	8
3.1. Clasificación de los compuestos fenólicos.....	9
3.2. Contenido polifenólico en vinos.....	10
3.3. Factores que influyen en la composición fenólica del vino.....	12
3.3.1. Manejos del viñedo, variedad y clima.....	12
3.3.2. Procedimientos enológicos.....	14
3.4. Factores que influyen en la oxidación de compuestos fenólicos.....	15
3.5. Mecanismos de oxidación de los compuestos fenólicos .....	17
3.5.1. Oxidación enzimática.....	17
3.5.1.1. Enzimas participantes.....	17
3.5.1.2. Análisis comparativo entre enzimas.....	23
3.5.2. Oxidación no enzimática.....	24
4. Efectos de la oxidación en vinos.....	27
4.1. Efectos positivos del oxígeno.....	27
4.2. Efectos negativos del oxígeno.....	29
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>30</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>31</b>

## RESUMEN

Los compuestos fenólicos son unos de los constituyentes más importantes en vinos, debido a que contribuyen en las características organolépticas, tales como color, astringencia, amargor y aroma. Además, algunos de estos compuestos, tales como los ácidos cinámicos y flavanoles, tienen la capacidad de oxidarse, debido a la estructura química que poseen. Por lo tanto, es fundamental conocer como se desencadenan las reacciones de oxidación en mostos y vinos, lo cual permite saber cuáles son los períodos críticos durante el proceso de elaboración del producto final.

El presente estudio tuvo como finalidad describir y analizar los mecanismos y efectos asociados a la oxidación de compuestos fenólicos en vinos. La información fue obtenida a través de una amplia recopilación y análisis de las distintas investigaciones disponibles. Inicialmente, se realizó una clasificación de los compuestos fenólicos presentes en vinos y su susceptibilidad a la oxidación. Luego, se analizaron los mecanismos de acción del oxígeno en el proceso oxidativo y por último los principales efectos que esto ocasiona en el producto final.

Los resultados de esta revisión bibliográfica muestran que los ácidos cinámicos y flavanoles son los compuestos fenólicos más susceptibles a oxidarse, lo cual puede transcurrir en el mosto mediante una oxidación enzimática, o en el vino por una oxidación no enzimática. De la misma manera, si los aportes de oxígeno son controlados, los efectos positivos en el vino podrían ser diversos (mayor estabilidad a la oxidación, menor intensidad de olores vegetales y reductivos, mejora en los caracteres afrutados varietales, disminución de la astringencia y amargor). Sin embargo, cantidades excesivas de oxígeno pueden ocasionar efectos detrimentales en el vino, tales como, la pérdida de características sensoriales, particularmente afectando a las notas florales y frutales, formación de olores desagradables, alteración del color y composición cromática.

**Palabras claves:** vino, compuestos fenólicos, oxidación.

## SUMMARY

The phenolic compounds are one of the most important constituents in wines, because they contribute to the organoleptic characteristics, such as color, astringency, bitterness and aroma. Also, some of these compounds, such as cinnamic acids and flavanols, have the ability to oxidize, due to the chemical structure that they have. Is therefore, essential to know as trigger the oxidation reactions in musts and wines, this let to know which are the critical periods during the elaboration process of the final product.

This study is intended to describe and analyze the mechanisms and effects associated to oxidation of phenolic compounds in wines. The information was obtained through a special wide compilation and analysis of different researches related to the same theme of this study. Initially, was realized a classification of the phenolic compounds present in wines and their susceptibility to oxidation. Then analyzed the mechanism of action of oxygen in the oxidative process and finally the main effects these cause in the final product.

The results show that the cinnamic acids and flavanols are the phenolics compounds more susceptible to oxidation; this oxidation can elapse in the must through an enzymatic oxidation, or in the wine due to non enzymatic oxidation. In the same way, if the oxygen inputs are controlled, the positive effects in the wine could be divers (increased stability to the oxidation, lower intensity of vegetal and reduction odor notes, improvement in the varietal aromatic compounds, decrease of astringency and bitterness). However, excessive amounts of oxygen may cause detrimental effects in the wine, such as, loss of the sensory characteristics of wine, particularly affecting its floral and fruit notes, formation of undesirable odors, color alteration and chromatic composition.

**Keywords:** wine, phenolic compounds, oxidation.

## INTRODUCCIÓN

La uva vinífera posee una serie de compuestos químicos que pueden afectar a las características finales del vino. Entre estos compuestos, existen algunos presentes en alta proporción (agua, azúcares, compuestos nitrogenados y ácidos libres) y otros compuestos en baja proporción (vitaminas, enzimas, aldehídos, compuestos fenólicos y aromáticos). Los compuestos fenólicos son constituyentes fundamentales de los vegetales, debido a que se encuentran en todos los órganos de las plantas y en variadas formas químicas (Ojeda, 2007). Además, constituyen ser una de las familias de compuestos más importantes en los vinos, debido a que contribuyen a características organolépticas, tales como color, astringencia, amargor y aroma (Monagas *et al.*, 2006; Ojeda, 2007). Además, según su naturaleza, pueden tener un interés nutricional y farmacológico.

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 (Cheynier *et al.*, 2000; Ojeda, 2007).

Son diversos los factores que afectan la composición y evolución de los compuestos fenólicos, derivados de manejos de viticultura o también aquellos realizados durante el proceso de elaboración del vino (Ketter, 2008; Martínez de Toda, 2002). Un factor importante es la acción del oxígeno durante el proceso de vinificación, el cual puede poseer significativos roles tales como estabilizar y desarrollar aromas y sabores en las uvas, además de garantizar el color en vinos tintos. Por el contrario, una alta concentración de oxígeno puede desatar procesos de oxidación de ciertos compuestos del vino, como los polifenoles (Singleton, 1987). Esta oxidación se desencadena por el contacto que tienen el mosto y el vino con el oxígeno atmosférico, especialmente durante el prensado de la uva, ya que el mosto es más sensible a la oxidación dado que sus sistemas enzimáticos siguen intactos (Berradre *et al.*, 2007). Por lo tanto, la presencia del oxígeno desnaturaliza el aroma (se destruye el afrutado), modifica el color y ocasiona cambios en el sabor (pérdida o aumento de astringencia) (Ferreira *et al.*, 2002; Cheynier y Fulcrand, 2000; Berradre *et al.*, 2007), lo que implicaría la disminución de las características del producto final (Ferreira *et al.*, 1997). Las oxidaciones ocurridas tanto en mostos como en vinos dependen de diversos factores, tales como el tipo y la composición del sustrato, y las condiciones del medio (Oliveira *et al.*, 2011).

Los procesos oxidativos durante la vinificación pueden ser del tipo enzimática (mosto) (Nagel y Graber, 1988) y no enzimática (vino) (Cilliers y Singleton, 1990). La oxidación enzimática de los compuestos fenólicos en el mosto puede ser catalizada por distintas enzimas, entre las cuales la polifenoloxidasas es la más estudiada en la industria de los alimentos por provocar el fenómeno conocido como “pardeamiento enzimático” (Cheynier *et al.*, 2000; Li *et al.*, 2008). En cambio la oxidación no enzimática o química

ocurre en ausencia de estas enzimas, siendo catalizada por metales de transición (Danilewicz, 2003; Waterhouse y Laurie, 2006; Li et *al.*, 2008).

A partir de los antecedentes anteriormente expuestos, se demuestra la importancia de conocer los mecanismos y efectos asociados a la oxidación de los polifenoles, para así gestionar adecuadamente la dosificación del oxígeno, ya que una incorporación inapropiada puede afectar negativa e irreparablemente las características del producto final.

**Objetivo**

Describir y analizar los mecanismos y efectos asociados a la oxidación de compuestos fenólicos en vinos.

## **MATERIALES Y MÉTODO**

### **Materiales**

#### **Lugar de estudio**

La búsqueda de información para el desarrollo de esta revisión bibliográfica, se realizó en el las dependencias de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

#### **Fuentes de información**

En este estudio se utilizaron materiales impresos (libros, revistas y/o artículos de revistas, tesis, memorias de título y resúmenes) y materiales electrónicos (documentos científicos, revistas científicas y páginas web). Todo el material utilizado presentaba autor (es), año de publicación y comité editorial.

#### **Método**

Para cumplir con el objetivo, se procedió a describir y analizar los siguientes aspectos:

- Compuestos fenólicos presentes en vinos, específicamente los ácidos fenólicos que son los más susceptibles a oxidarse, y los factores que afectan su composición en mostos y vinos.
- Mecanismos de acción del oxígeno en el proceso de oxidación de compuestos fenólicos en mostos y vinos.
- Principales efectos asociados a los procesos de oxidación de compuestos fenólicos en mostos y vinos.

Las etapas a seguir fueron en primer lugar la búsqueda y recopilación bibliográfica. Posteriormente se realizó un análisis detallado de los documentos, que incluyó un análisis de resúmenes, objetivos, metodologías, discusiones, conclusiones e impactos de cada documento, con el objetivo de determinar y extraer la información más sobresaliente. Finalmente, se seleccionó la información de manera de obtener una síntesis de lo recopilado.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 1. Oxígeno

#### 1.1. Definición y estructura química

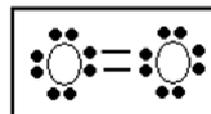
El oxígeno (O) en estado natural es un gas incoloro, inodoro e insípido, ligeramente más pesado que el aire (Babor e Ibarz, 1956), y uno de los elementos más importantes de la Tierra, ya que es considerado como indispensable para la vida (Hill y Kolb, 2000). El oxígeno ha sido ampliamente analizado por su gran capacidad de reaccionar con casi todos los elementos químicos (Hill y Kolb, 2000). Posee un estado de oxidación (valencia) de -2 y en condiciones normales de presión y temperatura, se encuentra formando comúnmente moléculas diatómicas (Cuadro 1) (Babor e Ibarz, 1956; Hill y Kolb, 2000; Becker y Wentworth, 1997).

**Cuadro 1.** Forma molecular y características químicas principales del oxígeno.

<b>Número atómico</b>	8
<b>Valencia</b>	-2
<b>Peso atómico</b>	16

Moléculas diatómicas gaseosas

**Forma común**



Fuente: Información recopilada por el autor.

#### 1.2. Importancia

El oxígeno puede estar presente de diferentes formas de acuerdo al medio donde se localice. Es así como en la hidrósfera (océanos, mares, ríos y lagos) se halla combinado con el hidrógeno formando la molécula de agua ( $H_2O$ ), mientras que en la litósfera (corteza terrestre) constituye un 50% de su peso total y se encuentra unido a varios elementos, como la sílica ( $SiO_2$ ), componente principal de la arena (Hill y Kolb, 2000). Por último, en la atmósfera el oxígeno representa un 21% de la mezcla gaseosa, estando en forma molecular ( $O_2$ ) y como ozono ( $O_3$ ) (Babor y Ibarz, 1956).

### 1.3. Fuentes de oxígeno en la elaboración de vinos

En el aire atmosférico que rodea a la bodega de elaboración de vinos, el oxígeno siempre se encuentra presente, estando más concentrado en el aire que en el mosto y vino, por lo tanto tendrá la tendencia a disolverse en ellos (Delteil, 2001). Durante el estrujado y prensado de uva fresca, el mosto se encuentra saturado de oxígeno (6-8 mg/L) por la gran exposición de la uva con el aire (Schneider, 1998). Sin embargo, el vino rara vez se satura con oxígeno, debido a que el contacto con el aire es menor y además este es neutralizado durante el proceso de producción debido a la presencia de otros compuestos como el anhídrido sulfuroso (SO<sub>2</sub>) (Du Toit *et al.*, 2006). Los aportes de oxígeno al vino durante todo el proceso de elaboración son detallados a continuación (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Cantidad de oxígeno aportado al vino durante distintas etapas de la vinificación, embotellado y crianza en barrica.

Operación	Aporte de O <sub>2</sub> (mg/L)	Referencia
Bombeo (varía según tipo)	> 2	Du Toit <i>et al.</i> , 2006.
Bomba centrífuga	0,18	Vidal <i>et al.</i> , 2007.
Bomba peristáltica	0,12	Vidal <i>et al.</i> , 2007.
Bomba pistón	0,20	Vidal <i>et al.</i> , 2007.
Trasiego	3 - 5 0,2 - 0,3	Du Toit <i>et al.</i> , 2006. Vivas, 1997.
Clarificación por centrifugación	1,2 - 8	Castellari <i>et al.</i> , 2004; Du Toit <i>et al.</i> , 2006; Vidal <i>et al.</i> , 2007.
Filtración por módulos lenticulares	0,2	Vidal <i>et al.</i> , 2007.
Filtración por placas	0,5	Vidal <i>et al.</i> , 2007.
Filtración por membranas	0,1	Vidal <i>et al.</i> , 2007.
Estabilización tartárica	2,3 - 4	Castellari <i>et al.</i> , 2004
Embotellado (llenado a taponado)	0,42 - 1,15	Vidal <i>et al.</i> , 2007
Taponado con "screwscaps"	0,5 - 0,9	Brajkovich <i>et al.</i> , 2005
Taponado con corcho natural	0,8 - 1,6	Brajkovich <i>et al.</i> , 2005
Operación	Aporte de O <sub>2</sub> (mg/L/año)	Referencia
Crianza en barricas	20 - 45	Du Toit <i>et al.</i> , 2006; Vivas y Glories, 1996.
Barricas nuevas	19,5	Vivas y Glories, 1996
Barricas usadas	7	Vivas y Glories, 1996

Fuente: Información recopilada por el autor.

Se puede observar que el oxígeno puede ser incorporado al mosto y el vino a través de todo el proceso de elaboración, siendo las operaciones de trasiego y clarificación las más agresivas en cuanto a la incorporación de oxígeno. Una vez que el vino es embotellado, los riesgos de oxidación son menores por el bajo ingreso de oxígeno al vino, dependiendo si es almacenado en botellas o criado en barricas. En botellas varía según el tipo de corcho usado, ya que el corcho natural es un material poroso en comparación a la "screwcap" o tapa rosca, mientras que en barricas el ingreso de oxígeno es un proceso lento a través de los poros de la madera (Singleton, 1987; Lesica y Kosmerl, 2009).

## 2. Oxidación y reducción

### 2.1. Definición

La oxidación se define como el proceso químico en el cual un compuesto sufre la pérdida de átomos de hidrógeno (cede electrones), por lo que aumenta su estado de oxidación (Waterhouse y Laurie, 2006). Por el contrario, en el proceso de reducción se provoca la ganancia de átomos de hidrógeno (aceptación de electrones) (Waterhouse y Laurie, 2006). Ambas reacciones van siempre ligadas, es decir, que si una sustancia se oxida, necesariamente se reduce otra (Hill y Kolb, 2000), tal como se ilustra en el siguiente ejemplo de un compuesto fenólico (Figura 1).

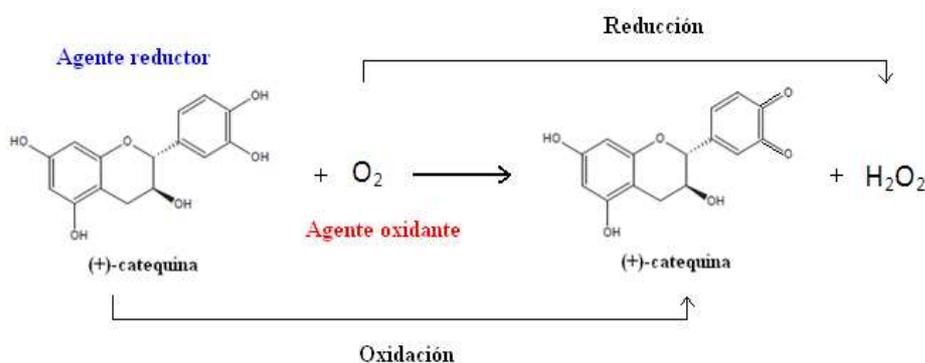


Figura 1. Reacción de óxido-reducción entre la (+)-catequina y el oxígeno.

Fuente: Información recopilada por el autor.

En la Figura 1, se observa que el oxígeno ( $\text{O}_2$ ) provoca que la (+)-catequina, compuesto fenólico presente en el vino, se oxide. Por lo tanto, el  $\text{O}_2$  cumple una función como agente oxidante (Hill y Kolb, 2000). De forma contraria, la (+)-catequina induce a que el oxígeno se reduzca. Así, la (+)-catequina es el agente reductor (Hill y Kolb, 2000). Es así como para cada reacción de oxidación reducción hay un agente oxidante y otro agente reductor (Hill y Kolb, 2000).

Uno de los componentes que participan fuertemente en las reacciones de óxido-reducción son los polifenoles, los cuales debido a su importancia en los vinos, podrían influir de manera directa o indirecta en las características del producto final (Cheynier *et al.*, 2000).

## 3. Los compuestos fenólicos de la uva

Los polifenoles son constituyentes fundamentales de los vegetales, debido a que se encuentran en todos los órganos de las plantas y en variadas formas químicas (Ojeda, 2007). En la uva vinífera, estos compuestos juegan un importante rol en las características del mosto, y por lo tanto del vino. Así, las distintas transformaciones ocurridas durante el proceso de vinificación influirán en las cualidades que presente finalmente este producto, en términos de estructura, color y propiedades sensoriales (Ojeda, 2007).

### 3.1. Clasificación de los compuestos fenólicos

Existen diversos estudios que describen la clasificación de los compuestos fenólicos, los cuales representan una gran diversidad de componentes en la uva vinífera. Es así, como se distingue entre compuestos no flavonoides y flavonoides. En el grupo de los no flavonoides, se encuentran los ácidos fenólicos, presentes en pieles, pulpa, semillas y escobajo (Ojeda, 2007), y otros como los estilbenos correspondientes a fitoalexinas (Figura 2). Los ácidos cinámicos pueden estar presentes también como ácidos hidroxicinámicos bajo la forma de ésteres de ácido tartárico, tales como ácido caftárico, ácido cutárico y ácido fetárico (Cheynier *et al.*, 2000). Estos compuestos destacan por su importancia en la salud humana, debido a que poseen una gran actividad antioxidante y un posible rol anti- cancerígeno (Leighton y Urquiaga, 1999). Por otro lado, entre los ácidos benzoicos abunda el ácido gálico bajo la forma de éster de flavanol (galocatequinas, epigalocatequinas) (Cheynier *et al.*, 2000) destacando por su actividad antioxidante, antimutagénica y hepatoprotectora (Leighton y Urquiaga, 1999).

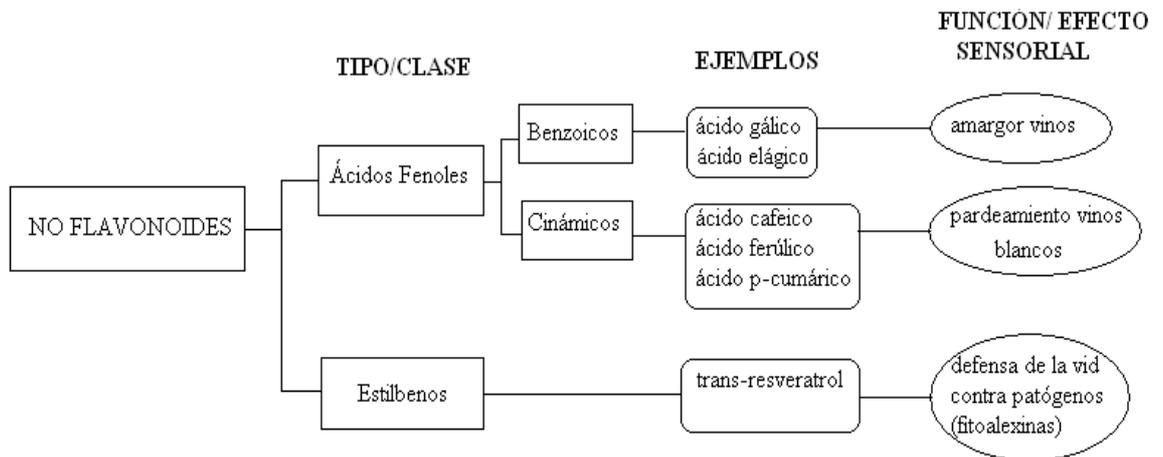


Figura 2. Clasificación de los compuestos fenólicos no flavonoides.

Fuente: Información recopilada por el autor.

En el grupo de los flavonoides se encuentran los **antocianos**, presentes solo en las pieles (y en algunos casos en la pulpa de las uvas tintas), los **flavanoles** o taninos condensados ubicados en pieles y semillas, y por último los **flavonoles** que se presentan en las pieles (Ojeda, 2007) (Figura 3). Cabe destacar que las flavonas son compuestos pertenecientes a este grupo, que solo han sido encontradas en la piel de uvas blancas, representando el 5% aproximadamente de los compuestos fenólicos totales del hollejo de la baya (Cheynier *et al.*, 2000).

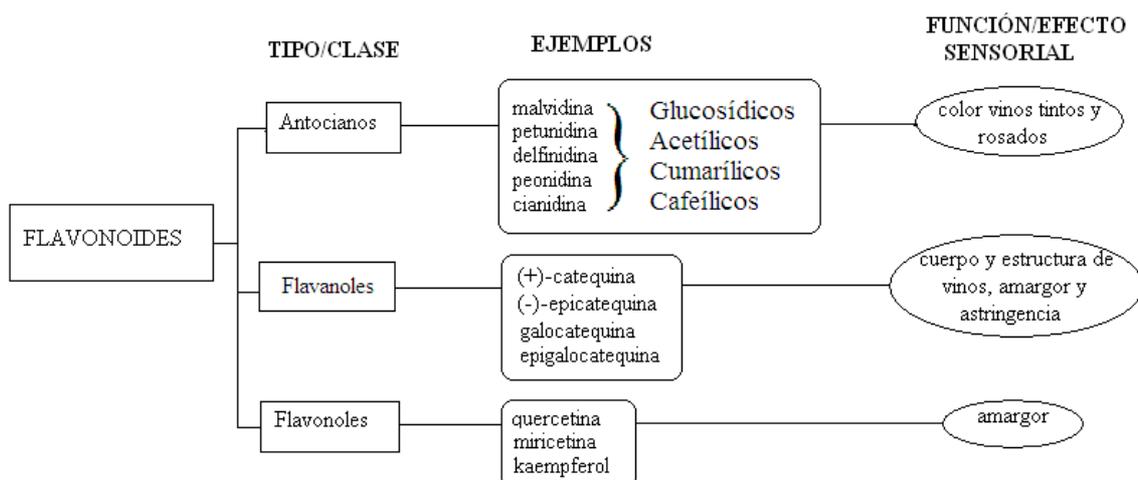


Figura 3. Clasificación de los compuestos fenólicos flavonoides.  
Fuente: Información recopilada por el autor.

### 3.2. Contenido polifenólico en vinos

El análisis del contenido polifenólico ha sido realizado en diversos alimentos, tales como el aceite de oliva (Romero *et al.*, 2003), el cacao (Lecumberri *et al.*, 2006), los porotos (Bressani *et al.*, 1991), la murtila (Alfaro *et al.*, 2009), el durazno (Donovan *et al.*, 1998) y la uva vinífera (Alamo, 2002; Donoso, 2011; Morales, 2001; Obrequé, 2010). Respecto a los polifenoles presentes en la uva, se ha observado que su contenido es menor que el encontrado en el mosto, alcanzando hasta un 60% de la concentración observada en la baya (Zamora, 2003). No obstante lo anterior, el contenido de los polifenoles en vinos se ha evaluado en diversos estudios (Bordeu y Scarpa, 2000), tal como se muestra en el siguiente cuadro (Cuadro 3).

**Cuadro 3.** Concentración de los principales polifenoles del vino

Clase de fenol	Vino blanco	Vino tinto	Referencias
<b>FENOLES TOTALES</b> (mg EAG /L)	170 - 290	938 - 1900	Bordeu y Scarpa, 2000; Cabeza, 2005; Ketter, 2008.
<b>FLAVONOIDES</b>			
<b>Flavanoles totales</b> (g EC/L)	0,02 - 0,76	1,84 - 5,0	Alamo, 2002; Muñoz, 2002; Cabeza, 2005; Ketter, 2008.
(+)-catequina (mg/L)	0,02 - 0,30	1,05 - 15,39	Alamo, 2002; Muñoz, 2002; Cabeza, 2005; Ketter, 2008.
(-)-epicatequina (mg/L)	0,02 - 0,42	1,03 - 20,3	Alamo, 2002; Muñoz, 2002; Cabeza, 2005; Ketter, 2008.
<b>Antocianos Totales</b> (mg/L malvidina)		73 - 765	Alamo, 2002; Muñoz, 2002; Cabeza, 2005; Ketter, 2008.
malvidina-3-glucósido (mg/L)		10,07 - 1108,39	Cabeza, 2005; Ketter, 2008.
miricitina-3-glucósido (mg/L)		0,19 - 1,16	Cabeza, 2005.
quercetina-3-glucósido (mg/L)		0,23 - 1,59	Cabeza, 2005.
delfinidina-3-glucósido (mg/L)		3,7 - 113,5	Cabeza, 2005.
petunidina-3-glucósido (mg/L)		8,39 - 189,5	Cabeza, 2005.
peonidina-3-glucósido (mg/L)		8,02 - 13,16	Cabeza, 2005.
Flavonoides Totales	25 - 30	705 - 1060	Bordeu y Scarpa, 2000.
<b>NO FLAVONOIDES</b>			
ácido gálico (mg/L)	0,13 - 11	1,5 - 165	Alamo, 2002; Muñoz, 2002; Cabeza, 2005; Ojeda, 2007.
ácido cafeico (mg/L)	0,2 - 5,1	1 - 13	Frankel <i>et al.</i> , 1995; Alamo, 2002; Muñoz, 2002; Cabeza, 2005.
<i>trans</i> -resveratrol (mg/L)	0 - 1,3	0 - 10	Goldberg <i>et al.</i> , 1995; Frankel <i>et al.</i> , 1995; Muñoz, 2002; Cabeza, 2005.
No Flavonoides Totales (EAG, mg/L)	160 - 260	235 - 500	Bordeu y Scarpa, 2000.

EAG, equivalente de ácido gálico; EC, equivalente de (+)-catequina

Fuente: Información recopilada por el autor.

Los resultados de la Tabla 3, indican la gran variabilidad en concentración de los compuestos fenólicos en los vinos, siendo superior la cantidad de fenoles totales en vinos tintos que blancos, debido a la presencia de antocianos, así como también una mayor concentración de taninos, uno de los compuestos más abundantes de los vinos tintos (Bordeu y Scarpa, 2000; Ojeda, 2007). Del mismo modo, la cantidad de compuestos no flavanoides presentes en vinos tintos resulta ser más elevada que en vinos blancos (Bordeu y Scarpa, 2000; Ojeda, 2007), siendo los más importantes en concentración los antocianos y flavanoles. Dentro de éstos últimos, los niveles de (+)-catequina y (-)-epicatequina, pueden llegar a ser 20 veces más altos en vinos tintos que en blancos, mientras que en el grupo de los antocianos, se puede observar que el compuesto malvidina-3-glucósido es el más abundante, superando en ocasiones en más de 10 veces a los demás compuestos antocianidínicos. Por otro lado, dentro de los compuestos no flavonoides, destaca por su abundancia el ácido gálico, en mayor medida en vinos tintos que en blancos, marcando una gran diferencia de composición entre ambos vinos.

### 3.3. Factores que influyen en la composición fenólica del vino

La composición fenólica de los vinos se ve fuertemente afectada por diversos factores, dentro de los cuales los asociados al manejo del viñedo y variedad, así como también a las distintas operaciones y tratamientos realizados en bodega nombrados a continuación, resultan ser los más influyentes sobre la composición de los vinos (Ketter, 2008; Martínez de Toda, 2002).

#### 3.3.1. Manejos del viñedo, variedad y clima

- **Sistema de conducción:** Según Schneider (1989) y Morrison y Noble (1990), el sistema de conducción puede crear un microclima en hojas y racimos, lo que puede ser determinante en la composición y maduración de la baya. Morrison y Noble (1990) determinaron que el sombreado sobre el racimo provoca una disminución del contenido total de polifenoles, y una disminución del ácido gálico, en cambio la exposición de la uva a la radiación solar tiene un efecto positivo sobre el contenido de estos compuestos (especialmente antocianos). Esto coincide con lo señalado por otros autores (Crippen y Morrison, 1986; Smart *et al.*, 1998), quienes han obtenido resultados similares en sus estudios, afirmando que la luz interviene de forma positiva en la síntesis de compuestos fenólicos, especialmente antocianos.
- **Raleo de racimos:** La práctica de raleo se realiza de forma frecuente en los viñedos con el fin de controlar el equilibrio entre hojas y frutos, obteniendo de esta manera una composición de uva adecuada para elaborar vinos de calidad (González y Ferrer, 2008). Chavarría (1999) y González y Ferrer (2008) estudiaron la incidencia de esta práctica en racimos en distintos momentos de crecimiento y desarrollo de la baya, determinando que el raleo realizado en pinta origina vinos con una mayor concentración de flavonoles e intensidad colorante, en comparación con el tratamiento sin ralear. Esto coincide con lo observado por diversos autores (Ferrer y González-Neves, 2002; Amati *et al.*, 1994; Reynolds *et al.*, 1996) quienes han verificado que la labor de raleo de racimos efectivamente modifica la composición fenólica del vino obtenido. Ferrer y González-Neves (2002) estudiaron diversas alternativas de raleo de racimos (manual y químico), en distintos momentos del

desarrollo de la baya (envero y cuaja), observando que todos los raleos tenían un efecto positivo en la composición de la uva, originando una mayor acumulación de antocianos y taninos, y por lo tanto vinos con mayores contenidos fenólicos e intensidad colorante.

- Riego: El estudio del efecto del estrés hídrico en el desarrollo de la vid, sobre la composición fenólica de mostos y vinos, ha sido estudiada por distintos autores (Ferreyra *et al.*, 2002; Imbert, 2003; Ortega-Farías *et al.*, 2004; Ortega-Farías *et al.*, 2007). Los resultados de sus ensayos sugieren que los niveles de compuestos fenólicos en general, particularmente antocianos, podrían verse afectados por los distintos niveles de reposición hídrica en el período post-cuaja. De esta manera, las plantas de vid con déficit hídrico presentan un aumento en la concentración de polifenoles totales, en comparación a aquellas plantas con riego normal, modificando así la composición fenólica de mostos y vinos (Imbert, 2003; Ortega-Farías *et al.*, 2007). En el estudio realizado por Ortega-Farías *et al.* (2004), se observó que las uvas del tratamiento con 100% de riego presentaron un mayor tamaño y una menor concentración de fenoles totales y antocianos totales, en comparación con uvas provenientes de plantas con riego restringido, coincidiendo de esta manera con lo expuesto por los demás autores.
- Fecha de cosecha: La estimación óptima de la fecha de cosecha es un aspecto muy importante para obtener uvas con una composición adecuada, válido no solo en azúcar, acidez y pH, sino que también en polifenoles (Bordeu y González, 2004). Gómez (2003) evaluó el efecto de la fecha de cosecha sobre la madurez fenólica de uvas y vinos, encontrando que la composición del vino había sido afectada, producto de la cosecha tardía. Sin embargo, estos cambios afectaron de forma distinta según la variedad de uva, aumentando el contenido polifenólico en la variedad Merlot y disminuyendo en Carménère. Resultados similares se obtuvieron en otros estudios (Vigneaux, 1990; Castro, 2005), donde se observó que a medida que se retrasa la fecha de cosecha, hay un aumento en el contenido de polifenoles en hollejos, como taninos y antocianos, pero una disminución del contenido de taninos y fenoles totales en semillas. Sin embargo, Pérez y González (2006), observaron que cuando se cosechaba 1 semana después de la fecha óptima estimada por el profesional enólogo, el contenido de polifenoles totales aumentaba, pero no de forma exponencial, debido a que cuando se realizaba 2 semanas más tarde, estas concentraciones disminuían.
- Variedad: Las distintas variedades y clones existentes pueden presentar diferencias en su comportamiento y/o adaptación a un lugar, originando de esta forma diferencias significativas en cuanto a composición fenólica, lo que incide en gran medida en las características del producto final (Pérez y González, 2002). Estos resultados coinciden fuertemente con lo observado por otros autores que corroboran el efecto de la variedad sobre la composición fenólica de bayas para producción de vino (Muñoz, 2002; Alamo, 2002; Cabeza, 2005; Obrique *et al.*, 2010; Obrique *et al.*, 2012).
- Clima: Adicionalmente, pueden existir diferencias de composición fenólica entre las variedades debido a factores agroclimatológicos, ocurriendo incluso dentro de

una misma variedad. Fernández *et al.* (2007) analizaron vinos de la variedad Carménère elaborados con uvas de 3 valles de Chile central, encontrando diferencias en su composición fenólica, específicamente proantocianidinas. Del mismo modo, esto ha sido observado por otros autores (Muñoz, 2002; Alamo, 2002; Cabeza, 2005).

### 3.3.2. Procedimientos enológicos

- Tiempo de maceración: El efecto del tiempo de maceración sobre la composición fenólica ha sido estudiada por diferentes autores (Vila, 2002; Fernández *et al.*, 1999; Gómez *et al.*, 2001), los cuales sostienen que es fundamental para una mayor expresión de color y cuerpo del vino. Vila (2002) experimentó con tres tiempos de maceración post fermentativa (5, 10 y 20 días) en la variedad Cabernet Sauvignon, concluyendo que la magnitud del color rojo alcanzó un máximo cerca del décimo día y luego sufrió una caída, con una consecuente pérdida del 10% del color a los 20 días. Algo similar ocurrió con los taninos, los cuales aumentaron rápidamente hasta el día 10, pero luego este aumento se fue atenuando con el transcurso de los días. Del mismo modo Gómez *et al.* (2001) midieron el efecto de tres distintos tiempos de maceración post fermentativa (4, 5 y 10 días) sobre los compuestos fenólicos y características de color en vinos tintos de la variedad Monastrell. Estos autores, encontraron que los vinos vinificados con maceración más larga (10 días) presentaban una mayor extracción de polifenoles, sobre todo de antocianos, aumentando su intensidad colorante.
- Temperatura de fermentación: En un estudio realizado por Abril *et al.* (2007) en la variedad Tempranillo, bajo distintos rangos de temperaturas de fermentación (27-30° C y 20-23° C), se comprobó que cuando la fermentación se desarrolla a baja temperatura la extracción de los compuestos fenólicos de la uva es más lenta, y el contenido final de los vinos es ligeramente menor que cuando la vinificación se conduce a mayor temperatura, particularmente en el caso de los antocianos totales.
- Enzimas pectolíticas: Los efectos de la adición de enzimas pectolíticas al mosto han sido analizados por distintos autores (Barreiro *et al.*, 2006; González-Neves *et al.*, 2003) los cuales coinciden que los vinos tratados con enzimas pectolíticas, poseen mayores concentraciones de polifenoles totales, antocianos e intensidad colorante que aquellos tratados en ausencia de enzimas pectolíticas.
- Oxígeno: Uno de los factores que afecta notoriamente la concentración y composición fenólica en vinos es la presencia de oxígeno durante el proceso de vinificación, ocasionando cambios significativos en los atributos sensoriales del producto, alterando sus características tecnológicas (color, aroma y brillo) y nutricionales (Singleton, 1987; Gonzales *et al.*, 1994). El oxígeno puede actuar de distintas formas según las condiciones del medio en el cual se desarrolle la reacción de oxidación. Otros factores que eventualmente pueden potenciar o disminuir la capacidad oxidativa de esta molécula frente a importantes compuestos del mosto y el vino, son los compuestos fenólicos.

### 3.4. Factores que influyen en la oxidación de compuestos fenólicos

Se sabe con certeza que las reacciones relevantes que llevan al desarrollo de oxidación en vinos depende de variados componentes presentes en el mosto de uva y en el vino, entre ellos los más importantes son: iones metálicos, anhídrido sulfuroso (SO<sub>2</sub>), concentración y composición de los compuestos fenólicos, siendo estos últimos los más susceptibles a la oxidación (Oliveira *et al.*, 2011).

- Concentración y composición de compuestos fenólicos: En vinos, esto determina en gran medida el nivel de oxidación, debido a que su potencial antioxidante se encuentra correlacionado con la concentración de compuestos fenólicos totales, así como la concentración de las dos mayores clases de polifenoles en estos vinos, ácidos cinámicos (ácido cafeico) y flavanoles [(+)-catequina y (-)-epicatequina] (Singleton, 1987; Oszmianski, 1996). Esto se debe a la estructura química que poseen estos polifenoles, que por la posición *orto* o *para* del grupo hidroxilo del anillo bencénico, son sustratos preferibles de las enzimas oxido-reductasas (polifenoloxidasas y lacasa) (Singleton, 1987; Li *et al.* 2008). Cheynier *et al.* (1995) afirman que las reacciones de oxidación en vinos aparecen relacionadas con el contenido de flavanoles, y que además su auto-oxidación (por ejemplo catalizada por el Fe<sup>2+</sup>) resulta ser una reacción responsable del cambio de color en el vino. Estos mecanismos oxidativos pueden ocurrir en distintas etapas del proceso de vinificación, siendo mayormente el ácido cafeico, la (+)-catequina, (-)epicatequina y sus derivados, los polifenoles capaces de producir compuestos que pueden llevar a la formación de productos de color amarillo o pardo (Guyot *et al.*, 1996), fenómeno conocido como pardeamiento (Oliveira *et al.*, 2011).
- Metales: Los autores Oszmianski *et al.* (1996) y Li *et al.* (2008) sostienen que la presencia de metales como el hierro y el cobre provocan una aceleración del proceso de oxidación de los compuestos fenólicos. Esto se debe a que en el vino fermentado, ambos metales son catalizadores del proceso oxidativo, debido a que oxidan a los compuestos fenólicos y reducen el peróxido de hidrógeno, generando radicales hidroxilos, que son altamente reactivos, pudiendo oxidar el etanol a acetaldehído (Danilewicz, 2003; Waterhouse y Laurie, 2006).
- Exposición pieles y prensado: Las oxidaciones son más frecuentes en mostos expuestos por un mayor tiempo en contacto con las pieles y en condiciones de un prensado más fuerte (Singleton, 1987; Yokotsuka, 1990). Yokotsuka (1990) estudió el efecto del prensado en uvas de la variedad japonesa Koshu, con prensas de distintos tamaños comerciales, encontrando que la composición de los jugos de mostos se vio afectada significativamente por el tipo de prensa, la presión del prensado y la presencia o ausencia del escobajo. Los resultados mostraron que aquellas uvas sin prensar tenían la mayor concentración de antioxidantes (glutación), mientras que los mostos obtenidos de un prensado tradicional presentaban mayores concentraciones de enzimas oxido-reductasas (polifenoloxidasas). Además observó que los polifenoles, como los ácidos cinámicos (ácido caftárico), (+)-catequina y (-)-epicatequina, presentan concentraciones más altas en mostos prensados que aquellos sin prensar. Esto podría explicar que en mostos prensados, la baja concentración de antioxidantes

(glutación), la alta incidencia de enzimas oxido-reductasas y la presencia de polifenoles susceptibles a la oxidación aumenten la incidencia del fenómeno de pardeamiento enzimático en mostos.

- Anhídrido sulfuroso (SO<sub>2</sub>): En el vino, el sulfuro libre se encuentra mayormente en forma de sulfito de hidrógeno o ión bisulfito (HSO<sub>3</sub><sup>-</sup>) y en menor medida como sulfito (SO<sub>3</sub><sup>-2</sup>) (Du Toit *et al.*, 2006). Este último no es eficiente en la protección contra la oxidación, sino que reacciona con los productos de la oxidación (Danilewicz *et al.*, 2008). Por otro lado, es muy común que el SO<sub>2</sub> se use en combinación con el ácido ascórbico, ya que de esta manera, es más eficiente en evitar que el oxígeno reaccione con los compuestos fenólicos (Bradshaw *et al.*, 2011). Este compuesto influye en el proceso de oxidación de distintas formas, siendo su rol más claro un conservante usado en la industria enológica para evitar el deterioro oxidativo, no precisamente por actuar sobre el oxígeno, sino más bien, por inhibir la acción de la enzima causante de este proceso, la polifenoloxidasas (PPO) (Ortega, 2003). Al mismo tiempo el empleo de este antioxidante favorece la extracción de compuestos fenólicos del hollejo al provocar rápidamente la muerte celular y aumentar así su permeabilidad, lo que se traduce en un aumento significativo de transferencia de compuestos fenólicos al mosto (Singleton, 1987), lo que podría interpretarse como aumento en la susceptibilidad de oxidación.
- pH: Este factor es descrito por algunos autores como determinante en la velocidad de oxidación (Fernandez *et al.*, 1995; Paladino *et al.*, 2008). Paladino *et al.* (2008) analizó la tendencia a la oxidación de tres vinos de diferente pH (3,34; 4,14 y 4,33) de la variedad Malbec. Los resultados demostraron que a mayor pH del vino, existe un mayor riesgo de oxidación durante su conservación, además de que se produce una disminución de la concentración de SO<sub>2</sub> libre y molecular, ocasionando que el vino quede menos protegido ante la oxidación. Por su parte, Vernet *et al.* (1996) observó que al pH del vino (3,5), los polifenoles no presentan carga (es despreciable), y que además muchos de estos compuestos presentan constantes de disociación (pK<sub>a</sub>) muy altas, provocando que sean más estables a menor pH (como por ejemplo en el vino). De esta forma, al aumentar el pH del vino, compuestos como el ácido ascórbico con pK<sub>1</sub> = 4,2 son más propensos a oxidarse que el catecol o la (+)-catequina, con pK<sub>1</sub> = 9,45 y pK<sub>1</sub> = 9,41, respectivamente (Danilewicz, 2003).
- Otros antioxidantes: En la química de los alimentos, los agentes reductores se suelen describir como antioxidantes (Hill y Kolb, 2000), como por ejemplo el ácido ascórbico (vitamina C), el cual evita el oscurecimiento de la fruta al inhibir la oxidación por el contacto con el aire (Hill y Kolb, 2000). Este compuesto, ha sido 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 (compuestos fenólicos y aromáticos) (Bradshaw *et al.*, 2011). Es así como se sostiene que la vitamina C y otras (tocoferol o vitamina E y beta-caroteno) retardan diversas reacciones de oxidación que son potencialmente dañinas para ciertos componentes vitales de las células vivas (Hill y Kolb, 2000).

### 3.5. Mecanismos de oxidación de los compuestos fenólicos

El mosto constituye ser un sustrato más sensible y difícil de proteger que el vino, debido a que los sistemas enzimáticos siguen intactos (Berradre *et al.*, 2007), originando una oxidación enzimática (Nagel y Graber, 1988). Por su parte, en el vino se desarrolla preferentemente una oxidación no enzimática (Cilliers y Singleton, 1990). En la oxidación enzimática son diversas las enzimas que participan en la degradación de los compuestos fenólicos, las cuales poseen distintos mecanismos de acción, dependiendo del tipo de fenol a oxidar. En cambio, la oxidación no enzimática se produce por la interacción del oxígeno con ciertos iones metales de transición.

#### 3.5.1. Oxidación enzimática

En las células intactas de la fruta fresca o tejidos vegetales, los polifenoles se localizan fundamentalmente en las vacuolas, mientras que las enzimas óxido-reductasas, en los orgánulos como cloroplastos y mitocondrias (Li *et al.*, 2008). Las membranas celulares que rodean a estos organelos actúan como barreras, impidiendo que estos dos agentes interactúen (Li *et al.*, 2008). Sin embargo, 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 (Li *et al.*, 2008).

##### 3.5.1.1. Enzimas participantes

Existen 3 tipos de enzimas que tienen la propiedad de participar en las reacciones de oxidación de moléculas, la peroxidasa, la lacasa y la polifenoloxidasas, siendo esta última la más estudiada en la industria de los alimentos por su incidencia en el fenómeno de pardeamiento (Guerrero, 2009).

##### a) Polifenoloxidasas (PPO)

###### ➤ Descripción general

Corresponden a un grupo de enzimas capaces de catalizar la oxidación de compuestos fenólicos a sustancias de color pardo, sobre las superficies de corte de frutas y vegetales (Whitaker y Lee, 1995). La nominación de estas enzimas es variada según el sustrato en el cual actúan, siendo nombrada como *orto*-difenoloxidasas (*o*-DPO) o PPO (Crouzet *et al.*, 2000) en frutas y vegetales, y como tirosinasa en animales, debido a que la tirosina, un aminoácido no esencial, es su principal sustrato (Li *et al.*, 2008).

Esta enzima juega un substancial rol en la protección de los animales (por ejemplo en la pigmentación de la piel), mientras que en microorganismos y en plantas, no se sabe aún con certeza sus beneficios (Whitaker y Lee, 1995). Sin embargo, algunos autores han puntualizado la deseable acción de la PPO en el procesamiento de pasas, higos negros, té, café y cacao, debido a que el pardeamiento enzimático contribuye al desarrollo de los colores característicos de estos productos (Yada *et al.*, 1994).

Los mayores inconvenientes de la acción PPO son que ocasiona grandes pérdidas económicas en frutas y vegetales frescos, como lechugas, papas, manzanas, bananas, fresas y uvas (Yada *et al.*, 1994), debido a que genera la pérdida de color, olor y sabor, además de una disminución en sus características nutricionales (Whitaker y Lee, 1995).

➤ Composición y estructura química

La composición química de esta enzima ha sido exhaustivamente estudiada por Klabunde *et al.* (1998) en la planta de camote (*Ipomoea batatas*), lo cual ha permitido comprender de mejor forma la estructura de las PPOs de diferentes vegetales y frutas, dada la alta similitud existente entre ellas. Es así como estos autores, describieron que la PPO consta de un centro activo de 2 átomos de cobre (CuA y CuB), en donde cada uno se encuentra coordinado por 3 residuos de histidinas (aminoácido esencial), aportados por la estructura secundaria de polipéptidos (Figura 4). Así, el átomo CuA se encuentra coordinado a los residuos de histidinas 88, 109 y 118, mientras que el CuB a 240, 274 y 244.

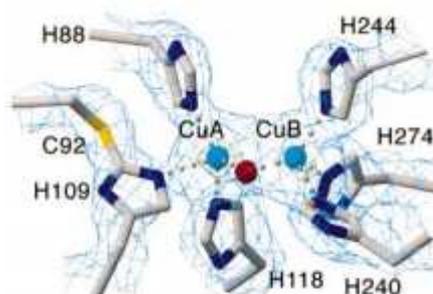


Figura 4. Estructura en rayos-X del centro activo de la polifenoloxidasasa de la planta de camote (*Ipomoea batatas*) (Klabunde *et al.*, 1998).

➤ Sustratos

Esta enzima puede reaccionar con distintos sustratos, tales como el ácido ascórbico y  $\text{SO}_2$ , así como también con ciertos compuestos fenólicos, como los ésteres de los ácidos cinámicos cafeico y *p*-cumárico (ácido caftárico y ácido cutárico) (Figura 5) (Li *et al.*, 2008; Oliveira *et al.*, 2011).

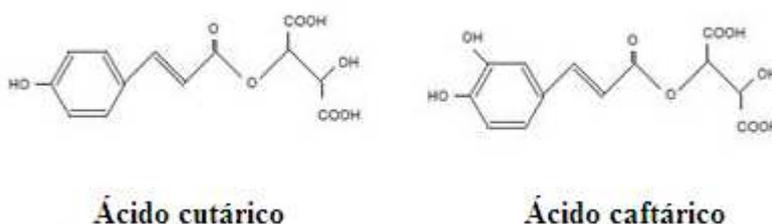


Figura 5. Estructura química de los sustratos fenólicos preferentes de la PPO en el vino. Fuente: Información recopilada por el autor.

➤ Mecanismo de acción

La acción de la enzima PPO depende de ciertas condiciones del medio en el que se desarrolla la oxidación, ya que tiene una actividad máxima a los 30°C y su acción se inactiva a un pH inferior de 3,2 (Crouzet *et al.*, 2000).

Bajo condiciones adecuadas, las enzimas PPO actúan mediante ciertas reacciones, detalladas por Whitaker y Lee (1995). Mediante la adaptación de un modelo esquemático, demuestran que la enzima PPO posee 3 formas enzimáticas (“oxi”, “deoxi” y “met”) y dos actividades [catecolasa (A) y cresolasa (B)] (Figura 6). Las tres formas enzimáticas participan en el ciclo de actividad catecolasa, en el cual la forma “deoxi” une oxígeno, mientras las formas “oxi” y “met” unen moléculas de catecol (*o*-difeno). 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.

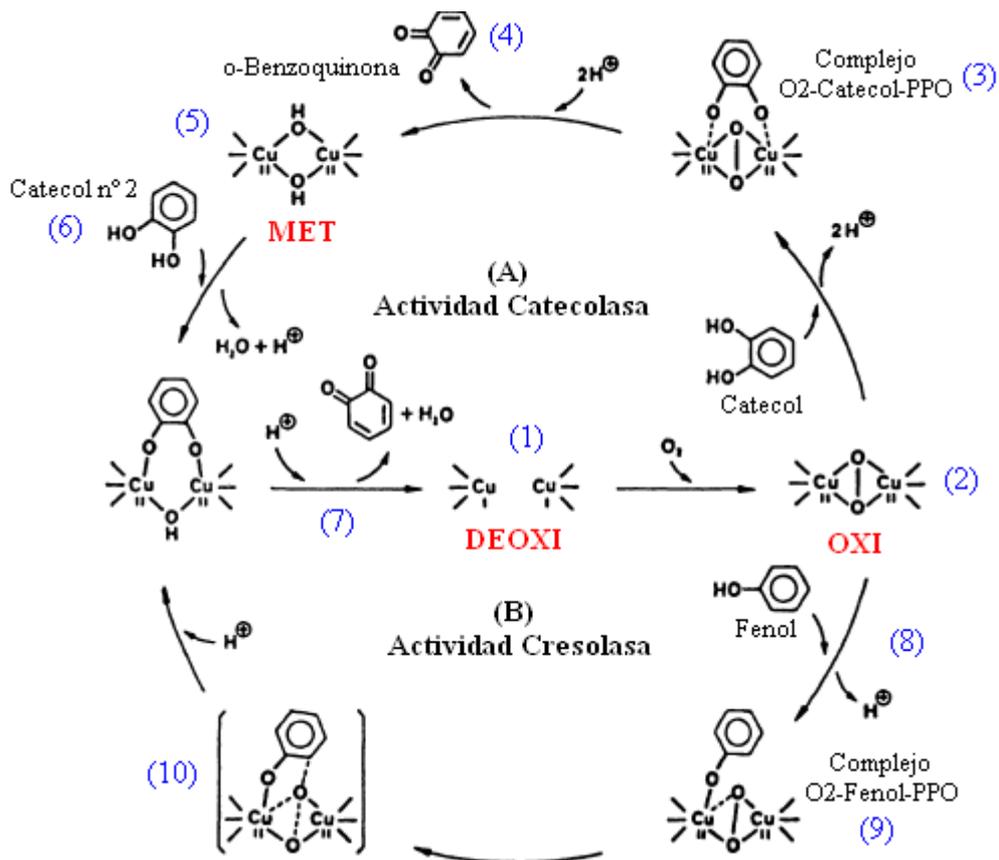


Figura 6. Mecanismo propuesto para la oxidación enzimática de catecoles (*o*-difenoles) (A) y fenoles (monofenoles) (B), mediante la acción de la polifenoloxidasas (PPO) del hongo *Neurospora crassa* (adaptado por Whitaker y Lee, 1995).

*Ciclo catecolasa (A)*: en este ciclo, la enzima PPO en su forma “deoxi” (1) incorpora una molécula de oxígeno ( $O_2$ ), cambiando a la forma “oxi” (2). Esta forma es capaz de unirse a una molécula de catecol formando el complejo  $O_2$ -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.

➤ Productos

Las *o*-benzoquinonas generadas durante la oxidación son muy reactivas e inestables, reaccionando con otros compuestos fenólicos, de acuerdo a sus propiedades redox y afinidades electrónicas (Li *et al.*, 2008). Además, pueden reaccionar con grupos aminos y tioles (glutación y cisteína) de las proteínas y aminoácidos libres, mediante un mecanismo no enzimático (Whitaker y Lee, 1995). Estas reacciones intensifican los productos coloreados, variando entre el amarillo, rojo, azul, verde o negro (Wong y Stanton, 1989).

b) Lacasa

➤ Descripción general

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) (Mocchiutti, 2007). En uvas viníferas, la lacasa más estudiada proviene del hongo *Botrytis cinerea*, responsable de la podredumbre de la uva (Crouzet *et al.*, 2000).

➤ Composición y estructura química

Esta enzima es una metalo-glicoproteína que consta de 4 centros activos de iones de cobre, rodeados por distintos aminoácidos (Claus, 2004) (Figura 7).

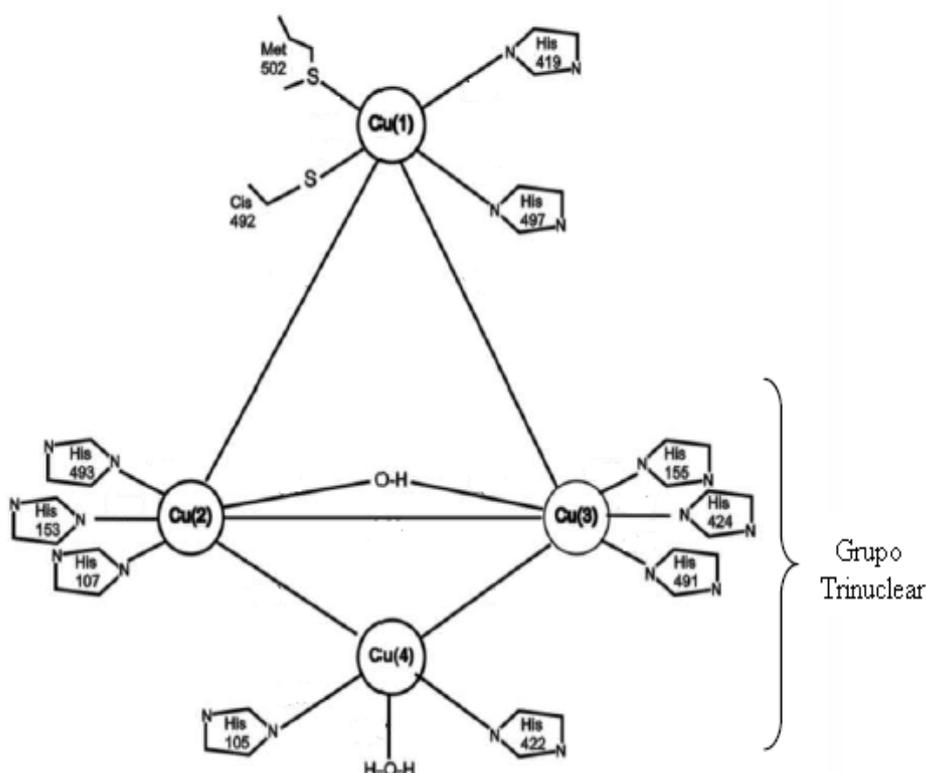


Figura 7. Estructura de la enzima lacasa de bacteria *Bacillus subtilis* (His: histidina, Cis: cisteína y Met: metionina) (Claus, 2004).

El cobre 1 [Cu (1), Figura 7] 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 (Claus, 2004).

#### ➤ Sustratos

Los fenoles simples como el catecol y la hidroquinona son sustratos de oxidación típicos para la mayoría de las enzimas lacasas, pero el guaiacol y el 2,6-dimetoxifenol son sus sustratos preferidos (Figura 8) (Thurson, 1994).

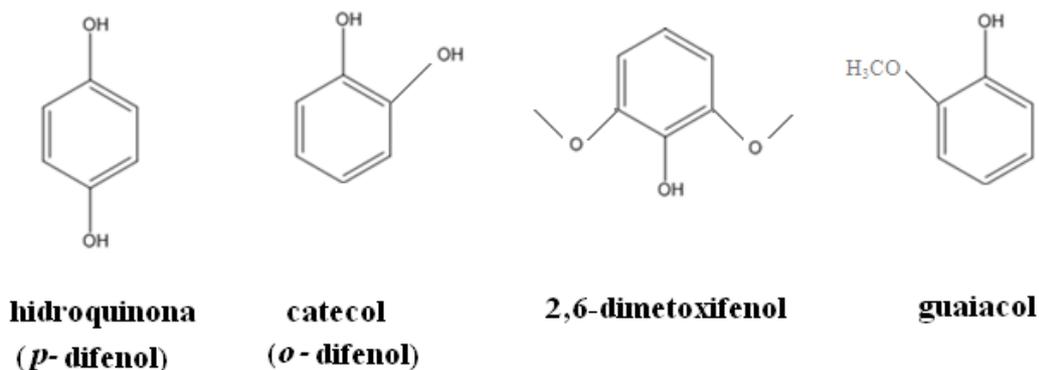


Figura 8. Principales sustratos oxidables de la enzima Lacasa.

Nota: Información recopilada por el autor.

➤ Mecanismo de acción

La reacción catalizada por esta enzima (Figura 9) comienza con la oxidación de un *p*-difenol (pierde un electrón) a un radical libre, con la consecuente reducción de oxígeno molecular en agua (Thurston, 1994). Posteriormente, este radical puede ser convertido a *p*-benzoquinona, ya sea por esta enzima o por deprotonación espontánea (Thurston, 1994). 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 (Thurston, 1994), o también condensarse (unión de 2 moléculas para formar una) con el glutatión (Singleton, 1987).

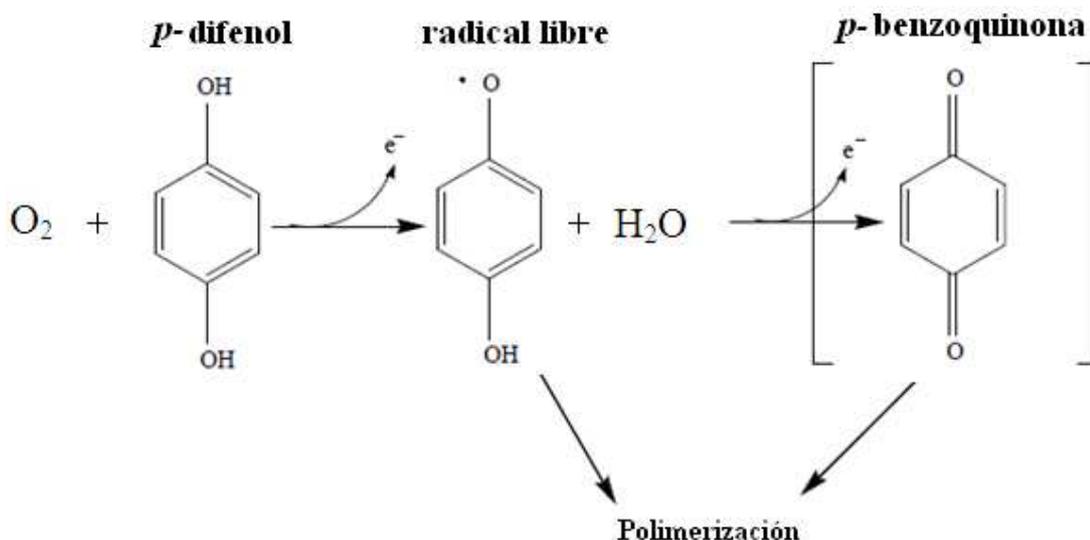


Figura 9. Mecanismo de reacción típica de la enzima lacasa de bacteria *Bacillus subtilis* (Thurston, 1994).

El glutatión (antioxidante natural de la uva) puede reaccionar con quinonas generadas de la oxidación del ácido cafeico (Cheynier *et al.*, 1990), formando 2-s-glutationil-cafeoiltartárico, un compuesto incoloro conocido como producto de reacción de la uva (Cheynier *et al.*, 1990). Este producto no puede ser oxidado por la enzima PPO, ya que

es un sustrato específico de la lacasa, y por ello en mostos procedentes de uvas botritizadas el consumo de oxígeno es más alto, debido a una mayor cantidad de sustratos oxidables, en comparación a la enzima PPO (Martínez *et al.*, 1995).

### c) Peroxidasa (POD)

#### ➤ Descripción general

Las peroxidasas se encuentran ampliamente distribuidas en plantas, animales, y microorganismos. En las plantas algunas de las funciones biológicas atribuidas son la desintoxicación de peróxido de hidrógeno, biosíntesis de lignina, señales hormonales y respuesta a distintos estreses abióticos (Gao *et al.*, 2010). 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).

Algunos autores (Robards *et al.*, 1999), afirman que su acción es insignificante en frutas como la uva, por lo que ha sido poco estudiada en el proceso de oxidación. Sin embargo, sostienen que su actividad para degradar fenoles aumenta cuando coexiste con la PPO.

#### ➤ 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). En la Figura 4, se muestran que 4 moléculas de fenol guaiacol 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.

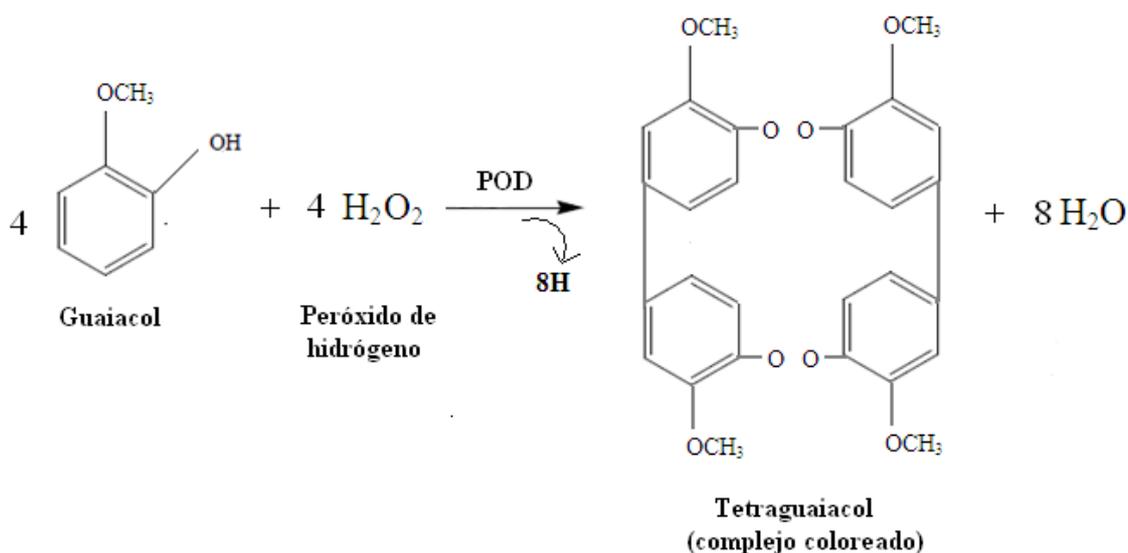


Figura 10. Oxidación del sustrato guaiacol en presencia de la enzima POD.

Nota: Información recopilada por el autor.

#### 3.5.1.2. Análisis comparativo entre enzimas

La enzima lacasa tiene la ventaja de poder utilizar un mayor número de sustratos (*o*-difenoles y *p*-difenoles) que la PPO (Ortega, 2003). Además, es fácilmente soluble en el

medio en el cual se desarrolla, es más activa y resistente al SO<sub>2</sub>, pudiendo estar presente en el vino final (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006). En cambio, las enzimas PPO y POD tienen mayores similitudes entre sí, ya que ambas pueden proporcionar una gran cantidad y variedad de reacciones, razón por la cual son consideradas como las enzimas de mayor versatilidad que cualquier otra (De Pieri *et al.*, 2003).

Por su lado la POD observada en plantas superiores es reconocida como una de las enzimas más estables en relación al tratamiento térmico (Clemente, 1998). En un estudio del autor Pieri *et al.* (2003), se sometió la POD y la PPO a un aumento de temperatura (60°C, 65°C, 70°C y 75°C) durante 10 minutos, lo cual afectó la actividad enzimática de ambas. Sin embargo, el intervalo de tiempo y las temperaturas analizadas no fueron suficientes para la inactivación total de la POD, pero sí de la PPO.

### 3.5.2. Oxidación no enzimática

#### ➤ Descripción general

Estas reacciones, también llamadas oxidaciones químicas, ocurren en ausencia de la activación de la enzima PPO, por lo que la oxidación de los fenoles se produce sólo por reacciones químicas de auto oxidación (Loyola y Bustos, 1980). Estas reacciones ocurren mayormente en el vino fermentado y transcurren de forma mucho más lenta que las oxidaciones enzimáticas (Loyola y Bustos, 1980), siendo catalizadas por metales de transición (Danilewicz, 2003; Waterhouse y Laurie, 2006; Li *et al.*, 2008).

#### ➤ Metales de transición en el vino

En el vino, los iones metales de transición como el hierro y el cobre están muy presentes, originándose por la captura de la planta desde el suelo o por equipos de operación enológicos (Lasanta *et al.*, 2005). Sin embargo, con el creciente uso de implementos de acero inoxidable en la industria enológica, los niveles de estos metales han disminuido, encontrándose en vinos niveles en torno a 0-5 mg/L de hierro y 0,1-0,3 mg/L de cobre (Lasanta *et al.*, 2005; Robarts *et al.*, 1999). Sin embargo, bajas concentraciones de estos metales podrían causar de igual forma un deterioro oxidativo en vinos (Lasanta *et al.*, 2005; Robarts *et al.*, 1999).

#### ➤ Sustratos

Los sustratos oxidables son todos aquellos polifenoles con un anillo catecol (*o*-difeno) o un grupo 1,2,3-trihidroxibenceno, como por ejemplo la (+)-catequina, (-)-epicatequina, (+)-galocatequina, antocianos (malvidina), resveratrol, ácidos benzoicos (ácido gálico y sus ésteres), ácidos cinámicos (ácido caféico y ácido *p*-cumárico) y sus ésteres tartáricos (ácido caftárico y ácido cutárico) (Singleton, 1987; Danilewicz, 2003; Li *et al.*, 2008; Queiroz *et al.*, 2008) (Figura 11).

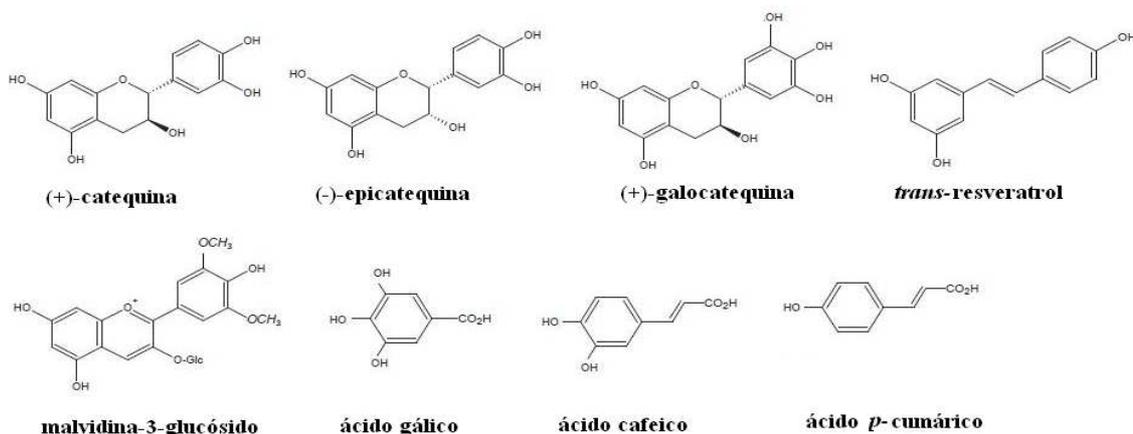


Figura 11. Estructura química de los principales sustratos de la oxidación no enzimática. Nota: Información recopilada por el autor.

### ➤ Mecanismo de acción

Los autores Danilewicz (2003) y Waterhouse y Laurie (2006) han examinado como el oxígeno reacciona con los compuestos del vino, así como también la participación de iones de metales de transición en estas reacciones. Estos autores concluyen que el oxígeno no reacciona directamente con los compuestos fenólicos, sin la presencia de iones metálicos.

El proceso de oxidación no enzimática (Figura 12) comienza con la oxidación de los sustratos, como el difenol, a radicales semiquinonas (1) y luego a quinona (benzoquinona) (2), mientras el oxígeno es reducido a peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) (3) (Danilewicz, 2003). Este proceso es mediado por un ciclo redox de los iones de hierro ( $Fe^{3+}$  y  $Fe^{2+}$ ) (A) y cobre ( $Cu^{2+}$  y  $Cu^+$ ) (B) (Danilewicz, 2003).

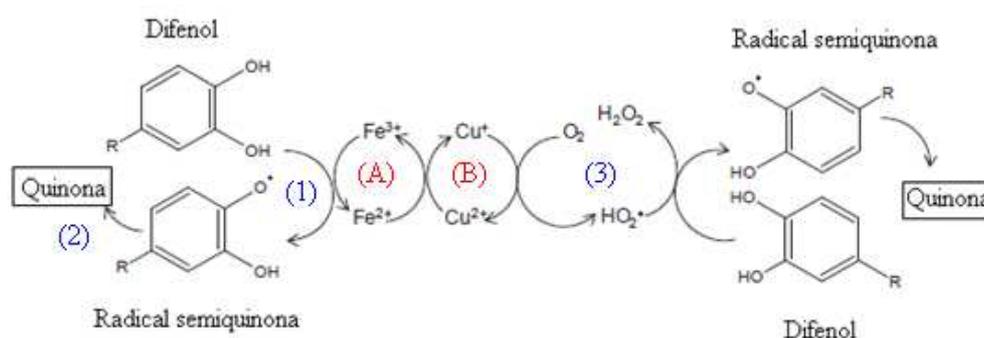


Figura 12. Acción catalítica de los iones de hierro ( $Fe^{3+}$  y  $Fe^{2+}$ ) y cobre ( $Cu^{2+}$  y  $Cu^+$ ) en la oxidación de difenoles para producir quinonas y peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) (Danilewicz, 2003).

Este tipo de reacciones se caracterizan por ser autocatalíticas, es decir que algunos de los productos generados posteriormente actúan como catalizadores de otras reacciones de oxidación, interviniendo nuevamente sobre sustratos como los compuestos fenólicos (Danilewicz, 2003; Waterhouse y Laurie 2006).

➤ Productos

Las quinonas formadas por la oxidación de fenoles tienen las mismas características que las producidas en la oxidación enzimática, son inestables y pueden sufrir reacciones, produciendo dímeros o polímeros que son más fácilmente oxidables y que pueden causar la formación de nuevos pigmentos (Li *et al.*, 2008).

Por su parte, el peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) formado durante la oxidación de los fenoles puede asociarse con el ion ferroso (Fe<sup>2+</sup>) e ion férrico (Fe<sup>3+</sup>), generando especies reactivas al oxígeno (EROs), como los radicales hidroxilos (HO·), proceso conocido como “reacción de Fenton” (Waterhouse y Laurie, 2006) (Figura 13).

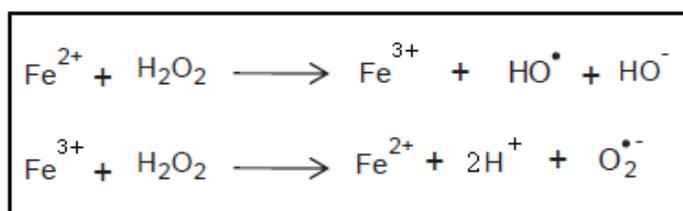


Figura 13. Reacciones de Fenton (Waterhouse y Laurie, 2006).

El radical hidroxilo es producto de la reducción del oxígeno y es reconocido por oxidar casi cualquier molécula orgánica presente en el vino (Waterhouse y Laurie, 2006). Por otra parte, debido a su no selectividad, este radical reacciona con la especie más próxima, en función de su concentración (Danilewicz, 2003; Li *et al.*, 2008), como el etanol, ácido tartárico, glicerol, azúcares y ácidos orgánicos (Danilewicz, 2003; Waterhouse y Laurie, 2006). La reacción del etanol y el ácido tartárico con el radical hidroxilo (proveniente de la interacción entre el Fe<sup>2+</sup> y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) va a originar acetaldehído y ácido glicolítico respectivamente (figura 14).

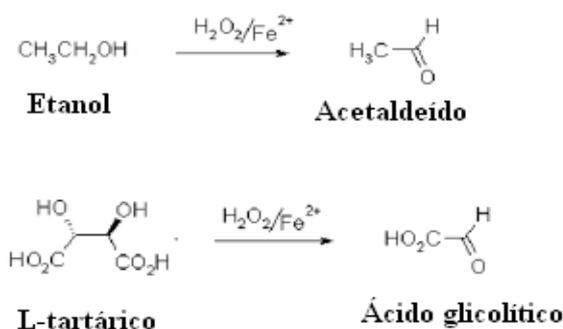


Figura 14. Oxidación del etanol y el ácido tartárico provocada por el radical hidroxilo (HO·) (Waterhouse y Laurie, 2006).

De acuerdo a lo señalado anteriormente, son variados los mecanismos de acción que posee el oxígeno para realizar oxidaciones de los compuestos fenólicos presentes en el vino. Esto puede ocasionar efectos tanto positivos como negativos en el producto final, lo que va a depender de los manejos y cuidados que se tengan en todo el proceso productivo con respecto al contacto del oxígeno con el mosto y vino.

## 4. Efectos de la oxidación en vinos

La oxidación de polifenoles en vinos, podría ser perjudicial en algunos casos, así como también beneficioso en otros, ya que en vinos tintos la degradación oxidativa podría realzar el color, pero los vinos blancos podrían verse fuertemente afectados (Singleton, 1987). Contrariamente a esto, varios autores afirman que el ingreso de oxígeno en mostos y vinos podría constituir un importante beneficio (Martínez *et al.*, 1995; Cejudo *et al.*, 2011; Franco *et al.*, 1993; Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006). A continuación se describen los principales efectos sensoriales positivos y negativos, asociados a la oxidación de compuestos fenólicos en vinos.

### 4.1. Efectos positivos del oxígeno

**Híper-oxigenación.** Existen diferentes técnicas usadas por los profesionales enólogos para incorporar oxígeno de forma beneficiosa al vino, como por ejemplo la híper-oxigenación. Esta práctica consiste en la adición externa de oxígeno, mediante un difusor, a un mosto no sulfitado hasta llegar a saturación (Cejudo *et al.*, 2011). El objetivo es oxidar a los polifenoles y originar grandes polímeros que luego decanten en el fondo del depósito (Franco *et al.*, 1993). Esto, provocaría una disminución de los potenciales sustratos fenólicos fácilmente oxidables del vino, originando vinos más estables a la oxidación (Martínez *et al.*, 1995; Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006) que aquellos fermentados con mosto no oxidado, en los cuales muchos polifenoles redundan en un alto potencial de pardeamiento (Cheynier *et al.*, 1990).

La menor cantidad de polifenoles totales en vinos tratados bajo la técnica de híper-oxigenación, ha sido demostrado por diversos autores. Así, Castro y Barroso (2001), analizaron vinos de la variedad Palomino elaborados bajo esta técnica, evidenciando una disminución del contenido polifenólico [ácido gálico, ácido caftarico, ácido cafeico, 2-s-glutationil-cafeoiltartárico, (+)-catequina y (-)-epicatequina, entre otros] respecto a un vino elaborado de forma tradicional (en ausencia de oxígeno). Los resultados demostraron que se produce una disminución efectiva de la oxidación del producto, debido a los bajos contenidos de sustratos potencialmente oxidables.

Resultados similares se obtuvieron en el estudio realizado por Martínez *et al.* (1995), con la variedad Viura en España, en el cual fueron comparados mostos híper-oxigenados con y sin adición de sulfuroso, respecto a un mosto sin tratar (testigo). Los resultados demostraron que en los mostos en los cuales se adicionó oxígeno se presentó una disminución de los polifenoles totales, específicamente ácidos hidroxicinámicos, así como también un aumento de la absorbancia de 420 nm (componente amarilla del color), debido a las reacciones de oxidación presentes en el medio. Por otra parte, la adición de SO<sub>2</sub> tuvo una gran influencia sobre esta técnica, puesto que tiene un efecto antioxidante sobre el mosto, y por lo tanto bloquea en parte la acción del oxígeno sobre los polifenoles. Cabe destacar que según el análisis organoléptico, no se aprecia preferencia por un determinado tratamiento, lo que indicaría que la híper-oxigenación no modifica notablemente el perfil sensorial de los vinos.

**Micro-oxigenación.** Otra técnica muy utilizada es la micro-oxigenación, la cual tiene como objetivo imitar los efectos de la evolución lenta dentro de una bodega, pero en un corto período de tiempo y por un costo menor a largo plazo, asociado al uso de bodegas de roble (Parish *et al.*, 2000; Kelly y Wollan, 2003; Lesica y Kosmerl, 2009). La práctica consiste básicamente en la incorporación continua de pequeñas cantidades de oxígeno en el vino a una menor tasa de consumo, de tal manera que no haya acumulación de oxígeno disuelto en el vino (Kelly y Wollan, 2003; Lesica y Kosmerl, 2009). El microdifusor es la parte más importante de esta técnica, debido a que a través de la inyección gaseosa de oxígeno al vino, provoca la formación de microburbujas (Cano *et al.*, 2008). Estas burbujas ascienden a través del vino, disolviéndose a medida que llegan a la superficie (Cano *et al.*, 2008).

El efecto de la micro-oxigenación también es fuertemente afectado por los factores que afectan a la oxidación y por lo tanto a la difusión del oxígeno en el vino, mencionados anteriormente. Los principales beneficios organolépticos de este proceso en el producto serían la mejoría de la sensación en boca (cuerpo y textura), la disminución de la astringencia por la suavización de los taninos, la persistencia del color, el aumento de la estabilidad a la oxidación, la disminución de los aromas vegetales y reductivos, y una mejora en los caracteres afrutados varietales (Cano *et al.*, 2008; Singleton, 1987; Lesica y Kosmerl, 2009).

Diversas investigaciones llevadas a cabo por Llaudy *et al.* (2006), Cabanillas *et al.* (2001) y Cano *et al.* (2008) han demostrado la eficacia de los aportes controlados de oxígeno al vino. Para ello, analizaron la influencia de la micro-oxigenación sobre la composición fenólica (principalmente antocianos) astringencia y color, en diversos vinos tintos previo a la crianza en bodegas. Los resultados demostraron que aquellos vinos tratados presentaron un color ligeramente menos intenso y más evolucionado a matices de color amarillo, pero esta intensidad colorante sería superior al final de la crianza, debido a una evolución mucho más lenta. Por otro lado, la concentración de antocianos totales resultó ser menor en los vinos con adición de oxígeno respecto a los vinos sin tratar, sin embargo, la cantidad de antocianos combinados fue mayor. Esto último se debería a que la presencia de oxígeno 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 and 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.

Desde el punto de vista sensorial, investigaciones realizadas por Lavigne (1995), Ortiz y Ramírez (2005) demostraron que la presencia de oxígeno controlado en vinos provocaría la desaparición de olores a reducción, una mayor intensidad de percepción de los aromas varietales, una sensación en boca más agradable, y sensaciones grasas que indican una mayor redondez del vino, lo que se traduce en una astringencia y amargor más débil. No obstante lo anterior, Cabanillas *et al.* (2001) comprobaron que el vino criado en bodega fue preferido por el panel de degustación, frente al obtenido mediante micro-oxigenación. Esta preferencia de los degustadores probablemente se debe a que la crianza en bodegas además enriquecería el vino en aromas y sabores, y le otorgaría una

complejidad y equilibrio difíciles de conseguir mediante esta técnica alternativa (Cabanillas *et al.*, 2001).

#### 4.2. Efectos negativos del oxígeno

Las desventajas de la degradación oxidativa en vinos han sido ampliamente estudiadas por diversos autores (Ferreira *et al.*, 2002; Berradre *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2008). Fundamentalmente, se ha observado que la aplicación del oxígeno en forma excesiva produciría una disminución en las características sensoriales del producto.

**Olfato.** Desde el punto de vista olfativo, se ha observado que la presencia excesiva de oxígeno produce una pérdida en las características aromáticas de vinos jóvenes, es decir, aromas varietales florales y frutales, viéndose perjudicado además el aspecto gustativo, debido a la destrucción del afrutado de los vinos (Berradre *et al.*, 2007). Silva *et al.* (2002) realizaron diversos análisis químicos en vinos blancos oxidados, observando que se produce una disminución de los terpenos y norisoprenoides, compuestos aromáticos que imparten aromas florales. Adicionalmente, la presencia excesiva de oxígeno generaría olores desagradables (Escudero *et al.*, 2000; Ferreira *et al.*, 2002; Silva *et al.*, 2002), los cuales podrían atribuirse a la formación de aldehídos, particularmente metional y fenilacetaldéhidó (Bueno *et al.*, 2010). Estos compuestos, que presentan notas aromáticas descritas como “similar a miel” y “patata cocida” respectivamente, son abundantes en vinos oxidados (Escudero *et al.*, 2000; Silva *et al.*, 2002).

Es importante destacar que el tipo de aroma y sabor generado durante la oxidación depende tanto del tipo de vino, como del grado de oxidación (Escudero *et al.*, 2000). Así, son muchos más los compuestos aromáticos que se pueden formar durante este proceso, los cuales han sido definidos por diversos paneles sensoriales como notas a verduras cocidas, rancio, picante, grasa, humedad, granja, mientras que otros los describen como aromas dulces a licores, caramelo, cereza y madera, evocando al brandy o whisky envejecido (Escudero *et al.*, 2000; Escudero *et al.*, 2002; Ferreira *et al.*, 2003).

**Vista.** Otro gran problema que ocasiona la oxidación es la alteración del color y de la composición cromática de mostos y vinos, puesto que éstos se tornan de un color marrón o pardo, fenómeno que es conocido como pardeamiento (Ferreira *et al.*, 2002; Zironi *et al.*, 2009). Esto resulta ser altamente perjudicial para los vinos, debido a que el color es considerado un importante parámetro, sobre todo en vinos blancos (Du Toit *et al.*, 2006). Salacha *et al.* (2008) sometieron 13 vinos blancos de distintas variedades a una oxidación acelerada durante 10 días en almacenamiento en botella, midiendo la absorbancia a 420 nm, parámetro que se relaciona directamente con el color marrón en vinos blancos. Aunque, los valores obtenidos fueron diferentes para cada variedad, todos mostraron una tendencia hacia el incremento lineal al final del período, lo que fue corroborado por un estudio posterior de Kallithraka *et al.* (2009).

## CONCLUSIONES

Dentro de los compuestos fenólicos presentes en vinos blancos y tintos, los ácidos cinámicos y flavanoles son los más susceptibles a la oxidación, debido a la estructura química que poseen. Esto quiere decir que la concentración y tipo de composición fenólica determina que vinos son más propensos a oxidarse.

Respecto a los mecanismos de acción del oxígeno, el proceso de oxidación no enzimática o química constituye ser el más relevante y frecuente en la elaboración de vinos, además de ser más perjudicial que la oxidación enzimática, debido a la producción de especies reactivas al oxígeno (EROs). Sin embargo, la oxidación enzimática catalizada por la enzima polifenoloxidasas también destaca por su importancia en los vinos, debido a las grandes pérdidas sensoriales y nutricionales que ésta genera.

Los efectos asociados a la oxidación de polifenoles en vinos son principalmente organolépticos, y pueden ser positivos (disminución de la astringencia y amargor, persistencia del color, disminución de aromas vegetales y reductivos, mejora en caracteres varietales, particularmente florales y frutales), si la incorporación de oxígeno se realiza de forma controlada, así como también negativos (pérdida de características aromáticas varietales, formación de olores desagradables, alteración del color y composición cromática, destrucción del afruitado), si ocurre de forma accidental.

## BIBLIOGRAFÍA

Abril, I., I. Arozarena, M. Navarro, M. Vera y A. Casp. 2007. Composición fenólica de los vinos en función de la temperatura de fermentación. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, Universidad Pública de Navarra. Pamplona, España. Disponible en:

[http://www.acyja.com/documentos/Comunicaciones\\_Congresos/Comunicaciones/OIV\\_2002\\_Bratislava/Abril.pdf](http://www.acyja.com/documentos/Comunicaciones_Congresos/Comunicaciones/OIV_2002_Bratislava/Abril.pdf). Leído el 5 de marzo 2012.

Alamo, S. 2002. Caracterización de la composición fenólica de vinos comerciales Cabernet Sauvignon y Chardonnay, de la vendimia 2000, provenientes de cinco valles de Chile. Memoria Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile. 33p.

Alfaro, S., E. Scheuermann, A. Quiroz, I. Seguel y A. Montenegro. 2009. Estudio del contenido de polifenoles y actividad antioxidante de frutos de murtila (*Ugni molinae* T.) en función del genotipo y año de cosecha. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Centro Regional de Investigación Carillanca, Temuco, Chile 1: 218-219.

Amati, A., B. Maragoni, R. Zironi, N. Graziani, M. Castellari e G. Arfelli. 1994. Prove di vendemmia differenziata. Effetti del diradamento dei grappoli sui parametri vegeto-produttivi. Rivista di Viticoltura e di Enologia 47: 13-24.

Babor, J y J. Ibarz. 1956. Química general moderna. 5ta ed. Manuel Marín y Cía, Barcelona, España. 902p.

Barreiro, L., D. Charamelo y G. González. 2006. Perfil antociánico y composición fenólica de vinos Tannat elaborados con adición de enzimas pectolíticas. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina 2: 9-18.

Becker, R y W. Wentworth. 1997. Química general. Reverté, Barcelona, España. 435p.

Berradre, R., R. Páez, B. Ramones, P. Mármol y J. Ferrer. 2007. Control de oxidación de vinos blancos obtenidos bajo condiciones tropicales. Revista de la Facultad Agronómica (LUZ). Universidad del Zulia, Venezuela 24: 133-153.

Bordeu, E y A. González. 2004. Madurez de cosecha y fermentación alcohólica. Enología 5: 29-34.

Bordeu, E y J. Scarpa. 2000. Análisis químico del vino. Ediciones Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. 253p.

Bradshaw, M., C. Barril, A. Clark, P. Prenzler and G. Scollary. 2011. Ascorbic acid: a review of its chemistry and reactivity in relation to a wine environment. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 51: 479-498.

Brajkovich, M., N. Tibbits, G. Peron, C. Lund, S. Dykes, P. Kilmartin and L. Nicolau. 2005. Effect of screwcap and cork closures on SO<sub>2</sub> levels and aromas in a Sauvignon Blanc wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 10006-10011.

Bressani, R., D. de Mora, R. Flores y R. Gómez. 1991. Evaluación de dos métodos para establecer el contenido de polifenoles en frijol crudo y cocido, y efecto que éstos provocan en la digestibilidad de la proteína. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 41: 569-583.

Bueno, M., L. Culleré, J. Cacho and V. Ferreira. 2010. Chemical and sensory characterization of oxidative behavior in different wines. *Food Research International* 43: 1423-1428.

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

Cabeza, A. 2005. Caracterización de la composición fenólica de vinos provenientes de cuatro variedades de vid en los valles del Maipo y Cachapoal. Memoria Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile. 104p.

Cano, M., P. Francisco, G. Schmauch, C. Saucier, P. Teissedre, J. López and E. Gómez. 2008. Effect of micro-oxygenation on color and anthocyanin-related compounds of wines with different phenolic contents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 5932-5941.

Castellari, M., B. Simonato, B. Tornielli, P. Spinelli and R. Ferraniri. 2004. Effects of different enological treatments on dissolved oxygen in wines. *Italian Journal of Food Science* 16: 387-396.

Castro, A. 2005. Efecto del momento de cosecha de uva cv. Merlot sobre la composición química y sensorial de los vinos en el Valle del Maipo. Memoria Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile. 106p.

Castro, R and G. Barroso. 2001. Influence of oxygen supply on the susceptibility of cv. Palomino fino must to browning. *Vitis* 40: 39-42.

Cejudo, M., I. Hermosín, L. Castro and M. Pérez. 2011. Hyperoxygenation and bottle storage of Chardonnay white wines: effects on color-related phenolics, volatile composition, and sensory characteristics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 4171-4182.

Chavarría, G. 1999. Efecto del deshoje y raleo de racimos en la calidad de la uva Chardonnay y de su vino. Memoria Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile. 59p.

Cheyrier, V y H. Fulcrand. 2000. Oxidación de los polifenoles en los mostos y los vinos. pp. 369-376. *In*: Flanzy, C. Enología: fundamentos científicos y tecnológicos. 2ª edición. A. Madrid Vicente Ediciones y Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España. 797p.

Cheyrier, V., H. Fulcrand, S. Guyot, J. Oszmianski and M. Moutounet. 1995. Reactions of enzymically generated quinones in relation to browning in grape musts and wines. ACS Symposium Series 600: 130-143.

Cheyrier, V., M. Moutounet y P. Sarni-Manchado. 2000. Los compuestos fenólicos. pp. 114-136. *In*: Flanzy, C. Enología: fundamentos científicos y tecnológicos. 2ª edición. A. Madrid Vicente Ediciones y Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España. 797p.

Cheyrier, V., J. Rigaud, J. Souquet, F. Duprat and M. Moutounet. 1990. Must browning in relation to the behaviour of phenolic compounds during oxidation. American Journal of Enology and Viticulture 41: 346-349.

Cilliers, J and V. Singleton. 1990. Nonenzymic autoxidative reactions of caffeic acid in wine. American Journal of Enology and Viticulture 41: 84-86.

Claus, H. 2004. Laccases: structure, reactions, distribution. Micron 35: 93-96.

Clemente, E. 1998. Purification and thermostability of purified isoperoxidases from oranges. Phytochemistry 49: 29-36.

Crippen, D and J. Morrison. 1986. The effects of sun exposure on phenolic content of Cabernet Sauvignon berries during development. American Journal of Enology and Viticulture 37: 243-247.

Crouzet, J., C. Flanzy, Z. Güñata, P. Pellerin y J. Sapis. 2000. Las enzimas en la enología. pp.245-273. *In*: Flanzy, C. Enología: fundamentos científicos y tecnológicos. 2ª edición. A. Madrid Vicente Ediciones y Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España. 797p.

Danilewicz, J. 2003. Review of the reaction mechanisms of oxygen and proposed intermediate reduction products in wine: central role of iron and copper. American Journal of Enology and Viticulture 54: 73-85.

Danilewicz, J., J. Seccombe and J. Whelan. 2008. Mechanism of interaction of polyphenols, oxygen and sulfur dioxide in model wine and wine. American Journal of Enology and Viticulture 59: 128-136.

Delteil, D. 2001. Los diferentes roles del oxígeno. Revista Viticultura/Enología Profesional 74: 35-45.

De Pieri, E., C. Tomé and E. Clemente. 2003. Peroxidase (POD) and polyphenoloxidase (PPO) in grape (*Vitis vinifera* L.). *Ciencia y Tecnología de Alimentos* 27: 635-642.

Donoso, C. 2011. Caracterización de la composición fenólica de vinos comerciales del cv. Sauvignon Blanc provenientes de cinco valles de Chile. Memoria Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile. 91p.

Donovan, J., A. Meyer and A. Waterhouse. 1998. Phenolic composition and antioxidant activity of prunes and prune juice (*Prunus domestica*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 1247-1252.

Du Toit, W., J. Marais and M. Du Toit. 2006. Oxygen in must and wine: a review. *South African Journal for Enology and Viticulture* 27: 76-94.

Du Toit, W., I. Pretorius and A. Lonvaud-Funel. 2005. The effect of sulphur dioxide and oxygen on the viability and culturability of a strain of *Acetobacter pasteurianus* and a strain of *Brettanomyces bruxellensis* isolated from wine. *Journal of Applied Microbiology* 98: 862-871.

Escudero, A., E. Asensio, J. Cacho and V. Ferreira. 2002. Sensory and chemical changes of young white wines stored under oxygen. An assessment of the role played by aldehydes and some other important odorants. *Food Chemistry* 77: 325- 331.

Escudero, A., J. Cacho and V. Ferreira. 2000. Isolation and identification of odorants generated in wine during its oxidation: a gas chromatography–olfactometric study. *European Food Research and Technology* 211: 105–110.

Fernández, K., J. Kennedy and E. Agosin. 2007. Characterization of *Vitis vinifera* L. Cv. Carménère grape and wine proanthocyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 3675-3680.

Fernández, P., V. Ferreira, C. Peña, A. Escudero, F. Serrano and J. Cacho. 1995. Prediction of oxidative browning in white wines as a function of their chemical composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43: 2813-2817.

Fernández, P., V. Ferreira, C. Peña, A. Escudero and J. Cacho. 1999. Effects of maceration time and pectolytic enzymes added during maceration on the phenolic composition of must. *Food Science and Technology International* 5: 319-325.

Ferreira, V., A. Escudero, P. Fernández and J. Cacho. 1997. Changes in the profile of volatile compounds in wines stored under oxygen and their relationship with the browning process. *European Food Research of Technology* 205: 392-396.

Ferreira, V., T. Hogg and P. Guedes. 2003. Identification of key odorants related to the typical aroma of oxidation-spoiled white wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 1377-1381.

Ferreira, A., P. de Pinho, P. Rodriguez and T. Hogg. 2002. Kinetics of oxidative degradation of white wines and how they are affected by selected technological parameters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 5919-5924.

Ferrer, M y G. González Neves. 2002. Resultados enológicos y productivos de la aplicación de diversas alternativas de raleo de racimos y distintas intensidades de poda invernal en *Vitis vinifera* L. cv. Tannat. *Agrociencia* 6: 53-62.

Ferreira, R., G. Selles, J. Peralta, L. Burgos y J. Valenzuela. 2002. Efectos de la restricción del riego en distintos períodos de desarrollo de la vid cv. Cabernet Sauvignon sobre producción y calidad del vino. *Agricultura Técnica (Chile)* 62: 406-417.

Franco, E., M. Lorente y F. Ballesteros. 1993. Nueva técnica para mejorar los vinos de la variedad Robal: la hiper-oxigenación de mostos. *Surcos Aragón* 39: 18-22.

Frankel, E., A. Waterhouse and P. Teissedre. 1995. Principal phenolic phytochemicals in selected California wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low-density lipoproteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43: 890-894.

Gao, C., Y. Wang, G. Liu, C. Wang, J. Jiang and C. Yang. 2010. Cloning of ten Peroxidase (POD) genes from *Tamarix hispida* and characterization of their responses to abiotic stress. *Plant Molecular Biology Reporter* 28: 77-89.

Goldberg, D., J. Yan, E. Diamandis, A. Karumanchiri, G. Soleas and A. Waterhouse. 1995. A global survey of trans-resveratrol concentration in commercial wines. *American Journal of Enology and Viticulture* 46: 159-165.

Gómez, P. 2003. Efectos de distintos tipos de madurez fenólica sobre la calidad final del vino tinto para los cultivares Merlot y Carménère durante la temporada 2001-2002. Memoria Ingeniero Agrónomo. Universidad de Talca, Facultad de Ciencias Agrarias. Talca, Chile. 45p.

Gómez, E., R. Gil, J. López, A. Martínez and J. Fernández. 2001. Phenolic compounds and color stability of red wines: effect of skin maceration time. *American Journal of Enology and Viticulture* 52: 266-270.

Gonzales, L., F. Pérez and F. Abad. 1994. Interaction of some environmental and chemical parameters affecting the colour attributes of wine. *American Journal of Enology and Viticulture* 45: 43-48.

González, G y M. Ferrer. 2008. Efectos del sistema de conducción y del raleo de racimos en la composición de uvas Merlot. *Agrociencia, Uruguay* 12: 10-18.

González-Neves, G., J. Balado, L. Barreiro, R. Bochicchio, G. Gatto, G. Gil, A. Tessore y M. Ferrer. 2003. Efecto de algunas prácticas de manejo del viñedo y de la vinificación en la composición fenólica y el color de los vinos tintos. X Congreso

Brasileiro de Viticultura e Enologia, Brasil. Disponible en: <http://smtp-ext.cnpuv.embrapa.br/publica/anais/cbve10/cbve10-cyted3.pdf>. Leído el 5 de marzo 2012.

Guerrero, C. 2009. Inhibición de la actividad enzimática de la Polifenoloxidasa extraída del banano (*Cavendish valery*) mediante sistema bifásicos acuosos con isoespintanol y ácido ascórbico. Tesis Magíster en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Medellín, Colombia. 91p.

Guyot, S., J. Vercauteren and V. Cheynier. 1996. Structural determination of colourless and yellow dimers resulting from (+)-catechin coupling catalysed by grape polyphenoloxidase. *Phytochemistry* 42: 1279-1288.

Hill, J y D. Kolb. 2000. Química para el nuevo milenio. 8<sup>va</sup> ed. Prentice Hall Hispanoamericana, Naucalpán de Juárez, México. 651p.

Imbert, C. 2003. Efecto del estrés hídrico entre cuaja-pinta y pinta-cosecha sobre la composición fenólica en bayas y vinos de cv. Cabernet Sauvignon. Memoria Ingeniero Agrónomo. Universidad de Talca, Facultad de Ciencias Agrarias. Talca, Chile. 46p.

Kallithraka, S., M. Salacha and I. Tzourou. 2009. Changes in phenolic composition and antioxidant activity of white wine during bottle storage: Accelerated browning test versus bottle storage. *Food Chemistry* 113: 500-505.

Kelly, M and D. Wollan. 2003. Micro-oxygenation of wine in barrels. *The Australian & New Zealand Grapegrower & Winemaker, Annual Technical Issue* 447: 45-50.

Ketter, R. 2008. Caracterización de la composición fenólica de vinos comerciales del cv. Cabernet Sauvignon provenientes de tres valles de Chile, de las vendimias 2002 y 2003. Memoria Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile. 48p.

Klabunde, T., C. Eicken, J. Sacchettini and B. Krebs. 1998. Crystal structure of a plant catechol oxidase containing a dicopper center. *Nature Structural Biology* 5: 1084-1090.

Lasanta, C., I. Caro and L. Pérez. 2005. Theoretical model for ion exchange of iron (III) in chelating resins: application to metal ion removal from wine. *Chemical Engineering Science* 60: 3477-3486.

Lavigne, V. 1995. Interprétation et prévention des défauts olfactifs de réduction lors de l'élevage sur lies totales. *Revue Française d'Oenologie* 155: 36-39.

Lecumberri, E., R. Mateos, S. Ramos, M. Alía, P. Rúperez, L. Goya, M. Izquierdo-Pulido y L. Bravo. 2006. Caracterización de la fibra de cacao y su efecto sobre la capacidad antioxidante en suero de animales de experimentación. *Nutrición Hospitalaria* 21: 622-628.

Leighton, F y I. Urquiaga. 1999. Los componentes del vino y sus efectos beneficiosos para la salud humana. *In: VII Congreso Latinoamericano de Viticultura y Enología*. Mendoza, Argentina.

Lesica, M and T. Kosmerl. 2009. Microoxygenation of red wines. *Acta Agriculturae Slovenica* 93: 327-336.

Li, H., A. Guo, and H. Wang, 2008. Mechanisms of oxidative browning of wine. *Food Chemistry* 108: 1-13.

LLaudy, M., R. Canals, S. González, J. Canals, C. Buelga and F. Zamora. 2006. Influence of micro-oxygenation treatment before oak aging on phenolic compounds composition, astringency, and color of red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 4246-4252.

Loyola, E y O. Bustos. 1980. Pardeamiento no enzimático de los vinos blancos. *Investigación Agrícola (Chile)* 2: 61-67.

Martínez de Toda, F. 2002. Viticultura de calidad: factores que afectan al contenido de compuestos fenólicos. *ACE, Revista de Enología* 21: 1697-4123.

Martínez, J., R. López, P. Santamaría y A. Comí. 1995. Elaboración de vinos blancos mediante hiperoxidación. *Experiencias en Rioja*. *Revista Zubía (España)* 7: 127-136.

Mocchiutti, P. 2007. Mejora de propiedades papeleras de pulpas celulósicas lignificadas de recicló. Aplicación de tratamientos oxidativos enzimáticos y químicos. Tesis Doctoral. Universidad Nacional del Litoral, Facultad de Ingeniería Química. Santa Fe, Argentina. 280p.

Monagas, B., C. Gómez and B. Bartolomé. 2006. Evolution of the phenolic content of red wines from *Vitis vinifera L.* during ageing in bottle. *Food Chemistry* 95: 405-412.

Morales, C. 2001. Caracterización de la composición fenólica de vinos del cv. Cabernet sauvignon en cinco valles de Chile en dos temporadas. Memoria Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile. 102p.

Morrison, J and A. Noble. 1990. The effects of leaf and cluster shading on the composition of Cabernet Sauvignon grapes and fruit and wine sensory properties. *American Journal of Enology and Viticulture* 41: 193-200.

Muñoz, L. 2002. Caracterización de la composición fenólica de vinos comerciales Merlot y Sauvignon Blanc, de la vendimia 2000, provenientes de cinco valles de Chile. Memoria Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile. 36p.

Nagel, C and W. Graber. 1988. Effect of must oxidation on quality of white wines. *American Journal of Enology and Viticulture* 39: 1-4.

Obreque, E. 2010. Caracterización fenólica de uvas del cultivar Carménère y su relación con la sensación de astringencia. Tesis Doctoral. Universidad Rovira i Virgili, Facultad de Enología. Tarragona, España. 240p.

Obreque, E., A. Peña, R. López, F. Zamora, J. Da Silva and O. Laureano. 2010. Comparative study of the phenolic composition of seeds and skins from Carménère and Cabernet Sauvignon grape varieties (*Vitis vinifera* L.) during ripening. WT-Journal of Agricultural and Food Chemistry 58: 3591-3599.

Obreque, E., R. López, L. Castro, C. Romero and A. Peña. 2012. Phenolic composition and physicochemical parameters of Carménère, Cabernet Sauvignon, Merlot and Cabernet Franc grape seeds (*Vitis vinifera* L.) during ripening. Food Science and Technology 48: 134-141.

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

Oliveira, C., A. Silva, V. De Freitas and A. Silva. 2011. Oxidation mechanisms occurring in wines. Food Research International 44: 1115-1126.

Ortega, A. 2003. Estudio del envejecimiento oxidativo para la obtención de vinos tipo oloroso. Tesis Doctoral en Ciencias Químicas. Universidad de Córdoba, Facultad de Ciencias. Córdoba, España. 268p.

Ortega-Farías, S., M. Duarte, C. Acevedo, Y. Moreno and F. Córdova. 2004. Effect of four levels of water application on grape composition and midday stem water potential on *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon. Acta Horticulturae (ISHS) 664: 491-497.

Ortega-Farías, S., R. Salazar e Y. Moreno. 2007. Efecto de distintos niveles de poda y reposición hídrica sobre el crecimiento vegetativo, rendimiento y composición de bayas en vides cv. Cabernet Sauvignon. Agricultura Técnica (Chile) 67: 401-413.

Ortiz, I y C. Ramírez. 2005. Influencia de la microoxigenación en la estabilización del color de los vinos tintos. Revista Enólogos: Investigación y Ciencia 39: 40-42.

Oszmianski, J., V. Cheynier and M. Moutounet. 1996. Iron-catalyzed oxidation of catechin in model systems. Journal of Agricultural and Food Chemistry 44: 1712-1715.

Paladino, S., J. Nazralla, H. Vila, J. Genovart, M. Sánchez y M. Maza. 2008. Oxidación de vinos tintos: influencia del pH. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo (Argentina) 2: 105-112.

Parish, M., D. Wollan and R. Paul. 2000. Micro-oxygenation - a review. The Australian Grapegrower & Winemaker, Annual Technical Issue 438: 47-50.

Pérez, S and M. González. 2006. Polyphenols and colour variability of red wines made from grapes harvested at different ripeness grade. Food Chemistry 96: 197-208.

Pérez, S y M. González. 2002. Influencia del cultivar en la composición fenólica y color de los vinos tintos. *Viticultura Enología Profesional* 80: 5-14.

Queiroz, C., M. López, E. Fialho and V. Valente. 2008. Polyphenoloxidase: characteristics and mechanisms of browning control. *Food Reviews International* 24: 361-375.

Reynolds, A., S. Yerle, B. Watson, S. Price and D. Wardle. 1996. Fruit environment and crop level effects on Pinot Noir. III. Composition and descriptive analysis of Oregon and British Columbia wines. *American Journal of Enology and Viticulture* 47: 329-339.

Ribéreau-Gayon, P., D. Dubourdieu, B. Doneche and A. Lonvaud. 2006. *Handbook of enology: the microbiology of wine and vinifications*. 2<sup>nd</sup> ed. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, United Kingdom. 497p.

Robards, K., P. Prenzler, G. Tucker, P. Swatsitang and W. Glover. 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry* 66: 401-436.

Romero, C., A. García, M. Brenes, P. García y A. Garrido. 2003. Contenido polifenólico del aceite de oliva. Foro de la Salud y la Cultura del Aceite de Oliva. Instituto de la Grasa (CSIC), Sevilla, España. Disponible en: <http://www.expoliva.com/expoliva2003/simposium/comunicaciones/SAL-06-TEXTO.PDF>. Leído el 10 de enero 2012.

Salacha, M., S. Kallithrak and I. Tzourou. 2008. Browning of white wines: correlation with antioxidant characteristics, total polyphenolic composition and flavanol content. *International Journal of Food Science and Technology* 43: 1073-1077.

Schneider, V. 1998. Must hyperoxidation: a review. *American Journal of Enology and Viticulture* 49: 65-73.

Schneider, C. 1989. Introduction a l'ecophysiologie viticole. Applications aux systèmes de conduite. *Bull. OIV* 701-702: 498-515.

Silva, A., P. Guedes, P. Rodrigues and T. Hogg. 2002. Kinetics of oxidative degradation of white wines and how they are affected by selected technological parameters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 5919-5924.

Singleton, V. 1987. Oxygen with phenols and related reactions in musts, wines and model systems: observations and practical implications. *American Journal of Enology and Viticulture* 38: 69-77.

Smart, R., S. Smith and R. Winchester. 1998. Light quality and quantity effects on fruit ripening for Cabernet Sauvignon. *American Journal of Enology and Viticulture* 39: 250-258.

Thurson, F. 1994. The structure and function of fungal Laccase. *Microbiology* 140: 19-26.

Vernet, A., P. Pellerin, C. Prieur, J. Osmianski and M. Moutounet. 1996. Charge properties of some grape wine polysaccharide and polyphenolic fractions. *American Journal of Enology and Viticulture* 47: 25-30.

Vidal, J., J. Boulet y M. Moutounet. 2007. Los aportes del oxígeno en el curso de los tratamientos de los vinos. Balance de las observaciones in situ. Tercera parte. *Revista Enología* 5: 1-21.

Vigneaux, L. 1990. Influencia de la época de cosecha y del tiempo de maceración sobre la calidad de mostos y vinos cv. Chardonnay. Memoria Ingeniero Agrónomo. Universidad Católica de Chile, Facultad de Agronomía. Santiago, Chile. 77p.

Vila, H. 2002. Efecto del tiempo de maceración sobre el color, la composición tánica y la astringencia de vinos Cabernet Sauvignon y Malbec. Tesis Magíster en Ciencias, Mención Viticultura y Enología. Universidad Nacional de Cuyo, Facultad de Ciencias Agrarias. Mendoza, Argentina. 62p.

Vivas, N. 1997. Recherches sur la qualité de chêne français de tonnellerie et sur les mécanismes d'oxidoréduction des vins rouges au cours de leur élevage en barriques. Tesis Doctoral. Universidad de Burdeos II. Burdeos, Francia. 250p.

Vivas, N and Y. Glories. 1996. Role of oak ellagitannins in the oxidation process of red wines during aging. *American Journal of Enology and Viticulture* 47: 103-107.

Waterhouse, L and F. Laurie. 2006. Oxidation of wine phenolics: a critical evaluation and hypotheses. *American Journal of Enology and Viticulture* 57: 306-313.

Whitaker, J and C. Lee. 1995. Enzymatic browning and its prevention. ACS Symposium Series. American Chemical Society, Washington DC, Estados Unidos. 338p.

Wong, M and D. Stanton. 1989. Nonenzymic browning in kiwi fruit juice concentrate systems during storage. *Journal of Food Science* 54: 669-673.

Yada, R., R. Jackman and J. Smith. 1994. Protein structure-function relationships in foods. Blackie Academic & Professional. Glasgow, Reino Unido. 202p.

Yokotsuka, K. 1990. Effect of press design and pressing pressures on grape juice components. *Journal of Fermentation and Bioengineering* 70: 15-21.

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

Zironi, R., P. Comuzzo, L. Tat y S. Scobioala. 2009. Oxígeno y vino. *Infowine*, Revista en Internet de Viticultura y Enología, Códigos de Buenas Prácticas Vitivinícolas Enológicas. Disponible en: <http://www.oxygenandwine.com/p/articulos-tecnicos.html>. Leído el 10 de enero 2012.