



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE POSTGRADO

EFFECTO DE DISTINTAS TÉCNICAS DE ADICIÓN DE OXÍGENO SOBRE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE VINOS DEL CV. CABERNET SAUVIGNON

AFE para optar al Título Profesional de Ingeniero Agrónomo y al Grado de
Magister en Ciencias Agropecuarias

ANDRÉS MATÍAS CAMPANA SÁNCHEZ

Directores de AFE
ÁLVARO PEÑA NEIRA
ELÍAS OBREQUE SLIER

Profesores consejeros
FELIPE LAURIE GLEISNER
CARLA JARA CAMPOS

SANTIAGO - CHILE
2017

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE POSTGRADO

**EFFECTO DE DISTINTAS TÉCNICAS DE ADICIÓN DE OXÍGENO SOBRE LA
COMPOSICIÓN QUÍMICA DE VINOS DEL CV. CABERNET SAUVIGNON**

AFE presentada como parte de los requisitos para optar al Título Profesional de
Ingeniero Agrónomo y al Grado de Magíster en Ciencias Agropecuarias

ANDRÉS MATÍAS CAMPANA SÁNCHEZ

	Calificaciones (Memoria de Título)	Calificaciones (Tesis de Grado)
DIRECTOR DE AFE		
Álvaro Peña Neira	7,0	7,0
Dr. Ingeniero Agrónomo – Enólogo		
Elías Obreque Slier	6,5	6,5
Dr. Ingeniero Agrónomo - Enólogo		
PROFESORES CONSEJEROS		
Felipe Laurie Gleisner	6,8	6,8
Dr. Ingeniero Agrónomo – Enólogo		
Carla Jara Campos	6,6	6,6
Dra. Ingeniera Agrónoma - Enóloga		

Santiago, Chile
2017

**EFFECTO DE DISTINTAS TÉCNICAS DE ADICIÓN DE OXÍGENO
SOBRE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE VINOS DEL CV.
CABERNET SAUVIGNON**

AGRADECIMIENTOS

Pienso en el largo camino recorrido, desde el ingreso a Antumapu, hasta poder escribir esta última parte de la Tesis y aparecen todas las caras de quienes me gustaría agradecer.

En primer lugar, dedicarlo a mis padres y al Emma. Gracias por la maravillosa vida que me han regalado, por todo el amor y aquellos valores que me han inculcado, para transformarme en quien soy. Gracias por confiar en mí y permitirme llevar a cabo todos los sueños y locuras que tuve (y sigo teniendo). Gracias por todo el apoyo brindado, en cada momento de mi vida.

A todos aquellos profesores que han aportado en mi formación y especialmente a mis profesores guías: al profesor Álvaro Peña, agradecerle ante todo por su amistad, también por todo el tiempo dedicado e invertido (sabrán ustedes que no fue poco), por sus sabias palabras, consejos y enseñanzas. Gracias por tenerme en cuenta para todo y ‘presionarme’ para ser mejor persona y profesional. También, al profesor Elías Obreque, por su exigencia y aliento para conseguir las metas propuestas, y por poner a mi disposición todos sus conocimientos y apoyo.

A mis amigos, José Tamayo, Juan Eduardo, Javo, Taten, Danae, Nacho y Oscar, por su incondicional amistad y cariño, y por todas aquellas veces que reímos y fuimos felicidad pura durante este largo proceso. Gracias por hacer de este camino, la mejor parte de mi vida. Sepan que los considero mis grandes amigos y tendrán un lugar para toda la vida en mi memoria y corazón, y siempre les deseare lo mejor.

A mi pequeña, mi amiga, mi confidente, mi Javi, por tu paciencia y amor, por tus cariños, consejos, apoyo incondicional y creer en mí, siempre. Gracias amor, por permitirme recorrer estos 3 años a tu lado, que han llenado mi vida de una manera única y maravillosa. Te amo infinito princesa!

Gracias a todos ustedes, por confiar en mí, por creer en mí, por todo lo que hicieron, hacen y harán por mí. Gracias por formar parte de mi vida y enseñarme lo valioso de la amistad. Los recordare por siempre, y siempre es para SIEMPRE, no lo olviden, porque yo no lo hare.

A las empresas Cousiño Macul, Enovina, Vivelys y todo su equipo, por facilitarnos los vinos, instalaciones y equipos que nos permitieron llevar a cabo el experimento, y finalmente, al proyecto FONDECYT ‘Alternatives for accelerating the maturation and ageing of Chilean Cabernet Sauvignon wines: Assessment of their chemical and sensorial quality features’ código FONDECYT 1140882, dirigido por Álvaro Peña Neira.

ÍNDICE

CAPÍTULO I: MONOGRAFÍA	1
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	2
El vino y su composición	2
El oxígeno en la enología: Funciones y aplicaciones	2
La técnica de MOX	4
La técnica de NOX	7
Planteamiento del problema	8
LITERATURA CITADA	9
CAPÍTULO II: ARTÍCULO CIENTÍFICO	13
RESUMEN	14
ABSTRACT	15
INTRODUCCIÓN	16
HIPÓTESIS	18
OBJETIVO	18
MATERIALES Y MÉTODOS	19
Ubicación del experimento	19
Tratamientos y diseño experimental	19
Manejo del ensayo	20
Evaluaciones	20
Análisis estadístico	21
RESULTADOS	22
Análisis enológicos básicos	22
Composición fenólica	23
Propiedades cromáticas	24
Coordenadas cromáticas CIEL *a*b*	25
Perfil de antocianinas	26
Fraccionamiento de polisacáridos	27
DISCUSIÓN	29
CONCLUSIONES	32
LITERATURA CITADA	33

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Fechas de cada muestreo y dosis acumuladas de oxígeno añadido.	19
Cuadro 2. Resultados análisis enológicos básicos.....	22
Cuadro 3. Resultados análisis de fenoles, taninos y antocianos totales.....	23
Cuadro 4. Resultados análisis cromáticos de pigmentos poliméricos (%) e intensidad colorante.....	24
Cuadro 5. Resultados de los parámetros C*, L*, H*, a* y b* del análisis CIEL*a*b* ...	25
Cuadro 6. Resultados del perfil de antocianinas.....	26
Cuadro 7. Resultados de fraccionamiento de polisacáridos.....	27

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXOS	38
ANEXO 1	38
Protocolo de vinificación Viña Cousiño Macul	38
ANEXO 2	38
Fraccionamiento de polisacáridos según peso molecular.....	38
ANEXO 3	39
Resultados fraccionamiento de taninos	39
Cuadro 1. Resultados del análisis de fraccionamiento de taninos.....	39

CAPÍTULO I: MONOGRAFÍA

**EFFECTO DE DISTINTAS TÉCNICAS DE ADICIÓN DE OXÍGENO
SOBRE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE VINOS DEL CV.
CABERNET SAUVIGNON**

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

El vino y su composición

El vino es una solución hidroalcohólica ácida que contiene diversos compuestos, tales como, azúcares, ácidos orgánicos, polifenoles, compuestos aromáticos, minerales y polisacáridos, los cuales provienen del fruto, el proceso de vinificación y de la guarda o crianza (Moreno y Peinado, 2012a). Los compuestos fenólicos y polisacáridos presentes en el fruto juegan un rol muy importante en las características del vino (Guadalupe et al., 2007). Durante la vinificación estos se transforman e interactúan, otorgando diversas características de estructura, color y propiedades sensoriales del vino, las cuales resultan benéficas para el producto final (Ojeda, 2007).

Polisacáridos

Los polisacáridos son azúcares estructurales, que provienen de la pared celular de bayas y levaduras fermentativas. Los polisacáridos se clasifican según su composición y estructura, destacando los polisacáridos pépticos neutros (arabinogalactanos), polisacáridos pépticos ácidos (homogalacturanos y rhamnogalacturonanos) y manoproteínas (Ayestarán et al., 2004). Estos compuestos producen una mejora en la percepción organoléptica del vino, generando un mayor cuerpo y volumen en boca, lo cual contribuye a una disminución del amargor y astringencia, estabilización y aumento de la intensidad colorante, y una mejora en el perfil aromático. Estas propiedades serían provocadas por la interacción de estos compuestos con los polifenoles (Peña-Neira, 2003; Guadalupe et al., 2007).

Fenoles

Estos compuestos son metabolitos secundarios que provienen del fruto (piel, pulpa y semilla), sintetizados con el fin de aportar en la protección y dispersión de la planta. Se clasifican en flavonoides y no flavonoides. Entre los no flavonoides, se encuentran los ácidos fenólicos (benzoicos y cinámicos), los cuales son principalmente precursores de algunos fenoles volátiles. Por otro lado entre los flavonoides están los flavonoles y flavononoles los cuales aportan al color de los vinos tintos con coloraciones amarillas. Además, dentro de esta familia se encuentran los flavanoles (proantocianidinas o taninos condensados) los cuales aportan a la astringencia, amargor y los antocianos que son responsables del color del vino tinto (Moreno y Peinado, 2012b).

El oxígeno en la enología: funciones y aplicaciones

Desde hace décadas, los vinos han sido sometidos a crianza en madera de roble, lo que generaría cambios organolépticos favorables en los vinos. Estos cambios y alteraciones son producto de distintos fenómenos que se producen por la porosidad de la madera (Oberholster et al., 2014; Pérez-Magariño et al., 2008).

Durante la crianza en bodega, compuestos volátiles y no volátiles son extraídos desde la madera. Asimismo, el oxígeno que es capaz de atravesar por los poros de la madera,

genera distintos efectos organolépticos en el vino (Nevares y Del Álamo, 2008; Pérez-Magariño et al., 2008). En la actualidad, la técnica de micro-oxigenación (MOX), representa una técnica alternativa al uso de barricas, la cual consiste en adicionar exógenamente cantidades de oxígeno que emulan las cantidades que se entregan durante la crianza en barricas. Por otro lado, la nano-oxigenación (NOX), permite controlar los aportes de oxígeno en todas las etapas de la elaboración del vino, pudiendo dosificar cantidades de oxígeno menores a las entregadas con MOX (Paetzold, 2012). Ambas técnicas, adicionan al vino cantidades de oxígeno reducidas, controladas y continuas, durante el tiempo y el momento que se estime conveniente (Parish et al., 2000).

El oxígeno disuelto en el vino tiene influencia sobre la composición fenólica, lo cual afectará las características sensoriales y químicas del vino, tales como el color, astringencia, amargor y aroma (Pérez-Magariño et al., 2007). Específicamente, se ha observado que la presencia de cantidades reducidas de oxígeno en el vino generan estabilización del color, disminución de la astringencia, desaparición de aromas vegetales y una mayor intensidad aromática, mayor complejidad, cuerpo y volumen en boca (Lesica y Kosmerl, 2009).

Diversos estudios han demostrado que el oxígeno genera reacciones de oxidación, condensación y polimerización entre distintos compuestos presentes en el vino y también participa en la producción de etanal, a partir de la oxidación del etanol (Pérez-Magariño et al., 2007). Estas reacciones determinan la formación de nuevos pigmentos y compuestos poliméricos que pueden estabilizar el color, lo que se debería a la acción del etanal, el cual actuaría como puente para la polimerización de distintos compuestos fenólicos, principalmente monoméricos (Sartini et al., 2007). Dentro de estas reacciones, se han descrito uniones entre taninos con taninos, antocianos con taninos, antocianos con antocianos y polisacáridos con fenoles (Cano-López et al., 2009). Si bien es cierto que se producen cambios en el vino, el grado de estos cambios depende de diversos factores, como la variedad del cultivar, composición química del vino, manejos culturales durante la vinificación, momento de aplicación, dosis y duración del oxígeno (Cejudo-Bastante et al., 2011a).

Por otro lado, el oxígeno juega un rol importante en aspectos microbiológicos durante la fermentación y crianza (Pérez-Magariño et al., 2007). Durante las primeras fases de la vinificación, los microorganismos fermentativos requieren de oxígeno, con el fin de generar la población deseada de levaduras que llevarán a cabo la fermentación y eliminar aromas a reducción que potencialmente se podrían formar durante la vinificación (Lesica y Kosmerl, 2009).

A pesar de los efectos positivos del oxígeno en el vino, dosis excesivas pueden ser perjudicial para las características químicas y organolépticas del vino. Los efectos negativos del oxígeno dependerán de factores como la cantidad, duración y momento del exceso de oxígeno. Dentro de los principales problemas se encuentran las reacciones de oxidación desmedidas que dan origen a un producto de menor vida útil y también a la proliferación de microorganismos no deseados como las bacterias acéticas que provocan la picadura acética (Paul, 2002; du Toit et al., 2006).

La técnica de MOX

Definición y Características

La MOX es una técnica de adición de oxígeno desarrollada en Madiran (Francia), en 1991, con el objetivo de recrear en condiciones aceleradas, la oxigenación producida durante la crianza del vino en barrica (Cejudo-Bastante et al., 2012). Esta técnica es aplicada en tanques de acero inoxidable, en los cuales se aplican pequeñas, continuas y controladas dosis de oxígeno con el objetivo de generar los efectos positivos producidos por el oxígeno y evitar fenómenos de oxidación que provocan deterioros en la calidad del producto. El oxígeno aplicado es consumido durante las reacciones químicas que confieren al vino cambios en su composición química, física y sensorial (Gómez-Plaza y Cano-López, 2010; Lesica y Kosmerl, 2009; Parish et al., 2000). La aplicación del oxígeno se produce desde una membrana porosa ubicada en el fondo del tanque, y puede ser realizada en dosis entre 0,75 a 75 mL L⁻¹ mes⁻¹ (Pérez-Magariño et al., 2007). Así, a través de esta membrana difunden las burbujas de oxígeno hacia el vino (Lesica y Kosmerl, 2009). El efecto y éxito de las aplicaciones de MOX, dependen de diversos factores, los cuales están directamente relacionados con el vino a tratar.

El rol de la composición del vino en la MOX

Devatine et al. (2007) determinaron que el principal factor de importancia al momento de aplicar MOX, es la composición inicial del vino, ya que de está dependerá la capacidad de consumir oxígeno y generar las reacciones deseadas en él. Esta capacidad está relacionada directamente con la concentración y composición fenólica, ya que son los principales consumidores del oxígeno disuelto en el vino. Es por dicha razón, que vinos con gran composición y concentración fenólica, presentan cambios favorables al aplicarles MOX, debido a la mayor proporción de fenoles libres (Cano-López et al., 2008; du Toit, 2007).

Del mismo modo Cano-López et al. (2008), observaron que el efecto de la MOX depende de la composición de cada vino. En general observaron que se produjo un alto porcentaje de pigmentos nuevos, derivados de vinos con gran complejidad fenólica, los cuales son más estables debido a su resistencia a cambios de pH y a la decoloración producida por el anhídrido sulfuroso (Escribano-Bailón et al., 2001). Estos vinos presentaron un significativo aumento en la intensidad de color, debido al aumento de compuestos rojos y azules, y en la estabilidad de color, de forma similar a los vinos con crianza en barrica, lo que concuerda con lo observado por Sartini et al. (2007) y Cano-López et al. (2009). En tanto, que vinos con menor composición y concentración fenólica presentaron un menor efecto por parte de la micro-oxigenación y también un efecto negativo debido a una sobre oxigenación por su pobre composición.

Por otra parte, la aplicación de MOX durante la fermentación en vinos que presentan crianza con lías, provocaron una mayor concentración de polisacáridos, generando mayor estabilidad de color, mantención de la intensidad de color y menor oxidación de compuestos como el ácido caftarico y fenoles, debido a su acción de coloide protector, absorbiendo el oxígeno presente, lo cual impide la oxidación de estos compuestos (Sartini et al., 2007).

Por otro lado, se ha observado que vinos con alta presencia de polisacáridos presentaron

una mayor riqueza de compuestos rojos y violetas, y también una mayor concentración de taninos condensados y antocianos (Pérez-Magariño et al., 2007). Asimismo otros estudios realizados han determinado que los polisacáridos pueden disminuir la percepción de la astringencia y amargor, debido a la interacción con antocianos y taninos, que provocan una disminución del contenido total de proantocianidinas. Dicha interacción inhibe la precipitación de estos polifenoles, generando entre otros efectos, una mayor estabilidad coloidal, mayor balance, persistencia y mayor volumen y cuerpo en boca (Barrio-Galán et al., 2015). Asimismo se ha visto una disminución del contenido polisacárido, por oxidación, debido a su afinidad con el oxígeno y su acción de coloide protector de otros compuestos (Duan y Kasper, 2010).

El rol del momento de aplicación de MOX

El oxígeno a través de esta técnica puede ser aplicado durante diferentes etapas de la vinificación, lo cual, está determinado por el objetivo de dicha adición. Así, la aplicación previo fermentación maloláctica optimiza los resultados, generando una mejor estructura del vino y mayor estabilidad del color, en parte debido a la presencia de los fenoles en sus formas monoméricas y la baja concentración de anhídrido sulfuroso principalmente (Llaudy et al., 2006; Nel, 2001; Cano-López et al., 2008; Cano-López et al., 2007). En tanto, los mejores resultados son obtenidos posterior a fermentación maloláctica ya que el vino se encuentra con cantidades de anhídrido sulfuroso altas, por lo cual, el oxígeno aplicado reaccionará con éste y no con los fenoles (Gómez-Plaza y Cano-López, 2010). Para obtener una mayor población de levaduras fermentativas, la micro-oxigenación debe ser aplicada en los primeros momentos de la vinificación, durante el inicio de la fermentación alcohólica (Cejudo-Bastante et al., 2012).

Durante las aplicaciones post fermentación maloláctica, se debe tener especial cuidado en las dosis de oxígeno, debido a que se puede generar un exceso de etanal, debido a la oxidación del etanol, que se mantendrá, alterando las características organolépticas del vino. Sin embargo, una acumulación de etanal por la aplicación previo a fermentación maloláctica puede ser consumida por bacterias lácticas (Osborne et al., 2000).

Una estrategia común es la aplicación previo y post fermentación maloláctica, siendo previo a fermentación maloláctica en dosis altas ($75 \text{ mL L}^{-1} \text{ mes}^{-1}$), por un corto tiempo, que se detienen al momento de iniciar la fermentación maloláctica. En tanto que las aplicaciones post fermentación maloláctica se realizan en dosis menores ($5 \text{ mL L}^{-1} \text{ mes}^{-1}$), pero por periodos más prolongados (Cano-López et al., 2008; du Toit, 2007; Theron, 2007). Una técnica común para alargar las aplicaciones en el periodo de mayor efectividad (previo a fermentación maloláctica) y sin la cobertura del anhídrido sulfuroso, es la aplicación de lisozimas, lo cual retrasa dicha fermentación.

El rol del anhídrido sulfuroso en la MOX

La disminución de los efectos positivos del oxígeno en presencia de anhídrido sulfuroso se deben principalmente a que este es un antioxidante que interfiere, uniéndose al etanal y radicales del oxígeno en forma de bisulfito, lo cual provoca la disminución de las reacciones (de interés) de condensación y polimerización de los distintos fenoles, impidiendo la formación de compuestos poliméricos. Sin embargo, según Danilewicz (2008), para que la micro-oxigenación sea efectiva, se requiere anhídrido sulfuroso en dosis bajas (no mayores a 25 ppm de anhídrido sulfuroso libre), para que de esta forma no se produzcan reacciones de oxidación no deseadas, como la oxidación de fenoles, generando una disminución en su concentración, y que a su vez permita la suficiente

oxidación del etanol para producir acetaldehído. Asimismo, Paul (2002) reportó que la aplicación de MOX en presencia de anhídrido sulfuroso tiene mayor similitud a la oxigenación que se produce en barrica.

Los resultados de Tao et al. (2007) muestran que el anhídrido sulfuroso actúa como moderador de la interacción entre el oxígeno y los fenoles. También observaron que aplicaciones de oxígeno posterior a la adición de anhídrido sulfuroso requieren de más tiempo y son menos efectivas. Además, también midieron el efecto del anhídrido sulfuroso sobre el desarrollo de los polifenoles con y sin la presencia de oxígeno. El grado de polimerización y formación de compuesto estables, observado en el tratamiento sin anhídrido sulfuroso aumentó, en tanto que en presencia de anhídrido sulfuroso se redujo el grado de polimerización, y la formación de compuestos estables se vio suprimida y demorada. Sin embargo, el no uso de este antioxidante y antiséptico puede, en determinadas condiciones permitir el crecimiento de micro-organismos no deseados, por lo cual el uso de éste se hace casi indispensable.

El rol de la temperatura en la MOX

Otro factor que determina el efecto de la MOX aplicada es la temperatura, ya que la solubilidad de los gases es mayor a menores temperaturas. Es por dicha razón que la temperatura del vino al cual se aplica el oxígeno posee un importante papel en las reacciones de oxidación, condensación y polimerización de compuestos. Si la temperatura es muy alta, la solubilidad del gas en el líquido será pobre, y tendrá una alta reactividad, permitiendo la oxidación no deseada de distintos compuestos. Debido a lo anterior, Nel (2001), recomienda una temperatura del vino de 15°C para la aplicación de oxígeno mediante MOX.

El rol de la dosis en la MOX

La dosis es un factor de importancia, la cual depende del objetivo de la aplicación, del momento de aplicación y la composición del vino, particularmente de la composición fenólica, la cual varía según la variedad, el viñedo y las añadas (Pérez-Magariño et al., 2008; Paul, 2002). Las dosis necesarias para generar una maduración acelerada del vino, son mayores a las necesarias para eliminar aromas a reducción (Gómez-Plaza y Cano-López, 2010). Por otra parte, la MOX debe aplicarse en dosis en las cuales no produzca efectos negativos, tales como la reducción de las cualidades sensoriales del producto, debido a la oxidación de aldehídos y fenoles por exceso de oxígeno disuelto en el vino (Lesica y Kosmerl, 2009; du Toit et al., 2006).

Principales efectos de la MOX

Diversos estudios han observado que la presencia de oxígeno en el vino provocó, la oxidación del etanol en etanal, compuesto que juega un importante rol en las reacciones de condensación, polimerización y unión de distintos compuestos. Así, el etanal favoreció la unión entre fenoles monoméricos (flavanoles y antocianos), dando origen a moléculas poliméricas de taninos, antocianos y también de taninos con antocianos (Gómez-Plaza y Cano-López, 2010; Lesica y Kosmerl, 2009). Dicho efecto reduce el número de flavanoles y antocianos libres y monoméricos, aumentando la cantidad de antocianos poliméricos, los cuales son coloreados al pH del vino, estables en el tiempo, presentan una mayor coloración e intensidad colorante y también mayor resistencia a la decoloración por anhídrido sulfuroso, las variaciones de pH y a las reacciones oxidativas, lo cual conlleva a una mayor estabilidad de color. Sin embargo, también se puede generar una menor copigmentación debido a la menor presencia de fenoles monoméricos, siendo

la copigmentación la interacciones de los antocianos entre sí y también con otros compuestos del vino, especialmente compuestos fenólicos, los cuales pueden aumentar aún más su expresión de color, ocurrida principalmente durante la primera etapa de la vinificación (González-Manzano et al., 2008; Lesica y Kosmerl, 2009; Gómez-Plaza y Cano-López, 2010; Castellari et al., 2000). Sin embargo, paralelamente a la reducción de la copigmentación, ocurrida durante la etapa de crianza del vino, está asociado un aumento de los pigmentos poliméricos, siendo éstos favorecidos por la presencia acetaldehído, y de polímeros de taninos y antocianos (Cejudo-Bastante et al., 2012; Escribano-Bailón et al., 2001)).

En cuanto al aspecto sensorial, la MOX provocó una reducción del amargor y de la astringencia de hasta un 35%, debido a que la formación de polímeros fue mayor, reduciendo la concentración de flavanoles monómeros, los cuales son especialmente amargos y astringentes (Llaudy et al., 2006; Cejudo-Bastante et al., 2011b; Vidal y Aagaard, 2008).

La técnica de NOX

Definición y Características

La NOX es una técnica desarrollada para permitir controlar los aportes de oxígeno en todas las etapas de elaboración del vino, pudiendo adicionar cantidades de oxígeno de nanogramos por mL de vino en depósitos donde se produce la vinificación. A diferencia de la MOX, esta técnica posee un paso previo a la aplicación de oxígeno, consistente en la aplicación de un gas inerte, como el nitrógeno, el cual provoca un desplazamiento del oxígeno presente en el vino por arrastre, para así obtener un ambiente anaeróbico. Luego de esto, se realizan las aplicaciones de oxígeno de manera esporádicas, en forma de pulsos, en mínimas dosis (Paetzold, 2012), siendo recomendable que los estanques posean una altura menor a 8 metros y que la aplicación sea realizada a una temperatura entre 15 a 20°C. La aplicación de la NOX es realizada a través de una cápsula porosa, la cual es capaz de difundir al medio vínico nano burbujas de oxígeno, las cuales se unen a compuestos aromáticos reductores en su ascenso, favoreciendo la matriz de compuestos aromáticos deseables en el vino. Las principales dosis utilizadas en cada inyección varían entre 20 a 35 ng mL⁻¹, según sea el momento de aplicación, la condición del vino y el resultado esperado (Paetzold, 2012). Por otro lado, esta técnica es utilizada durante la crianza de vinos en cubas de grandes volúmenes, principalmente para mejorar las metodologías de crianza que actualmente se utilizan, las cuales suelen ser reductivas u oxidativas, pudiendo generar problemas, deteriorando la calidad del vino.

El rol del momento de aplicación de NOX

Esta técnica puede ser utilizada y aplicada en distintos momentos. La aplicación durante la fermentación alcohólica tiene como objetivo eliminar compuestos reductores, potenciar la matriz aromática y fenólica del vino, y mantener el potencial de óxido-reducción para favorecer y mantener condiciones organolépticas óptimas (Paetzold, 2012).

Los resultados más óptimos de esta técnica se han descrito al finalizar la fermentación alcohólica y comienzo de la crianza en cubas (Paetzold, 2012). Sensorialmente, se ha observado que la NOX otorga al vino una mayor redondez, armonía, suavidad y expresión aromática, resaltando la frutuosidad, a través de complejas reacciones en las cuales

participan distintos compuestos presentes en el vino con el oxígeno añadido (Paetzold, 2012).

Principales efectos de la NOX

Los compuestos aromáticos reductores son compuestos volátiles azufrados, formados por falta de oxígeno durante la elaboración (Moreno y Peinado, 2012a). Estos desagradables aromas son evitados a través de diversos mecanismos y acciones enológicas que permiten oxigenar el vino. Es por dicha razón que la NOX evita su negativa presencia, fomentando la matriz aromática varietal y evitando la oxidación de estos compuestos. Asimismo, se ha reportado que los vinos tratados con NOX, presentan una desaparición de aromas reductivos, mayor apertura y expresión aromática varietal. Además, los vinos presentarían taninos de mayor estructura, persistencia y menos astringentes, obteniendo finalmente vinos más finos y elegantes, en un periodo de crianza más breve al necesario en la crianza tradicional en barricas (Paetzold, 2012). Sin embargo, Araya (2016) observó un aumento del amargor y la astringencia, asociado a un aumento de la fracción de taninos polimerizados y una disminución del contenido polisacárido total, obteniendo un vino de mayor volumen y cuerpo en boca. En cuanto al aspecto olfativo, apreció un aumento en los aromas a frutos rojos.

Planteamiento del problema

Actualmente, el uso de barricas en la vinificación representa un alto costo en la producción de vino. Las técnicas de MOX y NOX, corresponden a dos herramientas de gran importancia en la industria vitivinícola, ya que representan métodos alternativos para la crianza del vino en cubas de acero inoxidable complementado con la adición de distintos formatos de madera. Si bien ambas tecnologías permiten la adición de pequeñas cantidades de oxígeno, la NOX es una técnica que permite conocer con exactitud el contenido de oxígeno en el vino, y entregar una burbuja de menor tamaño, permitiendo que éste sea utilizado por completo evitando pérdidas o adiciones excesivas. Probablemente, éste comportamiento generará efectos diferenciales en la composición fenólica y polisacáridica de los vinos. Más aún, la NOX, puede potenciar la disponibilidad de polifenoles y polisacáridos.

A pesar que se ha observado que la técnica de MOX tiene efectos relevantes sobre la porción polifenólica del vino, la NOX ha sido poco estudiada, contando solo con escasa información entregada por el proveedor. Más aún, escasa información existe acerca de los efectos de ambas técnicas sobre las fracciones polisacáridicas y contenidos fenólicos, quienes están relacionadas estrechamente con las propiedades organolépticas del vino.

LITERATURA CITADA

Araya, D. 2016. Efecto de la microoxigenación y nanooxigenación sobre las fracciones flavánicas y polisacáridicas del C.V. Syrah. Memoria Ingeniero Agrónomo. Santiago, Chile: Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. 29h.

Ayestarán, B.; Z. Guadalupe and D. León. 2004, jun. Quantification of major grape polysaccharides (Tempranillo v.) released by maceration enzymes during the fermentation process. *Analytica Chimica Acta*, 513 (1): 29-39.

Barrio-Galán, R; M, Medel-Marabolí and A. Peña-Neira. 2015, feb. Effect of different aging techniques on the polysaccharide and phenolic composition and sensory characteristics of Syrah red wines fermented using different yeast strains. *Food Chemistry*, 179: 116-126.

Cano-López, M.; J. López-Roca; F. Pardo-Mínguez and E. Gómez-Plaza. 2009, jun. Oak barrel maturation vs. micro-oxygenation: Effect on the formation of anthocyanin-derived pigments and wine color. *Food Chemistry*, 119: 191-195.

Cano-López M.; F. Pardo-Mínguez; G. Schmauch, C. Saucier, P. Teissedre, J. López-Roca, et al. 2008, jun. 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.

Cano-López, M.; F. Pardo-Mínguez; J. López-Roca and E. Gómez-Plaza. 2007, may. Chromatic characteristics and anthocyanin profile of a micro-oxygenated red wine after oak or bottle maturation. *European Food Research and Technology*, 225: 125–132.

Castellari, M., L, Matricardi, G. Arfelli, S. Galassi and A. Amati. 2000, apr. Level of single bioactive phenolics in red wine as a function of the oxygen supplied during storage. *Food Chemistry*, 69(1): 61-67.

Cejudo-Bastante, M.; I. Hermosín-Gutiérrez and M. Pérez-Coello. 2012, may. Improvement of Cencibel Red Wines by Oxygen Addition after Malolactic Fermentation: Study on Color-Related Phenolics, Volatile Composition, and Sensory Characteristics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60: 9962-9973.

Cejudo-Bastante, M.; I. Hermosín-Gutiérrez and M. Pérez-Coello. 2011a, jun. Micro-oxygenation and oak chip treatments of red wines: Effects on colour-related phenolics, volatile composition and sensory characteristics. Part I: Petit Verdot wines. *Food Chemistry*, 124: 727-737.

Cejudo-Bastante, M.; I. Hermosín-Gutiérrez and M. Pérez-Coello. 2011b, jul. Micro-oxygenation and oak chip treatments of red wines: Effects on colour-related phenolics, volatile composition and sensory characteristics. Part II: Merlot wines. *Food Chemistry*, 124: 738-748.

Danilewicz, J. 2008, mar. Interaction of sulfur dioxide, polyphenols, and oxygen in a wine-model system: Central role of iron and copper. *American Journal of Enology and Viticulture*, 58: 53–60.

Devatine, A.; I. Chiciuc, C. Poupot and M. Mietton-Peuchot. 2007, may. Microoxygenation of wine in presence of dissolved carbon dioxide. *Chemical Engineering Science*, 62: 4579–4588.

du Toit, W. 2007. [en línea]. Micro-oxygenation in South African wine: part II. Recuperado en: <www.wynboer.co.za/recentarticles/200707micro.php3> consultado el: 20 de Junio de 2015.

du Toit, W.; J. Marais; I. Pretorius and M. du Toit. 2006, apr. Oxygen in must and wine: a review. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 27: 76-94.

Duan, J. and D. Kasper. 2010, oct. Oxidative depolymerisation of polysaccharides by reactive oxygen/nitrogen species. *Glycobiology*, 21: 401-409.

Escribano-Bailón, T.; M. Álvarez-García; J. Rivas-Gonzalo; F. Heredia and C. Santos-Buelga. 2001, feb. Color and stability of pigments derived from the acetaldehyde-mediated condensation between malvidin 3-O-glucoside and (+)-catechin. *Journal of agricultural and Food Chemistry*, 49: 1213-1217.

Gómez-Plaza, E. and M. Cano-López. 2010, oct. A review on micro-oxygenation of red wines: Claims, benefits and the underlying chemistry. *Food Chemistry*, 125: 1131-1140.

González-Manzano, S.; C. Santos-Buelga; M. Dueñas; J. Rivas-Gonzalo and T. Escribano-Bailón. 2008, jan. Colour implications of self-association processes of wine anthocyanins. *European Food Research and Technology*, 226: 483–490.

Guadalupe, Z.; A. Palacios and B. Ayestarán. 2007, nov. Maceration Enzymes and Mannoproteins: A possible strategy to increase colloidal stability and color extraction in red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 4854-4862.

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

Llaudy, M.; R. Canals; S. González-Manzano; J. Canals; C. Santos-Buelga and F. Zamora. 2006, may. 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.

Moreno, J. and R. Peinado. 2012a. Composition of wine, (cap. 4, pp. 45-52). In: *Enological Chemistry*. España: Elsevier. 442p.

Moreno, J. and R. Peinado. 2012b. Polyphenols, (cap. 5, pp. 54-61). In: *Enological Chemistry*. España: Elsevier. 442p

Nel, L. 2001. [en línea]. The use of micro-oxygenation technique. Wynboer: A technical guide for wine producers. Recuperado en: <<http://www.wynboer.co.za/recentarticles/0101technique.php3>>, consultado el 20 de junio de 2015.

Nevares, I. and M. Del Álamo. 2008, jul. Measurement of dissolved oxygen during red wines tank aging with chips and micro-oxygenation. *Analytica Chimica Acta*, 621: 68–78.

Oberholster, A.; B. Elmendorf; L. Lerno; E. King and H. Heymann. 2014, oct. Barrel maturation, oak alternatives and micro-oxygenation: Influence on red wine aging and quality. *Food Chemistry*, 173: 1250-1258.

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

Osborne, J.; R. Mira de Orduña, G. Pilone and S. Liu. 2000, oct. Acetaldehyde metabolism by wine lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 191: 51–55.

Paetzold Michael. 2012. DE(O₂)S crianza matricial por nano-oxigenación. (Bol. Tec.), Cadaujac, Francia. 36p.

Parish, M.; M. Wollan and R. Paul. 2000. Micro-oxygenation: a review. *The Australian Grapegrower and Winemaker*, 438: 47-50.

Paul, R. 2002. Micro-oxygenation – Where now? In Proceedings of the ASVO seminar uses of gases in winemaking. *Adelaide: Australian Society of Viticulture and Oenologie*. 4: 23-27.

Peña-Neira, A. 2003. Composición fenólica de uva y vinos. Aspectos generales. [En línea]. Facultad de ciencias agronómicas. Departamento de agroindustria y enología. Universidad de Chile. Recuperado en: <<http://www.gie.uchile.cl/publicaciones/index.html>>. Consultado el: 8 de diciembre de 2011.

Pérez-Magariño, S.; M. Ortega-Heras; M. Cano-Mozo and M. González-Sanjosé. 2008, sep. The influence of oak wood chips, micro-oxygenation treatment, and grape variety on colour, and anthocyanin and phenolic composition of red wines. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22: 204-211.

Pérez-Magariño, S.; M. Sánchez-Iglesias; M. Ortega-Heras; C. González-Huerta and M. González-Sanjosé. 2007, feb. Color stabilization of red wine by microoxygenation treatment before malolactic fermentation. *Food Chemistry*, 101: 881-893.

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

Tao, J.; S. Dykes and P. Kilmartin. 2007, jun. Effect of SO₂ concentration on polyphenol development during red wine micro-oxygenation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 6104–6109.

Theron, Charl. 2007. [en línea]. The role of oxygen in vinification. Recuperado en: <<http://www.wynboer.co.za/recentarticles/200706current.php3>> consultado el 20 de junio de 2015.

Vidal, S. and O. Aagaard. 2008, sep-oct. Oxygen management during vinification and storage of Shiraz wine. *Wine Industry Journal*, 23: 21-23.

CAPÍTULO II: ARTÍCULO CIENTÍFICO

**EFFECTO DE DISTINTAS TÉCNICAS DE ADICIÓN DE OXÍGENO
SOBRE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE VINOS DEL CV.
CABERNET SAUVIGNON**

RESUMEN

La micro-oxigenación es una técnica que consiste en la adición de cantidades controladas de oxígeno, en tanto que la nano-oxigenación es una técnica que permite controlar los aportes de oxígeno en las etapas de elaboración, con el fin de provocar cambios químicos, físicos y sensoriales en el vino. Actualmente, la micro-oxigenación es ampliamente utilizada en conjunto con piezas de roble, para generar una crianza acelerada del vino. Sin embargo, no existe información científica de nano-oxigenación y para el caso de micro-oxigenación existe limitada información del efecto sobre la composición química de vinos chilenos cv. Cabernet Sauvignon.

El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de micro-oxigenación y nano-oxigenación, sobre las variables enológicas generales, la composición fenólica y polisacáridica de vinos cv. Cabernet Sauvignon. Para ello, se aplicó separadamente micro-oxigenación y nano-oxigenación a un vino, el cual fue contrarrestado con un vino control (sin adición de oxígeno). Los vinos fueron analizados mediante técnicas espectrofotométricas (fenoles, taninos y antocianos totales, CIEL*a*b* y porcentaje de pigmentos poliméricos) y de HPLC-DAD (perfil antociánico y fraccionamiento polisacárido).

Se observó que los vinos con micro-oxigenación presentaron menores contenidos de fenoles, taninos y antocianos totales en comparación con los vinos con nano-oxigenación. Además, se apreció que ambas técnicas aumentan los pigmentos poliméricos. En cuanto al contenido polisacárido, los vinos con micro-oxigenación provocó la menor concentración en todas las fracciones analizadas, mientras que la nano-oxigenación no presentó diferencias con el vino control.

Palabras claves

Composición fenólica, micro-oxigenación, nano-oxigenación, polisacáridos.

ABSTRACT

Micro-oxygenation is a technique that involve the addition of controlled amount of oxygen, and nano-oxygenation is a technique that allows to control the contributions of oxygen in the stages of elaboration, to cause chemical, physical and sensory changes in the wine. Currently, micro-oxygenation technique is widely used along with oak pieces to generate an acceleration in the aging of the wine. However, there is not scientific information on nano-oxygenation, and for micro-oxygenation there is limited information about the effect on the chemical composition of Chilean wine cv. Cabernet Sauvignon.

The aim of this study was to determine the effect of micro-oxygenation and nano-oxygenation in oenological variables, phenolic and polysaccharide composition of wines cv. Cabernet Sauvignon. To do this, micro-oxygenation and nano-oxygenation were applied separately to a wine cv. Cabernet Sauvignon, which were compared with a control wine (without oxygen addition). The wines were analyzed by spectrophotometric techniques (phenols, tannins and total anthocyanins, CIEL*a*b* and percentage of polymeric pigments) and HPLC-DAD (anthocyanin profile and polysaccharide fractionation) were performed.

This study concluded that wine with micro-oxygenation presented lower contents of total phenols and tannins than the nano-oxygenation wine. In addition, it was possible to see that both techniques increase polymeric pigments. In terms of the polysaccharide content, micro-oxygenation produces the lowest concentration in all analyzed fractions, meanwhile the nano-oxygenation did not present differences with the control wine.

Keywords

Micro-oxygenation, nano-oxygenation, phenolic composition, polysaccharides.

INTRODUCCIÓN

El vino es una compleja solución hidroalcohólica, la cual está conformada por un gran número de compuestos, que provienen del fruto, el proceso de vinificación y de la guarda (Moreno y Peinado, 2012a). Dentro de los compuestos que afectan mayoritariamente las características del vino, se destacan los polifenoles y polisacáridos (Ojeda, 2007).

Los polisacáridos son azúcares estructurales, que provienen de la pared celular de las bayas y levadura fermentativas. Estos compuestos se clasifican según su composición y estructura en polisacáridos pépticos neutros, polisacáridos pépticos ácidos y manoproteínas (Ayestarán et al., 2004). Se ha reportado que los polisacáridos pueden influenciar la percepción organoléptica del vino, generando mayor cuerpo y volumen en boca, disminución del amargor y astringencia, y aumentando la intensidad colorante, entre otros. Estos efectos serían provocados gracias a la interacción de polisacáridos con los polifenoles (Peña-Neira, 2003; Guadalupe et al., 2007).

Por otra parte, los polifenoles son metabolitos secundarios que provienen de las distintas estructuras del fruto, teniendo un importante rol, influyendo o modificando las características del fruto y el vino. Según su estructura, éstos compuestos se clasifican en flavonoides y no flavonoides. Entre los no flavonoides, se encuentran los ácidos fenólicos y estilbenos. Por otra parte los flavonoides, que se encuentran en mayor concentración en el fruto, se dividen mayoritariamente en flavonoles, flavononoles y flavanoles. Los flavonoles y flavononoles aportan al color del vino, con coloraciones amarillas, en tanto que los flavanoles aportan a la astringencia y amargor. Los antocianos corresponden a los compuestos responsables del color del vino tinto (Moreno y Peinado, 2012b).

El vino desde hace décadas ha sido sometidos a la crianza en madera de roble en distintos formatos, ya sea en barricas de diverso volumen, o en fudres, con el fin de promover la calidad de éste, a través de la ocurrencia de distintos fenómenos que generan cambios en el aspecto microbiológico, organoléptico, químico y también físico. Dichos cambios y alteraciones se producen gracias a la porosidad de la madera, la cual permite el ingreso de pequeñas cantidades de oxígeno al interior de esta, interactuando con la matriz vínica (Oberholster et al., 2014; Pérez-Magariño et al., 2008; Nevares y Del Álamo, 2008). Sin embargo, la ocurrencia de dichos fenómenos y cambios, se produce luego de prolongados periodos de crianza, por lo cual se han desarrollado nuevas tecnologías de uso enológico que permiten la adición de oxígeno al vino, en dosis reducidas, controladas y continuas en depósitos de acero inoxidable, con el objetivo de acelerar dichos procesos y poder obtener el producto final en un menor tiempo (Paetzol, 2012; Cejudo-Bastante et al., 2012). Dichas tecnologías son conocidas como micro-oxigenación (MOX) y nano-oxigenación (NOX).

La MOX, es una técnica que permite la adición de oxígeno en dosis de $\text{mL L}^{-1} \text{mes}^{-1}$, las cuales pueden ser aplicadas en los distintos momentos de la vinificación. Dentro de los principales efectos descritos en aplicaciones post fermentación maloláctica, se han observado vinos con un menor contenido de fenoles, taninos, antocianos y polisacáridos totales, debido al aumento en la polimerización fenólica, la interacción entre fenoles y polisacáridos y también a la oxidación de estos compuestos. También, se ha descrito que la aplicación de esta técnica genera vinos con un contenido de fenoles poliméricos mayor,

formando nuevas moléculas de mayor complejidad, provocando en ocasiones mayor intensidad y estabilidad de color, asociados a un aumento de los pigmentos poliméricos (Sartini et al., 2007, Cano-López et al., 2007 y Escribano-Bailón et al., 2001). Sin embargo, otros autores han descrito que la aplicación de MOX genera vinos con un menor nivel de copigmentación e intensidad de color, debido al menor número de fenoles monoméricos (González-Manzano et al., 2008; Lesica y Kosmerl, 2009; Castellari et al., 2000). En cuanto al perfil sensorial, los vinos tratados con MOX, presentan una disminución del amargor y astringencia (Llaudy et al., 2006; Cejudo-Bastante et al., 2011b).

Por otra parte, la NOX, es una técnica que permite la adición de oxígeno en dosis de $\text{ng mL}^{-1} \text{mes}^{-1}$ y conlleva la aplicación de un gas inerte que desplaza el oxígeno presente, para luego realizar la aplicación de oxígeno en un ambiente anaeróbico. Araya (2016), observó que vinos tratados con NOX, no presentaban una disminución del contenido de taninos totales, sin embargo presentaban mayor contenido de taninos polimerizados, relacionados a un menor contenido de taninos monoméricos. De manera similar, también observó una disminución del contenido total de polisacáridos, luego del tratamiento. Asimismo, Araya (2016) detectó un aumento del volumen y cuerpo en boca, asociado a una mayor astringencia y amargor, y olfativamente hubo un aumento de aromas a frutos rojos y una disminución de aromas vegetales.

Hoy en día, existe un creciente interés mundial en el estudio de los efectos de ambas tecnologías sobre la composición química del vino. Sin embargo la escasa información nacional existente respecto al efecto que tienen estas técnicas sobre la composición fenólica y más aun polisacarídica del vino, es que ha motivado la realización de este trabajo de investigación.

HIPÓTESIS

Un vino con adición de oxígeno mediante micro-oxigenación presenta una menor concentración de polifenoles, polisacáridos y valores de intensidad colorante, así como mayores valores de pigmentos poliméricos que un vino enriquecido con oxígeno mediante nano-oxigenación.

OBJETIVO

Determinar el efecto de las técnicas de adición de oxígeno (micro-oxigenación y nano-oxigenación), sobre la composición química en vinos del cv. Cabernet Sauvignon.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del experimento

El trabajo de investigación se realizó en las dependencias de la Viña Cousiño-Macul ubicada en la localidad de Buin, Valle del Maipo, Región Metropolitana. Los análisis correspondientes se llevaron a cabo en el Laboratorio de Química Enológica, Laboratorio de Cromatografía y Actividad Antioxidante del Departamento de Agroindustria y Enología de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

Tratamientos y diseño experimental

Para el siguiente estudio se utilizaron vinos del cv. Cabernet Sauvignon de la vendimia 2015, proporcionados por Viña Cousiño Macul, elaborados con el procedimiento estándar, realizado por dicha viña (anexo 1), y con aplicación de duelas de roble francés con tostado medio (Nadalié Sudamérica S.A.).

Se realizó un ensayo, comparándose los tratamientos de micro-oxigenación (MOX), nano-oxigenación (NOX) y el vino control sin adición de oxígeno.

El diseño experimental, correspondió a un diseño completamente aleatorizado con estructura en parcelas divididas (DCA - PD), siendo los factores, el oxígeno (2 niveles) y el tiempo (4 niveles para control y 3 para MOX/NOX), con un total de 10 tratamientos con 3 repeticiones por tratamiento. Para el factor tiempo sus niveles correspondieron a las diferentes fechas de muestreo, que fueron cada 30 días, contabilizando el primer muestreo realizado en el día 0 (solo vino control), durante 3 meses, siendo un total 4 muestreos para control y 3 muestreos para MOX y NOX (Cuadro 1).

Cuadro 1. Fechas de cada muestreo y dosis acumuladas de oxígeno añadido.

Muestreo	Fecha	Dosis de O ₂	Dosis de O ₂	Dosis de O ₂
		aplicada (mL L ⁻¹) control	aplicada(mL L ⁻¹) MOX	aplicada (mL L ⁻¹) NOX
0	12/10/2015	0	0	0
1	12/11/2015	0	3	0,112
2	11/12/2015	0	6	0,224
3	11/01/2016	0	9	0,336

MOX, micro-oxigenación; NOX, nano-oxigenación. Adiciones de oxígeno para tratamientos MOX y NOX, comenzaron post muestreo correspondiente al tiempo 0.

La unidad experimental fue el vino contenido en cada depósito de acero inoxidable (total 9 unidades experimentales), correspondiendo 3 depósitos a barricas de acero inoxidable de 225 L (tratamiento control) y 6 depósitos correspondieron a cubas acero inoxidable de 21.400 L (3 cubas de tratamiento con nano-oxigenación y 3 cubas de tratamiento con micro-oxigenación). La unidad muestral fue de 750 mL de vino, contenidos en una botella de vidrio.

Manejo del ensayo

La uva fue cosechada desde un viñedo ubicado en Buin, Valle del Maipo, ($\approx 23\text{-}24^\circ\text{Brix}$) y se vinificó en la bodega de Viña Cousiño-Macul ubicada en Buin (RM), para luego pasar el vino a estanques de acero inoxidable de capacidad de 225 L y también a cubas de acero inoxidable de 21.400 L donde se aplicaron los distintos tratamientos. En todos los depósitos se aplicaron duelas de roble francés de tostado medio (Nadalié Sudamérica S.A.) en una dosis correspondiente al 15% de la superficie de contacto en relación a barrica, durante 90 días.

Para la aplicación de micro-oxigenación se utilizó un equipo Oenodev, modelo Eco-2 (Francia), provisto por la empresa Vivelys y para la nano-oxigenación se utilizó un equipo marca Michael Paetzold, modelo Deos Pro (Toulouse, Francia), provisto por la empresa Enovina. Así, luego de la fermentación maloláctica se aplicó nano-oxigenación en 3 cubas ($0,112\text{ mL L}^{-1}\text{ mes}^{-1}$) y en las otras 3 cubas se aplicó micro-oxigenación ($3\text{ mL L}^{-1}\text{ mes}^{-1}$).

Las muestras se obtuvieron desde el día 0 (solo vino control), el cual fue equivalente al inicio del ensayo y luego cada 30 días, hasta el día 90 de ensayo (para todos los vinos). En cada muestreo las botellas fueron inertizadas con nitrógeno, taponadas y trasladadas a los laboratorios, en donde se conservaron a 20°C y sin exposición a la luz.

Evaluaciones

Los análisis enológicos básicos que se efectuaron se detallan a continuación:

pH. Mediante potenciometría (Bordeu y Scarpa, 1998).

Para la medición del pH se utilizará un potenciómetro marca Hanna, modelo 8417 (España).

Acidez de titulación. Mediante titulación (Bordeu y Scarpa, 1998).

Acidez volátil. Mediante método de Blarez (Bordeu y Scarpa, 1998).

Anhídrido sulfuroso libre y total. Mediante método de Ripper (Bordeu y Scarpa, 1998).

Azúcares reductores. Mediante el método de Fehling (Bordeu y Scarpa, 1998).

Grado alcohólico. Medición con un aerómetro (Bordeu y Scarpa, 1998).

Los análisis fenólicos y polisacáridicos correspondieron a:

Fenoles totales. Medición espectrofotométrica DO 280 nm (García Barceló, 1990). Los análisis fenólicos se realizarán en un espectrofotómetro UV-VIS Pharmaspec, modelo UV-1700 (Shimadzu, Kyoto, Japón).

Taninos totales. Medición mediante precipitación con metilcelulosa (Mercurio *et al.*, 2007).

Antocianos totales. Mediante decoloración por bisulfito (García Barceló, 1990).

Perfil de antocianinas. Mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC-DAD) (Peña-Neira *et al.*, 2007)

Espacio CIEL*a*b*. Cálculo de los parámetros a*, b*, L*, C* y H*, mediante medición espectrofotométrica a 450, 520, 570 y 630 nm (CIE, 1986).

Intensidad colorante (IC): Medición por espectrofotometría a DO 420, 520 y 620 nm (Bordeu y Scarpa, 1998).

Fraccionamiento de polisacáridos según peso molecular. Se utilizó la metodología de Ayestarán *et al.* (2004), con modificaciones de acuerdo a las condiciones del laboratorio de Análisis Cromatográfico (HPLC-IR) (especificadas en anexo 2).

Análisis de Pigmentos Poliméricos. Se determinó el porcentaje (%) de pigmentos poliméricos de los vinos, a través del método diseñado por Boulton (1996).

Análisis estadístico

Los resultados fueron comparados y analizados mediante un diseño completamente aleatorizado con estructura en parcelas divididas (DCA – PD) y de existir diferencias significativas, se utilizó el test de rango múltiple LSD Fisher a un nivel de significancia del 5%. Los datos se analizaron mediante el programa estadístico INFOSTAT.

RESULTADOS

Análisis enológicos básicos

El Cuadro 2, muestra los valores de pH, acidez titulable, acidez volátil, anhídrido sulfuroso total y libre, grado alcohólico y azúcares reductores de los vinos del estudio. Se observó que los vinos con adición de oxígeno mediante la técnica de MOX y NOX, mantuvieron valores similares de los parámetros mencionados durante los 90 días del ensayo. En el caso del anhídrido sulfuroso, se determinó el contenido de la fracción libre y total de los vinos durante los 3 meses de aplicación de oxígeno. Así, se observó que los vinos con MOX presentaron contenidos significativamente menores de SO₂ libre en los 3 meses del ensayo, mientras que los mismos vinos presentaron un menor contenido de SO₂ total a los 30 días de la aplicación de oxígeno. Finalmente, se observó que en todos los vinos del estudio el contenido de SO₂ total aumentó gradualmente hacia el final del estudio.

Cuadro 2. Resultados análisis enológicos básicos

Tr/To	pH			
	día 0	día 30	día 60	día 90
Control	3,58±0,03 A	3,60±0,03 a A	3,61±0,03 a A	3,59±0,03 a A
MOX	-	3,59±0,03 a A	3,61±0,03 a A	3,60±0,03 a A
NOX	-	3,61±0,04 a A	3,61±0,03 a A	3,59±0,03 a A
Acidez titulable ¹				
Control	3,56±0,06 A	3,55±0,04 a A	3,55±0,05 a A	3,52±0,04 a A
MOX	-	3,55±0,05 a A	3,53±0,06 a A	3,52±0,03 a A
NOX	-	3,56±0,03 a A	3,56±0,03 a A	3,52±0,04 a A
Acidez volátil ²				
Control	0,43±0,02 A	0,45±0,03 a A	0,45±0,03 a A	0,45±0,04 a A
MOX	-	0,45±0,02 a A	0,44±0,02 a A	0,45±0,02 a A
NOX	-	0,43±0,03 a A	0,45±0,02 a A	0,45±0,03 a A
Alcohol ³				
Control	14,0±0,10 A	14,0±0,20 a A	14,1±0,15 a A	14,0±0,15 a A
MOX	-	13,9±0,30 a A	14,1±0,30 a A	14,0±0,03 a A
NOX	-	13,9±0,20 a A	14,1±0,15 a A	14,0±0,15 a A
Azúcares reductores ⁴				
Control	2,63±0,03 A	2,63±0,04 a A	2,61±0,03 a A	2,60±0,04 a A
MOX	-	2,63±0,02 a A	2,62±0,03 a A	2,60±0,04 a A
NOX	-	2,63±0,02 a A	2,62±0,06 a A	2,60±0,03 a A

continúa

Cuadro 2 (continuación)

		Anhídrido sulfuroso libre ⁵		
Control	30,0±2,00 A	19,5±2,01 a B	22,1±1,85 a B	19,2±2,30 a B
MOX	-	18,0±2,04 b A	17,6±1,85 b A	15,6±2,42 b A
NOX	-	19,7±2,15 a A	21,7±2,40 a A	20,7±2,23 a A
		Anhídrido sulfuroso total ⁵		
Control	45,1±2,18 C	49,9±1,66 a B	52,1±1,78 a AB	55,1±2,21 a A
MOX	-	47,7±2,41 b B	53,3±2,04 a AB	55,6±4,64 a A
NOX	-	50,0±1,90 a B	52,5±1,70 a AB	56,3±2,20 a A

Tr, tratamiento; To, tiempo; MOX, micro-oxigenación; NOX, nano-oxigenación. Promedios \pm desviación estándar (n=3). Adiciones de oxígeno se iniciaron post muestreo de tiempo 0. Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos en cada muestreo. Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas en un mismo tratamiento entre los tres muestreos (Test LSD Fisher, $p \leq 0,05$). ⁽¹⁾ g H₂SO₄ L⁻¹. ⁽²⁾ g ácido acético L⁻¹. ⁽³⁾ % v/v. ⁽⁴⁾ g glucosa L⁻¹. ⁽⁵⁾ ppm de SO₂.

Composición fenólica

En el Cuadro 3, se muestra el contenido de fenoles, taninos y antocianos totales de los vinos micro y nano-oxigenados. Se observó que los vinos con MOX mostraron una disminución significativa de fenoles totales comparados con el resto de los tratamientos. Del mismo modo, se observó que los vinos con MOX presentaron las menores concentraciones de fenoles totales con respecto al resto de los tratamientos en todos los muestreos. En el caso de los taninos totales, se observó una disminución paulatina del contenido de estos compuestos en los tratamientos oxigenados (MOX y NOX), mientras que el tratamiento control (sin adición de oxígeno) no presentó una modificación del contenido de taninos totales. Comparativamente, se observó que los vinos con MOX, presentaron los menores contenidos de taninos totales en los tres muestreos del estudio (Cuadro 3). Finalmente, en el Cuadro 3, se muestra que el contenido de antocianinas disminuyó gradualmente en los vinos con MOX y NOX hacia el final del estudio. Específicamente, se observó que los vinos con MOX presentaron un menor contenido de antocianinas que los vinos del tratamiento control.

Cuadro 3. Resultados análisis de fenoles, taninos y antocianos totales

		Fenoles totales ¹		
Tr/To	día 0	día 30	día 60	día 90
Control	1,59±0,03 A	1,59±0,02 a A	1,57±0,01 a A	1,57±0,02 a A
MOX	-	1,54±0,01 b A	1,49±0,02 b B	1,47±0,02 c B
NOX	-	1,55±0,02 a A	1,54±0,03 a A	1,51±0,02 b A
		Taninos totales ²		
Control	1,46±0,03 A	1,45±0,02 a A	1,43±0,01 a A	1,42±0,04 a A
MOX	-	1,36±0,01 b A	1,35±0,01 c A	1,30±0,03 c B
NOX	-	1,43±0,01 a A	1,39±0,01 b B	1,37±0,04 b B

continúa

Cuadro 3 (continuación)

Antocianos totales ³				
Control	0,56±0,02 A	0,55±0,01 a A	0,55±0,03 a A	0,54±0,04 a A
MOX	-	0,54±0,03 a A	0,52±0,02 b AB	0,50±0,02 b B
NOX	-	0,55±0,02 a A	0,53±0,02 ab AB	0,52±0,03 ab B

Tr, tratamiento; To, tiempo; MOX, micro-oxigenación; NOX, nano-oxigenación. Promedios \pm desviación estándar (n=3). Adiciones de oxígeno se iniciaron post muestreo de tiempo 0. Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos en cada muestreo. Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas en un mismo tratamiento entre los tres muestreos (Test LSD Fisher, $p \leq 0,05$). ⁽¹⁾ g EAG L⁻¹. ⁽²⁾ g (-) epicatequina L⁻¹. ⁽³⁾ g Malvidina-3-glucósido L⁻¹.

Propiedades cromáticas

En el Cuadro 4, se muestra el resultado de los análisis de pigmentos poliméricos (porcentaje (%)) e intensidad colorante (IC) de los vinos de los tratamientos control, MOX y NOX. Los vinos tratados con oxígeno (MOX y NOX), presentaron un % de pigmentos poliméricos significativamente mayor que la observada en los vinos del tratamiento control en las tres fechas de muestreos.

Por otro lado, se observó que todos los vinos del estudio mostraron un aumento gradual y significativo de los valores de IC. Comparativamente, los vinos con MOX presentaron valores mayores de IC con respecto a los vinos de los tratamientos NOX y control en todos los muestreos.

Cuadro 4. Resultados análisis cromáticos de pigmentos poliméricos (%) e intensidad colorante

Tr/To	% de pigmentos poliméricos			
	día 0	día 30	día 60	día 90
Control	19,82±0,51 A	20,34±0,23 c A	20,77±0,82 b A	22,03±0,26 b A
MOX	-	24,29±0,43 a A	24,16±0,66 a A	23,10±0,24 a A
NOX	-	22,21±1,68 b A	24,35±0,88 a A	24,44±0,60 a A
Intensidad Colorante ¹				
Control	1,11±0,03 B	1,13±0,03 b B	1,25±0,04 b A	1,28±0,02 b A
MOX	-	1,20±0,01 a B	1,33±0,02 a A	1,34±0,03 a A
NOX	-	1,14±0,03 b B	1,28±0,03 b A	1,28±0,03 b A

Tr, tratamiento; To, tiempo; MOX, micro-oxigenación; NOX, nano-oxigenación. Promedios \pm desviación estándar (n=3). Adiciones de oxígeno se iniciaron post muestreo de tiempo 0. Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos en cada muestreo. Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas en un mismo tratamiento entre los tres muestreos (Test LSD Fisher, $p \leq 0,05$). ⁽¹⁾ U.A (unidad de absorbancia).

Coordenadas cromáticas CIEL*a*b*

El Cuadro 5, presenta los resultados de los parámetros L*, a*, b*, C* y H*. Se observó que los parámetros de L* y H* disminuyeron significativamente hacia el final del estudio en todos los vinos del estudio. Por el contrario, el valor de los parámetros C*, a* y b* aumentaron progresivamente hasta el último muestreo.

Comparativamente, se observó que los vinos con MOX presentaron los mayores valores de la componente C* y b* en todos los muestreos. Mientras que los vinos con NOX destacaron por sus mayores valores de H* con respecto al resto de los tratamientos durante el estudio. No se observaron diferencias significativas entre los vinos con MOX, NOX y testigo con respecto al parámetro L*.

Cuadro 5. Resultados de los parámetros C*, L*, H*, a* y b* del análisis CIEL*a*b*

L*				
Tr/To	día 0	día 30	día 60	día 90
Control	55,0±1,00 A	54,7±1,32 a A	51,8±1,15 a B	51,4±1,00 a B
MOX	-	53,2±1,20 a A	51,3±1,35 a A	50,9±1,10 a A
NOX	-	54,7±1,13 a A	51,7±1,25 a B	51,4±0,92 a B
C*				
Control	45,4±0,90 C	46,9±0,84 b BC	48,9±1,21 b AB	49,7±1,32 b A
MOX	-	49,2±1,08 a B	51,3±1,27 a AB	52,0±1,11 a A
NOX	-	48,2±1,16 ab B	50,4±1,00 a AB	51,1±1,12 a A
H*				
Control	13,4±0,37 A	12,7±0,34 ab B	12,7±0,28 a B	11,2±0,29 b C
MOX	-	12,5±0,23 b A	11,3±0,36 b B	9,33±0,23 c C
NOX	-	13,3±0,40 a A	12,9±0,54 a AB	11,9±0,54 a B
a*				
Control	40,0±2,00 B	40,5±1,62 b AB	42,7±1,52 a AB	43,6±1,57 a A
MOX	-	43,4±1,46 a B	45,0±1,61 a A	46,0±1,55 a A
NOX	-	42,1±1,47 ab B	44,3±1,10 a AB	45,2±1,42 a A
b*				
Control	9,60±0,34 B	9,88±0,30 ab B	10,0±0,21 b B	10,9±0,32 b A
MOX	-	10,2±0,33 a C	11,2±0,32 a B	12,2±0,24 a A
NOX	-	9,62±0,13 b B	9,97±0,35 b B	10,5±0,30 b A

Tr, tratamiento; To, tiempo; MOX, micro-oxigenación; NOX, nano-oxigenación. Promedios ± desviación estándar (n=3). Adiciones de oxígeno se iniciaron post muestreo de tiempo 0. Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos en cada muestreo. Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas en un mismo tratamiento entre los tres muestreos (Test LSD Fisher, $p \leq 0,05$).

Perfil de antocianinas

En el Cuadro 6, se presentan las ocho antocianinas identificadas y cuantificadas por HPLC-DAD. La malvidina-3-glucósido correspondió a la antocianina más abundante en todos los tratamientos, mientras que la malvidina-3-cumarilglucósido fue la que presentó la menor concentración. Se observó que la totalidad de las antocianinas del estudio presentaron una disminución significativa entre el primer y cuarto muestreo, con excepción de la peonidina-3-acetilglucósido, cuya concentración permaneció inalterable durante el estudio. Comparativamente, se observó que los vinos con MOX presentaron concentraciones significativamente menores de malvidina-3-glucósido y delfinidina-3-glucósido con respecto al resto de los tratamientos en todos los muestreos del estudio. Asimismo, los vinos con MOX presentaron las menores de malvidina-3-cumarilglucósido y peonidina-3-glucósido, pero en uno y dos muestreos, respectivamente. En el resto de las antocianinas identificadas no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos.

Cuadro 6. Resultados del perfil de antocianinas

Tr/To	Delfinidina-3-glucósido ¹			
	día 0	día 30	día 60	día 90
Control	6,73±0,25 A	6,36±0,11 ab B	6,20±0,20 a B	6,06±0,05 a B
MOX	-	6,00±0,43 b A	5,70±0,20 b A	5,43±0,25 b B
NOX	-	6,56±0,20 a A	6,30±0,43 a AB	5,90±0,26 a B
Tr/To	Petunidina-3-glucósido ¹			
	día 0	día 30	día 60	día 90
Control	8,83±0,30 A	8,43±0,28 a AB	8,23±0,37 a BC	7,83±0,09 a C
MOX	-	8,33±0,28 a A	7,83±0,55 a B	6,73±0,20 b B
NOX	-	8,46±0,15 a A	7,76±0,25 a AB	7,96±0,47 a B
Tr/To	Peonidina-3-glucósido ¹			
	día 0	día 30	día 60	día 90
Control	5,56±0,50 A	5,76±0,30 a A	4,90±0,10 a B	4,66±0,10 a B
MOX	-	5,53±0,23 a A	3,00±0,26 b B	2,70±0,10 b B
NOX	-	5,50±0,26 a A	5,10±0,17 a AB	4,73±0,15 a B
Tr/To	Malvidina-3-glucósido ¹			
	día 0	día 30	día 60	día 90
Control	165,6±2,51 A	162,2±1,41 a A	157,9±2,68 a B	146,7±1,73 a C
MOX	-	150,6±1,71 b A	132,2±3,30 b B	126,4±2,01 b C
NOX	-	161,1±1,07 a A	157,7±1,70 a B	145,1±2,94 a C
Tr/To	Peonidina-3-acetilglucósido ¹			
	día 0	día 30	día 60	día 90
Control	0,40±0,20 A	0,86±0,30 a A	0,76±0,41 a A	0,80±0,25 a A
MOX	-	1,36±0,53 a A	1,03±0,62 a A	0,83±0,15 a A
NOX	-	0,83±0,45 a A	0,83±0,23 a A	0,90±0,34 a A

continúa

Cuadro 6 (continuación)

Malvidina-3-acetilglucósido ¹				
Control	36,3±2,00 A	36,4±1,19 a A	24,3±0,85 a B	23,0±1,35 a B
MOX	-	35,8±1,33 a A	24,0±1,81 a B	23,2±2,57 a B
NOX	-	35,9±1,42 a A	24,7±1,76 a B	22,6±1,01 a B
Peonidina-3-cumarilglucósido ¹				
Control	0,80±0,10 A	0,83±0,05 a A	0,62±0,05 a B	0,50±0,04 a B
MOX	-	0,73±0,11 a A	0,61±0,06 a AB	0,56±0,05 a B
NOX	-	0,73±0,11 a A	0,60±0,04 a B	0,50±0,09 a B
Malvidina-3-cumarilglucósido ¹				
Control	10,2±0,50 A	9,73±0,15 a A	6,33±0,11 ab B	5,60±0,30 a C
MOX	-	9,43±0,11 a A	6,06±0,05 b B	5,66±0,23 a C
NOX	-	9,46±0,15 a A	6,46±0,05 a B	5,53±0,05 a C

Tr, tratamiento; To, tiempo; MOX, micro-oxigenación; NOX, nano-oxigenación. Promedios ± desviación estándar (n=3). Adiciones de oxígeno se iniciaron post muestreo de tiempo 0. Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos en cada muestreo. Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas en un mismo tratamiento entre los tres muestreos (Test LSD Fisher, $p \leq 0,05$). ⁽¹⁾ Expresado en mg L^{-1} de Malvidina-3-glucosido.

Fraccionamiento de polisacáridos

En el Cuadro 7, se muestra el contenido de cada una de las fracciones de polisacáridos cuantificadas en los vinos del ensayo. En todos los vinos estudiados, es posible observar una disminución paulatina y significativa de cada fracción polisacáridica durante los 90 días de estudio. Comparativamente, el vino con MOX presentó las menores concentraciones de todas las fracciones polisacáridicas analizadas durante las tres fechas de muestreos con respecto a los vinos con NOX y sin adición de oxígeno.

Cuadro 7. Resultados de fraccionamiento de polisacáridos

Polisacáridos neutros ¹				
Tr/To	día 0	día 30	día 60	día 90
Control	0,31±0,01 A	0,31±0,02 a A	0,30±0,02 a AB	0,28±0,02 a B
MOX	-	0,29±0,02 a A	0,24±0,02 b B	0,20±0,03 b C
NOX	-	0,30±0,01 a A	0,28±0,03 a B	0,28±0,02 a B
Polisacáridos ácidos ¹				
Control	0,45±0,02 A	0,45±0,01 a A	0,41±0,03 b B	0,41±0,02 a B
MOX	-	0,42±0,02 b A	0,38±0,01 c B	0,34±0,03 b C
NOX	-	0,45±0,01 a A	0,43±0,02 a A	0,41±0,01 a B

Continúa

Cuadro 7 (continuación)

Oligosacáridos ¹				
Control	1,01±0,03 A	0,93±0,02 a B	0,88±0,04 a BC	0,85±0,03 a C
MOX	-	0,85±0,01 b A	0,76±0,02 b B	0,66±0,02 b C
NOX	-	0,86±0,01 b AB	0,90±0,01 a A	0,81±0,02 a B

Tr, tratamiento; To, tiempo; MOX, micro-oxigenación; NOX, nano-oxigenación. Promedios ± desviación estándar (n=3). Adiciones de oxígeno se iniciaron post muestreo de tiempo 0. Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos en cada muestreo. Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas en un mismo tratamiento entre los tres muestreos (Test LSD Fisher, $p \leq 0,05$). ⁽¹⁾Expresados en g L⁻¹.

DISCUSIÓN

El oxígeno en estado natural es un gas incoloro, inodoro e insípido y ligeramente más pesado que el aire, el cual ha sido ampliamente analizado por su gran capacidad de reaccionar con casi todos los elementos químicos (du Toit et al., 2006; Nevares y Del Álamo, 2008; Moreno y Peinado, 2012c). En el caso de la elaboración de vinos, el oxígeno puede ser incorporado al mosto y al 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 (du Toit et al., 2006; Vidal y Aagaard, 2008). En la crianza en botellas, varía según el tipo de corcho usado, ya que el corcho natural es un material poroso en comparación a la tapa rosca. Mientras que en barricas el ingreso de oxígeno es un proceso lento a través de los poros de la madera y la unión entre duelas (Pérez-Magariño et al., 2008). De cualquier modo, la incorporación de oxígeno al vino es un procedimiento deseable, ya que aporta en diversas propiedades organolépticas beneficiosas para los vinos (Oberholster et al., 2014; Nevares y Del Álamo, 2008).

Actualmente, existen dos técnicas que permiten la adición programada de oxígeno al vino en diferentes etapas de la vinificación: la micro-oxigenación (MOX) y nano-oxigenación (NOX). La MOX ha sido una técnica ampliamente estudiada, mientras que la NOX ha irrumpido en la actualidad como una técnica que permitiría aplicar menores dosis de oxígeno con un arrastre previo del oxígeno disuelto, lo cual podría afectar diferencialmente las características sensoriales de los vinos (Paetzold, 2012). A pesar de lo anterior, escasos estudios han evaluado el efecto comparativo de ambas técnicas durante el período de crianza. En éste estudio se evaluó el efecto de estas dos técnicas de adición de oxígeno (MOX y NOX) sobre la composición química de un vino Cabernet Sauvignon.

Durante los 90 días del estudio, se observó que en los vinos con adición de oxígeno (MOX y NOX) y sin adición (control), los valores de diversos parámetros generales (pH, acidez titulable, acidez volátil, grado alcohólico y azúcares reductores), y el parámetro % de pigmentos poliméricos permanecieron constantes. Esta observación revelaría que la adición de oxígeno al vino utilizado en este estudio, no provocaría una modificación de los parámetros antes mencionados, lo cual es coincidente con lo observado en otros estudios (Cejudo-Bastante et al., 2011b; Parpinello et al., 2012; Cejudo-Bastante et al., 2011c). Contrariamente, los valores de intensidad colorante y las componentes C*, a* y b*, aumentaron paulatinamente en el tiempo, similar a lo descrito por otros autores (Sartini et al., 2007; García-Marino et al., 2013; Cejudo-Bastante et al., 2011a). Mientras que los valores de L*, H*, algunas antocianinas y polisacáridos disminuyeron gradualmente hacia el final del estudio.

Con respecto al comportamiento de los polisacáridos, Guadalupe y Ayestarán (2007), observaron una disminución paulatina de estos compuestos en el tiempo, siendo las de menor peso molecular las que disminuyen en mayor medida, lo que coincide con éste estudio. Esta tendencia se debería a la mayor susceptibilidad de dicha fracción a la oxidación y/o a la mayor asociatividad con otros componentes del vino (Duan y Kasper, 2010). Finalmente, se observó que los vinos con MOX presentaron concentraciones menores de SO₂ libre en todos los muestreos del estudio. Esta observación estaría relacionada con los mayores aportes de oxígeno de esta técnica, en comparación con la

NOX, la cual aporta cantidades sustancialmente menores de éste gas (Danilewicz, 2008).

No obstante lo anterior, también se observó que independiente de la técnica de oxigenación, tanto los vinos MOX como NOX, afectaron la concentración de taninos y antocianos totales, presentando una disminución significativa respecto del vino control. En un estudio complementario, se ha observado que los vinos con adición de oxígeno presentarían un mayor contenido de la fracción oligomérica y polimérica de flavanoles (Infante, 2016). Además, estudios previos han reportado que la disminución de taninos por adición de oxígeno se relacionaría con la naturaleza antioxidante de estos compuestos, la precipitación de polímeros de gran tamaño y/o por la unión de taninos con otros fenoles y compuestos como polisacáridos (Oberholster y du Toit, 2012; Salmon, 2005), lo que provocaría una dificultad de cuantificarlo mediante el método de precipitación con metilcelulosa, el cual cuantifica principalmente oligómeros y polímeros de taninos (Narvaez, 2010). Por otro lado, Sartini et al. (2007), Tao et al. (2007), Cejudo-Bastante et al. (2011a) y Buzo et al. (2014), mencionan que la disminución de los antocianos en el tiempo, se debería a procesos de polimerización y formación de pigmentos poliméricos, entre antocianos, taninos y/o polisacáridos promovidos por la presencia de acetaldehído, lo cual generaría nuevas moléculas de mayor complejidad y tamaño producto del oxígeno añadido (Cheyner et al., 2006).

En un análisis paralelo, los resultados del estudio permitieron observar efectos significativamente diferentes sobre la composición química de los vinos, al utilizar MOX o NOX. Así, se observó que los vinos con MOX presentaron menores contenidos de fenoles totales, taninos totales, algunas antocianinas identificadas por HPLC-DAD y la totalidad de las fracciones de polisacáridos con respecto al resto de los tratamientos. Esta tendencia se debería a la entrega mayor y continua de oxígeno por parte de MOX, lo cual implicaría un aumento de las reacciones de oxidación, condensación y precipitación tanto de fenoles (taninos y antocianinas) como de polisacáridos (Oberholster y du Toit, 2012; Llaudy et al., 2006; Pérez-Magariño et al., 2007; Salmon, 2005). Diversos estudios han determinado que el descenso del contenido de fenoles, taninos y polisacáridos (Cejudo-Bastante et al., 2012; Oberholster y du Toit, 2012; Duan y Kasper, 2010; Salmon, 2005), se asociaría a la mayor generación de acetaldehído durante la MOX, lo cual aumentaría los pigmentos poliméricos, polimerización de compuestos o precipitación (Silva, 2008; Cheyner et al., 2006). Asimismo, la disminución de estos compuestos podría estar relacionada con la función de coloide protector de los polisacáridos, lo cual generaría una asociación con diversos componentes fenólicos, provocando una disminución en la detección de ambos componentes (Riou et al., 2002). Se ha reportado que la unión de estos polisacáridos con distintos fenoles ejercería un efecto estabilizador en el color del vino, podría generar una reducción de la astringencia y amargor, y aumentaría el poder antioxidante del vino (Caridi et al., 2004; Guadalupe et al., 2007; Riou et al., 2002; Poncet-Legrand et al., 2007; Ozawa et al., 1987).

Es importante mencionar que con respecto a MOX, la técnica de NOX provocó una menor disminución de antocianos y un mayor % de pigmentos poliméricos. Del mismo modo, es destacable que los vinos con NOX, mostraron contenidos significativamente menores de fenoles y taninos totales con respecto al control, 30 días antes que los vinos con MOX, lo que evidenciaría que la técnica de NOX adelantaría los efectos sobre los fenoles, mientras que la MOX tardaría más tiempo en generar similares consecuencias. Ambas observaciones derivadas de este estudio, demostrarían que las técnicas de MOX y NOX tienen un efecto diferencial sobre la composición fenólica, lo que estaría en estrecha

relación con las diferencias tecnológicas de la aplicación de oxígeno que diferencian a ambas técnicas.

No obstante lo anterior, los vinos con MOX presentaron valores mayores de intensidad colorante y componente b^* , mientras que estos mismos vinos presentaron menores valores H^* con respecto a los vinos con NOX y testigos. El parámetro H^* corresponde al tono (315° : violeta y 0° : rosado), a^* varía entre el color rojo (+) y verde (-), mientras que b^* varía entre el color amarillo (+) y azul (-) (Cassasa y Sari, 2006). Es interesante notar, que el contenido de antocianos se ha relacionado directamente con los valores de intensidad de colorante (Cassasa y Sari, 2006). Sin embargo, en este estudio se observó que los vinos con MOX presentaron una menor cantidad de antocianos totales pero altos valores de intensidad colorante. El aumento de la intensidad colorante en los vinos con MOX estaría relacionado con el aumento de la componente amarilla (absorbancia a 420 nm), lo que se relacionaría a su vez con el mayor valor de la componente b^* , que se vincula con este color. Llaudy et al. (2006) y Cejudo-Bastante et al. (2011a), explican que los vinos con MOX presentarían colores que virarían hacia el amarillo, provocando un aumento gradual de la componente b^* en el tiempo. Probablemente, las condiciones de adición de oxígeno mediante MOX fomentaría la formación de piranoantocianos de color teja (Cejudo-Bastante et al., 2012) y la oxidación de antocianos para formar calconas *cis* y *trans* (Flanzy, 2000; du Toit et al., 2006). Pérez-Magariño et al. (2007) y Sartini et al. (2007), reportan que el aumento de la intensidad colorante se relacionaría con la formación de nuevas moléculas complejas, que presentan mayor resistencia a la decoloración por anhídrido sulfuroso, cambios de pH, oxidación y en algunos casos a la precipitación (Escribano-Bailón et al., 2001), los cuales no serían cuantificadas (Remy et al., 2000; Zamora, 2003a).

Como es posible apreciar en los resultados aquí presentados, se puede determinar y comprobar que existen efectos diferenciales para cada una de las técnicas estudiadas, pudiendo afectar en diferente medida las variables analizadas, principalmente aquellas que tienen relación con la composición fenólica, cromática y polisacáridica, en donde es posible observar que los vinos sometidos a MOX presentan diferencias significativas en la mayoría de las variables con el vino control, a diferencia de los vinos sometidos a NOX que presentan un comportamiento intermedio, logrando mantener las variaciones observadas en el control para algunas variables, a pesar de aportar oxígeno en bajas dosis y también, en otros casos de menor frecuencia, teniendo mayor similitud al vino MOX en cuanto a la evolución de otras variables. Si bien este estudio permite aportar información particular acerca de un vino chileno del cv. Cabernet Sauvignon y su evolución durante la crianza con MOX y NOX, en la práctica aún quedan numerosos aspectos a considerar en futuros estudios sobre éste interesante tema para la enología.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos, se acepta parcialmente la hipótesis, ya que los vinos tratados con micro-oxigenación presentaron diferencias específicas con respecto a los vinos tratados con nano-oxigenación. Así, los vinos con micro-oxigenación presentaron menores concentraciones de fenoles totales, taninos totales, antocianinas glucosiladas y todas las fracciones de polisacáridos. Además, se observó que los vinos micro-oxigenados presentaron menores valores del parámetro de matiz (H^*).

Finalmente, no se observaron diferencias en la evolución en el tiempo de los distintos parámetros analizados, salvo en el contenido de fenoles totales, donde los vinos con micro-oxigenación presentaron una tendencia decreciente hacia el final del estudio, mientras que los vinos con nano-oxigenación mantuvieron inalterable la concentración de estos compuestos.

LITERATURA CITADA

Araya, D. 20 de agosto de 2016. Resultados memoria de título NOX. [correo electrónico]. Recuperado en: <davidaraya@ug.uchile.cl> Consultado el: 10 de septiembre de 2016.

Ayestarán, B.; Z. Guadalupe; and D. León. 2004, jun. Quantification of major grape polysaccharides (Tempranillo v.) released by maceration enzymes during the fermentation process. *Analytica Chimica Acta*, 513 (1): 29-39.

Bordeu, E. y J. Scarpa. 1998. Análisis Químico del Vino. Ediciones. Universidad Católica de Chile. 253 p.

Boulton, R. 1996, apr. Methods for the assessment of copigmentation in red wines. 47th Annual Meeting of the American Society for Enology and Viticulture, Reno.

Buzo, R.; I. Malollari; V. Makolli and M. Luka. 2014, mar. Chemical and physical arrangements and ecological impact on red wine micro-oxygenation. *Journal of Environmental Protection and Ecology* 15, 2: 616-622.

Cano-López, M.; F. Pardo-Mínguez; J. López-Roca and E. Gómez-Plaza. 2007, may. Chromatic characteristics and anthocyanin profile of a micro-oxygenated red wine after oak or bottle maturation. *European Food Research and Technology*, 225: 125–132.

Caridi A.; A. Cufari; R. Lovino; R. Palumbo and I. Tedesco. 2004, feb. Influence of yeast on polyphenols composition of wine. *Food Technol. Biotechnol*, 42: 37 –40.

Cassasa F. y S. Sari. 2006, nov. Aplicación del sistema Cie-Lab a los vinos tintos. Correlación con algunos parámetros tradicionales. *Revista Enología* N° III.

Castellari, M., L. Matricardi, G. Arfelli, S. Galassi and A. Amati. 2000, apr. Level of single bioactive phenolics in red wine as a function of the oxygen supplied during storage. *Food Chemistry*, 69(1): 61-67.

Cejudo-Bastante, M.; I. Hermosín-Gutiérrez and M. Pérez-Coello. 2012, jun. Improvement of Cencibel Red Wines by Oxygen Addition after Malolactic Fermentation: Study on Color-Related Phenolics, Volatile Composition, and Sensory Characteristics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60: 9962-9973.

Cejudo-Bastante, M.; I. Hermosín-Gutiérrez and M. Pérez-Coello. 2011a, jun. Micro-oxygenation and oak chip treatments of red wines: Effects on colour-related phenolics, volatile composition and sensory characteristics. Part I: Petit Verdot wines. *Food Chemistry*, 124: 727-737.

Cejudo-Bastante, M.; I. Hermosín-Gutiérrez and M. Pérez-Coello. 2011b, jul. Micro-oxygenation and oak chip treatments of red wines: Effects on colour-related phenolics, volatile composition and sensory characteristics. Part II: Merlot wines. *Food Chemistry*, 124: 738-748.

Cejudo-Bastante, M.; M. Pérez-Coello and I. Hermosín-Gutiérrez. 2011c, oct. Effect of wine micro-oxygenation treatment and storage period on colour-related phenolics, volatile composition and sensory characteristics. *Food Science and Technology*, 44: 866-874.

Cheyrier, V.; M. Dueñas-Paton; E. Salas; C. Maury; J. Souquet; P- Sarni-Monchado and H. Fulcrand. 2006, sep. Structure and properties of wine pigments and tannins. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57: 298-305.

Commision Internationale de L'Éclairage (CIE). 1986. Technical report. Colorimetry. 2nd Edition. CIE 15.2. Viena, Austria.

Danilewicz, J. 2008, mar. Interaction of sulfur dioxide, polyphenols, and oxygen in a wine-model system: Central role of iron and copper. *American Journal of Enology and Viticulture*, 58: 53–60.

du Toit, W.; J. Marais; I. Pretorius and M. du Toit. 2006, apr. Oxygen in must and wine: a review. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 27: 76-94.

Duan, J. and D. Kasper. 2010, oct. Oxidative depolymerisation of polysaccharides by reactive oxygen/nitrogen species. *Glycobiology*, 21: 401-409.

Escribano-Bailón, T.; M. Álvarez-García; J. Rivas-Gonzalo; F. Heredia and C. Santos-Buelga. 2001, feb. Color and stability of pigments derived from the acetaldehyde-mediated condensation between malvidin 3-O-glucoside and (+)-catechin. *Journal of agricultural and Food Chemistry*, 49: 1213-1217.

Flanzy, C. 2000. Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos. AMV. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. 783 p.

García-Barceló, J. 1990. Técnicas Analíticas para Vinos. GAB, Barcelona, España. 300p.

García-Marino M.; M. Escudero-Gilete; F. Heredia; M. Escribano-Bailón y J. Rivas-Gonzalo. 2013, apr. Color-copigmentation study by tristimulus colorimetry (CIELAB) in red wines obtained from Tempranillo and Graciano varieties. *Food Research International*, 51: 123–131.

González-Manzano, S.; C. Santos-Buelga; M. Dueñas; J. Rivas-Gonzalo and T. Escribano-Bailón. 2008, jan. Colour implications of self-association processes of wine anthocyanins. *European Food Research and Technology*, 226: 483–490.

Guadalupe, Z., and B. Ayestarán. 2007, oct. Polysaccharide profile and content during the vinification and aging of Tempranillo red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 10720–10728.

Guadalupe, Z.; A. Palacios and B. Ayestarán. 2007, nov. Maceration Enzymes and Mannoproteins: A possible strategy to increase colloidal stability and color extraction in red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 4854-4862.

Infante, O. 14 de agosto de 2016. Resultados fraccionamiento de taninos hedmanito.

[correo electrónico]. Recuperado en: <campana.andy@gmail.com> Consultado el: 15 de agosto de 2016.

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

Llaudy, M.; R. Canals; S. González-Manzano; J. Canals; C. Santos-Buelga and F. Zamora. 2006, may. 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.

Mercurio, M., R. Damberg, M. Herderich, and P. Smith. 2007, jun. High throughput analysis of red wine and grape phenolics adaptation and validation of methyl cellulose precipitable tannin assay and modified somers color assay to a rapid 96 well plate format. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 55: 4651–4657.

Moreno, J. and R. Peinado. 2012a. Composition of wine, (cap. 4, pp. 45-52). In: *Enological Chemistry*. España: Elsevier. 442p.

Moreno, J. and R. Peinado. 2012b. Polyphenols, (cap. 5, pp. 54-61). In: *Enological Chemistry*. España: Elsevier. 442p.

Moreno, J. and R. Peinado. 2012c. Redox Phenomena in Must and Wine, (cap. 17, pp. 289-302). In: *Enological Chemistry*. España: Elsevier. 442p.

Narvaez, J. 2010. Comparación de tres métodos de medición de taninos totales y su relación con la astringencia y el amargor percibidos por un panel de degustación especializado. Tesis Ingeniero Agrónomo y Magister en Enología y Vitivinicultura. Santiago, Chile: Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. 107p.

Nevares, I. and M. Del Álamo. 2008, jul. Measurement of dissolved oxygen during red wines tank aging with chips and micro-oxygenation. *Analytica Chimica Acta*, 621: 68–78.

Oberholster, A.; B. Elmendorf; L. Lerno; E. King and H. Heymann. 2014, oct. Barrel maturation, oak alternatives and micro-oxygenation: Influence on red wine aging and quality. *Food Chemistry*, 173: 1250-1258.

Oberholster, A. and W. du Toit. 2012, jan. Monitoring the Effect of Micro-Oxygenation before Malolactic Fermentation on South African Pinotage Red Wine with Different Colour and Phenolic Analyses. *South African Journal for Enology and Viticulture*, 2: 150-160.

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

Ozawa, T.; T. Lilley and E. Haslam. 1987. Polyphenol interactions. 3. – Astringency and the loss of astringency in ripening fruit. *Phytochemistry*, 26: 2937–2942.

Paetzold Michael. 2012. DE(O₂)S crianza matricial por nano-oxigenación. (Bol. Tec.), Cadaujac, Francia. 36p.

Parpinello, G.; F. Plumejeau; C. Maury and A. Versari. 2012, mar. Effect of micro-oxygenation on sensory characteristics and consumer preference of Cabernet Sauvignon wine. *Journal of the Science of Food and Agricultura*, 92(6): 1234-44.

Paul, R. 2002. Micro-oxygenation – Where now? In Proceedings of the ASVO seminar uses of gases in winemaking. *Adelaide: Australian Society of Viticulture and Oenologie*. 4: 23-27.

Peña-Neira, A.; A. Caceres y C. Pastenes. 2007, apr. Low molecular weight phenolic and anthocyanin composition of grape skins from cv. Syrah (*Vitis vinifera* L.) in the Maipo Valley (Chile): Effect of clusters thinning and vineyard yield. *Food Science and Technology International*, 13(2): 153-158.

Peña-Neira, A. 2003. Composición fenólica de uva y vinos. Aspectos generales. [En línea]. Facultad de ciencias agronómicas. Departamento de agroindustria y enología. Universidad de Chile. Recuperado en: <<http://www.gie.uchile.cl/publicaciones/index.html>>. Consultado el: 8 de diciembre de 2011.

Pérez-Magariño, S.; M. Ortega-Heras; M. Cano-Mozo and M. González-Sanjosé. 2008, sep. The influence of oak wood chips, micro-oxygenation treatment, and grape variety on colour, and anthocyanin and phenolic composition of red wines. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22: 204-211.

Pérez-Magariño, S.; M. Sánchez-Iglesias; M. Ortega-Heras; C. González-Huerta and M. González-Sanjosé. 2007, jun. Colour stabilization of red wines by microoxygenation treatment before malolactic fermentation. *Food Chemistry*, 101: 881–893.

Poncet-Legrand, C.; T. Doco; P. Williams and A. Vernhet. 2007, mar. Inhibition of grape seed tannin aggregation by wine mannoproteins: Effect of polysaccharide molecular weight. *American Journal of Enology and Viticulture*, 58: 87–91.

Remy, S., Fulcrand, H., Labarbe, B., Cheynier, V. and Moutounet, M. 2000, apr. First confirmation in red wine of products resulting from direct anthocyanin–tannin reactions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80: 745–751.

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

Salmon, J. M. 2005, nov. Interactions between yeast, oxygen and polyphenols during alcoholic fermentations: Practical implications. *Food Science and Technology*, 39: 959–965.

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

Silva, R. 2008. Caracterización de un vino del cv Cabernet Sauvignon envejecido en barricas de roble americano y francés tostadas por dos métodos. Memoria de Título

Ingeniero Agrónomo. Santiago, Chile: Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. 71p.

Tao, J.; S. Dykes and P. Kilmartin. 2007, jun. Effect of SO₂ concentration on polyphenol development during red wine micro-oxygenation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 6104–6109.

Vidal, S. and O. Aagaard. 2008, oct. Oxygen management during vinification and storage on Shiraz. *Wine Industry Journal*, 23 (5).

Zamora, F. 2003a. La copigmentación; un factor determinante del color del vino tinto. Unidad de Enología del Centro de Referencia en Tecnología (CeRTA). España: Departamento de Bioquímica y Biotecnología. Facultad de Enología de Tarragona, Universidad Rovira i Virgili. 8p.

ANEXOS

ANEXO 1

Protocolo de vinificación Viña Cousiño Macul

La cosecha se realizó con 23-24° Brix de madurez de las bayas, luego se procedió al despalillado y molienda, donde se adicionó SO₂ en una dosis de 40 a 60 g hL⁻¹ y se realizó corrección de acidez con adición de ácido tartárico, para alcanzar una acidez total de 5,0 a 5,5 g equivalentes a H₂SO₄. Además dependiendo del análisis de FAN se corrigió con producto a base de fosfato diamonio. Luego de hechas las correcciones, se inoculó el depósito con levadura comercial (Lallemand EC1118) en dosis de 20 g hL⁻¹, previa hidratación y un remontaje de homogeneización.

La temperatura de fermentación fue de 25 a 28 °C. Desde el inicio de la fermentación hasta alcanzar 1.070 mg mL⁻¹ de densidad, se hicieron de 2 a 3 remontajes cerrados diarios (hacer pasar de 1.0 a 1,5 veces el volumen del depósito por remontaje). También en 1.070 mg mL⁻¹ de densidad se hizo un delestaje (dependiendo de la disponibilidad de los depósitos). Una vez alcanzado los 1.050 mg mL⁻¹ de densidad se realizó un remontaje abierto y adicionó algún suplemento nitrogenado que puede incluir paredes de levaduras. Desde 1.070 mg mL⁻¹ de densidad se bajó de 2 a 1 remontajes diarios, hasta alcanzar 1.000 mg mL⁻¹ de densidad, desde la cual sólo se mojó el sombrero. El término de la maceración post-fermentativa dependió de la degustación del equipo enológico, tiempo en el cual se controló acidez volátil. Una vez terminado el proceso de fermentación se descubó y se llevaron a cabo los análisis enológicos generales.

ANEXO 2

Fraccionamiento de polisacáridos según peso molecular

En el fraccionamiento de polisacáridos según peso molecular se utilizó un equipo de cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) Agilent 1260 Infinity Serie (Alemania), equipado con una bomba cuaternaria G1311B, dos detectores de índice de refracción G1362A y G1315D, dos columnas en serie Shodex SB-803 HQ y SB-804 HQ (Japón) y un computador. Para la extracción de polisacáridos de las muestras de vinos se ocupó una centrifuga Heraeus Labofuge 400 (Alemania) y un rotavapor B Büchi B-491 (Suiza).

Los polisacáridos se cuantificaron utilizando dextranos y pectinas (*Leuconostoc mesenteroides*) adquiridos de Analytical Fluka, marca Sigma-Aldrich Corporation (Saint Louis Missouri, EE.UU), además de formiato de amonio, HCl y etanol (96% v/v) adquiridos de Merck (Santiago, Chile).

Se utilizó la metodología de Ayestarán *et al.* (2004), con modificaciones de acuerdo a las condiciones del laboratorio, detalladas a continuación. Para la identificación de los polisacáridos, se tomaron 25 mL de muestra de vino (se centrifugaron a 3.500 rpm, 30 minutos si aún quedan restos vegetales), para posteriormente tomar 10 mL y concentrar a 1/5 del volumen inicial en un rotavapor (35 °C). La fracción insoluble obtenida (alrededor de 2 mL) se precipitará con 10 mL de solución 0,3 M HCl en etanol frío al 96% v/v, refrigerándose por 18 a 24 horas. Luego se procedió a centrifugar las muestras (3.500 rpm, 25 min). El precipitado obtenido se lavó con 1 mL de etanol ácido frío (96%

v/v) y finalmente los residuos se secaron en estufa a 50 °C por 1 hora. La fracción obtenida se reconstituye en fase móvil de Formiato de Amonio 30 mM, filtrándola por medio de membranas de 0,22 µm. Las fracciones de mezclas de polisacáridos según el peso molecular se detectaron con cromatografía líquida de alta eficacia, donde el flujo y volumen de inyección es de 0,6 mL min⁻¹ y 100 µL, respectivamente. Para la cuantificación de las fracciones se utilizó una curva de calibración a partir de estándares de Dextranos y Pectinas.

ANEXO 3

Resultados fraccionamiento de taninos

Cuadro 1. Resultados del análisis de fraccionamiento de taninos

Fracción Monomérica (FI) ¹				
Tr/To	día 0	día 30	día 60	día 90
Control	34,5±1,52 A	33,6±1,44 a A	33,3±1,31 a A	32,1±1,33 a A
MOX	-	31,8±1,09 b A	30,8±1,12 b A	29,1±0,64 c B
NOX	-	33,7± 1,17 a A	33,0±1,32 a A	31,2±1,21 b B
Fracción Oligomérica (FII) ¹				
Control	61,2±1,29 B	61,5±1,23 a B	63,0±2,64 b AB	64,9±1,48 b A
MOX	-	63,5± 3,72 a B	70,9± 4,90 a AB	74,8±4,72 a A
NOX	-	63,5±2,09 a A	66,6±1,04 ab AB	69,8±3,52 ab B
Fracción Polimérica (FIII) ²				
Control	1,02±0,02 A	1,03±0,02 a A	1,05±0,03 b A	1,07±0,02 b A
MOX	-	1,05±0,02 a B	1,12±0,02 a A	1,16±0,02 a A
NOX	-	1,05±0,02 a B	1,08±0,02 ab B	1,15±0,03 a A

Tr, tratamiento; To, tiempo; MOX, micro-oxigenación; NOX, nano-oxigenación. Promedios ± desviación estándar (n=3). Adiciones de oxígeno se iniciaron post muestreo de tiempo 0. Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos en cada muestreo. Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas en un mismo tratamiento entre los tres muestreos (Test LSD Fisher, p ≤ 0,05). ⁽¹⁾ mg (+) catequina L⁻¹. ⁽²⁾ g (+) catequina L⁻¹. (Infante, 2016).