



**TEXTUROMETRÍA DE VIRUTAS PARA USO ENOLÓGICO
Y RELACIÓN CON LA EXTRACTABILIDAD DE COMPUESTOS FENÓLICOS**



Manuel 

**MANUEL JESÚS LÓPEZ SILVA
FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD DE SEVILLA**



GRADO EN FARMACIA

FACULTAD DE FARMACIA

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

TRABAJO FIN DE GRADO

**TEXTUROMETRÍA DE VIRUTAS PARA USO ENOLÓGICO
Y RELACIÓN CON LA EXTRACTABILIDAD DE COMPUESTOS FENÓLICOS**

REALIZADO POR MANUEL JESÚS LÓPEZ SILVA

**DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN Y BROMATOLOGÍA, TOXICOLOGÍA
Y MEDICINA LEGAL**

TUTOR: Dr. JULIO NOGALES BUENO

COTUTOR: Dr. JOSÉ MIGUEL HERNÁNDEZ HIERRO

TRABAJO EXPERIMENTAL

SEVILLA, 12 DE DICIEMBRE DE 2018

RESUMEN

Los fragmentos de madera tostados (o 'chips') están aprobados para su uso por la industria enológica en la crianza del vino. Con los 'chips', de igual manera que con las barricas, se alcanza una crianza adecuada aunque el resultado final sea ligeramente distinto, ya que éstos se obtienen de las mismas maderas empleadas en la elaboración de dichas barricas, con lo cual los perfiles en compuestos fenólicos de 'chips' y barricas suelen ser similares. En el presente estudio se trabaja con virutas de madera que se obtienen como subproducto de la elaboración de barricas, estudiando en dichas virutas su comportamiento en cuanto a cesión de compuestos fenólicos, con el fin de comprobar si esta característica se relaciona con su macroestructura.

Para ello, se hace una selección de muestras, mediante espectroscopía de infrarrojo cercano, siendo representativa del total de muestras disponibles para el estudio. A las virutas seleccionadas se les realiza un ensayo para determinar su extractabilidad de compuestos fenólicos, lo que permite establecer una clasificación de éstas en función de dicha característica en tres grupos de extractabilidad 'alta', 'media' y 'baja'. Se realiza también a estas muestras un ensayo de textura obteniendo información relacionada con la macroestructura de las virutas.

Finalmente, los resultados obtenidos en el ensayo texturométrico se someten a un estudio estadístico con el que se pretende relacionar la extractabilidad de compuestos fenólicos y la deformación de éstas, para dilucidar si la estructura se relaciona con el comportamiento en cuanto a la cesión de dichos compuestos y determinar un posible uso de la texturometría de las virutas en la industria enológica.

PALABRAS CLAVE: virutas, extractabilidad, compuestos fenólicos, textura.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	3
1.1. EL VINO. INTRODUCCIÓN GENERAL.	3
1.2. EL ROBLE Y LAS BARRICAS.....	3
1.3. COMPOSICIÓN EN COMPUESTOS FENÓLICOS DE LA MADERA DE ROBLE.	4
1.4. LA CRIANZA DEL VINO.	5
1.5. TRANSFERENCIA DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS DESDE LA MADERA AL VINO.	6
1.5.1. Estabilización del color por la cesión de compuestos fenólicos.	6
1.5.2. Influencia de la cesión de compuestos fenólicos en el aroma y el sabor del vino.	7
1.6. ‘CHIPS’ DE MADERA Y SU USO EN VINOS.	9
1.7. LA TEXTURA.....	10
1.7.1. La texturometría.....	10
1.7.2. El texturómetro.	10
2. OBJETIVOS	12
3.MATERIAL Y MÉTODOS	13
3.1. MUESTRAS.	13
3.2. SELECCIÓN DE LAS MUESTRAS.....	13
3.2.1. Análisis de las muestras con MicroNIR®	13
3.3. ANÁLISIS DE LA TEXTURA.....	15
3.3.1. Ensayo de compresión.....	16
3.3.2. Submuestro y ejecución del ensayo.	16
3.4. EXTRACCIÓN TOTAL DE POLIFENOLES.....	17
3.4.1. Método de Folin-Ciocalteau.....	17

3.5. TRATAMIENTO DE LOS DATOS.....	18
3.5.1. Análisis de componentes principales (PCA).....	18
3.5.2. Estadística descriptiva.....	19
3.5.3. Análisis de la varianza (ANOVA).	19
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	20
4.1. DETERMINACIÓN DE LAS MUESTRAS DE ESTUDIO.	20
4.2. ESTUDIO DE LA EXTRACTABILIDAD.	20
4.3. ANÁLISIS DE LA TEXTURA.....	21
4.4. ANÁLISIS DE LA VARIANZA.....	24
5. CONCLUSIONES	26
6. BIBLIOGRAFÍA.....	27

1. INTRODUCCIÓN

1.1. EL VINO. INTRODUCCIÓN GENERAL.

El vino es, sin duda, la bebida más característica de la dieta mediterránea (Thomas et al., 2006). Dicha bebida se obtiene a partir de la uva, fruto de la vid (*Vitis vinifera* L.). La uva se exprime y el jugo resultante es sometido a una serie de procesos químicos y físicos hasta dar lugar a esta bebida alcohólica conocida internacionalmente.

Hay muchos tipos de vinos, lo cual es debido a numerosos factores como son, por ejemplo: la variedad de uva empleada, el proceso de elaboración, las características edafológicas y climatológicas de cultivo. Estos factores inciden en el perfil bioquímico de la uva y, por consiguiente, en la composición de éstas (Kuhn et al., 2013; Matějčík et al., 2004)

En este aspecto, el vino destaca por ser una bebida rica en un grupo de compuestos interesantes, concretamente, los compuestos fenólicos. A estos componentes se les atribuye propiedades beneficiosas para la salud, tales como: propiedades antioxidantes, acción preventiva frente al cáncer y un efecto cardioprotector (Quideau et al., 2011; Dai & Mumper, 2010; Rasines-Perea & Teissedre, 2017); por otro lado, influyen en las características organolépticas del vino. Todo esto hace que sea una bebida única y muy estudiada, esto es así en cuanto a que la tecnología en torno a su elaboración está en continuo progreso.

1.2. EL ROBLE Y LAS BARRICAS.

Desde la antigüedad se ha empleado madera de distintos árboles para la elaboración de barricas, pero actualmente se puede afirmar que el uso de madera de roble domina el sector de la industria de las barricas (Zamora, 2003). Bajo el término “roble” se agrupan hasta 150 especies del género *Quercus*, de las cuales sobresalen tres para la elaboración de barricas: *Q. petraea* Liebl., *Q. robur* L. (robles franceses) y *Q. alba* L. (roble americano).

Del roble se emplea la parte del tronco desprovista de ramas y las de grano más fino, es decir, aquella en la cual los círculos anuales son pequeños. Esto es así porque esta madera es más porosa que la de grano grueso.

El almacenamiento en barricas permite la polimerización de taninos, lo cual contribuye a la estabilización del vino y su suavizado, aportando sabor y aromas a éste, los cuales varían en función de las condiciones en las que se ejecute el tostado de la madera.

1.3. COMPOSICIÓN EN COMPUESTOS FENÓLICOS DE LA MADERA DE ROBLE.

La composición de la madera es un factor que hay que tener en cuenta para el resultado final del vino, ya que el perfil en compuestos fenólicos difiere según la especie de la cual se obtenga (Alañón, 2011). Esto conlleva a que la madera de cada especie tiene efectos distintos sobre el vino a las de otras especies (Pérez-Juan & Luque-de-Castro, 2014).

La madera de roble contiene compuestos de diversa índole como celulosa, lignina, terpenos y compuestos fenólicos, entre otros. Dentro de los compuestos fenólicos se incluyen: fenoles simples (aldehídos y ácidos fenólicos), cumarinas, lactonas, elagitaninos, galotaninos, flavanoles y taninos condensados (Tabla 1).

Tabla 1. Clasificación por familias de algunos compuestos fenólicos presentes en la madera de roble.

Ácidos fenólicos	Aldehídos fenólicos	Cumarinas	Elagitaninos
Ácido gálico	Vainillina	Escopoletina	Castalagina
Á. elágico	Protocaldehído		Vescalagina
Á. protocatéquico	Siringaldehído		Roburina A
Á. vainillínico	Coniferaldehído		Roburina B
Á. <i>p</i> -cumárico	Sinapaldehído		Roburina C
Á. sinápico			Roburina D
Á. cafeico			Roburina E
Á. ferúlico			Granidina

Algunos de estos compuestos se encuentran en pequeñas cantidades en la madera verde (Cadahía et al., 2001). Sin embargo, dichas proporciones pueden verse modificadas tras el proceso de tostado para la elaboración de barricas. Por otro lado, pueden formarse nuevos compuestos fenólicos durante el tostado.

Entre las distintas especies de roble hay diferencias en el contenido de compuestos fenólicos (Tabla 2), por lo que las características que aporte cada madera serán diferentes a las de otras especies.

Tabla 2. Composición en compuestos fenólicos y diferencias significativas encontradas ($p < 0.05$, Student-Newman Keuls) entre distintas especies de roble. Concentraciones en $\mu\text{g/g}$ madera.

Tomada de Alañón et al., 2001.

Compuesto fenólico	<i>Q. alba</i>	<i>Q. petraea</i>	<i>Q. pyrenaica</i>	<i>Q. robur</i>
Ácido gálico	77.14 ^a	77.02 ^a	72.33 ^a	238.00 ^b
Ácido elágico	177.19 ^c	144.87 ^{b,c}	137.35 ^{b,c}	143.11 ^{b,c}
Ácido protocatéuico	49.90 ^a	178.17 ^{b,c}	66.22 ^a	239.31 ^c
Ácido vainillínico	46.17 ^b	98.49 ^c	16.13 ^a	108.81 ^c
Ácido 4-OH-benzoico	nd	nd	nd	4.28 ^a
Ácido <i>p</i> -cumárico	26.32 ^a	26.84 ^a	34.50 ^a	53.78 ^a
Ácido sinápico	35.87 ^a	427.17 ^c	71.43 ^a	158.58 ^{a,b}
Ácido siríngico	37.33 ^a	201.09 ^b	36.20 ^a	87.09 ^a
Ácido caféico	4.41 ^b	10.92 ^a	2.00 ^b	4.37 ^b
Ácido ferúlico	7.84 ^{a,b}	15.34 ^c	5.36 ^a	9.91 ^{a,b,c}
Vainillina	20.16 ^a	177.01 ^b	25.74 ^a	71.23 ^a
Protocatecaldehído	nd	4.53 ^a	15.39 ^{a,b}	14.60 ^{a,b}
Siringaldehído	45.30 ^a	275.64 ^c	67.67 ^a	152.57 ^b
Coniferaldehído	13.61 ^a	37.30 ^a	18.73 ^a	28.60 ^a
Sinapaldehído	27.15 ^a	282.60 ^b	39.53 ^a	106.16 ^a
Escopoletina	455.14 ^c	252.04 ^b	273.96 ^b	260.03 ^b
Roburina A	33.40 ^b	48.80 ^c	56.09 ^d	90.58 ^e
Roburina B	22.43 ^b	35.19 ^c	42.98 ^d	89.85 ^e
Roburina C	24.38 ^b	38.78 ^c	44.24 ^c	159.25 ^d
Grandinina	70.79 ^c	120.04 ^d	166.18 ^e	360.29 ^f
Roburina D	27.97 ^b	53.37 ^c	78.64 ^d	179.79 ^e
Vescalagina	146.84 ^b	390.00 ^c	563.65 ^d	848.05 ^e
Roburina E	152.14 ^b	392.68 ^c	487.51 ^d	766.75 ^e
Castalagina	409.07 ^b	896.43 ^c	1368.91 ^d	1430.73 ^d

1.4. LA CRIANZA DEL VINO.

La crianza es el proceso en el cual el vino se almacena en un recipiente con el fin de que se produzca el envejecimiento de éste, es decir, se trata del período de tiempo durante el cual se suceden una serie de cambios en la composición de la matriz del vino, otorgándole a éste nuevas cualidades sensoriales que complementan su sabor y su aroma y, además, estabilizan su color.

Desde la antigüedad, dicho proceso de crianza se lleva a cabo en barricas de madera, ya que era la manera en la cual se transportaban los vinos en barcos. Durante el viaje, los cuales podían abarcar algunos meses, el vino estaba en contacto directo con la madera en la que estaba confinado. En este período se da un proceso muy complejo que engloba interacciones entre componentes de la matriz del vino y componentes de la madera de la barrica, además de la oxigenación del vino por difusión del oxígeno

entre los poros de la madera, originando todo esto cambios en las características del vino que influyen en su calidad final (Zamora, 2003; del-Álamo-Sanza et al., 2004).

1.5. TRANSFERENCIA DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS DESDE LA MADERA AL VINO.

Como se ha dicho anteriormente, el vino se almacena en barricas durante un tiempo de manera que las características del vino se ven modificadas. Esto es así gracias a la cesión por parte de la madera de determinados componentes. El vino es una disolución etanólica y ácida, lo que le permite la extracción de ciertos componentes de la madera, concretamente los elagitaninos (Pérez-Juan & Luque-de-Castro, 2014).

Simultáneamente a este proceso, tiene lugar la difusión de otros compuestos fenólicos desde la madera al vino (fenoles simples, cumarinas, entre otros).

Una vez que estos componentes se han transferido al vino pueden sufrir modificaciones, bien mediante oxidación, o bien mediante reacciones con otros componentes presentes en la matriz del vino, originando nuevos compuestos fenólicos o modificando las concentraciones de los ya existentes.

Por otro lado, también puede darse la degradación de la lignina presente en la madera en el vino, formándose fenoles simples (aldehídos fenólicos y sus correspondientes ácidos).

Finalmente, también hay paso de sustancias que modifican el sabor y aroma del vino desde el mismo hacia la madera por adsorción en ésta (Cacho-Palomar, 2006).

1.5.1. ESTABILIZACIÓN DEL COLOR POR LA CESIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS.

El color del vino tinto se debe principalmente a su composición en antocianos, aunque este se ve influenciado por otras familias de compuestos fenólicos como los ácidos fenólicos, los flavanoles y los flavonoles. Estas moléculas se encuentran *per se* en el vino, aunque algunas también son cedidas a éste durante la crianza. Los compuestos cedidos interaccionan con los ya presentes, dando lugar a una estabilización de dichas moléculas y, por consiguiente, de la estabilidad del color del vino, mejorando la calidad de éste (Tabla 3).

Tabla 3. Interacciones que favorecen la estabilidad del color del vino.

Interacción	Moléculas implicadas	Resultado	Consecuencia
Polimerización	Flavonoides y no flavonoides	Formación de taninos	Protección de antocianos
Copigmentación	Antocianos y ácidos fenólicos (entre otros)	Formación de 'sándwiches'	Impide oxidación de antocianos
Combinación	Taninos condensados y antocianos	Antocianos se combinan con taninos	Antocianos son más resistentes a la degradación

Tal y como se refleja en la tabla, para lograr una mejor calidad del color del vino se necesita la presencia de determinados componentes, muchos de los cuales se encuentran originalmente presentes en el vino. La crianza en barricas es fundamental en la consecución de este objetivo (Zamora, 2003).

1.5.2. INFLUENCIA DE LA CESIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS EN EL AROMA Y SABOR DEL VINO.

En el apartado 1.3 se ha mencionado la gran diversidad existente en los compuestos fenólicos presentes en la madera. Muchas de estas moléculas influyen en el perfil organoléptico del vino, por lo tanto, deben ser tenidas en cuenta a la hora de evaluar el aroma y sabor de los vinos. Dichas moléculas contribuyen al aroma por sí solas, o bien, por efecto sinérgico con otros componentes, confiriendo algún carácter organoléptico que por sí solas no lograrían (Styger, et al., 2011).

Parte de los aromas que puede presentar el vino se deben a procesos como el tostado de la madera en la elaboración de barricas (Tabla 4), o a la hidrólisis de compuestos fenólicos cedidos por la madera, ya que inciden en la formación de nuevas moléculas fenólicas (Pérez-Juan & Luque-de-Castro, 2014). Se ha demostrado que el calentamiento de las duelas entre 150-200°C es el intervalo óptimo para la formación de estos compuestos con gran incidencia organoléptica (del-Álamo-Sanza, 2006).

Tabla 4. Algunos compuestos fenólicos formados durante el tostado y sus efectos en el aroma del vino. Tomada de Pérez-Juan & Luque-de-Castro, 2014.

Wood Component	Process	Compound	Odor Descriptor
Name	Chemical Family	Name	
Lignin	Simple phenols	Phenol	Ink
		Guaiacol	Smoke
		Syringol	
	Alkyl and vinyl phenols	Methy-4-syringol	
		Methy-4-guaiacol	Roasted wood
		Ethyl-4-guaiacol	
		4-Vinylguaiacol	Carnation
		4-Vinylphenol	Pharmacy
		4-Ethylphenol	Undetectable
	Benzoic aldehydes	Vanillin	Vanilla
		Syringaldehyde	Undetectable
	Phenyl ketones	Acetophenone	Vanilla
		Acetovanillone	
		Propiovanillone	
		Butyrovannillone	
	Allylphenols	Eugenol	Clove spices
		Allyl-4-syringol	Wood smoke
	Cinnamic aldehydes	Sinapaldehyde	Undetectable
		Coniferaldehyde	

Los ejemplos que recoge la tabla 4 se forman por la degradación de otros componentes fenólicos de la madera durante el tostado de ésta, mientras que otros compuestos fenólicos se extraen directamente de la madera (Tabla 5).

Tabla 5. Compuestos fenólicos extraídos por el vino y sus efectos en éste. Tomada de Pérez-Juan & Luque-de-Castro, 2014.

Wood Component	Process	Compound	Odor Descriptor	Flavor
Name	Chemical Family	Name		
Fresh wood				
	Benzoic aldehydes	Vanillin	Vanilla	
	Allylphenols	Eugenol	Clove spices	
	Coumarins (glycosides)	Scopoline		Bitter
		Esculin		
	Coumarins (aglycones)	Scopoletin		Acid and harsh
		Esculetin		
	Hydrolyzable tannins	Ellagitannins		Astringent and bitter
		Gallotannins		Acid, astringent and bitter
	Phenol acids	Gallic acid		Acid and astringent
		Ellagic acid		Acid
	Flavanols, procyanidins and condensed tannins	(+)Catechin, B3 dimers		Astringent and bitter

1.6. 'CHIPS' DE MADERA Y SU USO EN VINOS.

Los 'chips' son fragmentos de madera tostados que se elaboran con el objetivo de llevar a cabo de manera mucho más económica y más rápida la crianza del vino, ya que la extracción de los compuestos fenólicos en éstos es mucho más rápida (Béteau & Roig-Josa, 2006). Se trata de una técnica prohibida por la Unión Europea hasta el año 2006, fecha en la que se publicó el Reglamento de la Comisión Europea número 1507/2006, en el cual se establecieron las características que deben tener los 'chips' y las condiciones para poder usar éstos (Comisión Europea, 2006).

Los 'chips' influyen en la composición en compuestos fenólicos y las características organolépticas de los vinos, afectando al perfil en antocianos y fenoles simples (del-Álamo-Sanza & Nevares-Domínguez, 2006; del-Álamo-Sanza et al., 2004). Además, según las características del tostado al que se sometan, aportarán unas características específicas (Koussissi et al., 2009).

Se ha de mencionar que en la bibliografía científica los estudios versan sobre fragmentos de madera tostados y no sobre virutas de madera crudas. La diferencia entre ellos estriba en que los 'chips' son producidos de manera comercial para la

industria enológica, mientras que las virutas crudas son un subproducto del trabajo con madera que no son sometidas a un proceso de tostado.

1.7. LA TEXTURA.

La textura es un atributo propio de diferentes materiales, tales como materiales de construcción o alimentos, que resulta de la disposición y combinación que presentan las diferentes micro y macroestructuras que conforman dicho material. El análisis de dicho parámetro surge del interés de los ingenieros en el estudio de las propiedades físicas que presentan los materiales de construcción y, posteriormente, el estudio de la textura dio el salto al campo de la industria alimentaria (Bourne, 2002; García-Calabuig, 2012).

1.7.1. LA TEXTUROMETRÍA.

En la texturometría se tienen, por un lado, pruebas subjetivas, que se dividen en pruebas orales (empleadas en la evaluación sensorial de alimentos) y pruebas no orales. Por otro lado, se encuentran las pruebas objetivas que, por su parte, se subdividen en pruebas directas e indirectas.

Las pruebas directas engloban: pruebas fundamentales, pruebas empíricas y pruebas imitativas (Bourne, 2002; Castro y de-Hombre, 2007). Respecto a estas pruebas, los ensayos fundamentales fueron concebidos para el estudio de la textura en materiales de construcción, mientras que en las pruebas imitativas sus resultados se correlacionan mejor con la textura.

1.7.2. EL TEXTURÓMETRO.

Un texturómetro es un instrumento que se emplea para analizar la textura de un material, el cual lleva a cabo numerosos ensayos imitativos (Tabla 6).

Tabla 6. Ensayos que puede realizar un texturómetro para el estudio de la textura.

Ensayo	Definición y aplicación
<u>Compresión y perfil de textura (TPA)</u>	Define parámetros como la dureza, fracturabilidad, cohesividad, entre otros.
<u>Punción y penetración</u>	Implica fuerzas de compresión y cizalla. Se pueden usar distintas sondas.
<u>Tensión</u>	Mide extensibilidad y resistencia a la tensión.
<u>Corte y cizalla</u>	Mide la fuerza necesaria para cortar o cizallar la muestra.
<u>Fractura y flexión con 2 y 3 puntos</u>	Mide fracturabilidad y resistencia a la rotura.
<u>Extrusión</u>	Simula la masticación.
<u>Adhesión</u>	Mide la adhesividad.

Mediante estos ensayos es posible obtener el perfil de la textura de un material. Actualmente, los texturómetros conforman una opción muy escogida para llevar a cabo estudios de la textura sobre un material.

2. OBJETIVOS

El objetivo principal del presente trabajo consiste en determinar la texturometría de virutas para uso enológico y establecer su relación con la extractabilidad de compuestos fenólicos.

La tarea principal se divide en los siguientes subobjetivos:

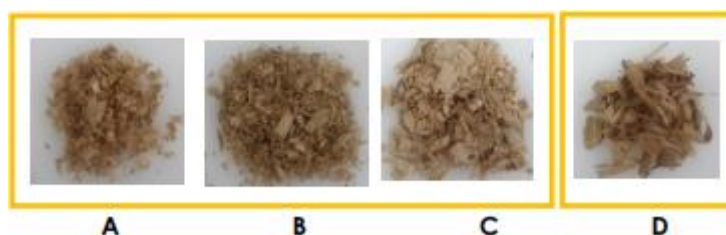
- Estudiar la cesión de compuestos fenólicos de la madera al vino y la extractabilidad de los mismos.
- Determinar la textura de las virutas, mediante un análisis texturométrico de dichas virutas.
- Establecer si existe o no relación entre la extractabilidad de los compuestos fenólicos de madera y los parámetros de textura evaluados en la madera.

3.MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. MUESTRAS.

Para llevar a cabo este estudio se han empleado 200 muestras de virutas de roble americano que fueron provistas por una tonelería (*Tonelería Salas S.L. Bollullos par del Condado, Huelva*), procedentes del proceso de elaboración de barricas. Estas virutas fueron tomadas en cuatro puntos distintos de la fabricación, obteniéndose cuatro grupos: 'A', 'B' y 'C', cuyas fibras tienen dirección longitudinal; y 'D', siendo la dirección de las fibras transversal en las virutas de este grupo (Figura 1). Las muestras se obtuvieron periódicamente durante el período comprendido entre junio de 2015 y enero de 2016 y fueron colocadas en bolsas de plástico correctamente identificadas y almacenadas en una cámara seca hasta su uso.

Figura 1. Fotografías representativas de los distintos grupos de muestras. Tomada de Baca-Bocanegra et al., 2017.



3.2. SELECCIÓN DE LAS MUESTRAS.

Para reducir el número de muestras a analizar se llevó a cabo una selección de muestras. Para ello se realizó un análisis espectroscópico en la región del infrarrojo cercano a cada una de las muestras mediante *MicroNIR*[®], obteniéndose un espectro por cada muestra. Una vez obtenidos los espectros, se realizó a éstos un análisis de componentes principales, con el cual se logró simplificar el estudio.

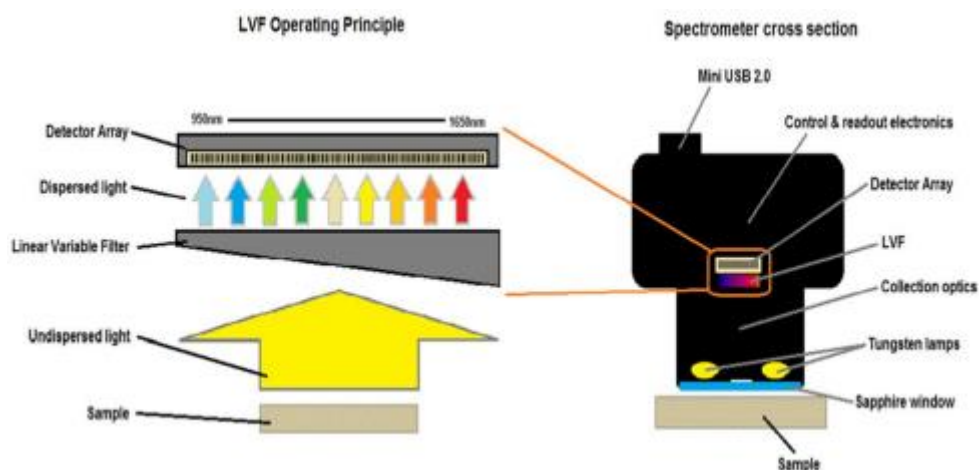
3.2.1. ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS CON MICRONIR[®].

Para acometer este análisis, se empleó un equipo *MicroNIR Pro Lite 1700* device (VIAVI, Santa Rosa, California, USA), un instrumento portátil que permite medir *in situ* el espectro de absorbancia de una muestra en el infrarrojo cercano. En esta región del espectro electromagnético las bandas que se obtienen representan sobretonos y combinaciones de bandas de estas transiciones vibracionales (Bokobza, 2002). *MicroNIR* presenta una delgada película, un filtro que varía a lo largo de su recorrido

(filtro de interferencia variable o 'LVF'), el cual actúa como elemento dispersivo. El LVF tiene forma de cuña en una dirección y consta de un dieléctrico contenido entre dos finas películas. La separación entre estas películas difiere a lo largo del recorrido del filtro, teniendo ésta su distancia mínima en un extremo y aumentando dicha distancia a medida que avanzamos hacia el otro extremo del filtro, siendo esta variación en el grosor del filtro la responsable de que las longitudes de onda transmitidas varíen linealmente en dicha dirección. Este LVF está acoplado de manera directa a un detector de matriz lineal (matriz de fotodiodo *InGaAs* de 128 píxeles), que cubre el rango de espectros de longitud de onda entre 908 y 1676 nm, con una resolución espectral de 6,2 nm. El LVF hace que cada píxel del detector responda a una longitud de onda.

Este espectrómetro está acoplado a un sistema de lámparas de tungsteno, las cuales conforman la fuente de luz policromática que irradia la muestra a analizar. La muestra absorbe la radiación y emite radiación (reflejada) que llega hasta una lente que hace que los diferentes rayos sigan una trayectoria paralela y lleguen hasta el LVF. De esta forma, el LVF hace que cada píxel del detector responda a una longitud de onda para que el detector matricial pueda obtener las distintas intensidades que componen el espectro (Figura 2).

Figura 2. Esquema de los componentes y funcionamiento del equipo MicroNIR®. Tomada de Baca-Bocanegra et al., 2017.



Los distintos espectros obtenidos son registrados usando 9,3 ms como el tiempo de integración y 100 como la cuenta de escáner usando como instrumento de adquisición el software *MicroNIR™ Pro v.2.2* (VIAMI, Santa Rosa, California, USA).

La calibración del dispositivo se realiza mediante el proceso denominado calibración de dos puntos. Una placa cerámica *spectralon®* se usa como referencia para el blanco (100% de reflectancia) mientras que el negro (0% de reflectancia) fue registrado tomando una medida colocando el dispositivo a unos 0,5 metros de cualquier objeto.

Por cada muestra se registran 6 réplicas espectrales que son exportadas como unidades de Log (1/R) y, consecutivamente, se calculan las medias de cada réplica de los espectros. El procedimiento se repitió para todas las muestras y los espectros obtenidos fueron combinados en la matriz espectral.

3.3. ANÁLISIS DE LA TEXTURA.

A las muestras seleccionadas se les realiza un análisis de la textura. En este estudio se determina la resistencia a la deformación de las virutas mediante un analizador de la textura *TA.XTplus* de *Stable Micro Systems®*.

Este aparato es un texturómetro, un equipo capaz de proporcionar datos de fuerza frente distancia/tiempo/deformación (Chen y Opara, 2013) a través de su célula de carga (similar a una balanza). Esta célula de carga tiene un límite de carga el cual no ha de superarse ya que, de lo contrario, se ve afectada la sensibilidad del equipo. En este caso, no deben sobrepasarse los 30 kg de fuerza.

El texturómetro tiene un cuadro de mandos que permite el movimiento manual de la célula de carga, así como controles para la detención de emergencia del equipo. Por otro lado, en la célula de carga hay un orificio en el que se enroscan el portasondas y los distintos tipos de sondas, los cuales se eligen en función del análisis de la textura que se quiera llevar a cabo.

Para calibrar el equipo se emplea una pesa de 5 kg que se coloca en una pequeña superficie habilitada para ello, situada sobre la célula de carga. Tras el calibrado, se colocan el portasondas y la sonda deseada para proceder, a continuación, a la calibración de la distancia.

Las medidas se obtuvieron a través del programa *Exponent*. En primer lugar se fijan las condiciones de operación y tras los ensayos el programa genera archivos con la extensión '.prj' en los cuales se recogen los resultados del análisis.

3.3.1. ENSAYO DE COMPRESIÓN.

En este ensayo se mide la resistencia a la deformación de las virutas de roble americano. Se empleó una sonda cilíndrica, de 20 mm de diámetro. Antes de llevar a cabo el ensayo se realizó la puesta a punto con la cual quedaron fijadas las condiciones de operación (Tabla 7).

Tabla 7. Condiciones de operación para el ensayo de compresión.

Parámetros del ensayo	Valores fijados
% Deformación de la viruta	25%
Carga inicial	100 g
Velocidad pre-ensayo	0,5 mm/s
Velocidad durante el ensayo	0,2 mm/s
Velocidad post-ensayo	5 mm/s
Distancia desde la sonda a la muestra	10 mm

3.3.2. SUBMUESTREO Y EJECUCIÓN DEL ENSAYO.

Para ejecutar el ensayo a cada muestra se procede a la realización de un submuestreo en cada una de ellas. Para ello, se divide en seis subgrupos cada muestra y de cada subgrupo, a su vez, se toman aleatoriamente tres virutas sobre las cuales se lleva a cabo el ensayo de compresión. Por tanto, para obtener los valores de cada muestra se realizan 18 medidas.

En este ensayo se obtienen curvas que recogen los valores de la fuerza necesaria para deformar la muestra un 25% (g), la deformación conseguida (mm), el área positiva, o área total bajo la curva de deformación (g·s), el área a pico positiva, o área bajo la curva de deformación hasta alcanzar la deformación máxima (g·s) y la pendiente a pico positiva (g/s).

3.4. EXTRACCIÓN TOTAL DE POLIFENOLES.

Para poder llevar a cabo este estudio se elaboró un vino sintético con el cual se realizó la maceración de las virutas. Dicho vino sintético es una disolución de etanol en agua al 12,5% (v/v) 4 g·L⁻¹ de ácido tartárico y pH ajustado a 3,6 con NaOH 1M. En este vino se maceraron durante 72 horas las 18 muestras representativas, identificadas previamente, añadiéndose en una proporción de 4 g·L⁻¹. Para los ensayos de textura y extracción se utilizaron submuestras diferentes para evitar posibles alteraciones en la extracción de compuestos fenólicos debido a los cambios estructurales causados por la compresión. Tras la maceración, se llevó a cabo la determinación de polifenoles extraídos en el sobrenadante. Para la medida de los polifenoles presentes en el vino sintético se empleó el método de Folin-Ciocalteu.

Tras la primera maceración se llevó a cabo la extracción total de los polifenoles presentes en las virutas. Para ello, se procedió al secado de las virutas y se preparó una solución de metanol:agua-50:50-(v/v) en la cual se maceraron nuevamente las virutas para llevar a cabo una extracción exhaustiva en 24 horas de los polifenoles restantes en estas. Se tomó el sobrenadante de esta maceración para determinar los polifenoles presentes nuevamente mediante el ensayo de Folin-Ciocalteu, determinando la cantidad de polifenoles presentes.

Esto permitió relacionar la cantidad de polifenoles cedidos al vino sintético con respecto a la cantidad total de polifenoles presentes en las virutas, pudiendo establecer la división de las 18 muestras seleccionadas en tres grupos según su extractabilidad de compuestos fenólicos.

3.4.1. MÉTODO DE FOLIN-CIOCALTEU.

Para el método de Folin-Ciocalteu se toman 250 µl de sobrenadante (provenientes de la extracción en vino sintético o en metanol-agua), se mezclan con 3,75 mL de carbonato sódico 20% (p/v), se añaden 1,25 mL del reactivo de Folin y se enrasa hasta 25 mL con agua ultrapura.

Tras 2 horas de espera, el análisis se realiza mediante el espectrómetro *Agilent 8453 UV-vis*, equipado con un detector con matriz de diodo. Este método se basa en una reacción redox entre los compuestos fenólicos, los cuales producen la reducción del

reactivo de Folin-Ciocalteu (un complejo formado por fosfomolibdotungstato sódico y wolframato sódico), lo que propicia que la solución se torne de color azul. A posteriori, se determina la absorbancia de dicha solución a una longitud de onda de 765 nm (Singleton y Rossi, 1965; Dai y Mumper, 2010).

3.5. TRATAMIENTO DE LOS DATOS.

Para el presente estudio se llevaron a cabo un análisis de componentes principales, con el cual se logró la selección de las muestras de estudio y, por otra parte, el tratamiento estadístico de los datos obtenidos en los ensayos de extractabilidad y compresión.

3.5.1. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES (PCA).

El análisis de componentes principales es un análisis multivariante que persigue reducir las variables iniciales sin perder información.

Para llevar a cabo esto, este análisis reduce las dimensiones de la matriz de datos, calculando para ello un nuevo sistema de coordenadas que explique la máxima variabilidad en los datos obtenidos de las muestras. Estos nuevos ejes se llaman componentes principales ('PCs'), y se definen matemáticamente a través del coseno de los ángulos que forma cada uno de los nuevos ejes con los antiguos (*loadings*) y, además, con las coordenadas en estos nuevos ejes (*scores*) (Deane, 1992).

Una vez obtenidos todos los espectros en el nuevo sistema, se identificaron los espectros que se encuentran fuera de la población (*outliers*) mediante la distancia de Mahalanobis (H), la cual se halla estableciendo la diferencia espectral de una muestra con la media espectral de las muestras. Las muestras con una distancia H mayor a 3 unidades se identifican como *outliers* espectrales.

Además, se midió la distancia de Mahalanobis a muestra vecina (NH) y se dividió el conjunto de muestras en distintos grupos en los que se cumplía el criterio $NH < 0.6$. De esta forma se representan todas las muestras en un sistema con un número de ejes menor a los de inicio y se reduce la cantidad de muestras que será necesaria analizar en los siguientes pasos. (Nogales-Bueno, Baca-Bocanegra, Rodríguez-Pulido, Heredia y Hernández-Hierro, 2015).

3.5.2. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA.

Se trata de la rama de la estadística dedicada al estudio de los parámetros que describen una muestra seleccionada a partir de una población. Estos parámetros, tales como la media muestral o la varianza muestral, se obtienen a través del estudio de una muestra y, si dicha muestra es representativa de la población, estos parámetros pueden extrapolarse y ser usados como estimadores de los mismos parámetros en la población.

En este estudio se emplearon la media muestral y la desviación estándar muestral como parámetros descriptivos de la población. Para determinar dichos parámetros, se empleó el programa *Microsoft Excel*[®] del Paquete Office.

3.5.3. ANÁLISIS DE LA VARIANZA (ANOVA).

Esta técnica estadística permite determinar si las diferencias existentes entre las medias de dos grupos diferentes son significativas o no, es decir, si estas diferencias obedecen al error aleatorio existente en toda medida analítica o bien a otro factor que hace que estas diferencias sean significativas.

En este análisis estadístico las muestras están sometidas a una variable dependiente, la cual es numérica, y a una variable independiente, la clase, la cual es categórica (Miller & Miller, 2002). En el análisis llevado a cabo, la variable dependiente está conformada por los valores de los resultados obtenidos en el análisis de textura, mientras que la clase queda comprendida por los grupos de virutas obtenidos en la clasificación según extractabilidad.

El análisis ANOVA se llevó a cabo mediante el programa informático *SPSS*. Además, con dicho programa también se llevó a cabo una comparación de las medias mediante la ejecución de un test de Tukey, cuyo nivel de significación se fijó con $\alpha=0,05$.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. DETERMINACIÓN DE LAS MUESTRAS DE ESTUDIO.

Para desarrollar el presente trabajo se partió de 200 muestras de virutas de madera obtenidas en el proceso de fabricación de barricas de madera de roble.

En primer lugar, se obtuvieron los espectros del infrarrojo cercano de las 200 muestras mediante *MicroNIR*[®], obteniéndose así la información espectral de las mismas. Con dichos espectros se llevó a cabo el análisis de componentes principales y así se ordenaron los espectros en un nuevo sistema de referencia. A continuación, mediante la distancia de Mahalanobis se desecharon los *outliers* y mediante la distancia de Mahalanobis a muestra vecina se agruparon las muestras hasta obtener un total de 18 grupos. Posteriormente se seleccionó una muestra de cada grupo, obteniéndose así 18 muestras espectralmente representativas del total

Las 18 muestras seleccionadas conforman las muestras con las que se llevó a cabo el estudio logrando, por tanto, ganar rapidez y sencillez en la realización del mismo al reducir el número de muestras al mínimo número de muestras representativas del total.

4.2. ESTUDIO DE LA EXTRACTABILIDAD.

Los análisis del contenido en compuestos fenólicos en el vino sintético permitieron establecer una aproximación respecto a la cantidad que cederían las muestras durante la crianza del vino. Tras esto, se llevó a cabo una nueva extracción en condiciones que asegura la total extracción de los compuestos fenólicos presentes en las virutas. Con esto, se obtuvo el porcentaje de compuestos fenólicos extraíbles en vino sintético, es decir, la extractabilidad (Tabla 8).

Tabla 8. Clasificación en grupos según la extractabilidad.

Muestras	Extractabilidad (%)	Grupo	Clasificación
22_B	75,35	3	ALTA
16_D	66,18	2	MEDIA
7a_A	71,76	2	MEDIA
15_A	61,94	1	BAJA
3_D	69,01	2	MEDIA
2_B	81,12	3	ALTA
25_C	81,11	3	ALTA
7a_B	70,12	2	MEDIA
8_B	82,31	3	ALTA
22_B	79,57	3	ALTA
2a_D	69,54	2	MEDIA
7_D	62,97	1	BAJA
2a_B	81,28	3	ALTA
2_C	77,35	3	ALTA
6a_D	57,75	1	BAJA
8a_D	65,41	1	BAJA
6_B	77,40	3	ALTA
9a_D	70,04	2	MEDIA

A la vista de los resultados, se dividieron las muestras en distintos grupos según se aprecian diferencias entre muestras en términos de su comportamiento respecto a la cesión de compuestos fenólicos al vino, lo cual permitió establecer una división en 3 grupos según esta característica: baja, media y alta extractabilidad de compuestos fenólicos.

4.3. ANÁLISIS DE LA TEXTURA.

El análisis de la textura de una materia prima nos proporciona información sobre sus propiedades reológicas y características mecánicas. A las muestras destinadas a estudio se les realizó un ensayo de compresión, el cual nos proporcionó información sobre la deformación que éstas sufren frente a una fuerza que las comprime (Figura 3).

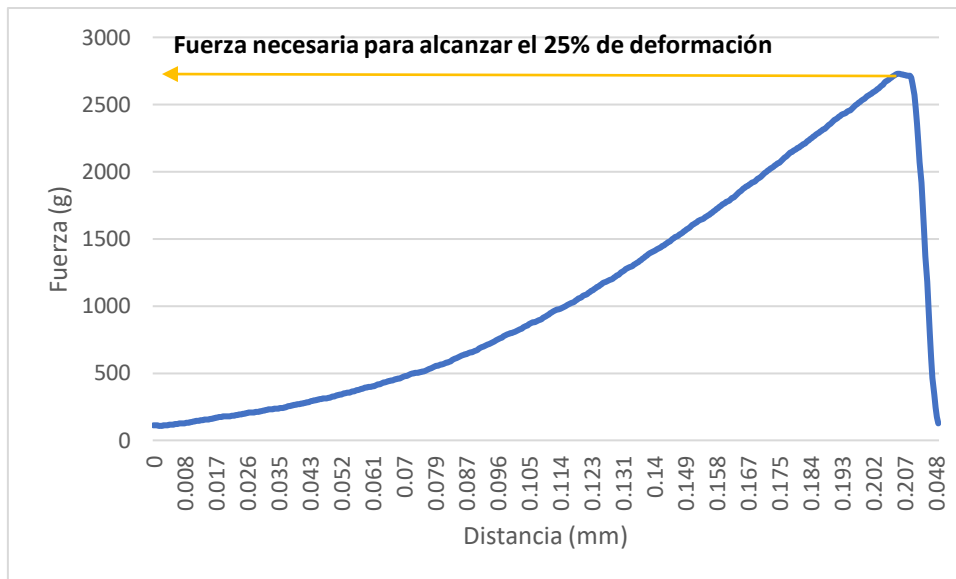


Figura 3. Curva ‘fuerza vs distancia’ en el ensayo de compresión de una muestra.

Como fruto de este ensayo se obtuvieron para las distintas variables analizadas los siguientes resultados (Tabla 9):

Tabla 9. Valores medios y desviaciones estándar (entre paréntesis) obtenidos para las variables estudiadas en el ensayo.

Muestras	Pico positivo de fuerza (g)	Pico positivo de distancia (mm)	Área positiva (g·s)	Área a pico positiva (g·s)	Pendiente a pico positiva (g/s)	Área positiva - Área a pico positiva (g·s)
22_B	1132,32 (941,33)	0,18 (0,09)	613,29 (693,72)	574,88 (657,30)	998,69 (608,22)	38,42 (38,23)
8_B	2531,35 (2440,16)	0,26 (0,16)	2071,75 (3025,31)	1952,36 (2879,62)	1596,36 (984,89)	119,40 (149,56)
2a_B	1221,58 (2184,27)	0,16 (0,14)	1077,93 (3223,16)	1020,73 (3082,04)	955 (784,29)	57,21 (141,54)
9a_D	1453,59 (1497,00)	0,24 (0,11)	960,40 (1119,77)	881,11 (1052,72)	1093,34 (971,29)	79,29 (82,84)
2a_D	1370,99 (1437,44)	0,26 (0,12)	986,45 (1504,00)	928,46 (1426,38)	952,12 (781,93)	57,99 (80,13)
22_D	651,22 (439,53)	0,18 (0,10)	330,91 (291,60)	307,52 (278,86)	677,39 (495,35)	23,39 (14,96)
7a_A	6018,76 (4066,54)	0,44 (0,14)	6712,24 (6539,26)	6370,32 (6233,32)	2566,69 (1336,26)	341,93 (315,67)
6a_D	1135,89 (1422,17)	0,22 (0,14)	785,17 (1078,80)	722,78 (1008,95)	937,5 (1021,54)	62,39 (92,97)
7a_B	4642,87 (2203,57)	0,41 (0,15)	4456,79 (2936,68)	4220,99 (2818,00)	2244,28 (903,64)	235,80 (138,28)
25_C	1227,86 (1014,00)	0,14 (0,07)	511,55 (594,54)	468,99 (557,02)	1514,23 (889,87)	42,56 (40,01)
16_D	2221,17 (3571,30)	0,24 (0,16)	2292,90 (5877,39)	2171,60 (5592,94)	1300,71 (1075,69)	121,30 (284,94)
8a_D	1734,59 (2089,63)	0,34 (0,17)	1856,49 (3497,19)	1775,77 (3379,87)	927,39 (858,81)	80,72 (48,05)
2_C	1919,22 (1464,93)	0,19 (0,09)	981,79 (1217,51)	911,33 (1154,56)	1759,94 (935,69)	70,46 (67,28)
3_D	1116,77 (1039,91)	0,25 (0,13)	735,64 (779,00)	692,75 (741,04)	789,73 (629,91)	42,89 (38,36)
15_A	2771,74 (2386,00)	0,31 (0,13)	2246,40 (2301,43)	2108,18 (2178,12)	1600,19 (1290,62)	138,22 (128,84)
6_B	1700,37 (1829,45)	0,2 (0,12)	1158,98 (1817,07)	1083,82 (1720,81)	1340,88 (943,46)	75,16 (97,00)
7_D	1255,25 (1248,66)	0,20 (0,09)	705,55 (766,67)	654,95 (712,13)	1004,51 (930,40)	50,6 (55,66)
2_B	953,06 (1309,37)	0,16 (0,10)	576,64 (1008,89)	541,58 (1061,30)	836,28 (740,84)	35,06 (54,13)

A la vista de los resultados, se aprecian valores muy altos de desviación estándar en algunas de las muestras, lo cual se podría relacionar a una gran heterogeneidad dentro de las muestras.

4.4. ANÁLISIS DE LA VARIANZA.

Se realizó un análisis de la varianza con el fin de comprobar si las diferencias entre los valores para las variables de las distintas muestras en el ensayo de compresión son significativas, lo que confirmaría heterogeneidad entre las muestras. Para ello, se realizó un ANOVA de un factor a los valores de la Tabla 9. Para este análisis se toma como factor el grupo según la extractabilidad de compuestos fenólicos de cada muestra (descrito en la Tabla 8), el cual se relaciona con las variables del ensayo de compresión (las variables dependientes).

Los resultados del ANOVA (Tabla 10) revelan un nivel de significación mayor que $\alpha=0,05$ para todas las variables salvo para el pico positivo de distancia (deformación). Este parámetro nos permite confirmar si las diferencias entre las medias son significativas o no, por lo que en el caso de la deformación las diferencias son estadísticamente significativas.

Tabla 10. Resultados obtenidos en el ANOVA de los parámetros obtenidos en la texturometría.

Parámetro	Nivel significación
Pico positivo de fuerza	0,162
Pico positivo de distancia	0,011
Área positiva	0,115
Área a pico positiva	0,116
Distancia a pico positiva	0,488
Área positiva - Área a pico positiva	0,111

Para llevar a cabo un análisis más exhaustivo de los resultados se les realiza un test de Tukey con $\alpha=0,05$, correspondiendo los grupos '1', '2' y '3' con las clases 'baja', 'media' y 'alta' respectivamente, según su extractabilidad (Tabla 11).

Tabla 11. Resultados Test de Tukey para las variables del ensayo de textura según la extractabilidad.

Test de Tukey				
		Clases		
		Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
VARIABLES	Pico positivo fuerza	1724,37 ^a	2804,02 ^a	1417,12 ^a
	Pico positivo distancia	0,27 ^{a,b}	0,31 ^b	0,18 ^a
DEPENDIENTES	Área positiva	1398,40 ^a	2690,74 ^a	915,36 ^a
	Área a pico positiva	1315,42 ^a	2544,21 ^a	857,65 ^a
	Distancia a pico positiva	1117,40 ^a	1491,14 ^a	1209,84 ^a
	Área positiva - Área a pico positiva	82,98 ^a	146,53 ^a	57,71 ^a

Los superíndices 'a' y 'b' indican pertenencia a un conjunto independiente de datos.

A la vista de los resultados de esta prueba se puede afirmar que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los grupos, salvo en el pico positivo de distancia. Para esta variable existen diferencias significativas entre los grupos '3' y '2' aunque, por otro lado, el grupo '1' no se diferencia significativamente de ninguno de los otros dos, por lo que no pueden tomarse como grupos independientes.

5. CONCLUSIONES

Las virutas seleccionadas para el presente estudio fueron evaluadas teniendo en cuenta su extractabilidad de compuestos fenólicos, concluyéndose que existen diferencias respecto a este aspecto, comprobándose que hay virutas con una mayor predisposición a ceder estos compuestos al vino que otras. Así, se establecieron 3 grupos distintos de extractabilidad: 'alta', 'media' y 'baja. Se estudió esta característica y la posible relación con la macroestructura de las virutas. Para determinar esta relación se llevó a cabo la determinación de la texturometría de las virutas de madera, concretamente mediante el ensayo de compresión sobre las mismas. Los parámetros de textura obtenidos se someten a un estudio estadístico y se relacionan con la variable categórica, la extractabilidad, sin resultados que puedan avalar de forma clara la relación entre extractabilidad y parámetros de textura, salvo para el pico positivo de distancia y solamente diferenciando claramente dos niveles, por lo que se puede concluir que la texturometría no proporciona información de interés para obtener información en términos de extractabilidad y, por ende, descartamos su utilización en virutas con un fin enológico.

6. BIBLIOGRAFÍA

Alañón ME, Castro Vázquez L, Díaz Maroto MC, Hermosín Gutiérrez I, Gordon MH, Pérez Coello MS. Antioxidant capacity and phenolic composition of different woods used in cooperage. *Food Chem.* 2011; 129: 1584-90.

Baca-Bocanegra B, Nogales-Bueno J, Hernández-Hierro JM, Heredia FJ. “*In situ*” screening of extractable polyphenols in cooperage byproducts: evaluation of portable micro near infrared spectroscopy technology. Póster presentado en el Congreso internacional “10th In Vino Analytica Scientia Symposium”, Universidad de Salamanca, España.

Bokobza L. Origin of Near-Infrared Absorption Bands. En: Siesler H.W, Ozaki Y, Kawata S, Heise H.M, editores. *Near-Infrared Spectroscopy: principles, Instruments, Applications.* 1^a ed. Weinheim: Wiley-VCH; 2002. p.11-41.

Bourne MC. Principles of objective texture measurement. En: Academic Press, editor. *Food texture and viscosity: concept and measurement.* 2nd ed. London: Academic Press; 2002. p.107-88.

Cacho Palomar J. Evolución del perfil volátil del vino tinto durante su crianza en barricas de roble. *ACE.* 2006; 23(76): 4-8.

Cadahía E, Muñoz L, Fernández de Simón B, García Vallejo MC. Changes in low molecular weight phenolic compounds in Spanish, French and American oak woods during natural seasoning and toasting. *J Agric Food Chem.* 2001; 49: 1790-98.

Castro Montero E, de Hombre Morgado RA. Parámetros mecánicos y textura de los alimentos. Instituto de investigaciones para la industria alimentaria, La Habana (Cuba), 2007.

Chen L, Opara UL. Approaches to analysis and modeling texture in fresh and processed foods – a review. *J Food Eng.* 2013; 119: 497-507.

Comisión Europea. Reglamento (CE) Nº 1507/2006 de la Comisión de 11 de octubre de 2006 por el que se modifican los Reglamentos (CE) nº 1622/2000, (CE) nº 884/2001 y (CE) nº 753/2002, que establecen disposiciones de aplicación del Reglamento (CE) no 1493/1999 del Consejo, por el que se establece la organización común del mercado

vitivinícola, en lo referente a la utilización de trozos de madera de roble en la elaboración de vinos y a la designación y presentación de los vinos sometidos a ese tratamiento. Diario oficial de la Unión Europea. Bruselas: CE; 2006. L 280/9-11.

Dai J, Mumper RJ. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*. 2010; 15: 7513-52.

Deane, J. M. (1992). Chapter 5 Data Reduction Using Principal Components Analysis. In G. B. Richard (Ed.), *Data Handling in Science and Technology Multivariate pattern recognition in chemometrics, illustrated by case studies (Volume 9 ed., pp. 125-177)*. Elsevier.

del Álamo Sanza M. Sistemas alternativos al envejecimiento en barrica. *ACE*. 2006; 74.

del Álamo Sanza M, Nevares Domínguez I. Wine aging in bottle from artificial systems (staves and chips) and oak woods anthocyanin composition. *Anal Chim Acta*. 2006; 563: 255-63.

del Álamo Sanza M, Nevares Domínguez I, Cárcel Cárcel LM, Nava Gracia L. Analysis for low molecular weight phenolic compounds in a red wine aged in oak chips. *Anal Chim Acta*. 2004; 513: 229-37.

García Calabuig G. "Texturometría instrumental: puesta a punto y aplicación a la tecnología de los alimentos", Trabajo fin de Máster, Universidad de Oviedo, Oviedo, 2012.

Koussissi E, Dourtoglou VG, Ageloussis G, Paraskevopoulos Y, Dourtoglou T, Paterson A, et al. Influence of toasting of oak chips on red wine maturation from sensory and gas chromatographic headspace análisis. *Food Chem*. 2009; 114: 1503-09.

Kuhn N, Guan L, Dai ZW, Wu BH, Lauvergeat V, Gomès E, et al. Berry ripening: recently Heard through the grapevine. *JXB*. 2014; 65(16): 4543-59.

Matějček D, Mikeš O, Klejdus B, Štěrbová D, Kubáň V. Changes in contents of phenolic compounds during maturing of red wines. *Food Chem*. 2005; 90: 791–800.

Miller JN, Miller JC. *Estadística y quimiometría para química analítica*. 4ª ed. Madrid: Pearson Educación; 2002.

Nogales Bueno J, Baca Bocanegra B, Rodríguez Pulido FJ, Heredia FJ y Hernández Hierro JM, 2015. Use of near infrared hyperspectral tools for the screening of extractable polyphenols in red grape skins. *Food Chem.* 2015; 172: 559-64.

Pérez Juan, Luque de Castro. Use of Oak Wood to Enrich Wine with Volatile Compounds En: Preedy V, editor. *Processing and Impact on Active Components in Food.* 1ª ed. Academic Press; 2014. p.471-481.

Quideau S, Deffieux D, Douat-Cassaus C, Pouységu L. Plant polyphenols: chemical properties, biological activities and synthesis. *Angew Chem Int Ed.* 2011; 50: 586-621.

Rasines Perea Z, Teissedre PL. Grape polyphenols' effects in human cardiovascular diseases and diabetes. *Molecules.* 2018; 22: 1-19.

Roig G, Béteau J. Los chips de roble como herramienta vinificación y crianza. *ACE.* 2006; 73: 16-20.

Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic.* 1965; 16: 144-58.

Styger G, Prior B, Bauer FF. Wine flavor and aroma. *J Ind Microbiol Biotechnol.* 2011; 38: 1145-59.

This P, Lacombe T, Thomas M. Historical origins and genetic diversity of wine grapes. *TiG.* 2006; 22(9): 511-19.

Zamora F. *Elaboración y crianza del vino tinto: Aspectos científicos y prácticos.* 1ª ed. Madrid: AMV Ediciones; 2003.