

RUOLO DELLA MICROSSIGENAZIONE SUL CONTENUTO FENOLICO, COLORE E ATTIVITÀ ANTIOSSIDANTE DEL VINO ROSSO SARDO CAGNULARI

Alessandra DEL CARO^A, Adriana Fedela CACCIOTTO^b, Paolo Antonio Maria FENU^a, Antonio PIGA^a

^aDipartimento di Scienze Ambientali Agrarie e Biotecnologie Agro-Alimentari, Università degli Studi, Viale Italia 39, 07100 Sassari

^bcollaboratore esterno, Via Dalmazia, Fertilia (Alghero), 07041, Alghero.

Poster presentato ad Enoforum 2007, 13-15 marzo, Piacenza

Riassunto

È stato studiato l'effetto nel tempo della microssigenazione su diversi parametri analitici di due vini ottenuti da un vitigno autoctono della Sardegna, il Cagnulari. I due campioni, relativi alla vendemmia 2005 e raccolti a distanza di 20 giorni uno dall'altro, sono stati analizzati a partire da febbraio 2006. In aprile i vini sono stati sottoposti al trattamento di microssigenazione. I campioni sono stati prelevati direttamente dalle vasche d'acciaio e analizzati fino al mese di febbraio 2007 per un totale di 7 campionamenti. Sono state effettuate le seguenti analisi: grado alcolico, acidità totale, anidride solforosa totale e libera, pH; polifenoli totali, antociani totali, liberi e polimerizzati e colore per spettrofotometria UV-VIS; polifenoli in HPLC-DAD; attività antiossidante con il radicale DPPH[•]. Il campione vendemmiato tardivamente e microssigenato più intensamente e più a lungo è risultato essere maggiormente stabile di colore, con un aumento significativo della % di blu e con un contenuto polifenolico più elevato. L'attività antiossidante invece non sembra essere stata influenzata dalla microssigenazione.

Introduzione

Il ruolo dell'ossigeno nell'evoluzione dei vini è studiato da molti anni ed ha una importanza notevole nei diversi processi microbiologici e chimico-fisici che avvengono nel vino durante la fermentazione e l'invecchiamento (1,2,3,4,5). L'ossigeno, infatti, influenza la composizione fenolica e le caratteristiche sensoriali del vino, a causa del suo intervento nelle reazioni di condensazione, ossidazione e polimerizzazione nelle quali sono coinvolti i polifenoli, in particolar modo in quelle reazioni dove interviene l'acetaldeide. L'aumento dell'intensità colorante del vino come effetto dell'acetaldeide è ben conosciuto (6,7). L'ossigeno catalizza l'ossidazione dell'etanolo ad acetaldeide, la quale fa da ponte nelle reazioni fra flavonoli e antociani, con conseguente formazione di pigmenti di peso molecolare anche elevato (8).

La microssigenazione, solitamente, si esegue aggiungendo al vino piccole, continue e controllate quantità di ossigeno puro o aria all'interno dei vini per un certo periodo di tempo (in genere 3-4 mesi o anche meno). Alcuni parametri sono in grado di influenzare il tasso di ossigeno nel vino quali l'anidride solforosa, la quantità di tannini e antociani e la capacità del vino di consumare l'ossigeno introdotto. Può essere aggiunto in tutti gli stadi della vinificazione, anche se l'aggiunta in fase post-fermentativa sembra in grado di migliorare la qualità del vino, sia a livello sensoriale, sia per la stabilità del colore (2,3,8,9).

Obiettivo del lavoro è stato quello di comparare gli effetti della microssigenazione nel tempo sui parametri chimico-fisici, colore, attività antiossidante e polifenoli, analizzati sia per spettrofotometria UV-Vis sia per HPLC, di due vini ottenuti da un vitigno autoctono sardo, il Cagnulari, uno dei quali ottenuto da vendemmia tardiva.

Materiali e metodi

I campioni di vino rosso ottenuto da uve Cagnulari sono stati forniti da una cantina sociale presente nella provincia di Sassari. Sono stati analizzati due campioni: Cagnulari (A) e Cagnulari ottenuto da vendemmia tardiva (B).

Le uve sono state vendemmiate nel 2005 e per il Cagnulari B la vendemmia è stata eseguita circa 20 giorni dopo il Cagnulari A. Il primo campionamento è stato eseguito nel mese di febbraio 2006 e i campionamenti successivi sono stati eseguiti prelevando i campioni direttamente dalle vasche di acciaio fino al mese di febbraio 2007.

Il campione A ha subito un periodo di macerazione di sette giorni; alla svinatura il vino è stato trasferito in vasca d'acciaio fino all'imbottigliamento, che viene effettuato dopo circa due anni dalla vendemmia. Il primo travaso è stato eseguito a novembre mentre il secondo nel mese di gennaio, seguito da una chiarifica con l'utilizzo di bentonite, gelatina e albumina d'uovo, e successiva filtrazione con filtro orizzontale a dischi costituiti da farina fossile. Questo vino alla fine del mese di aprile ha subito un processo di microssigenazione con le seguenti condizioni operative: 0,05 mL/L al giorno per due settimane. La tecnica della microssigenazione ha previsto l'aggiunta al vino di tannini misti (di buccia e vinaccioli). Il microssigenatore utilizzato appartiene alla ditta INTEC.

Il campione B ha subito un periodo di macerazione di 15 giorni, anziché di sette giorni. Le altre procedure di vinificazione sono identiche a quelle effettuate per il campione precedente. Anch'esso è stato trasferito in vasca d'acciaio fino all'imbottigliamento. In questo caso il vino è stato sottoposto a microssigenazione all'inizio del mese di aprile con le seguenti condizioni operative: 0,5 mL/L al giorno per 3 giorni e successivamente 1,5 mL/L per 20 giorni. Anche in questo caso è stata prevista l'aggiunta di tannini misti.

In ambedue i casi le condizioni operative sono state scelte dall'azienda produttrice.

Determinazioni analitiche

Le determinazioni analitiche per ogni campionamento sono state effettuate in duplicato.

Le determinazioni del grado alcolico, acidità totale, anidride solforosa totale e libera sono state effettuate secondo la Metodica Ufficiale (Regolamento CEE 2568/91).

Il pH è stato misurato utilizzando un elettrodo combinato, collegato mediante pHmetro (modello 710/A, Orion Research inc., Beverly, USA).

L'attività antiossidante è stata misurata secondo il metodo di Brand-Williams (10), con delle modifiche, per spettrofotometria UV-VIS (modello HP 8453 spectrophotometer, Palo Alto, CA), utilizzando il radicale DPPH.

Poiché la diminuzione di assorbanza del radicale (DO), in questo caso, segue una cinetica del 4° ordine ($r^2 \geq 0,99$), è stato possibile esprimere la capacità antiossidante come $-DO^{-3} \text{ min}^{-1} \text{ mL}$, cioè con l'equazione $1/A^3 - 1/A_0^3 = -3kt$, dove A_0 è l'assorbanza iniziale, mentre A è l'assorbanza al tempo t .

Il contenuto in polifenoli totali è stato stimato mediante spettrofotometria UV-VIS utilizzando il metodo di Singleton e Rossi (11) con il reattivo di Folin-Ciocalteu alla λ di 750 nm. Le sostanze fenoliche sono state espresse in mg/L di acido gallico.

Il contenuto in antociani totali, polimerizzati e liberi è stato stimato per spettrofotometria UV-VIS, utilizzando il metodo del *pH shift* adattato da Ribereau-Gayon and Stonestreet (1965), (12). Le antocianine sono quantificate in μM di malvidina-3-glucoside equivalenti usando il coefficiente di estinzione molare $\epsilon = 28000$. I dati sono stati poi espressi in mg/L di malvidina-3-glucoside utilizzando il peso molecolare della malvidina (529).

Per l'estrazione delle diverse classi polifenoliche si è seguito il metodo riportato da Malovanà (13), che prevede un'estrazione liquido-liquido. I polifenoli estratti sono stati recuperati con 2 mL di una soluzione acqua/metanolo (1/1). La soluzione è stata filtrata con filtri da 0,22 μm e analizzata in HPLC. La determinazione degli antociani è stata effettuata sul campione di vino tal quale previamente filtrato.

I polifenoli sono stati analizzati in HPLC (Hewlett-Packard, Series 1090), equipaggiato con un diode array detector (DAD, HP 1050) seguendo le condizioni operative riportate in (14, 15) e determinati a quattro lunghezze d'onda differenti: 280 nm per acidi benzoici e catechine; 316 nm per acidi idrossicinnamici e stilbeni; 365 nm per i flavonoli; 520 nm per gli antociani. Nei grafici sono riportate le somme, espresse in mg/L dei composti identificati per le diverse classi e quantificati con gli standard di riferimento o per valutazione degli spettri UV e dei tempi di ritenzione.

La misurazione del colore del vino è stata effettuata usando il metodo di Glories (16) che prevede la valutazione per via spettrofotometrica dei seguenti parametri cromatici: intensità del colore, tonalità, % di giallo, di rosso e di blu.

Elaborazione statistica

I dati ottenuti sono stati elaborati utilizzando il programma Statistica 6.0 (Statsoft). E' stata eseguita un'Anova fattoriale nella quale i predittori categoriali, sono stati il tipo di campione (A e B) e il

periodo di campionamento (0, 45, 90, 135, 180, 240, 330 giorni). La differenza fra le medie, per le due tecniche, è stata effettuata applicando la formula dell'LSD di Fisher con un livello $p \leq 0,05$.

Risultati e discussione

Il grado alcolico al momento del campionamento era pari a 13,3 % per il campione A e a 13,2 % per il B.

Il trattamento di microssigenazione era già in atto al secondo campionamento per ambedue i vini (cioè ai 45 giorni). Non sono state riscontrate variazioni particolarmente significative nel tempo per i parametri chimico-fisici, quali l'anidride solforosa totale e l'acidità totale.

Per ambedue i vini il contenuto di anidride solforosa libera diminuisce ai 240 giorni e il pH aumenta significativamente durante la conservazione, in particolare nel campione B. Il campione B, verso la fine della conservazione, mantiene valori significativamente più elevati di SO₂ libera rispetto al campione A. La letteratura riporta che la microssigenazione non sembra avere effetto sulla SO₂ ma, se permane un accumulo di ossigeno disciolto, questa diminuisce (4). L'acidità totale rimane invece costante nell'anno di conservazione.

Il contenuto in polifenoli totali e l'attività antiossidante sono riportati nella Fig. 1.

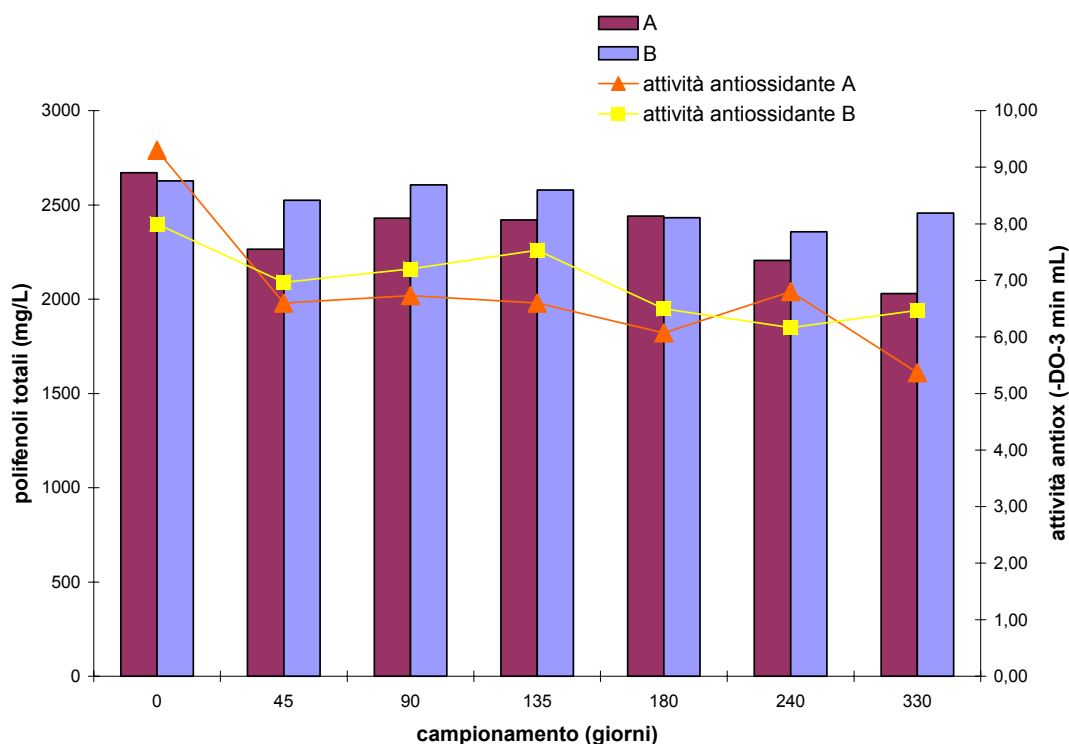


Fig. 1 Evoluzione dei polifenoli totali e dell'attività antiossidante durante la conservazione

Per quanto riguarda il campione B, il primo campionamento rivela che, nonostante la macerazione prolungata, il contenuto polifenolico non differisce significativamente dal campione A. Durante la conservazione però il contenuto dei polifenoli si attesta sempre su valori significativamente più alti per il campione B, a parte il campionamento ai 180 giorni. Per quanto riguarda il campione A possiamo notare come la diminuzione più consistente si manifesti negli ultimi due campionamenti. Il decremento riscontrato nel contenuto polifenolico totale è stato già osservato da altri autori (2, 4, 8) su vini sottoposti a trattamenti di microssigenazione ma il dato relativo al campione B non conferma quanto riportato in letteratura (4,8) per vini microssigenati.

Per quanto riguarda l'attività antiossidante, dopo un primo decremento significativo e della stessa entità per i due campioni, ai 45 giorni, il valore rimane costante per tutta la durata della prova a

parte l'ultimo campionamento relativo al campione A, dove il decremento è significativo. Sembra quindi che la microossigenazione non influisca particolarmente sull'attività antiossidante dei vini, determinata con il radicale DPPH. Solo nell'ultimo campionamento il valore risulta significativamente più elevato nel campione B.

Il trattamento della microossigenazione in questo caso potrebbe aver influito sull'attività antiossidante dei vini, per via delle modificazioni strutturali che avvengono a carico dei tannini (8) ma i valori da noi riscontrati potrebbero essere dovuti semplicemente ai fenomeni di invecchiamento del vino, in cui le antocianine e altri composti complessi, insieme alle proantocianidine, contribuiscono alla formazione dei tannini. Queste molecole potrebbero essere responsabili del fatto che l'attività antiossidante del vino non sia diminuita significativamente durante la conservazione (18).

L'analisi della correlazione eseguita fra il contenuto dei polifenoli totali e l'attività antiossidante ha rivelato valori di coefficienti di correlazione altamente significativi ($p \leq 0,05$) per entrambi i campioni: 0,790 per il campione A e 0,940 per il B. Così come è elevata la correlazione fra attività antiossidante e contenuto di antociani totali: 0,820 per il campione A e 0,850 per il B ($p \leq 0,05$). Tale dato conferma quanto riportato in letteratura da altri autori (18, 24, 25). In entrambi i casi il coefficiente è sempre più elevato per il campione B.

Nella Fig. 2 è riportata l'evoluzione degli antociani totali, polimerizzati e liberi nel tempo:

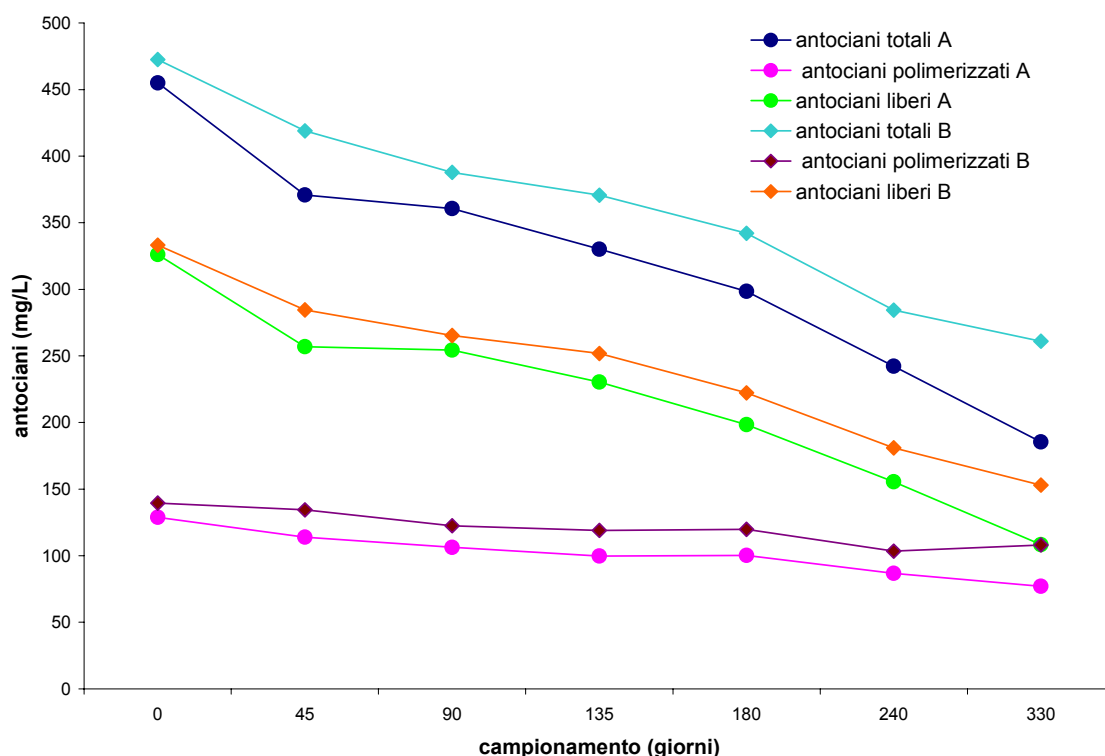


Fig. 2 Evoluzione degli antociani totali, polimerizzati e liberi nel tempo

Nel corso del campionamento si rileva una diminuzione significativa per le diverse forme di antociani, confermando quanto già evidenziato in altri lavori (2,4,8). Tale fenomeno potrebbe essere dovuto al fatto che i polifenoli partecipano a reazioni di condensazione e polimerizzazione, con conseguente formazione di nuovi pigmenti e composti polimeri in grado di stabilizzare il colore del vino. Il decremento degli antociani polimerizzati è leggermente inferiore nel campione B. In letteratura è infatti riportato un valore di antocianine polimerizzate più alto in vini microossigenati (3,4,19). Il contenuto delle diverse forme antocianiche è significativamente differente fra i due campioni, infatti il campione B presenta un contenuto significativamente più elevato di tutte e tre le

forme, per tutta la durata della conservazione. La durata della macerazione non dovrebbe aver influito sul contenuto delle forme antocianiche, come riporta la letteratura (17), dove il maggior aumento del contenuto in antociani è stimato essere tra il quarto e il quinto giorno di contatto con le bucce, per cui dopo dieci giorni di contatto l'incremento è veramente irrisorio ma, nel nostro caso, potrebbe aver influito l'epoca della vendemmia, posticipata di circa 20 giorni.

I dati relativi alla determinazione del colore, per i due campioni, sono riportati nelle Figg. 3 e 4:

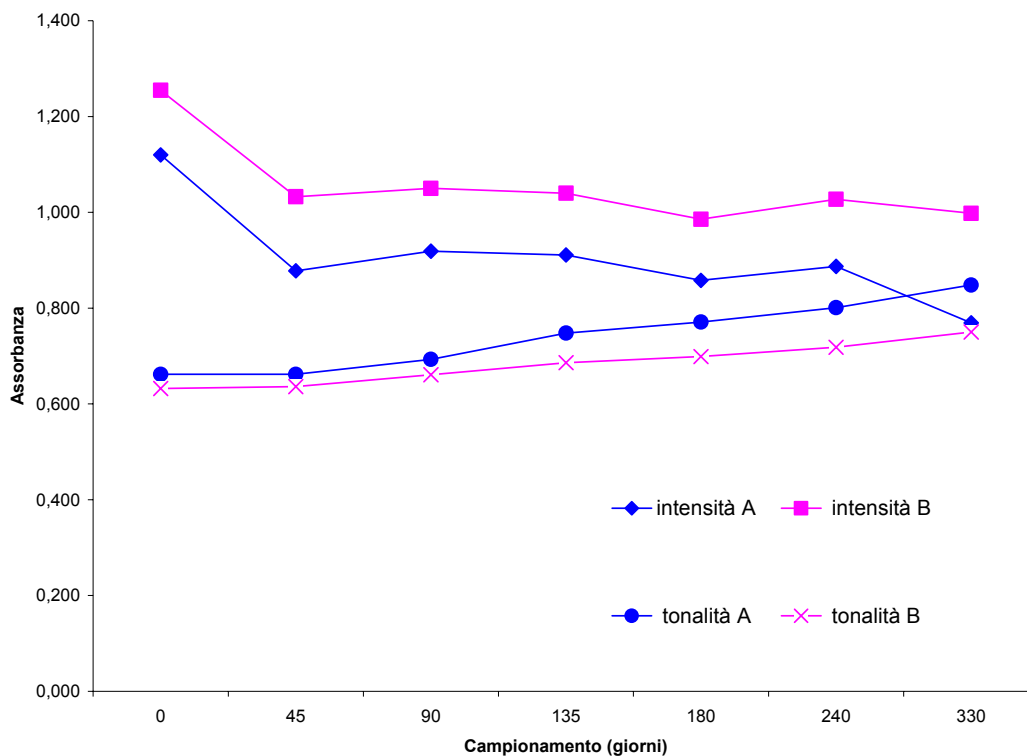


Fig. 3 Evoluzione dell'intensità colorante e tonalità nel tempo.

Dopo una prima diminuzione ai 45 giorni per ambedue i campioni, l'intensità colorante si attesta su valori più costanti nel campione B. Questo significa che la microossigenazione è stata in grado di stabilizzare meglio il colore del vino solo nel campione B, anche se non in maniera consistente. In questo caso infatti non si ha un aumento significativo dell'intensità colorante del vino, come notato da altri autori su campioni microossigenati (2,4,8) ma, rispetto al campione A, si ha una maggiore stabilità dell'intensità colorante. L'Anova fattoriale riporta un contenuto significativamente più elevato per l'intensità nel campione B, per tutta la durata del campionamento.

I valori della tonalità, parametro indicatore di possibili ossidazioni, invece aumentano come succede in tutti i vini sottoposti a conservazione. Questo dato conferma quanto riportato in letteratura su vini microossigenati dove non si evidenziano differenze significative, per la tonalità, fra tesi ossigenate e non ossigenate. In questo caso l'Anova fattoriale riporta un contenuto significativamente più elevato per la tonalità, per tutta la durata del campionamento, nel campione A.

Per quanto riguarda le % di giallo e rosso vediamo che, durante la prova, la prima aumenta nei due campioni e la seconda diminuisce, come accade normalmente nei vini durante la conservazione. L'Anova fattoriale ha evidenziato differenze significative fra i due campioni per le due percentuali: la % di giallo è significativamente più alta nel campione A, per tutto il periodo di conservazione e, viceversa per la % di rosso, più elevata nel B. Il campione B mostra quindi una maggiore intensità colorante. La % di blu, dopo una diminuzione iniziale al secondo

campionamento per ambedue i campioni, aumenta significativamente nel tempo. Negli ultimi due campionamenti il valore è significativamente più elevato nel B. Questo fa capire, così come riportato in letteratura (2, 4, 20), che si sono formati nuovi pigmenti e composti polimeri che hanno contribuito non solo al mantenimento dell'intensità colorante ma anche all'incremento della tonalità viola dei vini.

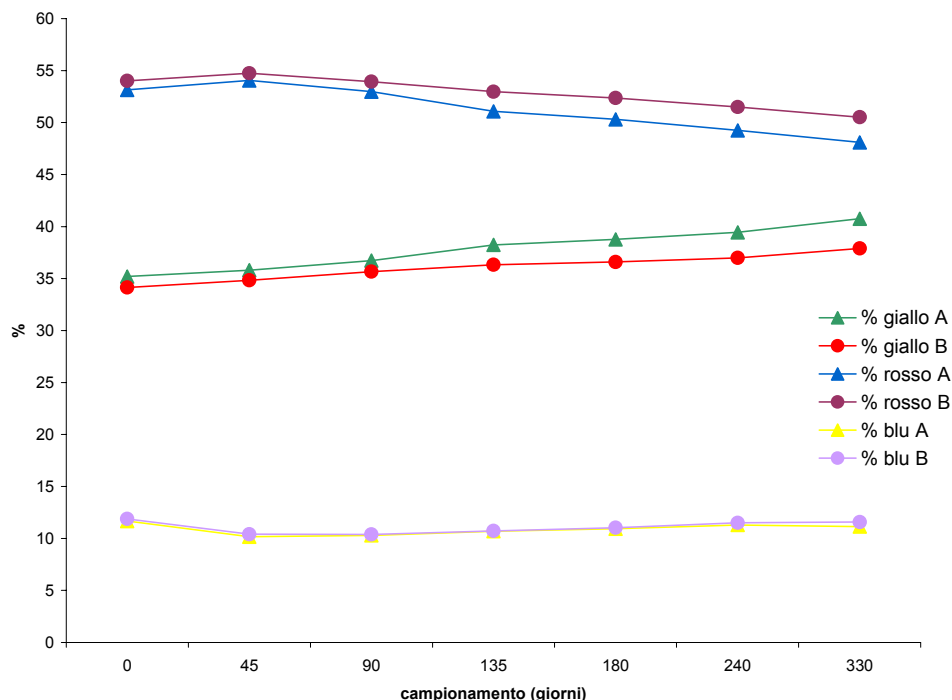


Fig.4 Evoluzione degli indici relativi alla % di giallo, rosso e blu nel tempo.

Il contenuto delle diverse classi polifenoliche determinato per HPLC è riportato nella fig. 5:

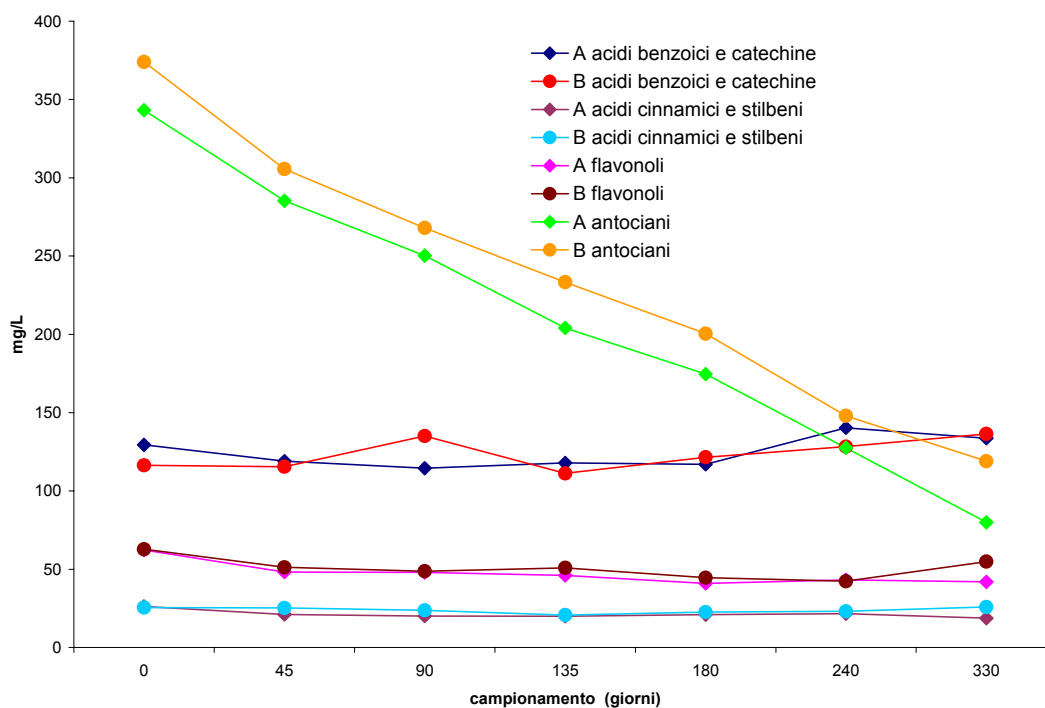


Fig. 5. Evoluzione degli acidi benzoici e catechine, acidi cinnamici e stilbeni, flavonoli e antociani nel tempo.

Il contenuto in acidi benzoici mostra un andamento altalenante durante l'anno di conservazione in vasca ma, ai 180 giorni, aumenta in ambedue i campioni. È necessario ricordare che, durante il trattamento di microssigenazione, al vino è stata aggiunta una miscela di tannini misti (di buccia e vinaccioli) che possono aver liberato acido gallico per reazioni di idrolisi acida. Inoltre, come riportato in letteratura, gli acidi benzoici possono incrementare nel vino a causa di reazioni di idrolisi (enzimatica e non) che avvengono durante la conservazione (21). In seguito al trattamento di microssigenazione, questa classe di polifenoli subisce una diminuzione significativa solo nel caso di ossigenazioni molto spinte (2). Ricordiamo infine che la diminuzione delle catechine si manifesta sempre molto lentamente ed è più pronunciata nelle prime fasi della conservazione (21, 22). L'Anova fattoriale non ha mostrato differenze significative fra i due campioni durante la conservazione.

Gli acidi cinnamici, nel campione A, subiscono un decremento significativo ai 45 giorni per poi stabilizzarsi nei campionamenti successivi, con qualche debole incremento che conferma quanto riportato in letteratura dove, per questi acidi, sono stati osservati incrementi durante la conservazione (21). Nel campione B la tendenza alla diminuzione, riscontrata nel campione A, non si manifesta. Durante la conservazione i valori rimangono sempre più elevati per il campione B, tranne ai 135 e ai 240 giorni dove non c'è significatività.

In relazione al trattamento della microssigenazione, le ricerche effettuate in merito rivelano che la microssigenazione non riduce il contenuto degli acidi cinnamici ma tende a stabilizzarne la quantità. Per quanto riguarda gli esteri dell'acido tartarico sono stati riscontrati perfino livelli più elevati nei vini microssigenati rispetto a quelli non sottoposti a tale trattamento (4). Questo dato sorprende poiché queste molecole sono notevolmente suscettibili ai processi di ossidazione quindi, nel vino microssigenato, il contenuto dovrebbe essere sicuramente inferiore (1). Altri lavori riportano una diminuzione del contenuto in acido caffeico solo in vini sottoposti a microssigenazioni molto intense (2).

I flavonoli, durante il periodo di conservazione, subiscono un decremento con delle variazioni significative ai 45 e ai 180 giorni per il campione A, mentre il campione B ha un andamento più altalenante, con un aumento particolarmente significativo nell'ultimo campionamento. Ricordiamo che gli agliconi aumentano spesso durante la conservazione del vino, a causa di meccanismi di idrolisi enzimatica dei flavonoli coniugati (18). Si è visto, infine che vini sottoposti a microssigenazione hanno un contenuto in quercetina nettamente inferiore ai vini non microssigenati, indicando l'elevata reattività della quercetina nei confronti dell'ossigeno (2, 8). L'Anova fattoriale ha evidenziato differenze significative nel contenuto in flavonoli fra i due vini Cagnulari della stessa azienda, anche se non per tutti i campionamenti. Il loro contenuto rimane comunque quantitativamente più elevato nel campione B.

Nei due campioni in esame, si nota un decremento significativo delle forme di antociani da noi riscontrate nel vino, nel tempo. Tale dato conferma quanto riportato in letteratura, dove vini microssigenati mostrano valori più bassi di antocianine monomere, acilate e cinnamate (4). Le antocianine monomere, come riportato precedentemente, si trasformano, attraverso forme oligomere, in pigmenti polimerizzati molto più stabili nel tempo (23). Gli antociani quindi diminuiscono ma, contemporaneamente si manifesta una stabilizzazione del colore grazie alla formazione di questi polimeri.

Il campione B ha un contenuto in forme antocianiche significativamente differente rispetto al campione A. La durata della macerazione non dovrebbe aver influito sul contenuto delle forme antocianiche, come riporta la letteratura (17), ma potrebbe aver influito l'epoca della vendemmia. In conclusione, il Cagnulari ottenuto da vendemmia tardiva (B) mostra una maggiore stabilità al colore e un mantenimento delle componenti antocianiche, dei flavonoli e degli acidi cinnamici nel tempo. I polifenoli totali subiscono un decremento inferiore nel tempo rispetto al campione A e sono anche maggiormente correlati con l'attività antiossidante. Il trattamento di microssigenazione, sembra aver influito maggiormente sul campione B, probabilmente a causa delle diverse condizioni di impiego.

Bibliografia

- 1) Singleton V. L., 1987. Oxygen with phenols and related reactions in musts, wines and model systems: observations and practical implications. *Am. J. Enol. Vitic.* 38, 69-77.
- 2) Amati A., Arfelli G., Castellari M., Simoni M., 2000. Effetto dell'ossigenazione controllata sulla frazione fenolica dei vini rossi. *Industria delle bevande*, XXXIX, 606-612.
- 3) Bosso A., Guaita M., Vaudano E., Di Stefano R., 2000. Influenza dell'ossigeno sull'evoluzione dei composti fenolici durante la conservazione dei vini rossi. *Industria delle bevande*, XXIX, 630-640.
- 4) Pérez Magariño S., Sánchez Iglesias M., Ortega Heras M., González Huerta C., González Sanjosé M.L., 2006. Color stabilization of red wines by microoxygenation treatment before malolactic fermentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 214, 444-448.
- 5) Cano-Lopez M., Pardo-Minguez F., Lopez-Roca J.M., Gomez-Plaza E., 2006. Effect of Microoxygenation on Anthocyanin and Derived Pigment Content and Chromatic Characteristics of Red Wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 57:3, 325-331.
- 6) Timberlake, C.F., Bridle P., 1977. Anthocyanins: Colour pigmentation with catechin and acetaldehyde. *J. Sci. Food Agric.*, 28, 539-544.
- 7) Vivar-Quintana, A.M., Santos-Buelga, C., Rivas-Gonzalo, C., 2002. Anthocyanin-derived pigments and colour of red wines. *Anal. Chim. Acta*, 458, 147-155.
- 8) Ferrarini R., Girardi F., De Conti D., Castellari M., 2001. Esperienze di applicazione della microossigenazione come tecnica d'affinamento dei vini. *Industria delle bevande*, XXX 116-122.
- 9) Castellari M., Matricardi L., Arfelli G., Galassi S., Amati A., 2000. Level of single bioactive phenolics in red wine as a function of the oxygen supplied during storage. *Food Chemistry*, 52(1), 61-67.
- 10) Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebens. Wiss. Technol.*, 28, 25-30.
- 11) Singleton V. L., Rossi J. A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16, 144-158.
- 12) Burns J, Gardner P., O'Neil J., Crawford S., Morecroft I., McPhail D.B., Lister C., Matthews D., MacLean M.R., Lean M.E.J., Duthie G.G., Crozier A., 2000. Relationship among antioxidant activity, vasodilator capacity, and phenolic content of red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 220-230.
- 13) Malovanà S., Garcia Montelongo F.J., Pérez J.P., Rodriguez-Delgado M.A., 2001. Optimization of sample preparation for the determination of *trans*-resveratrol and other polyphenolic compounds in wines by high performance liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta* 428, 245-253.
- 14) Donovan J.L., Mayer A.S., Waterhouse A.L., 1998. Phenolic composition and antioxidant activity of prunes and prune juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 1247-1252.
- 15) Nakatani N., Kajano S., Kikuzaki H., Sumino K., Katagiri K., Mitani T., 2000. Identification, quantitative determination, and antioxidative activities of chlorogenic acid isomer in prune (*Prunus domestica* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 5512-5516.
- 16) Glories Y., 1984. La couleur des vins rouges. *Connaissance Vigne Vin.*, 18, N°4, 253-271.
- 17) Sacchi K.L., Bisson L.F., Adams D.O., 2005. A review of the effect of winemaking techniques on phenolic extraction in red wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 56:3, 197-206.
- 18) Zafrilla, P., Morillas, J., Mulero, J., Cayuela, J.M., Martinez-Cacha, A., Pardo, F., Lopez Nicolas, J.M., 2003. Changes during storage in Conventional and Ecological Wine: Phenolic Content and Antioxidant Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 4694-4700.
- 19) Castel, C., Morand A., Pujol G., Naudin, R., 2001. Influence de la micro-oxygenation sur la composition phenolique et les caractères sensoriels des vins rouges. *Industria delle bevande*, XXX, 271-276.
- 20) Moutounet M., Mazauric J.P., Ducournau P., Lemaire T., 2001. Micro-oxygenation des vins. Principe et applications technologiques. *Industria delle Bevande*. XXX, 253-258.
- 21) Recamales A.F., Sayago A., González-Miret M.L., Hernanz D., 2005. The effect of time and storage on the phenolic composition and colour of white wine. *Food Research International*, XXX, 1-10.
- 22) Gomez-Cordovés C., Gonzales-SanJosé M.L., 1995. Interpretation of color variables during the aging of red wines: relationship with families of phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 43, n. 3, 557-561.
- 23) Larrauri J.A., Sánchez-Moreno C., Rupérez P., Saura-Calixto F., 1999. Free radical scavenging capacity in the aging of selected red spanish wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 1603-1606.
- 24) Burns J, Gardner P., O'Neil J., Crawford S., Morecroft I., McPhail D.B., Lister C., Matthews D., MacLean M.R., Lean M.E.J., Duthie G.G., Crozier A., 2000. Relationship among antioxidant activity, vasodilator capacity, and phenolic content of red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 220-230.
- 25) Villaño D., Fernández-Pachón M.S., Troncoso A.M., Garcia-Parrilla M.C., 2005. Influence of enological practices on the antioxidant activity of wines. *Food Chemistry*, XXX, 1-11.