



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

CARACTERIZACIÓN DE COMPUESTOS VOLÁTILES Y SEMIVOLÁTILES EN
VINOS BLANCOS JÓVENES POR HS-SPME-GC-MS

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA

Q. GUIANELLI BERENICE TORRES DÍAZ

TUTOR

DRA. ARACELI PATRICIA PEÑA ÁLVAREZ
FACULTAD DE QUÍMICA

México, D.F. NOVIEMBRE 2015



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

**CARACTERIZACIÓN DE COMPUESTOS VOLÁTILES Y SEMIVOLÁTILES EN
VINOS BLANCOS JÓVENES POR HS-SPME-GC-MS**

TESIS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS

P R E S E N T A

Q. GUIANELLI BERENICE TORRES DÍAZ



México, D.F.

2015

JURADO ASIGNADO

Presidente	Dr. Roberto Martínez
Vocal	Dra. Alma Luisa Revilla Vázquez
Vocal	Dr. Eduardo Rodríguez de San Miguel Guerrero
Vocal	Dr. José Mariano García Garibay
Secretario	Dra. Patricia Severiano Pérez

El presente trabajo se desarrolló bajo la dirección de la Dra. Araceli Patricia Peña Álvarez, en el laboratorio 101 del Departamento de Química Analítica de la División de Estudios de Posgrado, edificio B de la Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México.

El proyecto se realizó gracias al apoyo económico del "PROYECTO SEMILLA DE INVESTIGACIÓN APLICADA 2013" y al apoyo de Freixenet Querétaro con la aportación de mostos y uvas para la elaboración de los vinos.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por brindarme la oportunidad de continuar con mi formación académica.

Al posgrado en Ciencias Químicas. A la Facultad de Química por permitir mi desarrollo en sus instalaciones.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca (número 295813) otorgada para realizar mis estudios de posgrado.

Al PROYECTO SEMILLA DE INVESTIGACIÓN APLICADA 2013 por su apoyo económico.

A Freixenet Querétaro por la aportación de uvas y mostos para la elaboración de los vinos.

A la Dra. Araceli Patricia Peña Álvarez por la orientación, asesoría, confianza y apoyo que me brindó en la realización de este trabajo.

A los miembros de mi jurado: Dr. Roberto Martínez, Dra. Ana Luisa Revilla, Dr. Eduardo Rodríguez, Dra. Mariano García y Dra. Patricia Severiano, por sus aportaciones académicas para el mejoramiento de esta tesis.

Al Dr. Rodrigo Alonso Villegas por su contribución al proyecto.

A Dra. Patricia Severiano Pérez y a los sommeliers Rodrigo Antonio Ramírez Guadarrama y Keila Olán Pacheco por su participación en la cata de los vinos.

A mis padres Alicia Díaz y Filiberto Torres por su ejemplo a seguir, su motivación y apoyo. A mis hermanos Alan y Edgar por su apoyo y compañía.

A mi novio Antonio Romero por su apoyo y compañía incondicional durante la realización de este proyecto.

A los profesores Antonio Romero y Ernestina Silva por su amistad y apoyo.

A mi amigo Jorge Ibarra Espinosa por su apoyo y confianza a pesar de estar a kilómetros de distancia.

A la maestra Rocío Juárez por su apoyo. A mis amigos del laboratorio Alejandro Díaz, Jerónimo Cabrera, Félix Araujo, Irán Ocaña, Ana Heredia y Felipe Lozano por su amistad, apoyo y compañía.

Índice

Abreviaturas.....	IX
Índice de tablas.....	X
Índice de figuras.....	XII
Resumen.....	XV
Capítulo 1: Introducción.....	17
Capítulo 2: Justificación e hipótesis.....	19
2.1. Justificación del proyecto.....	19
2.2 Hipótesis.....	19
Capítulo 3: Objetivos.....	20
3.1. Objetivo general.....	20
3.2. Objetivos particulares.....	20
Capítulo 4: Antecedentes.....	21
4.1. Breve historia del vino.....	21
4.1.1. Producción y consumo de vino a nivel mundial.....	22
4.2 Breve historia del vino en México.....	23
4.2.1. Producción de vino en México.....	24
4.2.2. Consumo de vino en México.....	25
4.3. ¿Qué es el vino?.....	26
4.3.1. Clasificación del vino.....	26
4.4. Elaboración de vino blanco joven.....	30
4.4.1. Fase pre-fermentativa.....	30
4.4.1.1. Cultivo de uva.....	30
4.4.1.2. Vendimia.....	31
4.4.1.3. Despalillado y estrujado.....	32
4.4.1.4. Maceración pelicular.....	32
4.4.1.5. Prensado.....	33
4.4.1.6. Desfangado.....	33
4.4.2. Fase fermentativa.....	33
4.4.2.1. Fermentación alcohólica.....	34

4.4.2.1.1. Levaduras.....	34
4.4.2.2. Fermentación maloláctica.....	34
4.4.3. Fase post-fermentativa.....	35
4.4.3.1. Clarificación y estabilización.....	35
4.4.3.2. Filtración.....	36
4.5. Aroma del vino.....	37
4.5.1. Aromas primarios.....	37
4.5.2. Aromas secundarios.....	37
4.5.3. Aromas terciarios.....	37
4.6. Composición del vino.....	38
4.7. Composición química del aroma del vino.....	38
4.7.1. Alcoholes.....	40
4.7.2. Ésteres.....	41
4.7.3. Ácidos grasos.....	43
4.7.4. Terpenos.....	44
4.7.5. Norisoprenoides.....	47
4.7.6. Fenoles volátiles.....	48
4.7.7. Compuestos carbonílicos.....	49
4.8. Aceites esenciales de cáscara de lima y maracuyá.....	50
4.9. Métodos de extracción de compuestos volátiles y semivolátiles en vino.....	51
4.10. Microextracción en fase sólida.....	53
4.10.1. Parámetros que afectan la extracción por HS-SPME.....	56
4.10.1.1. Selección del recubrimiento polimérico de la fibra.....	56
4.10.1.2. Velocidad de agitación.....	57
4.10.1.3. Temperatura de extracción.....	57
4.10.1.4. Fuerza iónica.....	58
4.10.1.5. pH.....	58
4.10.1.6. Tiempo de extracción.....	58
4.10.2. Optimización de la desorción.....	59
4.11. Cromatografía de gases.....	59
4.11.1. Instrumentación.....	60

Capítulo 5: Desarrollo experimental	66
5.1. Materiales.....	66
5.2. Reactivos.....	66
5.3. Otros equipos.....	67
5.4. Preparación de disoluciones estándar.....	67
5.5. Elaboración de vino sintético.....	67
5.6. Elaboración de vino.....	67
5.7. Muestras.....	69
5.8. Detección y cuantificación de etanol (%v/v) por HS-SPME-GC-FID.....	70
5.8.1. Análisis por HS-SPME-GC-FID.....	70
5.8.2. Condiciones GC-FID.....	71
5.8.3. Identificación de etanol.....	71
5.8.4. Cuantificación de etanol.....	71
5.8.5. Evaluación de la linealidad del método.....	71
5.8.6. Evaluación de la precisión y exactitud del método.....	72
5.9. Determinación de compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles por HS-SPME-GC-MS.....	72
5.9.1. Optimización de los parámetros para HS-SPME.....	72
5.9.1.1. Influencia del porcentaje de etanol.....	73
5.9.1.2. Tiempo de extracción.....	73
5.9.1.3. Temperatura de extracción.....	73
5.9.2. Procedimiento para el análisis por HS-SPME-GC-MS de compuestos volátiles y semivolátiles en vino blanco.....	74
5.9.3. Condiciones GC-MS.....	74
5.9.4. Identificación de compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles.....	76
5.9.5. Evaluación de la precisión.....	76
5.9.6. Evaluación de la linealidad.....	76
5.9.7. Cuantificación de compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles en vino.....	76
Capítulo 6: Resultados y discusión de resultados	78
6.1. Elaboración de vinos.....	78

6.2. Determinación del contenido alcohólico en vino blanco por HS-SPME-GC-FID.....	81
6.2.1. Selección de condiciones de HS-SPME para el análisis de etanol en vinos blancos.....	82
6.2.2. Detección de etanol.....	82
6.2.3. Linealidad.....	83
6.2.4. Límite de detección (LD) y cuantificación (LC).....	84
6.2.5. Cuantificación del porcentaje de etanol.....	84
6.2.6. Evaluación de la precisión y exactitud.....	86
6.3. Determinación de compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles.....	88
6.3.1. Optimización de parámetros: %EtOH, tiempo y temperatura de extracción.....	88
6.3.1.1. Influencia del %etanol.....	88
6.3.1.2. Tiempo de extracción.....	89
6.3.1.3. Temperatura de extracción.....	89
6.3.2. Identificación de compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles.....	90
6.3.2.1. Vinos Sauvignon Blanc.....	90
6.3.2.2. Vinos Chardonnay.....	98
6.3.3. Precisión, linealidad, LD y LQ de la metodología HS-SPME-GC-MS.....	106
6.3.3.1. Precisión.....	107
6.3.3.2. Linealidad.....	109
6.3.3.3. Límites de detección y cuantificación.....	109
6.3.4. Análisis cuantitativo de vinos blancos jóvenes control, con maceración pre-fermentativa y comerciales.....	111
6.3.4.1. Análisis general.....	111
6.3.4.2. Ésteres.....	117
6.3.4.3. Ácidos grasos.....	119
6.3.4.4. Terpenos.....	121
6.3.4.5. C ₁₃ -norisoprenoides.....	122
6.3.4.6. Alcoholes.....	124

6.3.4.7. Aldehídos.....	125
6.3.5. Otros compuestos que aportan al perfil aromático de vinos blancos.....	126
Capítulo 7: Conclusiones.....	129
Capítulo 8: Anexos.....	131
Capítulo 9: Referencias.....	145

AED	Detector de emisión atómica (<i>Plasma atomic emission</i>)
%C.V.	Porcentaje de coeficiente de variación
CHA	<i>Chardonnay</i>
D.E.	Desviación estándar
d.i	Diámetro interno
ECD	Detector de captura de electrones (<i>Electron capture detector</i>)
EI	Estándar interno
FID	Detector de ionización de llama (<i>Flame ionization detector</i>)
GC	Cromatografía de gases (<i>Gas chromatography</i>)
hl	Hectolitro
HPLC	Cromatografía de líquidos de alta resolución (<i>High-performance liquid chromatography</i>)
HS-SPME	Microextracción en fase sólida en modo <i>headspace</i> (<i>Headspace-solid phase microextraction</i>)
K_{o/w}	Constante de reparto octanol/agua
LC	Límite de cuantificación
LD	Límite de detección
LLE	Extracción líquido-líquido (<i>Liquid-liquid extraction</i>)
Mhl	Millones de hectolitros
MPF	Maceración pre-fermentativa
MS	Espectrometría de masas (<i>Mass spectrometry</i>)
n	Número de réplicas
n.d	No detectado
NIST	<i>Standard Reference Data of Nacional Institute of Standards and Technology</i>
NPD	Detector de nitrógeno-fósforo (<i>Nitrogen-Phosporous detector</i>)
PAH's	Hydrocarburos aromáticos policíclicos (<i>Polycyclic aromatic hydrocarbons</i>)
rpm	Revoluciones por minuto
SB	<i>Sauvignon Blanc</i>
SPE	Extracción en fase sólida (<i>Solid phase extraction</i>)
TCD	Detector de conductividad térmica (<i>Thermal conductivity detector</i>)

Tabla	Descripción	Página
1	Bodegas vinícolas en México.....	25
2	Composición química del vino.....	38
3	Algunos compuestos principales que confieren notas aromáticas al vino....	39
4	Notas sensoriales de alcoholes.....	41
5	Notas sensoriales de ésteres.....	42
6	Notas sensoriales de los principales ácidos grasos.....	43
7	Notas sensoriales de terpenos en vinos.....	45
8	Notas sensoriales de los principales norisoprenoides.....	47
9	Fenoles volátiles identificados en vino.....	48
10	Algunos compuestos con grupos carbonilo de importancia en vino.....	49
11	Analitos estudiados en diferentes matrices por la técnica HS-SPME.....	52
12	Algunas fibras para SPME disponibles comercialmente.....	54
13	Muestras de vino <i>Sauvignon Blanc</i>	70
14	Muestras de vino <i>Chardonnay</i>	70
15	Compuestos cuantificados y sus respectivos intervalos de concentración de las curvas de calibración relativas.....	77
16	pH y color de vinos elaborados y comerciales.....	78
17	Características organolépticas de vinos SB y CHA.....	80
18	Contenido de etanol en vinos elaborados y comerciales.....	85
19	Precisión de la metodología HS-SPME-GC-FID.....	87
20	Exactitud del análisis de vinos comerciales por HS-SPME-GC-FID.....	87

21	Compuestos volátiles y semivolátiles identificados en vinos <i>Sauvignon Blanc</i>	93
22	Compuestos volátiles y semivolátiles identificados en vinos <i>Chardonnay</i> ..	100
23	Linealidad de la metodología HS-SPME-GC-MS.....	106
24	Precisión de la metodología HS-SPME-GC-MS.....	107
25	Límites de detección y cuantificación	110
26	Concentración de compuestos cuantificados por HS-SPME-GC-MS en vinos SB.....	112
27	Concentración de compuestos cuantificados por HS-SPME-GC-MS en vinos CHA.....	114
28	Compuestos responsables de algunos aromas de los vinos evaluados	127

Figura	Descripción	ágina
1	Consumo de bebidas alcohólicas a nivel mundial.....	22
2	Países con mayor producción de vino en el mundo.....	23
3	Estados y porcentaje de producción nacional de vino.....	24
4	Crianza de vinos en barrica de roble.....	27
5	Crianza de vinos en botella.....	27
6	Vino blanco, rosado y tinto.....	28
7	Esquema de vinificación de vino blanco joven.....	31
8	Fisiología de racimo de uvas y de la uva.....	33
9	1) Formación de alcoholes superiores a partir de azúcar y aminoácidos, 2) Formación de ácidos grasos a partir de azúcar aminoácidos.....	41
10	Ruta metabólica y degradación de ésteres.....	43
11	Metabolismo del ácido acético.....	44
12	Estructura química del isopreno.....	45
13	Estructuras químicas de glucósidos identificados en uva y proceso de liberación de monoterpenos, terpenos dioles y C ₁₃ -norisoprenoides.....	46
14	Mecanismos de formación de terpenos a partir de geraniol y de glucósido-geraniol.....	46
15	Mecanismo de formación de β-Damascenona.....	47
16	Conversión de ácidos hidroxicinámicos en vinilfenoles y etilfenoles.....	48
17	Metabolismo del acetaldehído y la formación de aldehídos superiores y ramificados, y de 2,3 butanodiona y acetoína.....	50
18	Lima y maracuyá.....	51
19	Diseño del dispositivo comercial para SPME.....	53

20	Modos de extracción de SPME.....	55
21	Esquema de un cromatógrafo de gases.....	60
22	Esquema de un FID.....	63
23	Esquema de analizador de masas cuadrupolar.....	65
24	Esquema de la elaboración de vino blanco joven.....	69
25	Esquema de condiciones de extracción y análisis de etanol por HS-SPME-GC-FID.....	72
26	Selección de parámetros para la extracción de compuestos volátiles semivolátiles en vino por HS-SPME.....	74
27	Condiciones de extracción y análisis de compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles por HS-SPME-GC-MS.....	75
28	Cromatograma del análisis por HS-SPME de una disolución estándar (12% v/v etanol).....	83
29	Cromatograma del análisis por HS-SPME del vino SB con MP con lima 1.5% m2 (SB5).....	83
30	Curva de calibración relativa para etanol en un intervalo de 8-14 %v/v.....	84
31	Porcentaje de etanol (%v/v) en vinos elaborados y comerciales.....	86
32	Evaluación del efecto del %EtOH en el análisis por HS-SPME-GC-MS.....	88
33	Estudio del efecto del tiempo de extracción en HS-SPME-GC-MS.....	89
34	Estudio del efecto de la temperatura en HS-SPME-CG-MS.....	90
35	Cromatograma iónico total del análisis del vino SB control m1 (SB1) por HS-SPME-GC-MS.....	91
36	Cromatograma iónico total del análisis del vino SB con MPF con lima 2.5% m1 (SB5) por HS-SPME-GC-MS.....	92
37	Perfil aromático de vinos <i>Sauvignon Blanc</i>	97
38	Cromatograma iónico total del análisis del vino CHA control (CHA1) por HS-SPME-GC-MS.....	98

39	Cromatograma iónico total del análisis del vino CHA con MPF con lima 1.5% (CHA2) por HS-SME-GC-MS	99
40	Perfil aromático de vinos <i>Chardonnay</i>	105
41	Evaluación de la concentración, umbral de precepción y notas aromáticas de los compuestos cuantificados en vinos blancos.....	116
42	Concentración de ésteres etílicos en vinos blancos <i>Sauvignon Blanc</i> y <i>Chardonnay</i>	118
43	Concentración de acetato de isoamilo, succinato de dietilo y acetato de 2-feniletilo en vinos blancos <i>Sauvignon Blanc</i> y <i>Chardonnay</i>	119
44	Concentración de ácidos grasos en vinos blancos <i>Sauvignon Blanc</i> y <i>Chardonnay</i>	120
45	Concentración de terpenos en vinos blancos <i>Sauvignon Blanc</i> y <i>Chardonnay</i>	121
46	Concentración de β -damascenona en vinos blancos <i>Chardonnay</i> y <i>Sauvignon Blanc</i>	123
47	Concentración alcoholes en vinos en vinos blancos <i>Chardonnay</i> y <i>Sauvignon Blanc</i>	125
48	Concentración de benzaldehído en vinos elaborados a partir de uva: <i>Sauvignon Blanc</i> y <i>Chardonnay</i>	126
49	Liberación de 3-mercaptohexanol por acción de la actividad β -tiasa de levaduras a partir de su conjugado natural presente en el mosto de uva.....	128
50	Estructura química de tioles volátiles y del terpeno cis-óxido de rosa.....	128

Resumen

En este trabajo se elaboraron vinos de manera tradicional (control) y aplicando maceración pre-fermentativa con cáscara de frutos (lima y maracuyá), con el fin de potenciar el perfil aromático del vino blanco joven y promover una mayor aceptación en el mercado nacional e internacional. Para obtener y evaluar el perfil aromático de los vinos se desarrolló y optimizó una metodología analítica utilizando microextracción en fase sólida seguida de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (HS-SPME-GC-MS) y también se determinó el %EtOH en todos los vinos elaborados y comerciales utilizando HS-SPME-GC-FID. En ambas metodologías se evaluó precisión, linealidad y límites de detección y cuantificación.

Los vinos blancos jóvenes se elaboraron con uvas *Sauvignon Blanc* y *Chardonnay*, obtenidas de la casa vinícola Freixenet Querétaro México y la maceración pre-fermentativa se realizó con la adición de cáscara de lima y maracuyá.

Las dos metodologías desarrolladas son rápidas, simples y sencillas. La metodología HS-SPME-GC-FID resultó exacta, precisa y lineal. El %EtOH en los vinos comerciales y elaborados se encontró en un intervalo de 8.79 a 14.49 % v/v con %C.V, < 12% (n= 3), cumpliendo con el valor mínimo aceptado (8 %) por la Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV) .

La metodología por HS-SPME-GC-MS desarrollada y optimizada presentó buena linealidad y precisión. Se identificaron 52 compuestos congénicos, como: alcoholes, terpenos, ésteres, ácidos grasos, aldehídos, norisoprenoides, fenoles volátiles y furanos; y se cuantificaron 18 compuestos principales que aportan atributos de aroma y sabor agradables a vinos blancos: 1-hexanol, alcohol 2-feniletílico, α -linalol, terpineol, β -citronelol, geraniol, butirato de etilo, acetato de isoamilo, hexanoato de etilo, octanoato de etilo, nonanoato de etilo, decanoato de etilo, succinato de dietilo, acetato de 2-feniletilo, ácido octanoico, ácido decanoico, benzaldehído y β -damascenona. La concentración de estos compuestos se determinó en un amplio intervalo de 0.1 μ g/L a 23.028 mg/L (n=2).

El perfil aromático así como el análisis cuantitativo y análisis sensorial, indicó que la maceración pre-fermentativa con cáscara de frutos (lima y maracuyá) modificó el perfil aromático al presentar mayor número y concentración de compuestos congénicos, y notas aromáticas que no presentaron los vinos control.

La maceración pre-fermentativa con cáscara de lima modificó la concentración de terpenos principalmente, alcanzando concentraciones por arriba de los umbrales de percepción (linalol, α -terpineol y β -citronelol) por lo que los vinos presentaron aromas cítricos, florales y dulces, notas aromáticas características de vinos *Sauvignon Blanc* y *Chardonnay*. La maceración pre-fermentativa con cáscara de maracuyá modificó la concentración de alcoholes, ésteres y aldehídos principalmente y presentó notas aromáticas que no presentaron los vinos control (maracuyá, tejocote y vainilla). Por lo tanto, la maceración pre-fermentativa con cáscara de frutos (lima y maracuyá) se puede aplicar para modificar el perfil aromático de vinos blancos y promover la aceptación de los mismos por parte del consumidor.

La maceración pre-fermentativa con cáscara de frutos (lima y maracuyá) modificó el perfil aromático, sin embargo, dependerá íntimamente de la variedad de uva, del clima y tipo de suelo durante el cultivo de la uva, del proceso de elaboración del vino, del tipo de fruto utilizado, del porcentaje de cáscara de fruto empleada en la maceración y del tiempo de maceración.

1. Introducción

Actualmente, la industria vinícola se encuentra en crecimiento a nivel mundial por lo que se busca la elaboración de vinos con mejor percepción aromática. El vino es la bebida resultante de la fermentación alcohólica de la uva fresca o del mosto de la uva¹. El aroma es una de las características más importantes de los vinos que influye en la calidad y por lo tanto en la aceptación por parte del consumidor².

El perfil aromático se obtiene por la combinación de alrededor de 1000 compuestos congenéricos, como: alcoholes, ésteres, ácidos grasos, aldehídos, cetonas, sulfuros, monoterpenos, C₁₃-norisoprenoides y fenoles volátiles en una concentración que varía de cientos de mg/L hasta niveles de µg/L o ng/L²⁻⁵.

Los congenéricos proceden de 4 fuentes; i) uvas, ii) prensado de la uva, iii) proceso de fermentación y iv) reacciones químicas durante la maduración del vino³. Por lo tanto, las características organolépticas del vino están íntimamente relacionadas con las etapas de elaboración, por ello existen varios métodos o factores que se pueden aplicar para mejorarlas.

En la etapa de pre-fermentación los tratamientos utilizados son: adición de dióxido de azufre y azúcar, ajuste de pH y la clarificación y maceración con los hollejos de la propia uva (maceración pelicular) del mosto. En la etapa de fermentación del mosto los factores que influyen son: la levadura, la temperatura, el tiempo de maceración y las condiciones de prensado. En la post-fermentación los tratamientos utilizados son: adición de enzimas, eliminación de las lías, filtración, clarificación y estabilización de los vinos⁶⁻⁸.

El aroma de la uva se compone de un gran número de compuestos volátiles incluyendo alcoholes, ésteres, ácidos grasos, monoterpenos y C₁₃-norisoprenoides. Estos compuestos orgánicos se localizan principalmente en la piel de la uva, algunos en su forma libre y otros en su forma ligada. Durante la elaboración del vino, los compuestos de aroma "ligados" son liberados como resultado de la hidrólisis química y/o enzimática⁹. Los estudios sobre

la influencia de la pre-fermentación en presencia de hollejos de uva en la elaboración de vinos blancos en el aumento del aroma afrutado, han concluido que la maceración pre-fermentativa con la piel de la uva mejora el aroma de los vinos blancos^{7,10}.

Actualmente se estudia incrementar el perfil aromático de los vinos blancos y con ello mayor aceptación por parte del consumidor. En el presente trabajo se estudió la influencia de la maceración pre-fermentativa con cáscara de frutos (lima y maracuyá) debido a que se ha identificado una amplia variedad de terpenos como: α -terpineol, linalol, limoneno y 4-terpineol en los aceites esenciales obtenidos de las cáscaras de dichos frutos, por lo que se utilizaron cáscaras de lima y maracuyá para la etapa pre-fermentativa¹¹⁻¹⁴.

Algunas técnicas de preparación de muestra más utilizadas para el análisis de compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles en vino son: extracción líquido-líquido (LLE, por sus siglas en inglés), extracción en fase sólida (SPE, por sus siglas en inglés) y microextracción en fase sólida (SPME, por sus siglas en inglés)¹⁵. En los últimos años, la metodología analítica de microextracción en fase sólida en modo *headspace* (HS-SPME, por sus siglas en inglés) seguida de cromatografía de gases (GC, por sus siglas en inglés) es ampliamente utilizada para el análisis de aromas en alimentos y bebidas¹⁶; y se ha aplicado con éxito para analizar los compuestos volátiles y semivolátiles en uvas y vinos por lo que en el presente trabajo se optó por utilizar esta metodología^{4,9,16,17}.

2.1 Justificación del proyecto

Hoy en día la industria vitivinícola se encuentra en búsqueda de nuevas técnicas enológicas con el objetivo de elaborar vinos con mayor percepción aromática (mayor calidad), que los conduzca a una mayor aceptación por parte del consumidor. Actualmente la industria mexicana de vinos está en crecimiento y en busca del reconocimiento de sus vinos a nivel internacional. Por ello en este trabajo se propone el uso de la maceración pre-fermentativa con cáscara de frutos (lima y maracuyá) para modificar el perfil aromático en vinos blancos; y para evaluar el perfil aromático se proponen dos metodologías analíticas mediante HS-SPME-GC-MS y HS-SPME-GC-FID con el fin de aplicarlas en el estudio de los compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles en vinos blancos.

2.2 Hipótesis

- Si se aplica la maceración pre-fermentativa con cáscara de frutos (lima y maracuyá) en la elaboración de vinos blancos, entonces se incrementará la percepción aromática de los mismos debido a la presencia de terpenos principalmente.
- Si se desarrollan metodologías analíticas mediante HS-SPME-GC-MS y HS-SPME-GC-FID precisas, sencillas y rápidas, entonces se podrán caracterizar los compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles en los vinos blancos.

3. Objetivos

3.1 Objetivo general

Elaborar vinos blancos jóvenes de manera tradicional y aplicando maceración pre-fermentativa con cáscara de frutos (lima y maracuyá), y desarrollar metodologías analíticas precisas, sencillas y rápidas para evaluar el perfil aromático de los mismos.

3.2. Objetivos particulares

- ✓ Elaborar vino blanco joven *Chardonnay* y *Sauvignon Blanc* conforme a la organización mundial de la viña y el vino (OIV) y con maceración pre-fermentativa con adición de cáscara de frutos (lima y maracuyá).
- ✓ Desarrollar una metodología mediante HS-SPME-GC-FID para la cuantificación del porcentaje de etanol y aplicarla en vinos elaborados y en vinos comerciales.
- ✓ Desarrollar y optimizar una metodología mediante HS-SPME-GC-MS para la caracterización de compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles en los vinos elaborados y en vinos comerciales.
- ✓ Caracterizar y comparar el perfil aromático de los vinos elaborados (control y con maceración pre-fermentativa) y de vinos comerciales de las mismas cepas de uva mediante la metodología HS-SPME-GC-MS optimizada. Cuantificar terpenos, alcoholes, ácidos grasos, aldehídos, ésteres etílicos de ácidos grasos, C₁₃-norisoprenoides y acetatos para relacionar los resultados con una evaluación sensorial.

4. Antecedentes

4.1. Breve historia del vino

El vino, la cerveza y el aguamiel son bebidas alcohólicas que se han elaborado desde la antigüedad¹⁸. El vino viene del griego *íonos* del verbo beneficiar, es decir, "beneficia a los hombres"¹⁹. Algunos autores sitúan los orígenes de la vid en Asia central mientras que otros aseguran que su origen es europeo²⁰. De ahí que, sea imposible conocer quien fue el primer vinicultor²¹, lo que sí se puede afirmar es que el vino era conocido por todos los pueblos antiguos, considerándolo un elixir sagrado, transmisor de vida; además de ser utilizado en rituales^{20,21}.

El descubrimiento del proceso de elaboración se atribuye a Osiris entre los egipcios y a Dionisio entre los griegos. Los hebreos por su parte afirman que fue Noé el primero en cultivar la vid. Mientras que los romanos heredaron la simpatía al vino de los griegos, gracias a las viñas plantadas por los etruscos²⁰.

El desarrollo de la viticultura se debió a la expansión del cristianismo, al ser el vino el símbolo de la sangre de Cristo en las ceremonias religiosas²¹. En la edad media la elaboración de vino fue una necesidad importante en los monasterios al poseer su propio viñedo²⁰.

Hacia el siglo XVII Holanda, Francia e Inglaterra eran los países productores de vino más importantes. Durante el siglo XVIII se presentan guerras y revoluciones, creando una crisis en el sector vinícola. Sin embargo, el periodo catastrófico fue a mediados del siglo XIX con más de un siglo de duración. Debido a que comienzan las enfermedades de los viñedos por el oídio (hongo), la filoxera (plaga de insectos) y el mildiu (hongo), además de la primera guerra mundial, la gran depresión y la segunda guerra mundial¹⁸.

La solución de la filoxera surgió del nuevo mundo, al injertar la viña europea en el pie de una americana logrando una viña resistente a la plaga que mantenía sus propiedades originales. Hoy, prácticamente todas las viñas europeas están injertadas sobre "pies" americanos²².

Después de la segunda guerra mundial, los productores europeos buscaron reponerse, pero mientras tanto los países del nuevo mundo (América, Australia, Sudáfrica y Nueva Zelanda) fueron los mejor beneficiados²³.

El origen del vino en el Nuevo Mundo comenzó la mayoría de las veces de la mano de enólogos y viticultores que emigraron a otros continentes. Hoy en día, los vinos del nuevo mundo han mejorado su calidad permitiendo conquistar mercados internacionales y competir con los vinos europeos de mayor reputación²³.

4.1.1. Producción y consumo de vino a nivel mundial

Las bebidas alcohólicas más importantes en el mercado internacional son las bebidas espirituosas, la cerveza y el vino²⁴. Las bebidas espirituosas (licor, whisky, orujo, brandy, ron, tequila, vodka y anís) son las más consumidas a nivel mundial representando un 45% del consumo total; la cerveza ocupa el segundo lugar con un 36% y el tercer lugar es ocupado por el vino con un 8.6%^{25,26} (Figura 1).

Los mayores consumidores de vino son los países europeos, ocupando el primer lugar Francia (29.7 Mhl) y el segundo Italia (20.4 Mhl). Y sólo el 39% del vino producido a nivel mundial se consume fuera de Europa²⁷.

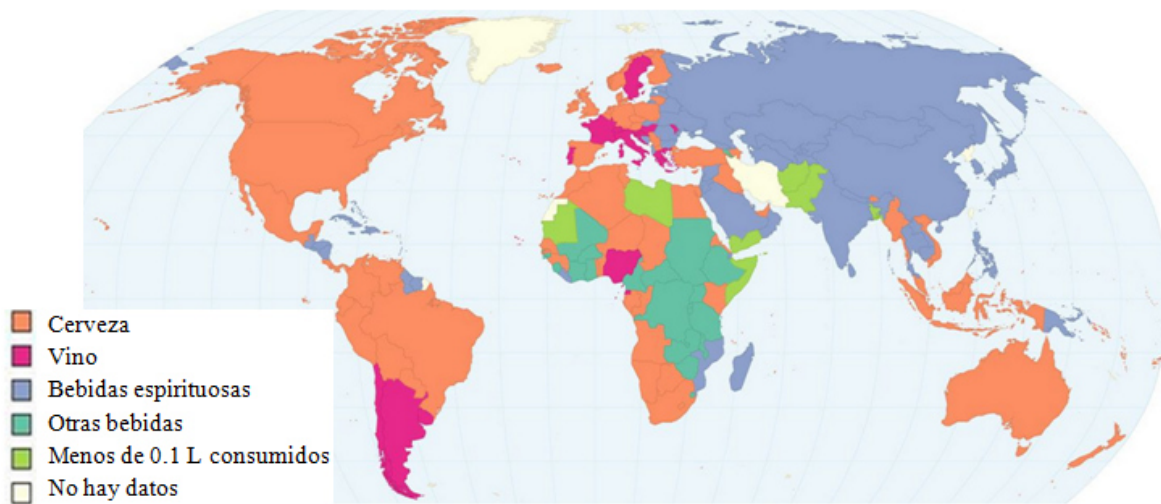


Figura 1. Consumo de bebidas alcohólicas a nivel mundial²⁶

En cuanto a la producción de vino, en el año 2014 Francia fue el mayor productor de vino, seguido de Italia y España²⁷ (Figura 2).

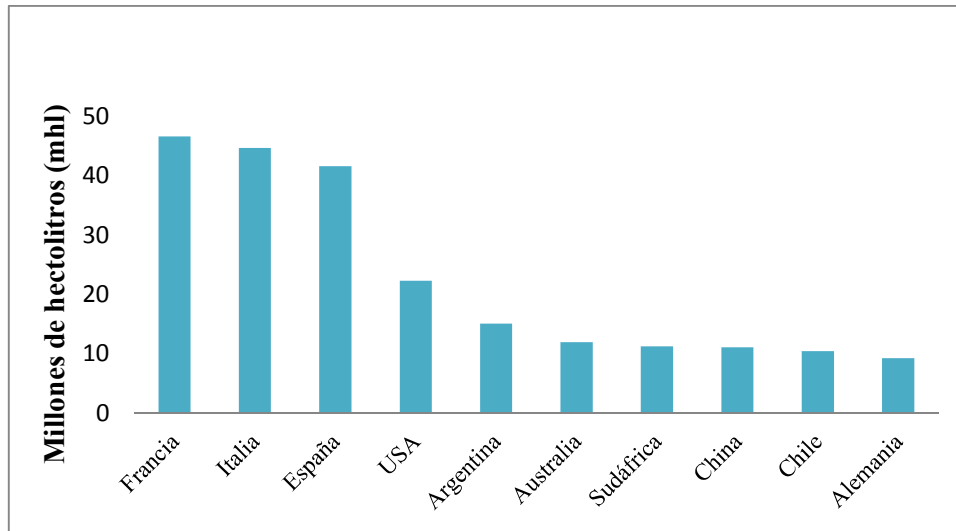


Figura 2. Países con mayor producción de vino en el mundo²⁶

4.2. Breve historia del vino en México

El vino llegó a América por primera vez con la llegada de Cristóbal Colón de España. En cuanto a México, en la época precolombina ya existían vides salvajes, pero no eran aptas para elaborar vino; fue hasta 1525 que por decreto de Cortés se cultivó la vid europea en la capital del Virreinato (Distrito Federal), Puebla, Querétaro, Guanajuato, San Luis Potosí, Michoacán, Celaya, Guerrero, Baja California y Sonora²⁸. Años después, al ser las vides productivas, la corona española prohibió el cultivo de la vid para proteger los intereses de los vinicultores que exportaban a América^{28,29}.

En 1597 mediante un permiso de la corona española, se funda la primera empresa vitivinícola del continente americano llamada Hacienda de San Lorenzo, hoy Casa Madero²⁹.

Entre los años 1791 y 1906 se plantaron cepas como Palomino, Moscatel y Tempranillo en Baja California y Coahuila²⁹.

En 1900-1910 se frenó la vitivinicultura del país debido a la epidemia de filoxera y a la revolución. En 1926 se crea la bodega L.A. Cetto en Tijuana, bodega que en el año 1951 inició el cultivo de variedades finas en el Valle de Guadalupe y en 1981 impulsó su internacionalización. En 1948 se crea la Asociación Nacional de Vinicultores. En 1972 se funda "Viñedos La Redonda" en Querétaro²⁹.

Entre 1970 y 1980 se multiplican las variedades de vid cultivadas y las casas vinícolas en país al cultivarse vid en estados como: Aguascalientes, Zacatecas, Querétaro y Baja California²⁹.

Actualmente, los viñedos mexicanos cubren alrededor de 30 000 hectáreas y hay más de 100 bodegas; a pesar de que la mayor parte es destinada a la elaboración de brandy, se ha alcanzado una producción importante de vinos de mesa; vinos que por su calidad se abrieron mercados en Europa y Estados Unidos y han ganado premios importantes en concursos internacionales²⁸.

4.2.1. Producción de vino en México

México es el productor de vino más antiguo de América, pero no ha sido si no hasta en los últimos años en los que la calidad vinícola ha tenido mayor evolución debido a que los productores están provocando un aumento en la calidad de los vinos y en la cultura vitivinícola en los mexicanos²⁸.

A pesar de que se ha incrementado la producción de vino mexicano, la producción de vinos de calidad es pequeña por lo que enfrenta una fuerte competencia internacional, principalmente por parte de Chile, Argentina, España, USA, Francia e Italia^{30,31}.

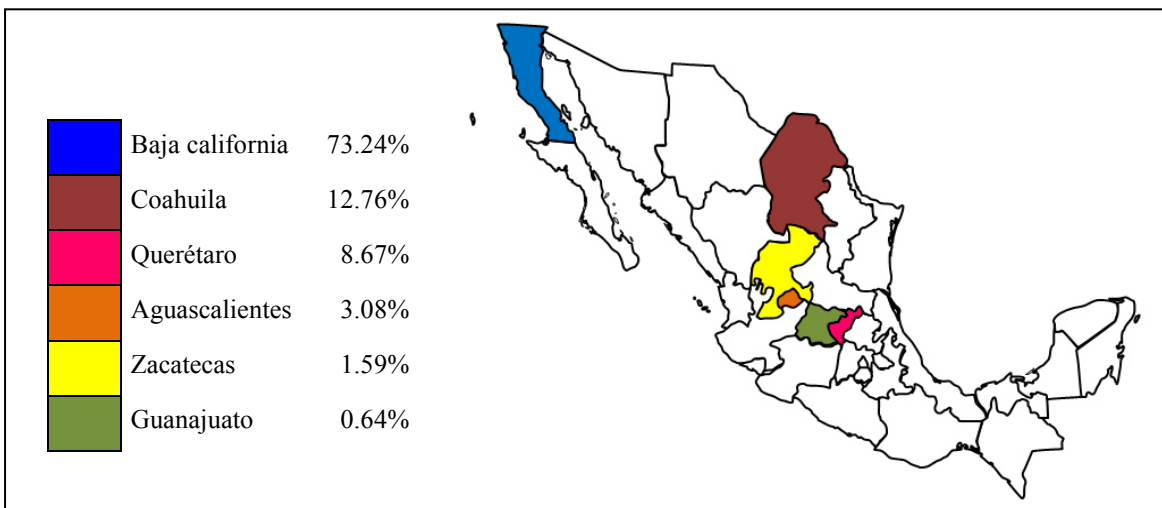


Figura 3. Estados y porcentaje de producción nacional de vino

México actualmente cuenta con 30 000 hectáreas de viñedos y con más de 100 bodegas^{32,33}. Los estados productores y en orden decreciente de producción de vino son:

Baja California, Coahuila, Querétaro, Aguascalientes, Zacatecas y Guanajuato; siendo el mayor productor Baja California seguido de Coahuila y Querétaro (Figura 3)^{33,34}.

En el año 2011 la producción de vino en México sólo representó el 0.38% de la producción mundial, ocupando el lugar 24³⁴. En la Tabla 1, se enlistan algunas de las bodegas de vino en el país más reconocidas, así como los vinos elaborados y las cepas cultivadas en cada una.

Tabla 1. Bodegas vinícolas en México

Bodega	Ubicación	Cepas de uva con las que son elaborados los vinos
Casa Madero	Coahuila	Blancos: <i>Chardonnay, Chenin Blanc, Sauvignon Blanc</i> y <i>Semillón</i> Rosados: <i>Cabernet Sauvignon</i> Tintos: <i>Cabernet Sauvignon, Merlot, Petit verdul, Shiraz, Tempranillo</i> y <i>Malbec</i> ³⁵
Monte Xanic	Baja california	<i>Cabernet Sauvignon, Merlot, Petit Verlot, Cabernet Franc</i> y <i>Syrah</i> ³⁶
Freixenet	Querétaro	Blancos: <i>Chenin Blanc, Sauvignon Blanc, Chardonnay</i> y <i>Muscat</i> Rosados: <i>Malbec, Cabernet Sauvignon</i> y <i>Merlot</i> Tintos: <i>Pinot Noir, Malbec, Merlot, Tempranillo</i> y <i>Cabernet Sauvignon</i> ³⁷
L.A. Cetto	Baja california	Blancos: <i>Chardonnay, Viognier, Chenin Blanc</i> y <i>Fumé Blanc</i> Rosados: <i>Zinfandel</i> Tintos: <i>Cabernet Sauvignon, Shiraz, Malbec, Merlot, Nebbiolo, Sangiovesse</i> y <i>Syrah</i> ³⁸
La redonda	Querétaro	Blancos: <i>Chenin Blanc, Trebbiano, Moscatel, Voura, Chardonnay</i> y <i>Sauvignon Blanc</i> Rosados: <i>Ruby Cabernet</i> y <i>Malbec</i> Tintos: <i>Ruby Cabernet, Malbec, Merlot</i> y <i>Cabernet Sauvignon</i> ³⁹
Adobe Guadalupe	Baja california	Rosados: <i>Tempranillo, Cinsault, Barbera</i> y <i>Sauvignon Blanc</i> Tintos: <i>Merlot, Cabernet Sauvignon, Malbec, Syrah, Tempranillo</i> y <i>Merlot</i> ⁴⁰

4.2.2. Consumo de vino en México

Al igual que en América Latina, en México se consume más cerveza, seguido de licores y terminando con vino⁴¹. El crecimiento de la industria del vino en el país, ha detonado en la sociedad mexicana un mayor interés por el consumo de vino⁴². Sin embargo, el consumo per cápita de vino en México es de 0.5 litros, mientras que en Francia es de 46.4 litros³². Del vino total consumido en México, el 70% es importado principalmente de Chile, Argentina, España, Francia e Italia, es decir, sólo el 30% es de origen nacional debido a que la producción mexicana es insuficiente para satisfacer el mercado^{42,43}.

Cabe destacar que el consumo de vino en México entre 2000 y 2010 se duplicó, de 27 millones de litros a 55 millones de litros de vino; y se estima que para 2020 se triplique a 180 millones de litros anuales, de los cuáles se espera que al menos la mitad sea de vinos nacionales, lo que representaría un aumento entre 30 y 50% en la participación de mercado en una industria dominada hoy por extranjeros⁴³.

4.3. ¿Qué es el vino?

El vino es la bebida resultante exclusivamente de la fermentación alcohólica parcial o total de la uva fresca, prensada o no, o del mosto de uva, y su graduación alcohólica no debe ser inferior a 8.5% v/v¹.

4.3.1. Clasificación del vino

La clasificación más utilizada es la clasificación general, la cual se basa en la forma de elaboración. Hay dos grupos: los vinos especiales y los vinos tranquilos¹.

Los vinos especiales son los procedentes de uvas frescas, de mostos o de vinos que han sufrido ciertos tratamientos a lo largo de su elaboración o después de esta, y cuyas características provienen no solamente de la uva, sino también de la técnica de elaboración aplicada. Los vinos especiales comprenden los vinos bajo velo, vinos de licor, vinos espumosos y vinos gasificados¹.

Los vinos tranquilos son aquellos que presentan una concentración inferior a 4 g/L de dióxido de carbono, por ejemplo los vinos de mesa¹.

Los vinos de mesa se pueden clasificar por el contenido de azúcares, la edad y el color^{1,28, 44}.

- Según el **contenido de azúcar residual por litro**¹, se clasifican en:

- *Secos*, vinos con nivel inferior a 4 g/L de azúcar
- *Semi-secos*, vinos con niveles inferiores a 12 g/L de azúcar
- *Semidulces*, vinos con niveles entre 12 y 45 g/L de azúcar
- *Dulces*, vinos con niveles de azúcar superiores o iguales a 45 g/L
- Por la **edad** se clasifican en vinos de crianza y vinos jóvenes:
 - *Vinos de crianza*: son aquellos que se han dejado un tiempo mínimo en barrica de roble y/o en botella (Figura 4 y 5). Son vinos que además de desarrollar las características varietales de las que proceden, desarrollan propiedades organolépticas debidas al periodo de envejecimiento. En su mayoría son tintos pero se pueden encontrar blancos y raramente rosados²⁸.

Dependiendo del tiempo en barrica o botella se dividen en:^{28, 44}

- Vinos de crianza: mínimo 2 años de crianza (mínimo 6 meses en barrica).
- Vinos de reserva: mínimo 3 años de crianza (mínimo 1 año en barrica).
- Vinos de gran reserva: mínimo 5 años de crianza (mínimo 1.5 años en barrica).



Figura 4. Crianza de vinos en barrica de roble⁴⁵



Figura 5. Crianza de vinos en botella⁴⁶

- *Vinos jóvenes*: son aquellos vinos que no han tenido ningún tipo de crianza o la crianza ha sido mínima, por lo que el consumo ideal es en los 12 o 24 meses después de la vendimia. Este tipo de vinos conservan las características de la variedad de uva de la cual procede. Y se pueden encontrar vinos tintos, blancos y rosados^{28,44}.

- Clasificación por **color**

El color depende del tipo de uva utilizada y del proceso de elaboración. Se distinguen principalmente 3 grupos: vinos tintos, rosados y blancos (Figura 6).



Figura 6. Vino blanco, rosado y tinto ⁴⁷

- ✓ El **vino tinto** se elabora con uva tinta, cuyos pigmentos, aromas y taninos se encuentran en el hollejo. En el aspecto visual las tonalidades van desde violáceas a cereza en vinos jóvenes y de rubí a rojo teja cuando son sometidos a envejecimiento. Los vinos jóvenes presentan aromas frutales y/o vegetales mientras que los de crianza a frutos secos, especias, hierbas aromáticas, humo, minerales, entre otros. En boca son tánicos, cálidos y persistentes⁴⁸. Algunas variedades de uva tinta son: *Cabernet Sauvignon*, *Garnacha Tinta*, *Merlot*, *Pinot Noir*, *Tempranillo* y *Zinfandel*²⁸.
- ✓ El **vino rosado** es un tipo de vino que constituye un vino intermediario entre el vino tinto y el vino blanco. Se obtienen normalmente a partir de uvas tintas al dejar en contacto el mosto con la piel aportando color y a veces, se obtiene por la mezcla de vino blanco y tinto (champán rosado)⁴⁹. Las tonalidades en color varían de rosa fresa a frambuesa apareciendo colores anaranjados con rosado en vinos con crianza de más de 2 años. El aroma es intenso a frutas rojas y/o frutal o vegetal llegando a desprender aromas especiados en vinos de crianza. En sabor son frescos, ligeramente ácidos y dulces o semidulces^{50,51}.
- ✓ El **vino blanco** es elaborado con uvas blancas. En este tipo de vino se distinguen tonalidades de amarillos pálidos a verdosos en vinos jóvenes y de amarillos dorados a

oro en vinos de crianza. El aroma de vinos jóvenes es intenso y principalmente afrutado mientras que los de crianza presentan aromas especiados, balsámicos, minerales y/o a madera. Algunas variedades de uvas blancas son^{28,50}:

- *Albariño*, cultivada en el norte de Portugal y en Galicia, producen vinos de alta calidad de color amarillo verdoso y acidez elevada. Además, de ser ligeros, secos y equilibrados. Les caracteriza una armoniosa complejidad aromática de frutas y flores cuando son jóvenes. En boca son frescos y persistentes^{28,51}.
- *Chenin Blanc*, cultivada principalmente en una sección del valle de Loira (Francia) desde Blois a Angers. En general, producen vinos de distintos estilos de calidad pero no elevada, a la vista es un vino de color amarillo verdoso tenue^{28,51}.
- *Chardonnay*, cultivada principalmente en Borgoña y Champagne (Francia), no obstante, es cultivada en todas las áreas vinícolas del mundo. Producen vinos suaves, equilibrados y de gran finura. Debido a su adaptabilidad a distintas vinificaciones, sus características aromáticas pueden variar bastante, pero en general los vinos de esta variedad de uva son vinos con aromas intensos afrutados y florales de color amarillo con reflejos verdosos^{28,51}.
- *Sauvignon Blanc*, es originaria del Valle de Loira (Francia), pero ha sido adaptada en diferentes partes del mundo como: California, Nueva Zelanda y México. Los vinos que se elaboran con esta variedad de uva son: secos, de elevada acidez, dulces, de color es amarillo claro con reflejos verdes y con aromas frutales, florales, herbales y vegetativos⁵²⁻⁵⁴
- *Moscatel*, cultivada por toda la costa mediterránea, es decir, en la península ibérica (Málaga, Valencia, Alicante, Setúbal), Italia, Chipre, Francia, hasta las Islas Canarias, Sudáfrica y Australia. Se producen vinos variados como los espumosos y generosos. El vino más apreciado es el dulce por ser muy aromático y elegante²⁸.

- *Palomino*, variedad propia de Jerez España, sin embargo, también se encuentra en Portugal, Sudáfrica, Argentina, Perú, Estados Unidos, México y Australia. Se elaboran vinos generosos con un sabor característico fresco algo amargo²⁸.
- *Resling*, variedad que se adapta perfectamente a Alemania, California, Nueva Zelanda, Australia, Chile y Argentina. Los vinos obtenidos son secos o dulces, de color verde y limpio presentando aromas florales y un equilibrio de sabor dulce y cítrico²⁸.

4.4. Elaboración de vino blanco joven

La elaboración del vino es uno de los procesos más complejos y fascinantes de la transformación de una materia prima de origen vegetal. Inicia con la recolección de la uva y cuando concluye la fermentación alcohólica del mosto, ya se denomina vino. Sin embargo, la mayoría de los enólogos someten los vinos a procesos de clarificación y estabilización antes de su embotellado. Y en muchos casos antes del embotellado, el vino es sometido a un proceso de envejecimiento con la finalidad de perfilar y afinar todas sus cualidades^{21,28} (Figura 7).

Las técnicas empleadas hoy en día para la elaboración de vinos blancos, están encaminadas a la obtención de vinos de calidad. Según las pautas marcadas por la moda, dicha calidad se manifiesta en las siguientes características: vinos brillantes, de gran limpidez, de colores pálidos, muy aromáticos, afrutados, de grado alcohólico débil, ligeros, de poco cuerpo y ácidos⁵⁵.

Las características organolépticas del vino están íntimamente relacionadas con las etapas de elaboración, por lo que existen varios métodos o factores que se pueden utilizar para mejorarlas. En la etapa de pre-fermentación los tratamientos son: adición de dióxido de azufre y azúcar, ajuste de pH, clarificación del mosto y maceración con los hollejos de la propia uva (maceración pelicular) del mosto. En la etapa de fermentación del mosto los factores que influyen son: levadura, temperatura, tiempo de maceración y condiciones de prensado. En la post-fermentación los tratamientos utilizados son: adición de enzimas, eliminación de lías, filtración, clarificación y estabilización de los vinos⁶⁻⁸.

4.4.1. Fase pre-fermentativa

Etapa que consiste en la obtención del mosto de la uva para su posterior transformación a vino⁶.

4.4.1.1. Cultivo de la uva

La uva con que se elabora el vino proviene de las plantas del género botánico *Vitis*, principalmente de la especie *Vinifera*⁶.

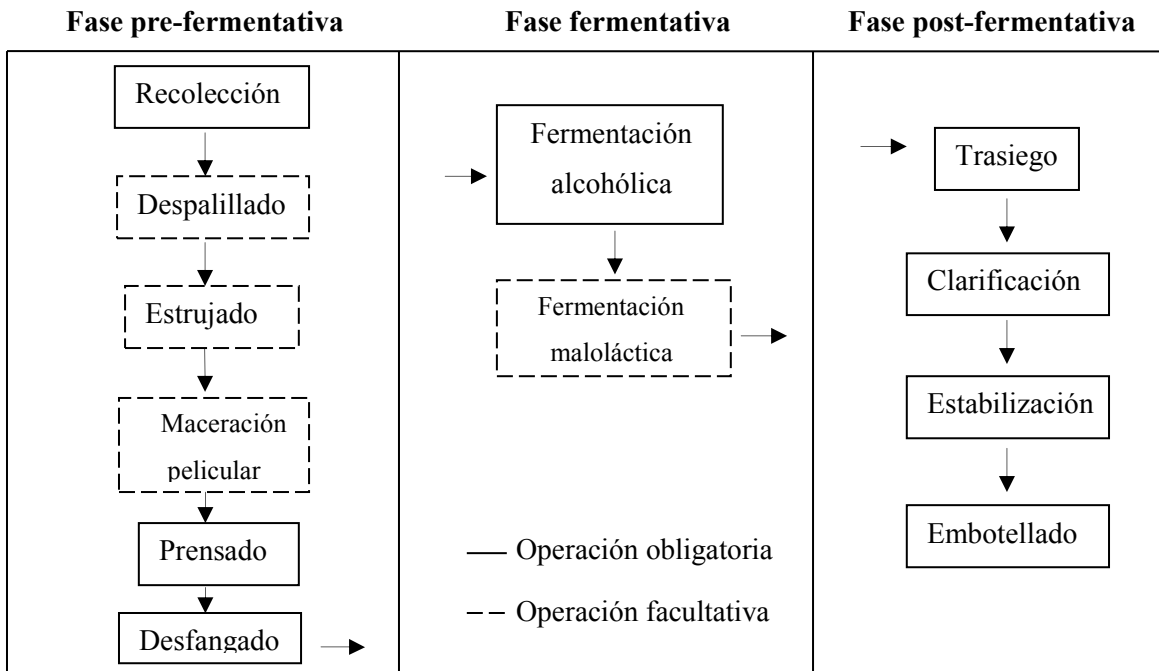


Figura 7. Esquema de vinificación de vino blanco joven ^{49,58}

La calidad del vino depende mucho de las características de la cepa de uva utilizada para su elaboración, por ello va a depender de la concentración de azúcares de la uvas, de la abundancia de levaduras y bacterias autóctonas que estén en los frutos en el momento de la cosecha, así como de un buen cultivo, recolección, traslado y tratamiento de la uva^{56,57}.

Hay factores importantes entorno al cultivo de la uva: los factores climáticos y las características del suelo⁵⁶. La uva es muy sensible a enfermedades y a cambios climáticos extremos. La mayor parte de las principales regiones productoras de vino del mundo se encuentran entre los 30° y 50° de latitud en ambos hemisferios norte y sur dentro de una zona "templada", es decir, aquellos soleados, poco húmedos y con buena circulación de

aire^{57,58}. Con respecto al suelo, los recomendados son aquellos arcillosos y arenosos con un pH entre 6.5-7.2⁵⁷.

4.4.1.2. Vendimia

La cosecha de la uva o también llamada vendimia, puede ser realizada de manera manual o mecánica. La vendimia es una etapa donde se puede estropear el trabajo de todo el año. Realizada demasiado pronto, no se alcanza la madurez adecuada; algunos días más tarde se tiene el riesgo de un desarrollo de podredumbre⁴⁹.

Las uvas más sanas y maduras son las aptas para obtener vinos de calidad. Por lo que para realizar la vendimia se debe determinar la madurez y el estado sanitario de la uva mediante: un inspección visual para el descarte de enfermedades, la medición del contenido de azúcares, la medición de la acidez total y la apreciación de la madurez fenólica (color) en el caso de uvas tintas⁴⁹.

4.4.1.3. Despalillado y estrujado

Una vez llegada la uva blanca a la bodega, deben procesarse lo más pronto posible con el fin de evitar deterioro y fermentación prematura⁵⁷. Debido a que las reacciones bioquímicas son catalizadas por enzimas y por temperatura, el enfriamiento de la vendimia o de los mostos es favorable para la conservación de la calidad⁴⁹. Otra manera de proteger la oxidación y las contaminaciones microbianas es realizando un sulfitado ligero (1 a 3 g/hl) o desplazando el aire por CO₂ (en mostos)⁴⁹.

El despalillado es la operación que consiste en separar las bayas de sus raspones (Figura 8); mientras que el estrujado es la operación destinada a aplastar las bayas para extraer más fácilmente el jugo de la uva (mosto o zumo) y facilitar la disolución de los compuestos contenidos en el hollejo^{49,57}.

4.4.1.4. Maceración pelicular

En la mayoría de las veces al finalizar el estrujado, es retirado casi en su totalidad el hollejo y raspones de los racimos antes del prensado (Figura 8). Sin embargo, cada vez es más popular para los enólogos el permitir por unas horas o días el contacto de la piel de la uva con el mosto a bajas temperaturas antes del prensado para mejorar las propiedades aromáticas de los vinos^{7,10,49,57,59}.

Los compuestos aromáticos de la uva se encuentran en su forma libre, contribuyendo directamente al aroma del vino o en su forma ligada (mono glucósidos o glucósidos de disacáridos) como no volátiles, llamados precursores aromáticos, siendo esta forma la más predominante^{59,60}. La hidrólisis por enzimas o ácidos de los glucósidos ligados produce olores activos de algunos compuestos aromáticos. Por ello, la maceración con la piel de la uva aumenta los aromas varietales y aumenta la astringencia y amargura del vino⁶¹; debido al incremento de la concentración de terpenos (linalol, geraniol, nerol), compuestos fenólicos (4-vinilguayacol), alcoholes (hexanol), norisoprenoides (β -damascenona), ésteres (acetato de etilo), entre otros⁶³. Sin embargo, el resultado final se ve influenciado por las condiciones de maceración (tiempo y temperatura) y por la variedad de uva utilizada⁶².

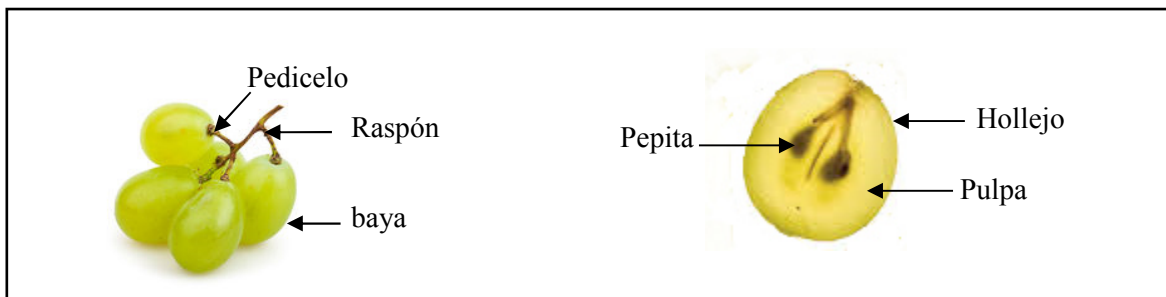


Figura 8. Fisiología de racimo de uvas y de la uva⁶⁴

4.4.1.5. Prensado

Consiste en ejercer presión suave sobre la vendimia para extraer el mosto. Antes del prensado se realiza un escurrido con el objetivo de obtener el mosto generado por el estrujado. A lo largo del prensado la calidad del mosto varía, las primeras prensas permiten la extracción de polifenoles, mientras que las últimas prensas proporcionan taninos y potasio que son compuestos indeseables por lo que se pueden eliminar⁴⁹.

4.4.1.6. Desfangado

Operación que consiste en eliminar restos vegetales (hollejos, raspones, pepitas) y partículas extrañas (tierras, metales, etc.) antes de la fermentación. Se puede realizar por: decantación (después de dejar en reposo al mosto durante unas horas), centrifugación, filtración o por floculación (adición de bentonita). Es importante que se realice bajo la acción de un sulfitado^{49,57}. El mosto está listo para su fermentación al ser trasegado a un recipiente adecuado para tal fin⁵⁷.

4.4.2. Fase fermentativa

La fermentación es la etapa donde se genera la mayoría de los compuestos orgánicos como: alcoholes, ácidos grasos, ésteres, aldehídos, cetonas, entre otros; compuestos que originan las propiedades organolépticas de los vinos⁶⁵.

4.4.2.1. Fermentación alcohólica

La fermentación alcohólica es la transformación anaerobia de azúcares, principalmente glucosa y fructuosa en etanol y dióxido de carbono (Ec. 1)⁸.



4.4.2.1.1. Levaduras

La fermentación alcohólica se lleva a cabo por levaduras (*Candida*, *Kluveromyces*, *Brettanomyces*, *Dekkera*, *Torulaspota*, etc.) y por bacterias (*Zymomonas*) que se encuentran presentes en el mosto. Sin embargo, la levadura *Saccaromyces cerevisiae* es la más predominante hasta al final debido a su alta resistencia a una concentración elevada de etanol⁸, por lo que los mostos se inoculan preferentemente con este tipo de levadura⁴⁹.

La levadura es un hongo unicelular que incluye un núcleo (organismos unicelulares). La *Saccaromyces cerevisiae* es una levadura aerobia facultativa, en función de las condiciones del medio pasa de un metabolismo a otro⁴⁹.

La temperatura es un factor fundamental para la velocidad de la fermentación alcohólica ya que las reacciones enzimáticas presentan una velocidad máxima para una temperatura determinada. A temperaturas entre 28-34 °C la fermentación es muy rápida, mientras que por debajo de 10°C se ralentiza o se detiene; por ello la temperatura para la elaboración de vinos blancos es entre 10-18°C para que se realice en un periodo de tiempo largo y los compuestos que generan los aromas primarios se preserven^{49,58}.

4.4.2.2. Fermentación maloláctica

La fermentación maloláctica generalmente se utiliza para disminuir acidez elevada y aumentar el pH en vinos por lo que se utiliza para este fin. Es la transformación del ácido málico en ácido láctico (Ec. 2). Los vinos que pasan por esta fermentación son más afrutados y especiados, presentando olores lácteos, a mantequilla (diacetilo), a cola

(acetato de etilo) y a vinagre (ácido acético). No obstante, una fermentación maloláctica muy larga o indeseada puede provocar un picado acético (ácido acético) dándole un sabor avinagrado al vino, y se puede prevenir con dióxido de azufre (sulfitado)^{21,49,58}.



Las bacterias lácticas (lactobacilos, pediococos, leuconostoc) se desarrollan en un medio rico en vitaminas, aminoácidos, pH elevado, pobre en alcohol y SO₂ y a una temperatura en torno a 25°C⁵⁸.

4.4.3. Fase post-fermentativa

Fase donde se realiza el terminado del vino (clarificación, estabilización y embotellado)⁶.

El encolado es una práctica para asegurar la clarificación y estabilización del vino⁴⁹.

4.4.3.1. Clarificación y estabilización

El vino contiene partículas coloidales en suspensión susceptibles de precipitar. Los principales coloides son las proteínas y los polisacáridos, cuya presencia puede originar problemas de filtración o de turbidez en vinos embotellados. Estos compuestos pueden sedimentar y ser eliminados con las lías en los trasiegos, pero a veces es muy larga o nula, por ello la reglamentación europea autoriza el empleo de sustancias llamadas colas con el objetivo de facilitar su sedimentación⁴⁹.

El encolado también permite la eliminación de metales (hierro y cobre), disminuyendo el riesgo de quiebras metálicas, y además mejora la pureza microbiológica, debido a la eliminación de microorganismos⁴⁹.

Los coloides se cargan electrostáticamente y pueden ser eliminados por la adición de otro coloide con carga opuesta. Las colas son sustancias que se incorporan al vino y luego, se eliminan de este con los coloides fijados mediante trasiego resultando un vino más limpio y brillante⁴⁹.

Algunos ejemplos de agentes clarificantes o colas son: albuminas (clara de huevo), gelatina, cola de pescado, carbón activado, polivinilpirrolidona (PVPP) y arcillas (bentonita). Su elección depende de la naturaleza del vino y de los compuestos que se quieren eliminar^{49,58,66}.

- Polivinilpirrolidona. Es un material sintético que permite la eliminación de compuestos de tamaño pequeño como polifenoles, ácidos fenólicos, proteínas y taninos. Ayuda a disminuir la astringencia y el sabor amargo, y a prevenir la oxidación de los vinos blancos la cual se refleja en la aparición del color bronceo. La dosis utilizada es de 30-40 g/hl^{49,66,67}.
- Bentonitas. Son minerales naturales de la familia de las arcillas, constituidas por láminas de silicatos de aluminio de tipo mortmorillonita ricos en cationes (Ca^{2+} , Mg^+ o Na^+). Fijan eficazmente las proteínas y otros compuestos catiónicos, debido principalmente a la acción de intercambio de cationes de estas arcillas. Las bentonitas más utilizadas son las sódicas y las cálcicas.

La dosis recomendada para vinos blancos es de 10 a 100 g/hl además de que las bentonitas deben ser hidratadas antes de su uso⁶⁶⁻⁶⁸.

Además de los tratamientos mencionados anteriormente para el encolado de vinos, existen otros tratamientos, como por ejemplo: el tratamiento por frío de la precipitación tartárica, también llamada estabilización en frío. Se utiliza para evitar cristales traslúcidos o coloridos en el fondo de la botella, considerados antiestéticos pero que no afectan de alguna manera la calidad del vino^{6,49}.

Los cristales son precipitados de las sales del ácido tartárico: el bitartrato de potasio y el tartrato neutro de potasio. La estabilización en frío consiste en elegir una temperatura de enfriamiento próxima a la del punto de congelación del vino tratado. Por debajo de esta temperatura, se provoca la cristalización del bitartrato de potasio que es enseguida eliminado mediante trasiego, centrifugación o filtración^{6,49}.

4.4.3.2. Filtración

Una vez que el vino es clarificado y estabilizado, se continúa con la filtración. La filtración es un proceso de tratamiento físico de los vinos que consiste en hacer pasar el vino a través de un sustrato poroso con el objetivo de retener a todos los compuestos en suspensión responsables de la turbidez, obteniendo limpidez visual y estabilidad microbiológica⁴⁹.

La filtración se realiza mediante 2 principios, dependiendo de la limpidez del vino a tratar: el tamizado y la adsorción. En el tamizado las partículas son retenidas sobre un sustrato en

el que los poros tienen un diámetro inferior al de las partículas, comúnmente se utilizan diatomeas y filtros de membranas con poros entre 10-0.45 μm . En la adsorción las partículas son retenidas por fenómenos de atracción, los poros del filtro tienen un tamaño mayor que al de las partículas por lo que las partículas finas son retenidas sobre la superficie del medio filtrante⁴⁹.

4.5. Aroma del vino

Como ya se ha mencionado, para la obtención de un vino de buena calidad aromática además de intervenir la variedad de uva, intervienen otros aspectos como el tipo de suelo, las técnicas de cultivo, la sanidad de la uva, el clima, la vendimia, las técnicas de vinificación (maceración, prensado, filtración, levadura, encolado) y el almacenamiento. Por lo que el aroma de un vino es el resultado final de una larga secuencia biológica, bioquímica y tecnológica^{69,70}. Los aromas de los vinos se dividen en 3 categorías principalmente: aromas primarios, aromas secundarios y aromas terciarios⁷¹.

4.5.1. Aromas primarios. También llamados aromas varietales, son aquellos que provienen de la cepa de uva⁶. Pueden ser de tipo floral, afrutado, vegetal, mineral y especiado, y predominan cuando el vino es joven⁷¹.

4.5.2. Aromas secundarios. Aquellos que se derivan de la fermentación⁶. Dependen de la levadura y de la vinificación. Aparecen olores amílicos (plátano), de fermentación (levadura) o lechosos (leche, crema, manteca). Estos aromas indican que un vino es joven ya que desaparecen tras algunos años de estar en botella⁷¹.

4.5.3. Aromas terciarios. Aparecen durante la crianza en barrica de roble y tras unos años de envejecimiento en botella. Los olores que provienen de la crianza son balsámicos y empireumáticos (quemado). Estos aromas son más complejos, ya que se mezclan olores a animales, especiados, vegetales y empireumáticos. En esta etapa ya se habla del buqué (aroma característico de un vino), al expresar toda la riqueza aromática que el vino puede revelar⁷¹.

4.6. Composición del vino

El vino es una solución hidroalcohólica que contiene entre un 85% a 87 % de agua, entre un 8.5 a 16 % de etanol y el resto son otras sustancias como: azúcares, vitaminas, polifenoles, sales minerales, ácidos orgánicos, compuestos fenólicos, compuestos nitrogenados y compuestos volátiles aromáticos que en conjunto resulta una bebida alcohólica con sabores y aromas característicos (Tabla 2)^{8,72,73}.

Tabla 2. Composición química del vino

Clase de compuesto	Compuesto
	Agua
Ácidos principales	Tartárico, málico, cítrico, acético, láctico y succínico
Alcoholes	Metanol, etanol, glicerol
Azúcares	Hexosas (glucosa, fructosa) Pentosas (Arabinosa, xilosa, rannosa)
Sales minerales	Aniones: Cl ⁻ , SO ₄ ⁻ , PO ₄ ³⁻ , CO ₃ ²⁻ Cationes: K ⁺ , Ca ²⁺ , Cu ²⁺ , Fe ³⁺ , Ni ⁺ , Mg ²⁺ , Mn ²⁺
Polifenoles	Fenoles Flavonoides Flavanoles
Polisacáridos	Pectinas, dextranas
Compuestos aromáticos	Alcoholes superiores, aldehídos, cetonas, ésteres, ácidos grasos, terpenos, fenoles, C ₁₃ -norisoprenoides, amidas, etc.

4.7. Composición química del aroma del vino

El sabor y aroma de las bebidas alcohólicas están relacionados con el etanol producido durante la fermentación alcohólica, sin embargo, los compuestos orgánicos que se encuentran presentes en cantidades menores también son responsables de estos atributos y contribuyen a las características distintivas entre las diferentes bebidas alcohólicas. Estos compuestos reciben el nombre de congenéricos, incluyendo alcoholes, aldehídos, cetonas, ácidos orgánicos, ésteres, compuestos azufrados, entre otros⁷⁴.

La razón por la que existan diferencias organolépticas entre las diversas bebidas alcohólicas, son las proporciones relativas entre algunos de estos congenéricos y la

concentración de etanol puesto que modifican los umbrales de percepción de algunos congenéricos⁷⁴.

El perfil aromático del vino es producido por la combinación de alrededor de 1000 compuestos orgánicos de diferentes familias químicas, como: alcoholes, ésteres, ácidos grasos, aldehídos, cetonas, sulfuros, monoterpenos, C₁₃-norisoprenoides y fenoles volátiles con una concentración que varía de cientos de mg/L hasta niveles de µg/L o ng/L²⁻⁵. La Tabla 3 presenta algunos de los principales compuestos orgánicos que le dan notas aromáticas a los vinos.

Los compuestos responsables del aroma del vino se dividen en función de la concentración en la que se encuentran en el vino en mayoritarios y minoritarios. Los mayoritarios son los que se encuentran en una concentración mayor de 0.5 mg/L (alcoholes superiores, metanol, acetaldehído y acetato de etilo), mientras que los minoritarios se encuentran en una concentración menor a 0.5 mg/L (terpenos, ésteres, alcoholes, entre otros)⁷⁵.

Tabla 3. Algunos compuestos principales que confieren notas aromáticas al vino^{16,76}

Clase de compuesto	Compuesto
Alcoholes	Hexanol, alcohol isoamílico, 2,3-butanodiol, decanol, alcohol 2-feniletílico, alcohol bencílico
Ésteres	Butirato de etilo, hexanoato de etilo, octanoato de etilo, decanoato de etilo, acetato de 2-feniletilo, succinato de dietilo
Ácidos	Ácido acético, ácido hexanoico, ácido octanoico y ácido decanoico
Terpenos	Linalol, terpineol, nerol, citronelol, geraniol, hotrienol
Norisoprenoides	β-damascenona, β-ionona
Fenoles	4-vinilguayacol, 4-etil fenol, 4-etilguayacol
Compuestos carbonílicos	Nonanal, decanal, benzaldehído, ciclohexanona

El origen de los congenéricos en los vinos es principalmente de 4 fuentes, i) las uvas, ii) prensado de la uva, iii) proceso de fermentación y iv) reacciones químicas durante la maduración del vino. Sin embargo, una parte importante es producida durante la fermentación alcohólica del azúcar de la uva por la levadura³.

4.7.1. Alcoholes

Refiriéndose a alcoholes, el etanol es el segundo compuesto más abundante después del agua en el vino, siguiéndolo el glicerol, que es un compuesto que le da viscosidad y cuerpo al vino con una concentración de 5 a 14 g/L. Mientras que el metanol es un compuesto tóxico por lo que la concentración presente en los vinos debe ser menor a 0.5 g/L^{8,77}.

Los alcoholes con más de dos átomos de carbono se denominan alcoholes superiores o "aceites de fusel" e incluyen los que tienen cadenas ramificadas como: 2-metil propanol (isobutanol), 2-metil butanol (alcohol amílico), 3-metil butanol (alcohol isoamílico), alcohol 2-feniletílico y tirosol. Desde el punto de vista cuantitativo, es el grupo más importante de compuestos volátiles producidos por la levadura; tienen importancia organoléptica en las bebidas alcohólicas e influencia toxicológica; por lo último se restringe su presencia. Por otro lado, si una bebida no tiene alcoholes superiores, se supone que es falsa^{77,68}. La mayoría de los alcoholes superiores confieren notas desagradables, sin embargo, existen 2 alcoholes principales que dan notas agradables, el alcohol 2-feniletílico que confiere una nota a rosas y el 1-hexanol que otorga notas herbáceas⁷⁸, en la Tabla 4 se mencionan las principales notas sensoriales.

Los alcoholes superiores proceden de la fermentación alcohólica a excepción del hexanol. Se forman por la descarboxilación y la posterior reducción de α -ceto ácidos producidos como intermedios de la glucólisis del azúcar o de la desaminación de los aminoácidos correspondientes (leucina para 2-metilbutanol y fenilalanina para alcohol 2-feniletílico) (Figura 9)⁸. El hexanol proviene de la reducción del hexanal por la levadura, que a su vez se forma a partir del ácido linoleico durante el proceso de estrujado de la uva⁸.

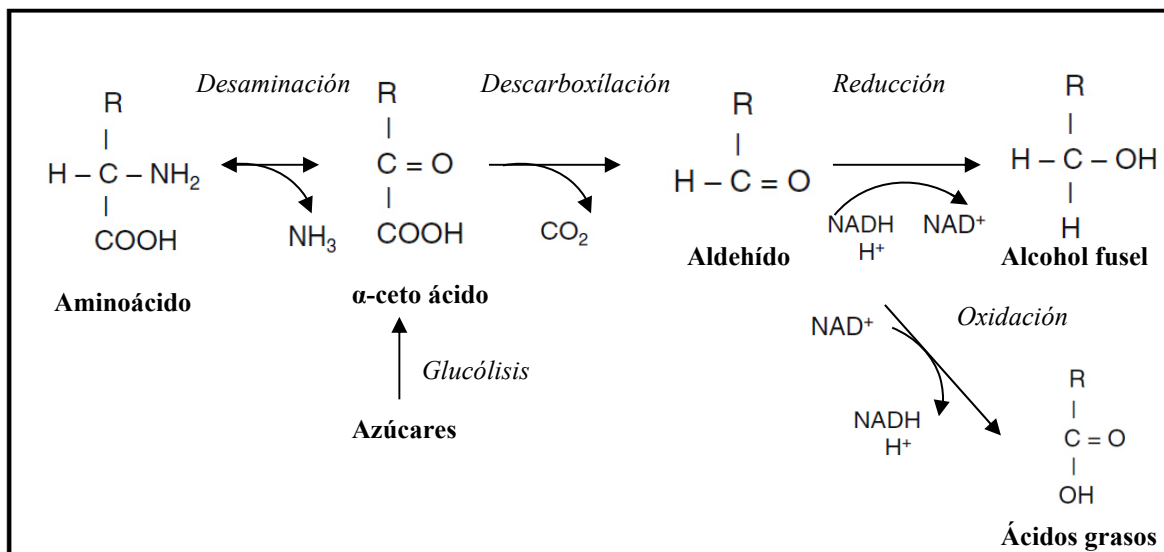


Figura 9. 1) Formación de alcoholes superiores a partir de azúcar y aminoácidos (reacción Ehrlich)^{8,68}

2) Formación de ácidos grasos a partir de azúcar y aminoácidos⁸

Tabla 4. Notas sensoriales de alcoholes.

Alcohol	Nota sensorial <small>16,76,78</small>	Umbral de percepción ($\mu\text{g L}^{-1}$) ^{16,76,79}
Isobutanol	Alcohol	70,000
Alcohol isoamílico	Fusel, queso	60,000
1-hexanol	Afrutado, hierba, grasa, madera, cáscara de manzana y aceitoso	4000
2,3-butanodiol	Afrutado	150,000
1-octanol	Cítricos intenso	120
Alcohol 2-feniletílico	Rosas, miel	10000
1-decanol	Dulce, herbal	400
1-dodecanol	Desagradable en alta concentración, en baja nota floral	1000

Umbral de percepción obtenidos en disoluciones con 10-12 % EtOH

4.7.2. Ésteres

Los ésteres son los compuestos responsables del aroma afrutado por lo que juegan un papel importante en la composición de vinos jóvenes⁸. Los ésteres más importantes son los ésteres de ácidos grasos y los acetatos de alcoholes, incluyendo acetato de etilo, butirato de etilo, hexanoato de etilo, octanoato de etilo, decanoato de etilo, acetato de hexilo, acetato

de isoamilo, acetato de isobutilo y acetato de 2-feniletilo⁸⁰, en la Tabla 5 se mencionan las notas sensoriales de algunos ésteres presentes en vinos.

Tabla 5. Notas sensoriales de ésteres

Éster	Nota sensorial <small>16,76,78,80</small>	Umbral de percepción ($\mu\text{g L}^{-1}$) ^{16,76,79}
Butirato de etilo	Plátano, piña	400
Acetato de isoamilo	Plátano, afrutado, dulce	160
Hexanoato de etilo	Frutal, piña, manzana verde	8
Acetato de hexilo	Frutal, grasa, fresca, manzana, pera, cereza, floral	670
Heptanoato de etilo	Afrutado	1400
Octanoato de etilo	Dulce, floral, afrutado, plátano, Pera, brandy, humedad, piña	580
Nonanoato de etilo	Floral, afrutado	1300
Decanoato de metilo	Heno seco, pasto de limón, frijol, floral	1.2
Decanoato de etilo	Ceroso, afrutado, dulce de manzana, brandy, uva	200
Dodecanoato de etilo	Floral, afrutado	3500
Succinato de dietilo	Ligeramente afrutado	1200
Acetato de 2-feniletilo	Floral, miel	250

Umbral de percepción obtenidos en disoluciones con 10-12 % EtOH

Los ésteres son producto del metabolismo de la levadura a través de ácidos grasos y acil CoA, es decir, los ácidos grasos después de la activación con la coenzima A, se condensan con alcoholes al ser catalizados por alcohol acetiltransferasas. Esta reacción es reversible por lo que el éster puede ser hidrolizado por esterasas resultando un alcohol y su ácido graso correspondiente (Figura 10)^{8,68}.

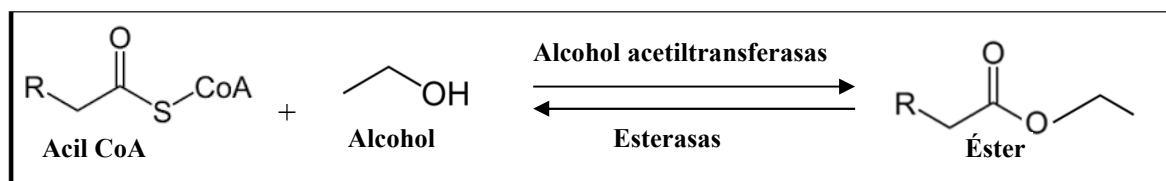


Figura 10. Ruta metabólica y degradación de ésteres⁸

4.7.3. Ácidos grasos

El vino contiene una mezcla de ácidos grasos lineales, se clasifican como cadena corta (C₂-C₄), mediana (C₆-C₁₀) y larga (C₁₂-C₁₈), y un grupo de ácidos grasos ramificados que incluyen los ácidos 2-metil propanoico, 2-metil butanoico y 3-metil butanoico⁸.

En general, a los ácidos no se les describe con notas desagradables, ya que otorgan notas a vinagre, mantequilla, queso, grasa, rancio, etc.; a excepción de los ácidos de cadena larga que al ser pesados no aportan aroma a los vinos⁸, en la Tabla 6 se mencionan las notas sensoriales de los ácidos grasos en vinos.

Tabla 6. Notas sensoriales de los principales ácidos grasos.

Ácido graso	Nota sensorial ^{16,76,80}	Umbral de percepción (µg L ⁻¹) ^{16,68,79}
Ácido acético	Vinagre	280,000
Ácido hexanoico	Queso, grasa	8000
Ácido heptanoico	Rancio	3000
Ácido octanoico	Rancio, grasa	8000
Ácido nonanoico	Graso	3000
Ácido decanoico	Rancio, grasa	1000

Umbral de percepción obtenidos en disoluciones con 10-12 % EtOH

El ácido acético es el ácido graso volátil más importante cuantitativa y sensorialmente, puesto que representa más del 90% de la acidez volátil total de los vinos. Sin embargo, una concentración mayor a 1.5 g/L otorga una nota de sabor y aroma avinagrado⁷⁹. Los principales ácidos que contribuyen al aroma a parte del ácido acético son: los ácidos hexanoico, octanoico y decanoico, y sus concentraciones dependen de las condiciones anaerobias, la cepa de levadura y la temperatura de fermentación^{8,80}.

El origen de los ácidos grasos se relaciona con paradas de fermentación o fermentaciones lentas⁷⁸. El ácido acético es producto del metabolismo de la levadura y cumple con varias funciones metabólicas, entre ellas: fungir como precursor de la síntesis de Acetil CoA en reacciones anabólicas y en reacciones de estrés fisiológico. Se origina como excedente de la producción de Acetil CoA a partir de la oxidación de acetaldehído por la enzima NAD(P)⁺ y catalizada por las enzimas aldehído deshidrogenasa citosólica y mitocondrial. El ácido acético se activa con la coenzima A para llevar a cabo las reacciones biosintéticas

para lípidos, incluyendo ácidos grasos. El ácido acético excedente generado a partir de las reacciones redox de equilibrio se secreta al medio de fermentación (Figura 11)⁸.

Los ácidos de cadena lineal (C₄-C₁₂) son subproductos del metabolismo de ácidos grasos saturados⁸¹. Los ácidos ramificados no son productos de la ruta de síntesis de ácidos grasos, se derivan de la oxidación de los aldehídos formados a partir de los α-ceto ácidos durante el metabolismo de aminoácidos (Figura 9)⁸.

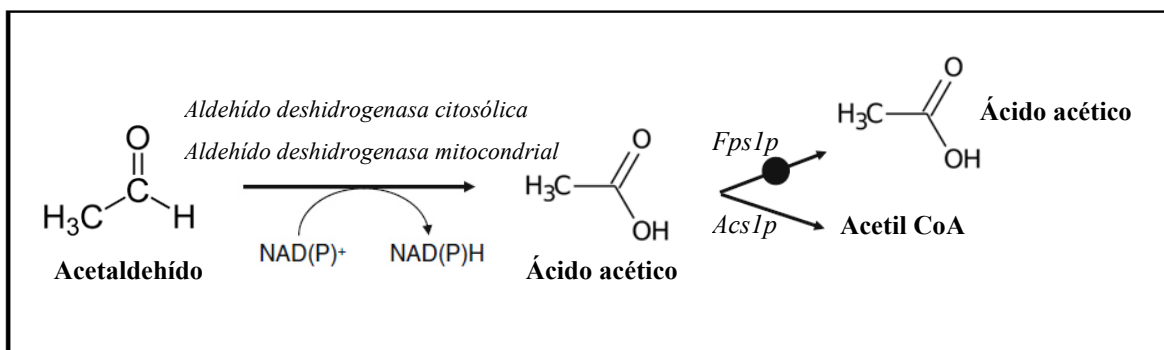


Figura 11. Metabolismo del ácido acético^{8,79}. Fps1p, Facilitador de transporte de glicerol osmoregulador. Acs1p, Anti-acetil-coenzima A sintetasa.

4.7.4. Terpenos

Los terpenos o isoprenoides son sustancias formadas por unidades isopreno (Figura 12). Según el número de isoprenos en su estructura se clasifican en: monoterpenos (2 moléculas de isopreno, como el geraniol o el limoneno); sesquiterpenos (3 isoprenos, como el farnesol); diterpenos (4 isoprenos, como el fitol); triterpenos (6 isoprenos, como el escualeno); y tetraterpenos (8 isoprenos, como los carotenoides)⁸².

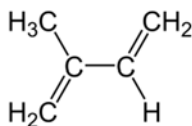


Figura 12. Estructura química del isopreno

Los monoterpenos como el linalol, geraniol, nerol, citronelol y α-terpineol, son los compuestos más importantes dentro de los terpenos en vinos al aportar notas florales, afrutadas y cítricas⁶⁸ (Tabla 7); aromas característicos de vinos blancos y jóvenes, ya que durante el envejecimiento se forman óxidos e hidróxidos de terpenos⁶.

Tabla 7. Notas sensoriales de terpenos en vino

Terpenos	Nota sensorial 6,76,80,83	Umbral de percepción ($\mu\text{g L}^{-1}$) ^{68,83,84}
Linalol	Cítricos, floral, dulce, uva	50 ^a
Nerolidol	Rosas, manzana, herbal, cítricos	700
Nerol	Rosas	400 ^a
Hotrienol	Tila	110 ^a
α-terpineol	Floral, dulce, menta	400 ^a
Citronelol	Dulce, cítricos	18 ^a
Geraniol	Dulce, rosas, geranio	130 ^a
Borneol	Alcanfor, picante	80 ^b

^aumbrales de percepción obtenidos en disoluciones con 10-12 % EtOH. ^b umbrales de percepción obtenidos en agua

Los terpenos se encuentran en la uva, en particular, en la piel. En las uvas, los terpenos se encuentran como libres y ligados. Los terpenos libres son volátiles y contribuyen al aroma de vino. Los terpenos ligados se encuentran unidos a glúcidos (azúcares) y en conjunto son llamados precursores glucosídicos y no son volátiles. Los terpenos ligados son liberados por hidrólisis ácida o enzimática glucosidasa (Figura 13). La hidrólisis ácida es lenta por lo que es principalmente una vía de liberación de terpenos durante el envejecimiento. Por el contrario, la acción de las enzimas de glucosidasas hidrolizan rápidamente los precursores glucosídicos y liberar el compuesto volátil unido⁸. Cabe mencionar, que algunos monoterpenos o glucósidos de terpenos son precursores de otros terpenos, ya sea por una hidrólisis ácida o enzimática de glucosidasa seguida de una hidrólisis ácida (Figura 14)⁸.

4.7.5. Norisoprenoides

Los norisoprenoides son generalmente moléculas con una estructura de 13 carbonos que aportan aroma al vino. Son productos de la degradación enzimática, química o fotoquímica de los carotenoides de la uva. En particular, 2 compuestos son de mayor importancia en el aroma de los vinos: β -damascenona y β -ionona (Tabla 8). La β -damascenona tiene un aroma complejo de flores, membrillo, miel y manzana. En las uvas, se genera a partir de la degradación del neoxantina (carotenoide) (Figura 15); y durante la elaboración y envejecimiento del vino a partir de precursores glucosídicos (Figura 12)^{8,85}. La β -ionona confiere una nota a violetas y es considerada como un compuesto clave en el aroma de los vinos tintos; la β -ionona se genera por la degradación de β -caroteno presente en la uva⁸⁵.

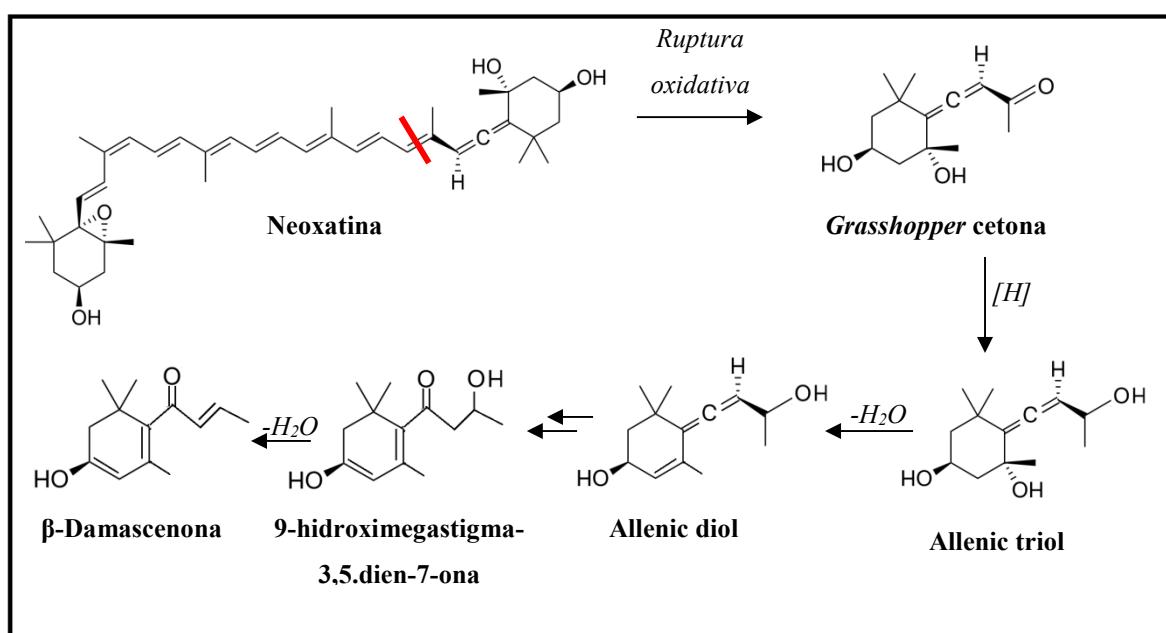


Figura 15. Mecanismo de formación de β -Damascenona⁸⁶

Tabla 8. Notas sensoriales de los principales norisoprenoides.

Norisoprenoides	Nota sensorial 76,79,8	Umbral de percepción (ng L ⁻¹) ⁸
β -damascenona	Miel, dulce, membrillo	50 ^a
β -ionona	Balsámico, rosas, violetas	30 ^b

^aumbral de percepción obtenido en disolución 10-12 % EtOH, ^bumbral de percepción obtenido en agua

4.7.6. Fenoles volátiles

Los compuestos fenólicos de la uva son importantes para el color, sabor, astringencia y amargura de los vinos. Los ácidos hidroxicinámicos son los principales compuestos fenólicos responsables del color de los vinos blancos. Sin embargo, hay compuestos fenólicos volátiles que atribuyen notas aromáticas desagradables como medicina o especias restándole calidad a los vinos⁸. En la Tabla 9 se mencionan los fenoles volátiles que se encuentran mayormente en vinos.

Los fenoles volátiles son productos secundarios producidos por levaduras, hongos o bacterias, estos compuestos se encuentran en diferentes concentraciones, siendo los vinilfenoles típicos en los vinos blancos y los etilfenoles en los vinos tintos. Los precursores de los fenoles volátiles son los ácidos hidroxicinámicos, compuestos que son enzimáticamente descarboxilados por hidroxicinamato-descarboxilasa (enzima que se encuentra presente en levaduras, hongos y bacterias) conduciendo a los derivados vinilfenoles, mismos que pueden ser reducidos por vinilfenol-reductasa para originar sus respectivos derivados etilfenoles (Figura 16)^{8,87}.

Tabla 9. Fenoles volátiles identificados en vino.

Fenoles volátiles	Nota sensorial ⁷⁶	Umbral de percepción ($\mu\text{g L}^{-1}$) ⁷⁶
4-vinil guayacol	Especias, curry	40
4-etil fenol	Moho	610
4-etil guayacol	Medicina, madera, clavo	33

Umbral de percepción obtenidos en disoluciones con 10-12 % EtOH

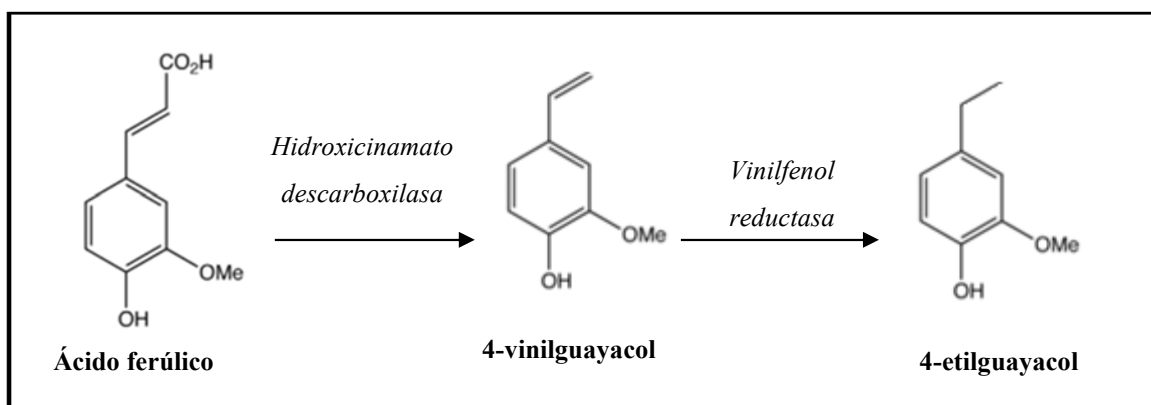


Figura 16. Conversión de ácidos hidroxicinámicos en vinilfenoles y etilfenoles

4.7.7. Compuestos carbonílicos

Las levaduras producen diversos compuestos carbonílicos como aldehídos, cetonas y ceto-ácidos durante el metabolismo de los azúcares. El acetaldehído es el aldehído más importante cuantitativamente (10 mg/L-70 mg/L), mientras que los aldehídos saturados superiores (C₃-C₉) a pesar de que se encuentran en cantidades pequeñas, contribuyen con notas herbáceas, afrutadas y picantes. En cuanto a cetonas, la 2,3-butanodiona se produce mayormente por la levadura durante la fermentación maloláctica⁸.

El acetaldehído es generado como intermediario en la producción de etanol. Es decir, durante la fermentación el ácido pirúvico es descarboxilado por piruvato descarboxilasa (Pdc1p, 5p, 6p) para producir acetaldehído, sin embargo, la mayor parte es reducida a etanol por la alcohol deshidrogenasa (Adh1p)⁸(Figura 17).

Los aldehídos superiores, excepto el hexanal, se forman durante la biosíntesis de ácidos grasos a partir de acetaldehído, que primero se oxida a acetato por aldehído deshidrogenasas (Ald3-Ald6p) y después se activa con ATP por la acetil-CoA sintetasa (Acs1p). Los aldehídos ramificados, la 2,3-butanodiona y la acetoína se forman por reacciones de descarboxilación de α -acetolactatos que se derivan por la condensación del complejo acetaldehído tiamina-pirofosfato, catalizada por la acetolactato sintetasa (Ilv2p)⁸ (Figura 17).

Tabla 10. Algunos compuestos con grupos carbonilo de importancia en vino.

Compuestos carbonílicos	Nota sensorial ^{76,78}	Umbral de percepción ($\mu\text{g L}^{-1}$) ^{16,76,68}
Nonanal	Cítricos, floral	15
Decanal	Cáscara de naranja, graso	1000
Benzaldehído	Almendras, perfumado, mazapán, azúcar quemada, plástico	2000
Acetaldehído	Nuez, manzana fermentada	500
2,3-butanodiona	Manteca, mantequilla, tostado	8.7
3-hidroxi-2-butanona (acetoína)	Manteca	150,000

Umbral de percepción obtenidos en disoluciones con 10-12 % EtOH

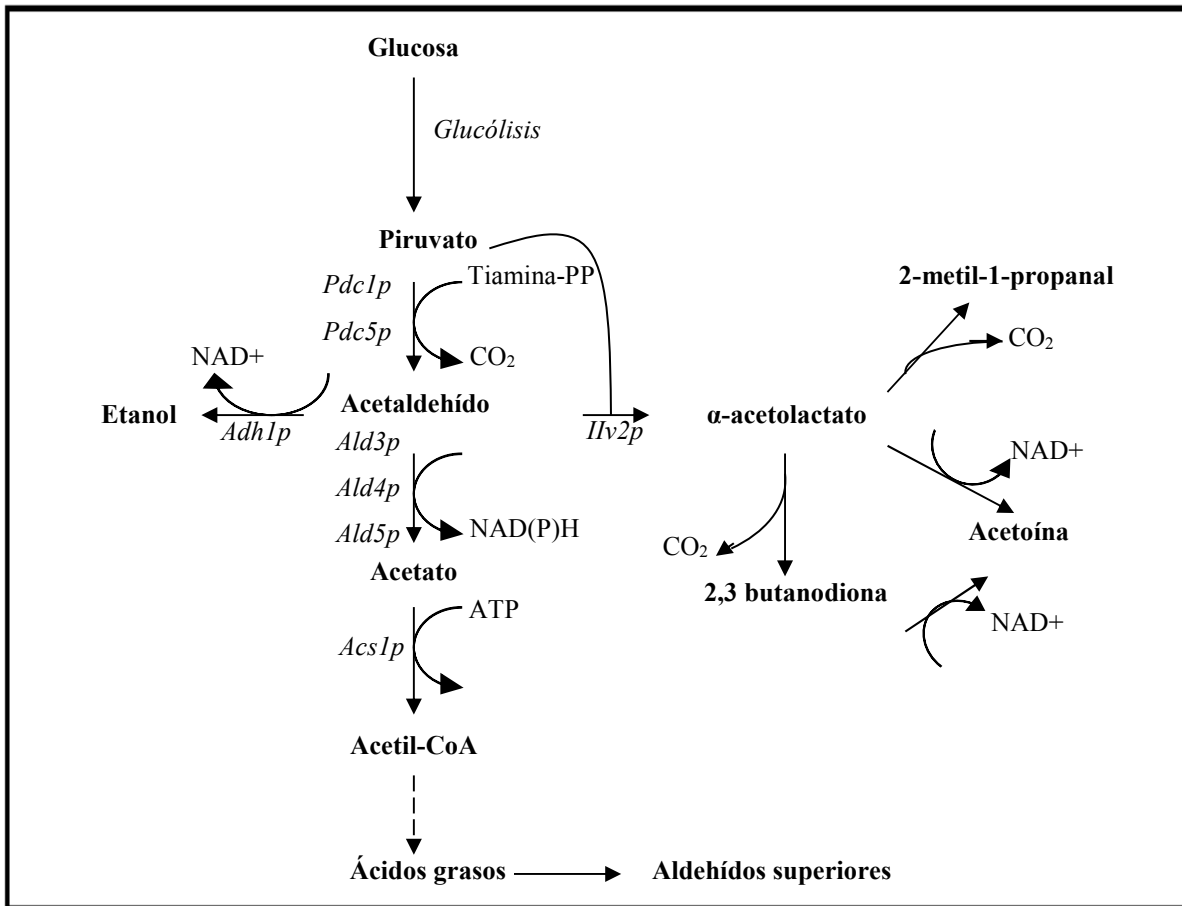


Figura 17. Metabolismo del acetaldehído y la formación de aldehídos superiores y ramificados, y de 2,3 butanodiona y acetoína⁸

4.8. Aceites esenciales de cáscara de lima y maracuyá.

La lima (*Citrus aurantifolia*) es un fruto que pertenece a la familia de los cítricos y el maracuyá o el fruto de la pasión (*Passiflora edulis*) es un fruto del género de la passiflora (Figura 18)^{88,89}. De ambos frutos se obtienen aceites esenciales de las cáscaras mediante diferentes procesos como: raspado, destilación o prensado en frío⁹⁰.

Los aceites esenciales tienen importancia en la industria farmacéutica, alimenticia, perfumería y cosmética^{91,92}.

Los aceites esenciales cítricos se diferencian de los otros aceites esenciales principalmente por un alto contenido de terpenos, principalmente (+)-limoneno. A pesar de que el maracuyá no es clasificado como un cítrico, en los aceites de lima y maracuyá además de limoneno; se han identificado terpenos como: linalol, α-terpineol, 4-terpineol, borneol, citronelol, nerol, α-tujeno, β-pineno, entre otros^{90, 93,13,14}.

Por lo anterior, en este trabajo se sugirió la maceración pre-fermentativa con cáscara de frutos lima y maracuyá, con el fin de potenciar el perfil aromático de los vinos elaborados, debido a la amplia variedad de terpenos identificados en los aceites esenciales obtenidos de su cáscara.



Figura 18. Lima (izquierda) y maracuyá (derecha)

4.9. Métodos de extracción de compuestos volátiles y semivolátiles en vino

Un procedimiento analítico para una muestra compleja consta de varios pasos, en general, incluye muestreo, preparación de muestra, separación, cuantificación, evaluación estadística y toma de decisiones. Cada uno de estos pasos es importante para la obtención de resultados correctos^{94,95}.

El objetivo de la preparación de muestra es aislar los componentes de interés a partir de la matriz de la muestra. Involucra procedimientos de extracción, de limpieza (matrices complejas), de pre-concentración o enriquecimiento y de transformación del analito en una especie que pueda ser detectada (derivatización)⁹⁴.

Debido a que el vino es una muestra compleja y en algunos casos hay compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles que se encuentran a niveles de mg/L-ng/L. Algunas de las técnicas de preparación de muestra más utilizadas son: extracción líquido-líquido (LLE, por sus siglas en inglés), extracción en fase sólida (SPE, por sus siglas en inglés) y microextracción en fase sólida (SPME, por sus siglas en inglés)¹⁵. Sin embargo, la microextracción en fase sólida en modo *headspace* (HS-SPME) es actualmente una de las más utilizada debido a que es una técnica de preparación de muestra miniaturizada libre de disolventes orgánicos, más rápida, sencilla, reproducible, sensible y con menor consumo de muestra^{9,80}.

En los últimos años la metodología analítica HS-SPME seguida de cromatografía de gases (HS-SPME-GC) es ampliamente utilizada para el análisis de aromas en alimentos y bebidas; entre ellos el vino¹⁶. Por lo que en el presente trabajo se optó por utilizar esta metodología para el análisis de compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles^{4,9,16,17}. En la Tabla 11 se presentan diferentes analitos en diferentes matrices de estudio aplicando la técnica de preparación de muestra HS-SPME.

Tabla 11. Analitos estudiados en diferentes matrices por la técnica HS-SPME

Analito	Matriz	Referencia
Haloanisoles	vino	96
Compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles del aroma	Vino, uvas, aceite de oliva virgen, frutas, flores, licor chino, miel, jugo de naranja, cerveza, whisky, especias	68,76,97-106
Compuestos fenólicos	Aceite de semilla de uva	107
Cresoles	Orina	108
Herbicidas	Plasma, sangre, suelo, agua	109,110
PAH's	Suelos	111
Compuestos orgánicos volátiles clorados	Aguas residuales municipales	112
Fenoles volátiles	Vino	113
Compuestos volátiles	Madera de roble, pan de trigo	114,115
Compuestos orgánicos de estaño	Agua	116
Ácido sórbico y benzoico (conservadores de alimentos)	Salsa de tomate	117
Pesticidas organofosforados	Agua subterránea	118
Aroma de humedad	Aguas superficiales	119
Cloruro	Sangre, plasma	120

4.10. Microextracción en fase sólida

La microextracción en fase sólida (SPME, por sus siglas en inglés) es una técnica de preparación de muestra versátil, simple, eficiente y libre de disolventes orgánicos introducida por Pawliszyn y colaboradores en 1989. Es un técnica que integra muestreo,

extracción, concentración y en algunos casos derivatización en un sólo paso por lo que disminuye tiempo, costos y errores⁹⁵.

Esta técnica emplea un capilar de sílice fundida (normalmente de 1 cm de longitud y 0.11 mm de diámetro) recubierto de un polímero adsorbente. La fibra se encuentra protegida por una cubierta metálica, asemejando una jeringa modificada (Figura 19). La selección del recubrimiento polimérico de la fibra depende de la polaridad y peso molecular de los analitos de interés ¹²¹ (Tabla 12).

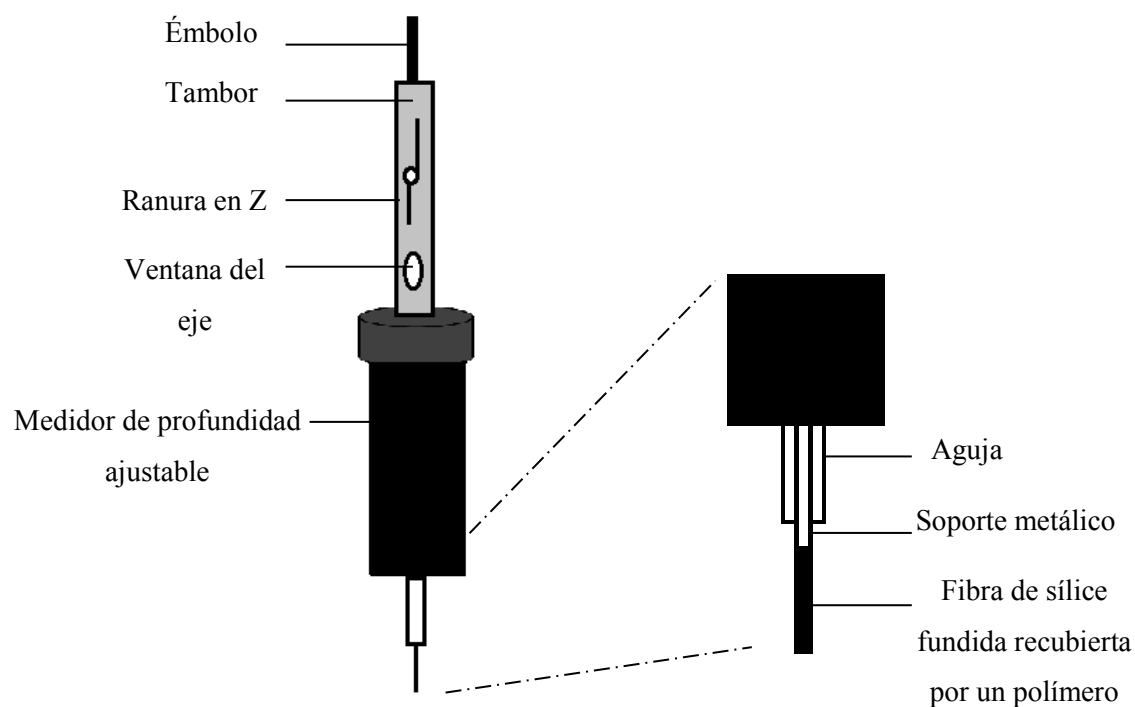


Figura 19. Diseño del dispositivo comercial para SPME¹²²

La SPME es una técnica no exhaustiva que consta de dos pasos: 1) la exposición de la fibra a la muestra, conduciendo a la partición de los analitos entre la muestra y el recubrimiento de la fibra, y 2) la desorción de los analitos extraídos en la fibra en un instrumento analítico adecuado para la separación y cuantificación.

La desorción es normalmente realizada al introducir la fibra a alta temperatura en el inyector de un cromatógrafo de gases o en una interface para SPME en HPLC ^{121,124}.

Tabla 12. Algunas fibras para SPME disponibles comercialmente ^{95,121,123}

Fase de recubrimiento de la fibra	Polaridad	Grosor de la película (µm)	Temp. máxima de operación (°C)	Analitos que son extraídos
PDMS	No polar	100	280	No polares, volátiles
PDMS	No polar	30	280	No polares, semivolátiles
PDMS	No polar	7	340	No polares, alto peso molecular, semivolátiles
Poliacrilato	Polar	85	320	Polares, semivolátiles
PDMS-DVB	Polaridad media	75	270	Polares, volátiles y semivolátiles, aminos y nitro-aromáticos
Carboxen-PDMS	Polaridad media	75	320	Gases y volátiles (Peso molecular 30-225 g/mol)

Hay tres modos de SPME: inmersión directa, *headspace* o espacio de cabeza (HS) e inmersión con membrana (Figura 20). En el modo por inmersión directa, la fibra es expuesta a muestras líquidas o gaseosas extrayendo los analitos de baja volatilidad directamente de la muestra. En el modo *headspace* la fibra es expuesta al espacio de cabeza o la fase gas, para la extracción de analitos de alta y media volatilidad de muestras líquidas complejas. La inmersión con membrana, consiste en proteger la fibra con una membrana selectiva para introducirla a una muestra líquida compleja con el fin de extraer analitos de baja volatilidad^{121,122,124}. Por lo anterior, el modo de extracción dependerá de las propiedades fisicoquímicas de los analitos de interés y/ o de la complejidad de la muestra¹²⁵

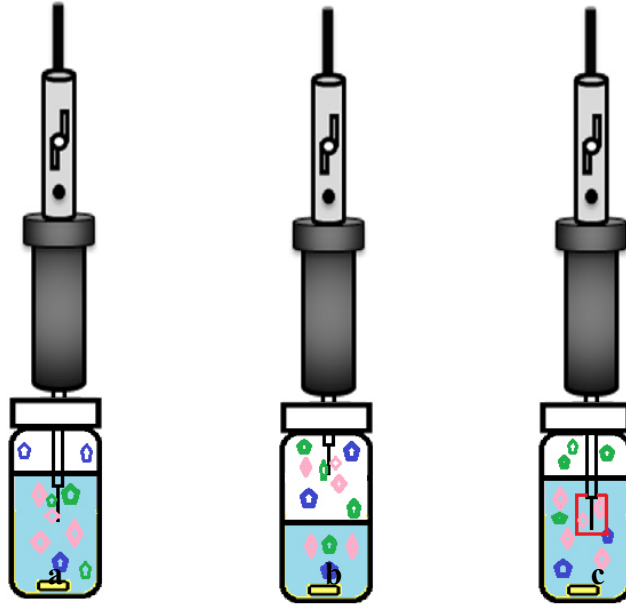


Figura 20. Modos de extracción de SPME: a) inmersión directa, b) *headspace*, c) inmersión con membrana

Durante la extracción de una muestra acuosa en un vial herméticamente cerrado, los analitos se distribuirán en 3 fases: recubrimiento de la fibra, matriz y *headspace*, hasta alcanzar el equilibrio. Puesto que la cantidad del analito debe permanecer constante, tenemos que:

$$C_0 V_s = C_f^\infty V_f + C_h^\infty V_h + C_s^\infty V_s \quad \text{Ec. 3}$$

Donde:

C_0 = concentración inicial del analito en la muestra.

$C_f^\infty, C_h^\infty, C_s^\infty$ = concentraciones de equilibrio del analito en el recubrimiento, *headspace* y matriz respectivamente.

V_s, V_f, V_h = Volúmenes de la matriz, recubrimiento y *headspace* respectivamente.

Si definimos la constante de distribución recubrimiento/*headspace* como la Ec.4 y la constante de distribución *headspace*/matriz como la Ec.5. La cantidad del analito adsorbida por el recubrimiento, $n = C_f^\infty V_f$, puede ser expresada como la Ec. 6.

$$K_{fh} = \frac{C_f^\infty}{C_h^\infty} \quad \text{Ec. 4}$$

$$K_{hs} = \frac{C_h^\infty}{C_s^\infty} \quad \text{Ec. 5}$$

$$n = \frac{K_{fh}K_{hs}V_fC_0V_s}{K_{fh}K_{hs}V_f + K_{hs}V_h + V_s} \quad \text{Ec. 6}$$

Además, si definimos:

$$K_{fs} = K_{fh}K_{hs} = K_{fg}K_{gs} \quad \text{Ec. 7}$$

Debido a que la K_{fh} puede ser sustituida por la K_{fg} , y la K_{hs} por K_{gs} , si el efecto de la humedad en el espacio superior es despreciable.

Donde: K_{fg} = constante de distribución recubrimiento/gas y K_{gs} = constante de distribución gas/matriz. La Ec. 6 puede reescribirse como:

$$n = \frac{K_{fs}V_fC_0V_s}{K_{fs}V_f + K_{hs}V_h + V_s} \quad \text{Ec. 8}$$

De esta ecuación se deduce, que en condiciones de equilibrio, la cantidad de analito extraído es independiente de la localización de la fibra en el sistema. Por lo que se puede colocar en modo headspace o inmersión, siempre y cuando los volúmenes del recubrimiento, headspace y matriz se mantengan constantes^{94,121,122,124}.

Cabe mencionar, que no es necesario que se alcance el equilibrio termodinámico para que se cumpla lo anterior, siempre y cuando se mantenga constante el tiempo de extracción¹²⁶.

4.10.1. Parámetros que afectan la extracción por HS-SPME

Existen parámetros de la SPME, que pueden ser modificados para aumentar la sensibilidad, y reproducibilidad (precisión), estos son: tipo de adsorbente polimérico, temperatura de extracción, fuerza iónica, pH, agitación y volumen de la muestra. Los cuales influyen en los valores de la K_{fs} ¹²³. La selección de los parámetros experimentales depende de los analitos de interés, la matriz y el objetivo del análisis¹²⁶.

4.10.1.1. Selección del recubrimiento polimérico de la fibra

Para la selección del tipo de recubrimiento de la fibra se deben considerar dos parámetros: la polaridad y el espesor o volumen de la fase polimérica¹²³.

La naturaleza química (polaridad y volatilidad) de los analitos determina el tipo de recubrimiento, los analitos tienen afinidad por un recubrimiento polimérico de polaridad similar. Por ejemplo, los recubrimientos no polares se utilizan para la extracción de compuestos no polares y los polares para los polares (Tabla 12). Sin embargo, si se optimizan las condiciones de extracción, se pueden extraer compuestos de diferente polaridad, como es el caso del PDMS al poder extraer compuestos más polares¹²². Actualmente se cuenta con recubrimientos de diversas polaridades, algunos de los cuales se han desarrollado para aplicaciones específicas¹²⁶.

El espesor del recubrimiento y la constante de distribución de los analitos determinan la sensibilidad del método y el tiempo de extracción. A mayor volumen de recubrimiento mayor sensibilidad al extraer mayor masa de analitos, pero requiere tiempos de equilibrio mayores¹²².

4.10.1.2. Velocidad de agitación

La agitación durante la extracción en modo *headspace* permite un transporte más rápido de masa de los analitos de la matriz de la muestra al recubrimiento de la fibra, por lo que disminuye el tiempo para alcanzar el equilibrio. Generalmente, se utilizan dispositivos de agitación que se pueden controlar, con el fin de que sea constante y homogénea, y así exista reproducibilidad; los más comunes son los agitadores magnéticos¹²⁶.

4.10.1.3. Temperatura de extracción

El calentamiento de la muestra a agitación constante en modo *headspace*, acelera aún más la transferencia de masa de los analitos al *headspace* por lo que aumenta su transferencia al recubrimiento de la fibra, disminuyendo el tiempo de extracción y aumentando la cantidad de analitos extraídos. No obstante, debido a que la SPME es un proceso exotérmico un aumento en la temperatura de extracción favorece el equilibrio a la desorción, disminuyendo la extracción de los analitos. Por lo que, la temperatura de la extracción dependerá de las propiedades fisicoquímicas de los analitos de interés, y se debe optimizar para aumentar la sensibilidad¹²⁶.

4.10.1.4. Fuerza iónica

La adición de sales como NaCl, Na₂SO₄ y K₂SO₄, tiene como objetivo aumentar la fuerza iónica de la muestra, por lo que modifica la partición de los analitos; aumentando o disminuyendo la cantidad de analitos extraídos. Por lo tanto, el efecto de la adición de sal en la eficiencia de la extracción y la cantidad de sal óptima, dependen fuertemente de las propiedades de los analitos; debiéndose definir experimentalmente.

En general, al adicionar sal se incrementa la extracción de los analitos en forma molecular (hidrofílicos) y se disminuye la extracción de los compuestos en forma iónica (hidrofóbicos)¹²⁶.

4.10.1.5. pH

Asumiendo que sólo la forma neutra de los analitos pueden ser extraídos por el recubrimiento de la fibra y suponiendo que los analitos son ácidos o bases, al ajustar el pH será mayor la sensibilidad de la extracción. Por ello, el pH debe ser 2 unidades menores que el valor de pKa de los analitos ácidos y 2 unidades por arriba en el caso de los básicos. Además, el pH debe encontrarse en el intervalo de trabajo sugerido para la fibra utilizada⁹⁴.

4.10.1.6. Tiempo de extracción

En el modo de muestreo *headspace*, el tiempo de extracción depende de la cinética del transporte de la masa de analitos de la muestra al espacio de cabeza. Como ya se había mencionado, en SPME no es necesario que los analitos se encuentren en equilibrio termodinámico para ser cuantificados ya que existe una relación lineal entre la masa extraída y el tiempo de extracción.

El tiempo óptimo será aquel en el que se extraiga la mayor cantidad de los analitos de interés, para ello se recomienda realizar una curva de masa extraída de analito vs tiempo de extracción. En la elección del tiempo de extracción debe existir un compromiso entre sensibilidad, velocidad de muestreo y precisión¹²⁶.

4.10.2. Optimización de la desorción

Los factores que influyen en la eficiencia de la desorción en SPME-GC son: flujo del gas portador, y la temperatura y tiempo de desorción. Una vez que estos factores son óptimos, deben garantizar una completa migración de los analitos al sistema analítico.

Un flujo constante y alto de gas portador facilita la desorción de los analitos. La temperatura de desorción óptima debe ser por debajo de la temperatura máxima recomendada para la fibra y una temperatura cercana al punto de ebullición del analito de interés menos volátil. En general, a mayor temperatura de desorción menor será la afinidad de los compuestos por la fibra y serán más fácilmente arrastrados por el gas portador hacia la columna. En cuanto el tiempo de desorción, debe ser aquel en el que la fibra quede libre de analitos. Para optimizar la desorción, se recomienda realizar un perfil de temperatura y de tiempo contra masa de los analitos, para evitar efectos de memoria "*carryover*"¹²⁶.

4.11. Cromatografía de gases

La cromatografía fue introducida por James y Martin en 1952, es un método físico de separación en donde los componentes de una muestra se distribuyen en 2 fases: la fase estacionaria y la fase móvil. Los procesos cromatográficos generalmente son nombrados de acuerdo con el estado físico de la fase móvil. Como es el caso de la cromatografía de gases donde la fase móvil es un gas¹²⁷.

La separación por cromatografía de gases (GC, por sus siglas en inglés) se lleva a cabo por sorción y depende de la presión de vapor relativa y la afinidad hacia la fase estacionaria de los analitos¹²⁸.

Las principales ventajas de GC son:

- ✓ velocidad (análisis rápidos, min)
- ✓ Sencillez
- ✓ Alta resolución
- ✓ Sensibilidad (mg/L, µg/L)
- ✓ Análisis cuantitativo con alta precisión (R.S.D. 1-5%)
- ✓ Muestras pequeñas (µL)¹²⁷

Sin embargo, presenta limitantes como: sólo muestras volátiles y termoestables, no viable para muestras térmicamente lábiles, análisis cualitativo insuficiente y se requiere eliminar interferencias¹²⁷.

4.11.1. Instrumentación

Un cromatógrafo de gases consta de: a) fuente de fase móvil, b) sistema de regulación de presión, c) sistema de inyección, d) sistema de separación, e) sistema de detección y f) sistema de registro (Figura 21)¹²⁷.

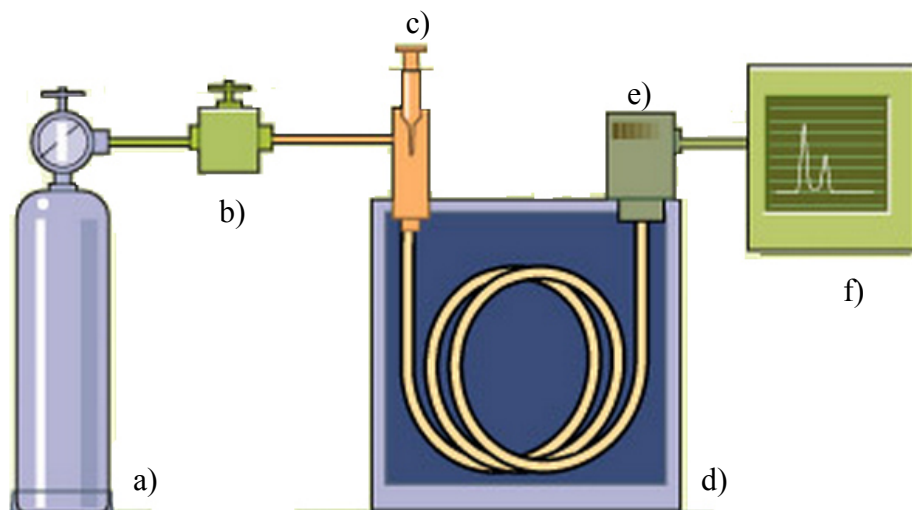


Figura 21. Esquema de un cromatógrafo de gases¹²⁹

En GC, la muestra de un líquido volátil o de un gas se introduce en el inyector donde se evapora rápidamente. El vapor es arrastrado a través de la columna por el gas acarreador donde son separados los analitos, una vez separados llegan al detector generando una respuesta que es registrado por un ordenador. La columna debe estar lo suficientemente caliente para que los analitos alcancen la presión de vapor adecuada y eluyan en un tiempo razonable. El detector se mantiene a una temperatura más elevada que la columna de forma que los analitos se encuentren en forma gaseosa¹²⁸.

El propósito del gas acarreador (fase móvil) es llevar la muestra a través de la columna y propiciar un ambiente adecuado en el detector para llevar a cabo la cuantificación. Por lo que su elección depende del detector, y de la eficiencia y rapidez de separación deseadas. El gas acarreador debe ser químicamente inerte y de alta pureza; los más utilizados son He, H₂ y N₂ con pureza igual o mayor a 99.999 %¹²⁷.

El puerto de inyección es un dispositivo que permite la introducción de la muestra en la corriente del gas portador y dirigirla hacia la columna. Existen diferentes tipos de inyectoros según el tipo de muestra que se quiere analizar¹³⁰:

- **Inyector split/splitless**

Inyector más común para columnas capilares, este inyector opera en 2 modos: split (inyección con división) y splitless (inyección sin división). La selección de uno u otro dependerá de la concentración de los analitos en la muestra¹³¹.

- **Inyección split**

La muestra es inyectada dentro del *liner* (inserto) caliente donde se evapora rápidamente y se combina con un flujo alto de gas acarreador. La muestra vaporizada es dividida en 2: una pequeña parte se dirige hacia la columna (0.2-2%) y la otra se desecha por la válvula *split* . Se utiliza cuando la concentración de los analitos en la muestra es alta (generalmente mayor a 100 µg/mL) por lo que no se utiliza para análisis de trazas^{128,131}.

- **Inyección splitless**

La muestra se inyecta directamente a la columna, la cual debe estar a una temperatura 10-15 °C debajo del punto de ebullición del disolvente y el inyector a una temperatura suficientemente alta para que todos los analitos se volatilicen. Bajo estas condiciones el disolvente y los analitos se condensan en una zona estrecha de la columna; donde a medida que aumenta la temperatura son arrastrados por el gas acarreador a través de la columna hasta eluir. Después de un tiempo específico, generalmente 0.5-1 min después de la inyección, se abre la válvula de purga con el fin de ventilar el inyector de disolvente vaporizado. Este tipo de inyección se emplea para análisis de trazas¹³¹.

- **Inyector cold on-column** (inyección en frío en columna).

Se aplica para muestras con compuestos con puntos de ebullición en un amplio intervalo o con compuestos termolábiles. La muestra se inyecta directamente en la columna capilar que se encuentra a temperatura por debajo del punto de ebullición del disolvente o del compuesto más volátil; una vez inyectada se vaporiza rápidamente, asegurando que todos los compuestos entren a la columna¹³¹.

- **Inyector de vaporización con temperatura programada** (PTV, por sus siglas en inglés)

Es el inyector más versátil debido a que presenta varios modos de inyección y se puede hacer uso de uno o de múltiples para un análisis, los modos de inyección son:

- Modo split.
- Modo split a pulsos, es como en split pero se aplica un pulso de presión durante la introducción de la muestra para acelerar su transferencia a la columna.
- Modo splitless.
- Modo splitless a pulsos, se aplica un pulso de presión durante la introducción de la muestra.
- Modo de venteo de disolvente, se utiliza para la inyección de volúmenes grandes¹³².

En cromatografía de gases, la separación ocurre en una columna que contiene la fase estacionaria. Generalmente se utilizan dos tipos de columnas: empacadas o de relleno y capilares o abiertas. Las más utilizadas son las capilares al ofrecer mayor resolución, rapidez, sensibilidad y eficiencia¹²⁸.

El sistema de detección en cromatografía de gases, es el responsable de proveer la respuesta de la señal para los compuestos químicos separados por la columna cromatográfica. Algunos de los detectores utilizados en GC son: detector por ionización de llama (FID), detector de conductividad térmica (TCD), detector de captura de electrones (ECD), detector de nitrógeno-fósforo (NPD), detector de emisión atómica (AED) y detector de espectrometría de masas (MS)¹²⁷.

- **Detector por ionización de llama**

FID por sus siglas en inglés, es el detector más utilizado en cromatografía de gases debido a las ventajas que presenta: bajo costo, detección a todos los compuestos orgánicos con alta sensibilidad, no se ve afectado por pequeños cambios en el flujo, presión o temperatura, tiene un intervalo de respuesta lineal de 10^7 y no emite respuesta en presencia de impurezas de gases como CO_2 , H_2 , O_2 , He , N_2 y agua^{128,133}.

El eluato es dirigido con N_2 a una pequeña llama de H_2 y aire que se encuentra al final del jet, donde los átomos de carbono (excepto de carbonilos y carboxilo) producen radicales CH^\bullet , que al reaccionar con O^\bullet se producen iones CHO^+ . Los cationes formados conducen la corriente eléctrica a un colector catódico, produciendo una corriente eléctrica proporcional a la cantidad de carbonos en la flama, misma que es amplificada por un electrómetro (Figura 22)¹³³.

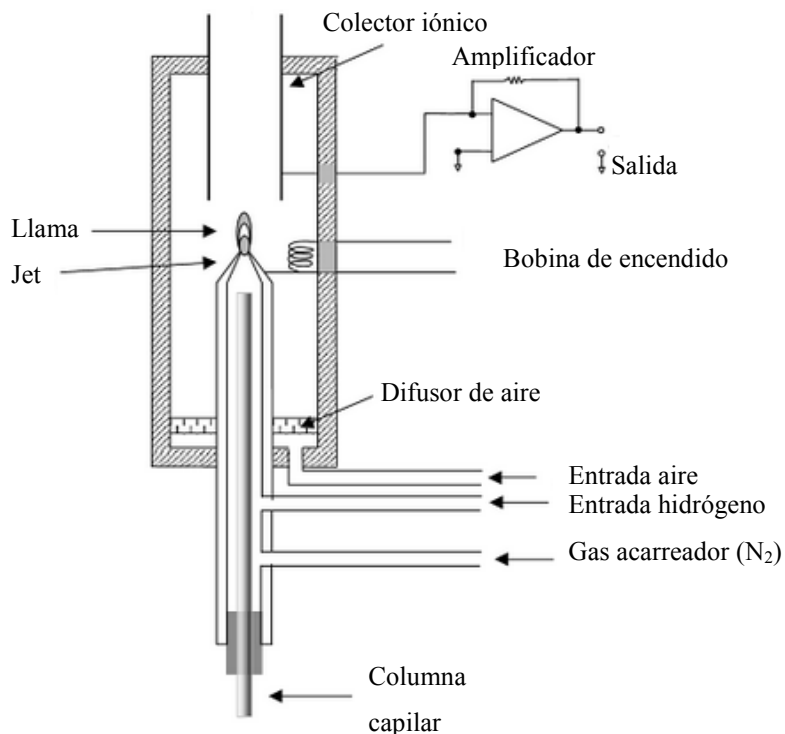


Figura 22. Esquema de un FID¹³³

- **Espectrometría de masas**

Como se ha mencionado, la cromatografía de gases es una técnica para la separación de compuestos volátiles, demostrando: velocidad de análisis, resolución, sencillez, cuantificación y bajos costos. Desafortunadamente, GC no puede confirmar la identidad o estructura de los picos cromatográficos¹²⁷.

Espectrometría de masas (MS por sus siglas en inglés) es una técnica analítica de amplio uso debido a su alta sensibilidad y selectividad permitiendo suministrar información cuantitativa y cualitativa (masa molecular, composición elemental, estructura química) con solo unos microgramos de muestra¹²⁸. El principio de MS: es a) ionización de la muestra,

b) aceleración de los iones con un campo magnético y c) separación de los iones según su relación m/z ¹²⁸.

Las especies que eluyen de la columna del cromatógrafo de gases pasan por una línea de transferencia para alcanzar un vacío (10^{-5} - 10^{-6} torr) para que posteriormente a través de un conector caliente lleguen a la fuente de ionización. La técnica de ionización más común y simple es por impacto electrónico (70 eV), donde con temperatura y vacío son vaporizadas e ionizadas.

Después de la ionización, las partículas cargadas son repelidas o atraídas por lentes cargadas dentro del analizador de masas, donde las especies iónicas son separadas por su relación m/z por campos magnéticos o eléctricos. Los analizadores más utilizados en GC son los cuadrupolo. El analizador de masas cuadrupolo consiste en cuatro barras metálicas cilíndricas paralelas en forma equidistante, las barras son sometidas a una combinación de corrientes continuas (DC) y alternas (RF) de tal manera que cambian de polaridad continuamente. Dependiendo de las condiciones de DC y RF los iones de una específica relación m/z pasará a través del analizador y llegará al detector. Los iones que llegan al detector producen una señal eléctrica que es amplificada (detector multiplicador de electrones) obteniendo un espectro de masas (Figura 23) ^{127,128}.

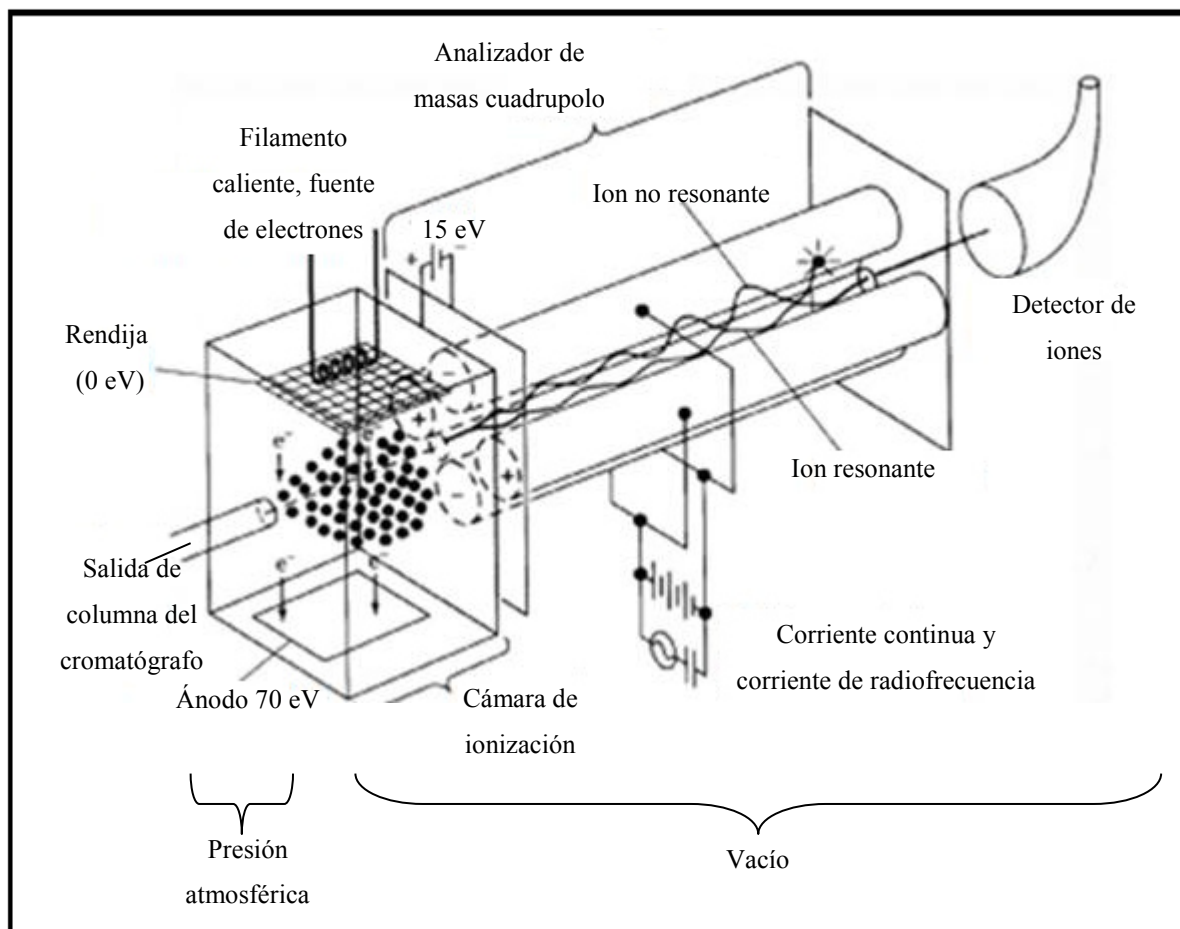


Figura 23. Esquema de analizador de masas cuadrupolo ^{127, 128}

5. Desarrollo experimental

5.1. Materiales

Fibra PDMS-DVB (polidimetilsiloxano-divinilbenceno) 65 μm de espesor y SPME holder de Supelco; barra de agitación magnética de 3 x 13 mm; cápsula de filtración con tamaño de poro de 0.46 μm (PureFlo); material de vidrio clase A: matraces aforados de 5 y 10 mL, pipetas volumétricas de 5 mL; viales de vidrio de 11 y 15 mL; microjeringa GC 0-50 μL Hamilton; micropetas 0-50 y 50-200 μL Hirschmann-laborgeräte; micropipeta 200-1000 μL Accumax PRO; septas de politetrafluoretileno/silicón (0.08 mm/1.5 mm, diámetro 13 mm, CRS).

5.2. Reactivos

Estándares α -terpineol (99%), acetato de 2-feniletilo (99.8%), 1-hexanol (98.6%) y ácido octanoico (99.4%) de Sigma-Aldrich (St. Louis, USA); succinato de dietilo (99%) (Steinheim, Alemania) de Aldrich Chemistry; hexanoato de etilo (>99%), octanoato de etilo (>99%), nonanoato de etilo (>99%) y decanoato de etilo (>99%) de Nu-Chek-Prep, Inc. (Elysian, USA); ácido decanoico (99%) y alcohol 2-feniletílico (99.1%) de Chem Service (West Chester, USA); acetato de isoamilo (99.7%) y damascenona (1.1-1.3 % wt) de SAFC (St. Louis, USA); butirato de etilo (99.5%) de Fluka Analytical (Buchs, Suiza); geraniol (99%), (\pm)- β -citronelol (90-95%) y (\pm)-linalol (97%) de Fluka Chemika (Buchs, Suiza) y nonanol (\geq 98%) de Fluka Analytical (Steinheim, Alemania); benzaldehído (95% , J.T. Baker, México). El agua fue obtenida por el sistema de purificación Milli-Q (Millipore). Disolventes: etanol (99.94%, EUA), metanol (99.94%, Trinidad y Tobago), cloruro de metileno (99.99%, EUA) y acetonitrilo (99.99%, EUA) de J.T. Baker, y acetona (99.9%, EUA) de BDH. Reactivos: NaOH (98.7%, Suecia) y NaCl (100.10%, EUA) de J.T. Baker, y L(+)-ácido tartárico (\geq 99.5%, Italia) de Sigma-Aldrich. Para la elaboración de vino se utilizó levadura *Saccharomyces cerevisiae* (ZYMAFLORE-X16, LAFFORT), polivinilpirrolidona (~110 μm tamaño partícula ,Fluka Analytical, China) y bentonita sódica (Volclay kwk granular).

5.3. Otros equipos

pHmetro (Oakton, pH 510 Series); refractómetro manual 0-32 °Brix (Atago N-1E); balanza analítica (Sartorius CP124S); parilla con agitador magnético (Mirak Thermolyne SP 72725); bomba Masterflex (Cole-Parmer, 7554-90).

5.4. Preparación de disoluciones estándar

Las disoluciones estándar utilizadas en la metodología HS-SPME-GC-FID se prepararon con agua desionizada.

Las disoluciones estándar empleadas en la metodología HS-SPME-GC-MS se prepararon de la siguiente manera: terpenos, alcoholes (excepto nonanol), norisoprenoides aldehídos y ésteres en metanol; nonanol en diclorometano y ácidos grasos en acetonitrilo.

Se prepararon las disoluciones a concentraciones adecuadas y se realizaron las diluciones pertinentes para realizar las curvas de calibración.

5.5. Elaboración de vino sintético

Con el objetivo de llevar a cabo la preparación de las curvas de calibración de los compuestos volátiles y semivolátiles cuantificados por HS-SPME-GC-MS en una matriz similar al vino blanco, se preparó vino sintético.

El vino sintético contenía un 12% (v/v) de etanol y 6 g/L de ácido tartárico. El pH final del vino sintético fue ajustado a 3.5 empleando una disolución de NaOH 0.5 M.

5.6. Elaboración de vino

Se elaboraron vinos con variedad de uva: *Sauvignon Blanc* y *Chardonnay* (*Vitis vinifera*). Las uvas *Sauvignon Blanc* y el mosto *Chardonnay* se obtuvieron de la casa vinícola Freixenet (Querétaro, México) de la vendimia del año 2014. Las uvas fueron estrujadas y despalilladas manualmente para obtener el mosto. Los mostos fueron desfangados por decantación y se transfirieron 1.5 litros en matraces erlenmeyer de 2 litros. Cabe mencionar que en el caso de la uva *Sauvignon Blanc*, se obtuvieron dos mostos identificándose como **m1** y **m2**.

- *Elaboración de vino de manera tradicional (vino control)*

Los mostos se inocularon con *Saccharomyces cerevisiae* (20 g/hL) llevándose a cabo la fermentación entre 18-20°C.

- *Elaboración de vino con maceración pre-fermentativa con cáscara de cítricos*

Los frutos utilizados para la maceración pre-fermentativa fueron: lima y maracuyá. Consistió en añadir la cáscara del fruto correspondiente al 1.5 o 2.5 % m/v y dejar en contacto con el mosto por 24 horas. Posteriormente se retiraron las cáscaras y se inocularon los mostos con *Saccharomyces cerevisiae* (20 g/hL) para llevar a cabo la fermentación a una temperatura entre 18-20°C. Se consideró el fin de la fermentación cuando el peso y los grados Brix se mantuvieron constantes. Después de la fermentación fueron clarificados realizando las siguientes actividades: 1) un trasiego, 2) agregando polivinilpirrolidona (800 mg/L) y 3) agregando bentonita (100 mg/L) 24 horas después.

Posteriormente los vinos *Sauvignon Blanc* y el contenido de un matraz de los vinos Chardonnay: control, maceración pre-fermentativa con lima 1.5% y maceración pre-fermentativa con maracuyá 1.5% fueron filtrados en frío con una capsula PureFlo para finalmente ser embotellados y refrigerados (~ 4°C) para su posterior análisis. Mientras que el resto de los vinos *Chardonnay* se dejaron estabilizar (3 matraces en frío; ~ 4°C y uno en campana; 16 °C) por 4 semanas para posteriormente ser filtrados y embotellados (Figura 24).

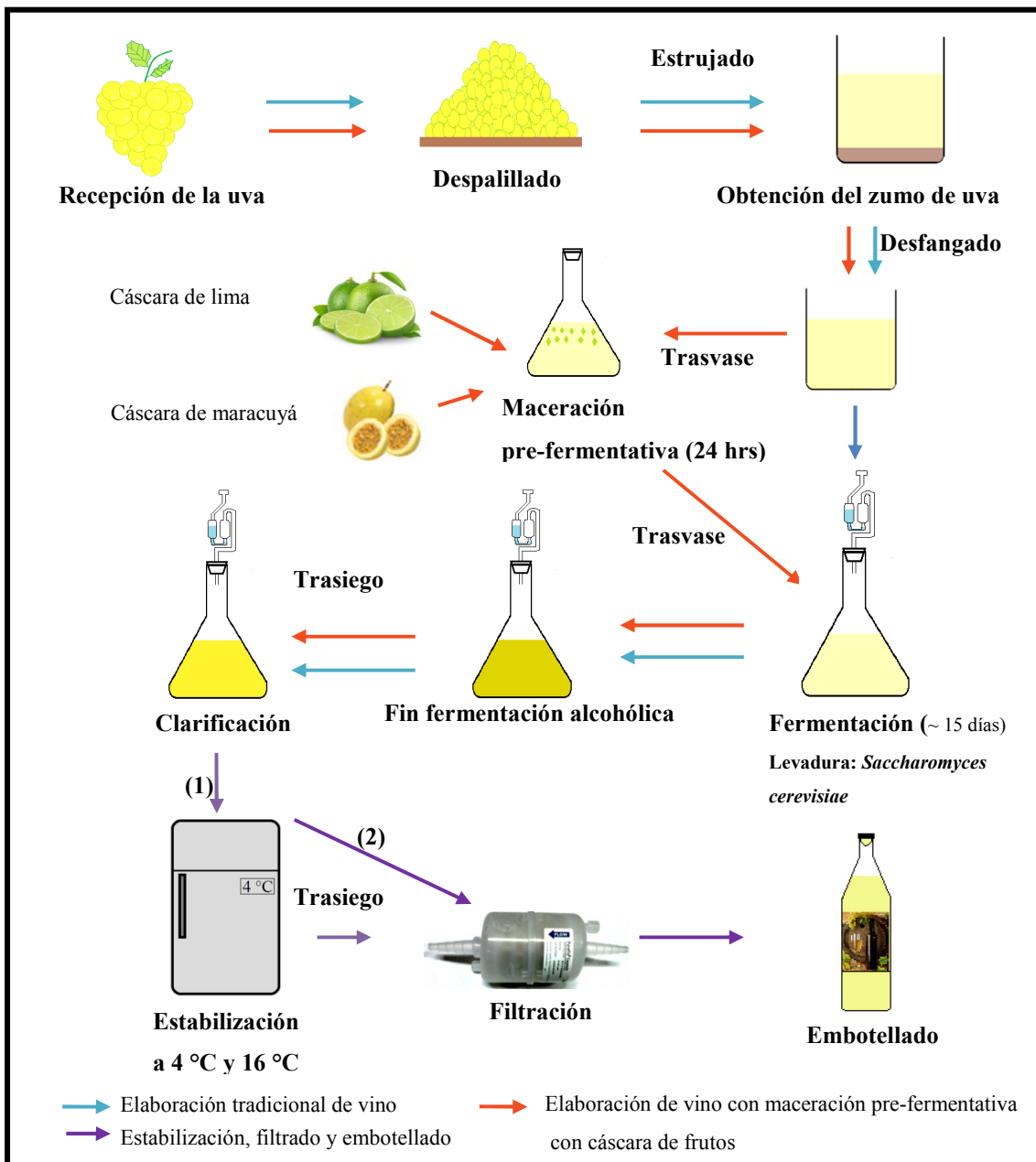


Figura 24. Esquema de la elaboración de vino blanco joven

5.7. Muestras

Se analizaron vinos blancos elaborados en el laboratorio y vinos comerciales. En las Tablas 13 y 14 se enlistan los vinos analizados.

Tabla 13. Muestras de vino *Sauvignon Blanc*.

Muestra	Variedad de uva	Vino	Clave
1		Control m1	SB1
2		Maceración pre-fermentativa lima 2.5% m1	SB2
3		Maceración pre-fermentativa maracuyá 1.5% m1	SB3
4	<i>Sauvignon Blanc</i>	Control m2	SB4
5		Maceración pre-fermentativa lima 1.5% m2	SB5
6		Maceración pre-fermentativa maracuyá 2.5% m2	SB6
7		*Sierra Blanca, L.A CETTO 2014	SB7

* Vino comercial; **m1**, vino elaborado con el mosto 1; **m2**, vino elaborado con el mosto 2

Tabla 14. Muestras de vino *Chardonnay*.

Muestra	Uva	Estabilización	Vino	Clave
1			Control	CHA1
2		NO	Maceración pre-fermentativa lima 1.5%	CHA2
3			Maceración pre-fermentativa maracuyá 1.5%	CHA3
4			Control estabilizado a 16 °C	CHA4
5	<i>Chardonnay</i>		Control estabilizado a ~4° C	CHA5
6		SÍ	Maceración pre-fermentativa lima 1.5% estabilizado a ~ 4 °C	CHA6
7			Maceración pre-fermentativa maracuyá 1.5% estabilizado a ~4 °C	CHA7
8			* <i>Chardonnay</i> , Casa Madero 2013	CHA8

*Vino comercial

5.8. Detección y cuantificación de etanol (% v/v) por HS-SPME-GC-FID

5.8.1. Análisis por HS-SPME-GC-FID

La fibra utilizada para el análisis por HS-SPME fue de PDMS/DVB. Antes de su uso, cada fibra se acondicionó (según las recomendaciones del fabricante) en el inyector del cromatógrafo de gases por 30 min a 250 °C.

El procedimiento HS-SPME fue el siguiente: a un vial de 11 mL se añadió 5 mL de disolución de etanol/ agua (%v/v) o de vino con 1 % v/v acetona (EI, estándar interno) y 15% de saturación de NaCl (~0.2694 g). La muestra se mantuvo con agitación a 1200 rpm

por 5 min a 20°C. La fibra fue expuesta al *headspace* (HS) durante 5 min a 20°C con agitación constante (1200 rpm). La desorción de la fibra fue en el inyector del CG-FID durante 10 min en modo split (Figura 25). El análisis de cada muestra se realizó por triplicado.

5.8.2. Condiciones GC-FID

La detección y cuantificación de etanol se realizó en un cromatógrafo de gases con un detector de ionización de llama (FID) (GC-2014, Shimadzu, Japón), equipado con un inyector split/splitless. El gas acarreador fue hidrógeno (99.998%, INFRA) con flujo en columna de 0.8 mL/min. La temperatura del inyector se mantuvo a 210°C. La desorción se llevó a cabo en modo split, (1:15). La columna empleada fue Carbowax/BTR (polietilenglicol, 60m x 0.25 mm d.i. y con fase de 0.5 µm de grosor, Quadrex, Woodbridge, USA). Programa de temperatura: temperatura inicial 40 °C (mantenida 5 min), rampa de 4°C/min hasta 120°C y mantenida en 120°C por 10 min. La temperatura del detector se mantuvo a 210°C.

5.8.3. Identificación de etanol

La identificación de etanol en las muestras de vino se realizó mediante la comparación del tiempo de retención del estándar con los picos cromatográficos de las muestras.

5.8.4. Cuantificación de etanol

La cuantificación de etanol en los vinos se realizó con curvas de calibración relativas (n=3) de disoluciones etanol/agua en un intervalo de 8-14 %v/v con 1% v/v acetona como estándar interno.

5.8.5. Evaluación de la linealidad del método

Se prepararon disoluciones con 8-14 %v/v de etanol/agua y 1 %v/v de acetona como estándar interno y se realizó el procedimiento descrito en la sección 5.8.1. El procedimiento se realizó por triplicado.

5.8.6. Evaluación de la precisión y exactitud del método

Para la evaluación de la precisión se analizaron 3 disoluciones estándar (8, 12 y 14 %v/v) y se calculó el coeficiente de variación (%C.V.). Para la evaluación de la exactitud se

analizaron 2 vinos comerciales y se calculó el porcentaje de error relativo, tomando como valores verdaderos los valores de etanol reportados en los vinos comerciales.

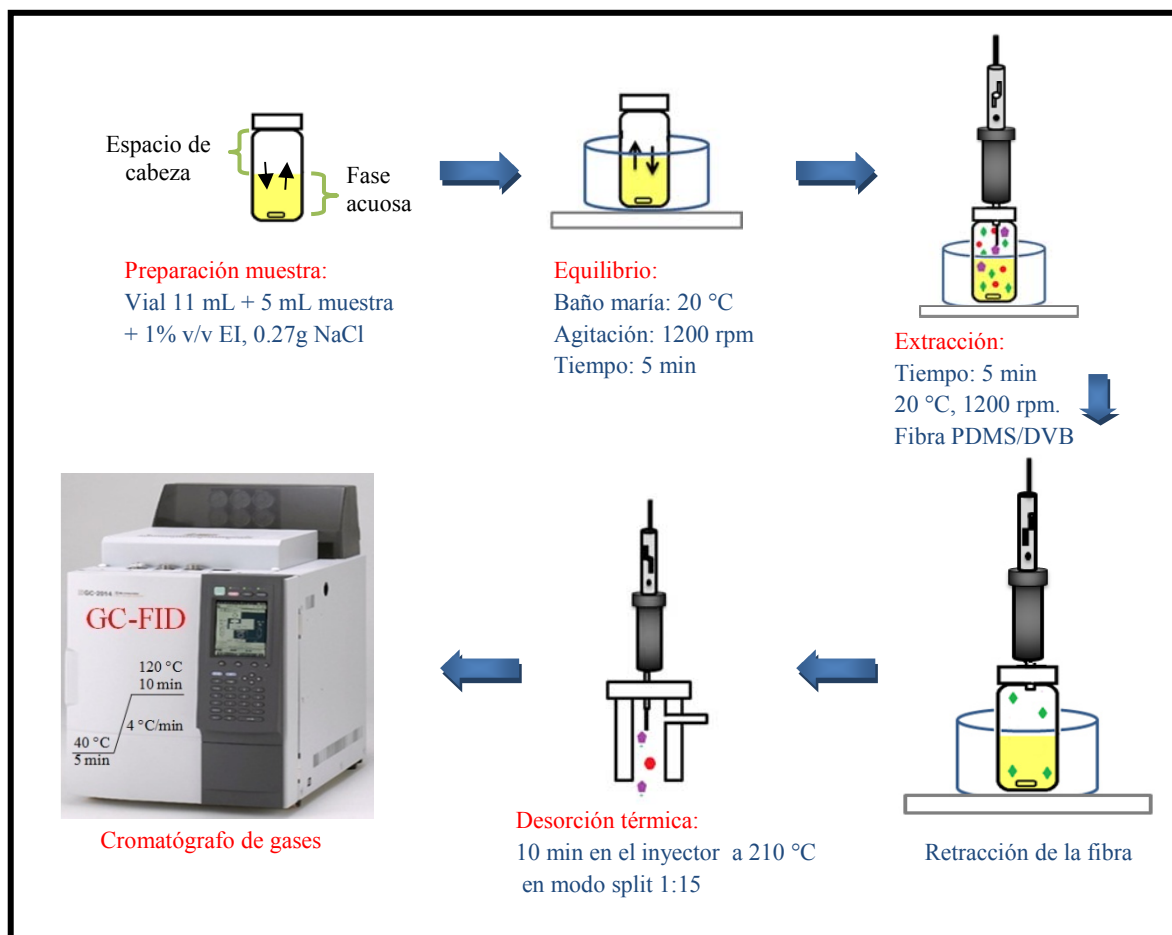


Figura 25. Esquema de condiciones de extracción y análisis de etanol por HS-SPME-GC-FID

5.9. Determinación de compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles por HS-SPME-GC-MS

5.9.1. Optimización de los parámetros para HS-SPME

Con el objetivo de obtener mayor cantidad extraída de los compuestos volátiles y semivolátiles mediante HS-SPME y sabiendo que la cantidad de analito extraído depende de la constante de distribución de los analitos entre la matriz y el recubrimiento de la fibra, se optimizaron algunos parámetros que afectan la sensibilidad y la precisión de la HS-SPME, como son: tiempo y temperatura de extracción, y el porcentaje de etanol presente en la muestra (Figura 26).

La optimización de los parámetros se realizó con el análisis por duplicado del vino control *Chardonnay* estabilizado en frío (CHA5).

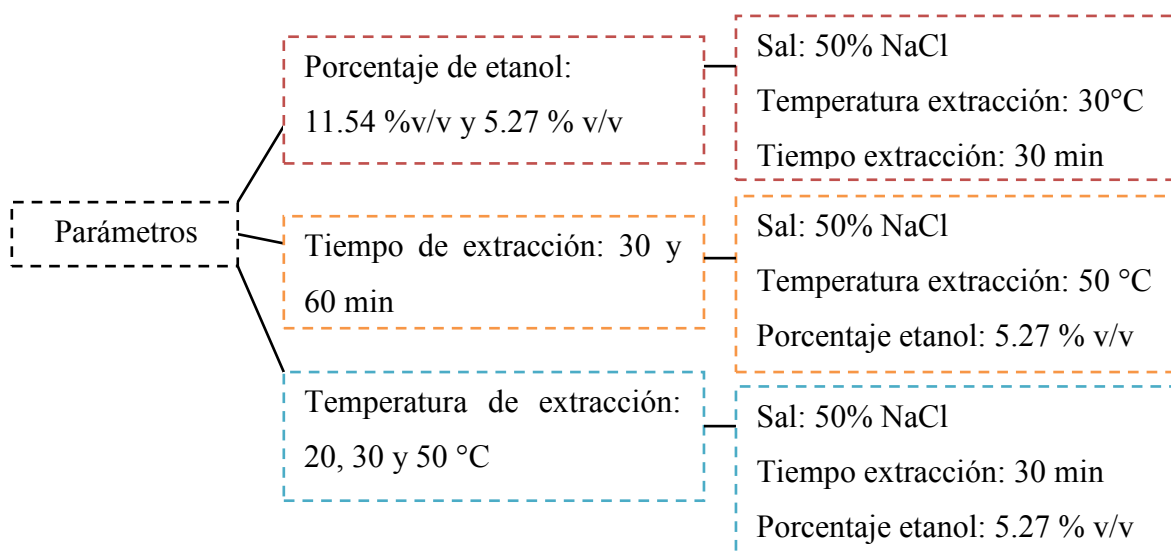


Figura 26. Selección de parámetros para la extracción de compuestos volátiles y semivolátiles en vino por HS-SPME

5.9.1.1. Influencia del porcentaje de etanol

Se estudió la influencia del porcentaje de etanol en la muestra en el proceso de extracción debido a que existen reportes donde concluyen que el etanol es un compuesto mayoritario que durante la extracción compite con el resto de los analitos (principalmente ésteres y monoterpenos) por los sitios activos de la fibra^{5,134}. El estudio consistió en analizar una muestra de vino con el porcentaje de etanol que contenía originalmente (10.54 %v/v) y una muestra diluida 1:1 (5.27 %v/v) con agua desionizada. Las condiciones HS-SPME-GC-MS fueron las descritas en las secciones 5.9.2. y 5.9.3.

5.9.1.2. Tiempo de extracción

Para la evaluación del tiempo de extracción se analizó el vino *Chardonnay* control estabilizado en frío (CHA5), utilizando dos tiempos de extracción bajo el siguiente procedimiento: vial 11 mL, 5 mL muestra diluida (1:1) con 0.2 mg/L de nonanol como estándar interno, 50% de saturación de NaCl, agitación: 1200 rpm a 50°C; 5 min equilibrio, 30 o 60 min de extracción y 10 min de desorción en el cromatógrafo de gases con detector selectivo de masas de acuerdo a las condiciones descritas en la sección 5.9.3.

5.9.1.3. Temperatura de extracción

Para la evaluación de la temperatura de extracción se analizó el vino *Chardonnay* control estabilizado en frío (CHA5), evaluando 3 temperaturas: 20, 30 y 50 °C, mediante el procedimiento descrito en la sección 5.9.1.2 con 30 min de extracción.

5.9.2. Procedimiento para el análisis por HS-SPME-GC-MS de compuestos volátiles y semivolátiles en vino blanco

El procedimiento HS-SPME-GC-MS optimizado consistió en agregar 5 mL de vino diluido 1:1 con agua desionizada con 0.2 mg/L de nonanol y 50 % NaCl (~0.8306 g) a un vial de 11 mL. La muestra se mantuvo 5 min a 30°C con agitación constante (1200 rpm). Se expuso la fibra en el *headspace* (HS) bajo las mismas condiciones de temperatura y agitación (30°C y 1200 rpm) por 30 min. La desorción de la fibra fue en el inyector del equipo GC-MS por 10 min en modo splitless (1 min) y el análisis se realizó según las condiciones cromatográficas descritas en la sección 5.9.3 (Figura 27). El análisis de cada muestra se realizó por duplicado.

5.9.3. Condiciones GC-MS

El análisis de los compuestos volátiles y semivolátiles se realizó en un cromatógrafo de gases (6890N Agilent Technologies) con un Detector Selectivo de Masas (5973 Agilent Technologies), equipado con inyector split/splitless. Gas acarreador He (99.999%, PRAXAIR) a una velocidad lineal de 26 cm/s y flujo total de 53.7 mL/min. Temperatura del inyector: 240 °C, modo splitless (1 min). La separación se realizó en una columna capilar ZB wax plus (polietilenglicol, 60 m de longitud x 0.25 mm de diámetro interno x 0.5 µm de grosor de fase, Phenomenex, CA, USA), con flujo de columna constante de 1 mL/min. El programa utilizado fue: 70°C por 5 min, incrementándose a 1°C/min hasta 95 °C manteniéndose por 10 min y nuevamente incrementándose a 2°C/min hasta 200°C durante 40 min. El tiempo total del análisis cromatográfico fue de 132.5 min. Temperatura de la línea de transferencia 240°C; temperatura de la fuente de ionización 230°C y analizador cuadrupolar a 150°C. Los espectros de masas se adquirieron usando ionización por impacto electrónico (EI, 70 eV), utilizando el modo barrido total del espectro (SCAN) de 33-550 uma.

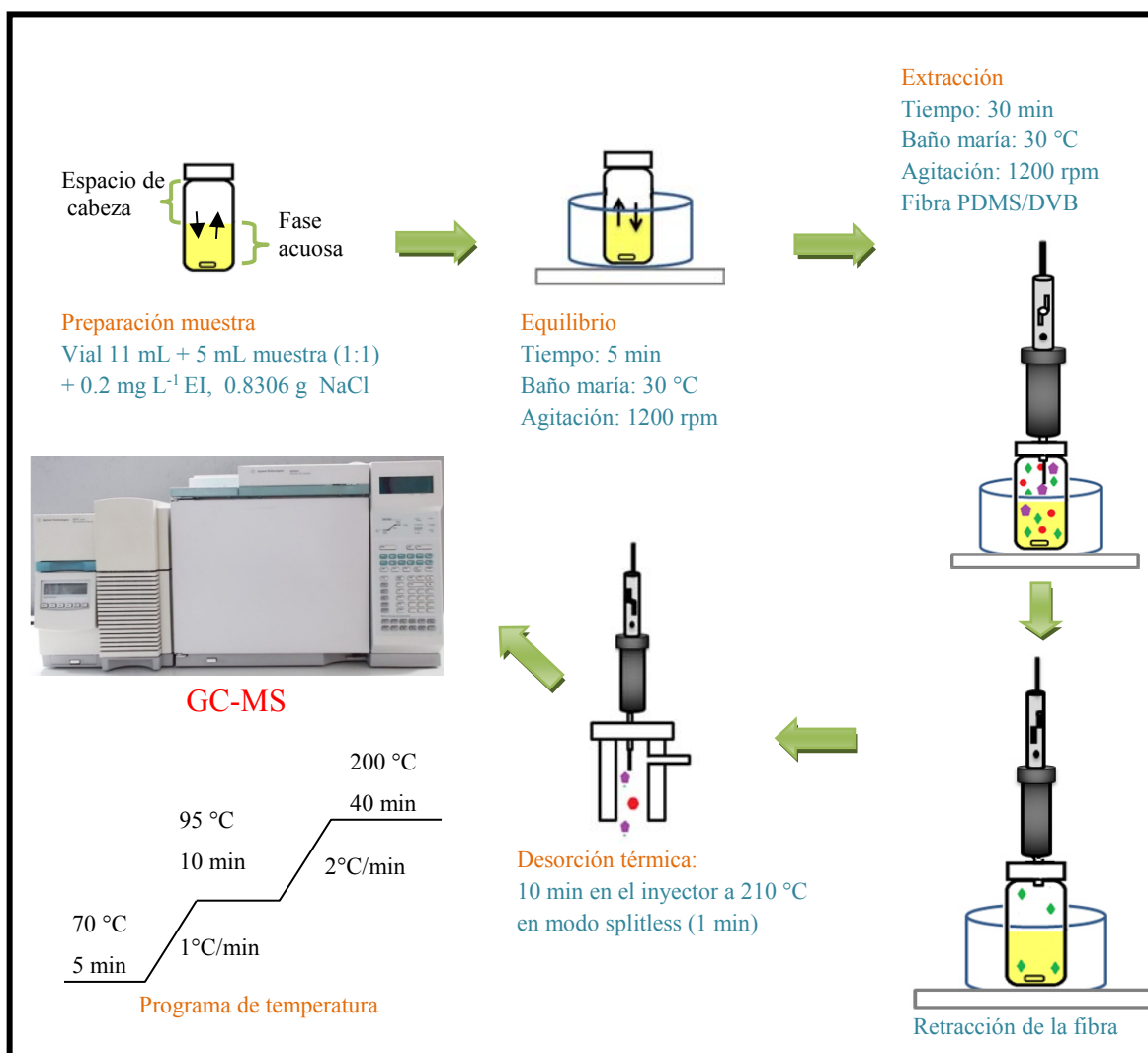


Figura 27. Condiciones de extracción y análisis de compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles por HS-SPME-GC-MS

5.9.4. Identificación de compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles

La identificación de los compuestos en los vinos, se realizó comparando los espectros de masas obtenidos con los de la base de datos de espectros de masas (The NIST Mass Spectral Search Program for the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library Version 2.0a build July 1 2002). Para los compuestos que se cuantificaron además de comparar los espectros de masa con la base de datos (NIST), se compararon los tiempos de retención obtenidos en las muestras con los de estándares.

5.9.5. Evaluación de la precisión

Se evaluó la precisión para cada compuesto cuantificado con el análisis de disoluciones estándar en 3 diferentes concentraciones y se calculó el porcentaje de coeficiente de variación (%C.V.).

5.9.6. Linealidad

Una vez que se obtuvieron las condiciones óptimas de la HS-SPME, se evaluó la linealidad con curvas de calibración relativas de cada uno de los compuestos en los intervalos de concentración mencionados en la Tabla 15. Para ello se ocupó vino sintético elaborado como se menciona en la sección 5.5 y se llevó a cabo el procedimiento descrito en la sección 5.9.2. Las curvas se realizaron por triplicado y en algunos casos sólo por duplicado.

5.9.7. Cuantificación de compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles en vino

Aplicando el procedimiento de HS-SPME-GC-MS desarrollado y optimizado se cuantificaron 18 compuestos mediante curvas de calibración relativas utilizando nonanol como estándar interno. Los intervalos de concentración evaluados para cada compuesto se muestran en la Tabla 15.

Tabla 15. Compuestos cuantificados y sus respectivos intervalos de concentración de las curvas de calibración relativas

#	Compuesto	Intervalo concentración inferior (mg L ⁻¹)	Intervalo concentración superior (mg L ⁻¹)
Ésteres			
1	Butirato de etilo	-----	0.1000-0.5000 ^a
2	Acetato de isoamilo	-----	0.5000-3.0000 ^b
3	Hexanoato de etilo	-----	0.1000-1.2000 ^b
4	Octanoato de etilo	-----	0.0800-0.6000 ^a
5	Nonanoato de etilo	-----	0.0001-0.0010 ^b
6	Decanoato de etilo	-----	0.0099-0.0990 ^b
7	Succinato de dietilo	-----	0.0300-0.4000 ^b
8	Acetato de 2-feniletilo	-----	0.0500-0.4000 ^b
Ácidos grasos			
9	Ácido octanoico	-----	0.3000-7.0000 ^b
10	Ácido decanoico	-----	0.5000-1.6000 ^b
Terpenos			
11	(±)-linalol	0.0015-0.0060 ^b	0.2000-1.5000 ^a
12	α-terpineol	-----	0.2000-1.0000 ^a
13	β-citronelol	0.0010-0.0070 ^b	0.0200-0.0700 ^a
14	Geraniol	-----	0.0100-0.1000 ^b
C₁₃-norisoprenoides			
15	β-damascenona	-----	0.0005-0.0070 ^a
Alcoholes			
16	1-hexanol	-----	0.1000-0.7000 ^a
17	Alcohol 2-feniletílico	-----	4.0000-25.000 ^b
Aldehídos			
18	Benzaldehído	-----	0.1000-1.0000 ^b

^a (n=3)

^b (n=2)

6. Resultados y discusión de resultados

6.1. Elaboración de vinos

Se elaboraron 13 vinos, 6 de uva *Sauvignon Blanc* (SB) y 7 de uva *Chardonnay* (CHA). En la Tabla 16 se reporta el pH y el color obtenido de cada vino.

Tabla 16. pH y color de vinos elaborados y comerciales

Cepa de uva	Vino	pH	Color
SB	SB1	3.94	Ámbar
	SB2	4.00	Ámbar
	SB3	4.00	Ámbar
	SB4	3.90	Ámbar
	SB5	3.89	Ámbar
	SB6	3.98	Ámbar
	SB7	3.33	Amarillo claro
CHA	CHA1	3.58	Amarillo cambiando a café-rojizo con defectos con el tiempo
	CHA2	3.55	Amarillo cambiando a café-rojizo con defectos con el tiempo
	CHA3	3.55	Amarillo cambiando a café-rojizo con defectos con el tiempo
	CHA4	3.57	Amarillo
	CHA5	3.54	Amarillo paja con destellos, limpio, brillante
	CHA6	3.55	Amarillo dorado, brillante, limpio
	CHA7	3.57	Amarillo dorado con destellos grisáceos, brillante
	CHA8	3.36	Verde pálido, defectos

Claves página 70

En la enología, la acidez en vinos se refiere a distintas formas de acidez: la acidez total, la acidez volátil, la acidez fija y la acidez real, donde cada una de ellas tiene distinta importancia con respecto al equilibrio fisicoquímico u organoléptico. La acidez total representa la suma de acidez de cada ácido mineral u orgánico presente, donde los ácidos tartárico y málico son los principales ácidos responsables de la acidez de los vinos. El

ácido acético es el componente principal de la fracción volátil. Mientras que la acidez fija se obtiene restando la acidez volátil de la acidez total.

La acidez real de vino, expresada en pH, equivale a la concentración de H_3O^+ en el vino, la cual se determina con un pHmetro¹³⁵.

El pH en los vinos blancos, vinos y rosados puede variar de 2.8 a 4.2 aproximadamente, puesto que el pH va a depender de la variedad de uva (ácido tartárico y málico presente en la uva) y el proceso de vinificación¹³⁵. Los vinos elaborados y comerciales analizados en el presente trabajo, presentaron pH entre 3.54-4.00, por lo que cumplen con esta especificación (Tabla 16).

Con respecto al color, los vinos elaborados y comerciales presentaron un color de amarillo tenue a ámbar (Tabla 16). Sin embargo, durante el proceso de elaboración, se observó que la estabilización de los vinos en frío (~ 4 °C) antes del embotellado evitó la precipitación de tartratos posterior a la filtración¹⁸ por lo que los vinos presentaron una apariencia más brillante y un color amarillo claro; sin cambios con el tiempo. Mientras que los vinos sin estabilización, presentaron precipitación de tartratos y/o un cambio de color a ámbar (en el caso de *Sauvignon Blanc*) o café-rojizo (en el caso de *Chardonnay*) en un tiempo de aproximadamente un mes.

Uno de los objetivos particulares del presente trabajo fue la evaluación del perfil aromático de los vinos elaborados de manera tradicional y de los vinos elaborados con maceración pre-fermentativa con cáscaras de frutos (lima y maracuyá). El perfil aromático de los vinos con maceración pre-fermentativa se comparó con los aromas varietales obtenidos de evaluaciones sensoriales de vinos CHA y SB elaborados de acuerdo a la OIV y además se realizó una caracterización química.

La evaluación sensorial abarca un conjunto de técnicas aplicadas de manera científica que permiten obtener resultados confiables sobre la respuestas de los sentidos (vista, gusto, tacto y olfato) de los alimentos^{136,137}.

En la Tabla 17 se encuentran los aromas varietales de vinos CHA y SB obtenidos de evaluaciones sensoriales de vinos internacionales, nacionales y del vino control SB.

Tabla 17. Características organolépticas de vinos SB y CHA

Cepa de uva	Vino	Aroma	Sabor	Textura	Apariencia
SB	Perfil aromático varietal ^{137-143, 145,151}	Vegetal (pimiento verde), pasto, herbal, grosella, espárragos, frutal (manzana), cítricos (limón. kiwi, guayaba), tropical (maracuyá, pomelo, mango), madera, pipí de gato	Frutal, acidez elevada, alcohol	Fresco	Amarillo, dorado, cuerpo ligero a medio
	Sierra blanca ¹³⁷	Ácido, alcohol, amargo, añejo, herbal, madera, limón y manzana	Ácido, cítrico, uva, agrio, amaderado, amargo, astringente, floral, frutal, vinagre, dulce	Fresco	Amarillo, brillante
	Vino control ^{a, 137}	Alcohol, cítrico, frutal, dulce, floral, herbal, manzana, limón, ácido, amargo	Ácido cítrico, uva, dulce, alcohol, manzana	Suave, ligera, frío, fresco y fluido	Cuerpo, traslúcido, ámbar, amarillo, denso, fluido y lagrimeo
CHA	Perfil aromático varietal ^{146-150, 144,151}	Cítrico (limón, piña, guayaba), floral, frutal (durazno, pera, manzana), vegetativo, tropical (maracuyá, mango), dulce (miel, membrillo), mantequilla	Alcohol, acidez media-alta	Ligero	Brillo, amarillo, cuerpo
	Casa Madero ¹³⁷	Ácido, alcohol, amargo, cítrico, manzana, madera y uva.	Alcohol, amaderado, cítrico, dulce, frutal y uva.	-----	-----

^a Vino elaborado en el laboratorio de acuerdo a la OIV

El aroma varietal de los vinos SB, en general, presenta notas: floral, frutal, cítrico, vegetal, tropical, herbáceo, grosella, madera y a pipí de gato. Al comparar el aroma varietal de los vinos SB con el del vino SB Sierra blanca y el vino SB control, los últimos presentaron aromas característicos de los vinos SB (madera, limón, manzana, cítrico, frutal, floral,

herbal) y además notas a amargo, ácido, dulce y alcohol, aromas que probablemente se debieron al proceso de elaboración y al *terroir*²⁸.

El aroma varietal de los vinos CHA es cítrico, floral, frutal, vegetativo, tropical y dulce (Tabla 17). Al comparar el aroma varietal con el aroma que presentó el vino Casa Madero, el último presentó aromas varietales como a cítricos y a manzana; y además presentó aroma: ácido, amargo, alcohol, madera y uva debido probablemente al *terroir*²⁸.

En cuanto a los vinos CHA elaborados con MPF, 2 sommeliers identificaron notas aromáticas diferentes a los aromas varietales. En el vino CHA6 (lima 1.5% estabilizado a 4°C) identificaron aromas a litchi, lima y naranja; mientras que en el vino CHA7 (maracuyá 1.5% estabilizado a 4°C) identificaron aromas a maracuyá, mango, plátano, tecojote y vainilla.

En general, los vinos SB y CHA presentaron aromas características de la cepa de la que provenían (aromas varietales), no obstante, los vinos con MPF con frutos (lima y maracuyá) presentaron algunas notas aromáticas diferentes. Por lo que para demostrar que los vinos elaborados con maceración pre-fermentativa presentaron un perfil aromático diferente y/o mejorado se realizó el análisis químico de los vinos por HS-SPME-GC-MS.

6.2. Determinación del contenido alcohólico en vino blanco por HS-SPME-GC-FID

Existen diversas metodologías para determinar etanol en bebidas alcohólicas, como: densimetría, picnometría, electroforesis capilar, espectrometría de Raman, GC, entre otros. Sin embargo, a excepción de cromatografía de gases algunas de las metodologías requieren de una muestra de gran tamaño (picnometría y densimetría) y otras son muy costosas (electroforesis capilar y espectrometría de Raman)¹⁵². Por lo que en el presente trabajo, se desarrolló una metodología por HS-SPME-GC-FID para determinar etanol en vinos de manera rápida, precisa, sencilla y con mínima cantidad de muestra.

6.2.1. Selección de condiciones de HS-SPME para el análisis de etanol en vinos blancos

La fibra empleada para la identificación y cuantificación de los compuestos volátiles y semivolátiles, entre ellos el etanol, fue de PDMS/DVB debido a que esta fase extractante es adecuada para extraer analitos polares, de polaridad media, volátiles y semivolátiles. Además de que se han reportado resultados exactos y precisos de su aplicación en análisis de compuestos volátiles y semivolátiles en vinos^{123,153-155}.

En cuanto a la metodología empleada en este trabajo, las condiciones de porcentaje de sal tamaño de vial y agitación se tomaron de un trabajo previo realizado en el laboratorio para el análisis de vinos tintos¹⁵⁶. El volumen de la muestra, tamaño del vial, estándar interno, las condiciones de extracción y de desorción y las condiciones cromatográficas se eligieron con ayuda de revisión bibliográfica. Una vez que se definieron las condiciones de análisis se aplicaron a disoluciones estándar, y al observar que la metodología resultó precisa y exacta, se aplicó para la determinación de etanol en vino.

6.2.2. Detección de etanol

Como se mencionó anteriormente, la identificación de etanol se logró con el análisis de una disolución estándar por HS-SPME-GC-FID utilizando la metodología descrita en la sección 5.8.1. En la Figura 28 se muestra el cromatograma obtenido del análisis de una disolución con 12% v/v EtOH. utilizando acetona como estándar interno.

Una vez identificados los compuestos de interés, se continuó con el análisis de las muestras de vino con la metodología descrita en la sección 5.8.1. En la Figura 29, se muestra el cromatograma del análisis del vino SB con MPF lima 1.5% **m2** (SB5).

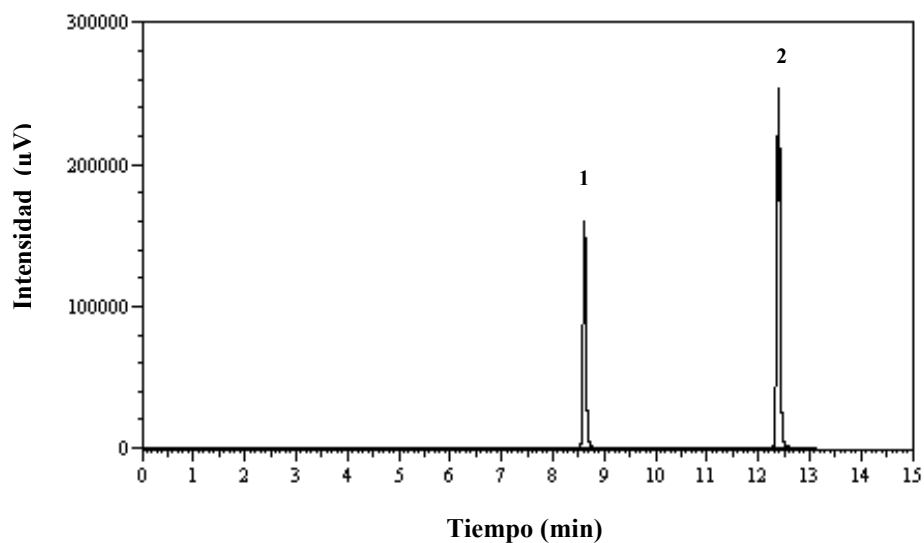


Figura 28. Cromatograma del análisis por HS-SPME de una disolución estándar (12% v/v etanol)

1. acetona (EI) (tr 8.6 min); 2. etanol (tr 12.4 min)

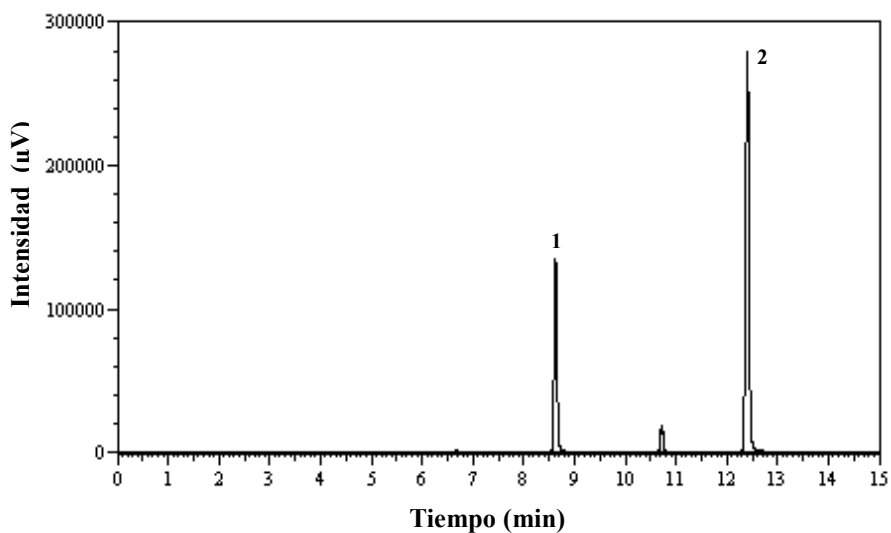


Figura 29. Cromatograma del análisis por HS-SPME del vino SB con MPF lima 1.5% m2 (SB5).

1. acetona, 2. etanol

6.2.3. Evaluación de linealidad

En la Figura 30, se muestra la curva de calibración relativa ajustada obtenida para etanol. Donde el coeficiente de determinación promedio de las curvas de calibración relativas fue 0.9937, valor mayor a 0.98, valor mínimo aceptable de coeficiente de determinación para que una metodología sea lineal, por lo que la respuesta resultó lineal con respecto a la

concentración en el intervalo de 8-14 %v/v etanol. Por lo tanto la linealidad de la metodología por HS-SPME-GC-FID fue aceptable¹⁵⁷.

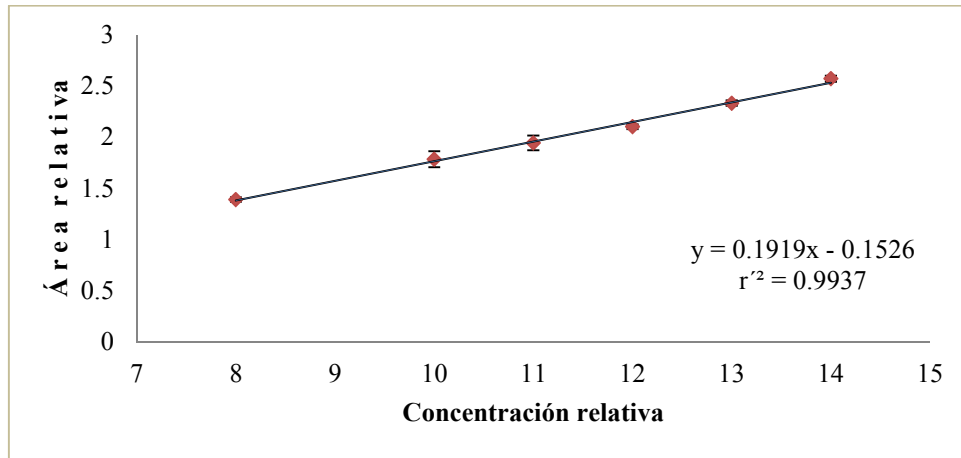


Figura 30. Curva de calibración relativa para etanol en un intervalo de 8-14 %v/v

La cuantificación del porcentaje de etanol en las muestras de vino se realizó con la aplicación de la Ec. 9.

$$\% \frac{v}{v} \text{ etanol} = \left(\frac{(\text{Área relativa})_{\text{muestra}} + 0.1526}{0.1919} \right) * 1\% \text{ v/v} \quad \text{Ec. 9}$$

6.2.4. Límite de detección (LD) y cuantificación (LC)

El límite de detección (LD) y el de cuantificación teórico se calculó con base en la desviación estándar de la respuesta y la pendiente (Anexo A).

El límite de detección calculado fue 0.57 %v/v y el límite de cuantificación fue 1.72% v/v.

6.2.5. Cuantificación del porcentaje de etanol

El grado alcohólico de los vinos es el resultado de la transformación anaerobia de azúcares como la glucosa y fructuosa presentes en el mosto⁸. La concentración de azúcares en los mostos puede ser expresada en grados Brix (cada °Brix es equivalente a un gramo de azúcar por 1000 gramos de mosto)⁶, donde mayor número de °Brix indican mayor cantidad de azúcar y por lo tanto mayor será el contenido de etanol en el vino, en el caso de la

elaboración de vino secos⁶. En la Tabla 18, se muestran los resultados obtenidos del porcentaje de etanol en los vinos elaborados y comerciales.

Los mostos de uva *Sauvignon Blanc* presentaron °Brix más altos (mosto 1=24 y mosto 2=26 °Brix) en comparación con el del mosto de uva *Chardonnay* (20 °Brix). Por lo tanto, los vinos *Sauvignon Blanc* presentaron porcentajes de etanol mayores que los vinos *Chardonnay* como se muestra en la Tabla 18.

En la Figura 31 se muestra que los vinos *Sauvignon Blanc* elaborados con el mosto 1 (SB1-SB3) presentaron mayor porcentaje de etanol que los vinos elaborados con el mosto 2 (SB4-SB6), esto se debió a que el mosto 1 presentó mayor cantidad de azúcar. También se muestra que el vino comercial (SB7) presentó menor %EtOH que los vinos control (SB1 y SB4).

Tabla 18. Contenido de etanol en vinos elaborados y comerciales

Uva	Vino	° Brix		Etanol (%v/v) (n=3)	D.E.	Precisión (n=3) %C.V.
		Iniciales	Finales			
SB	SB1	26		13.56	1.19	8.77
	SB2	26		14.49	1.70	11.76
	SB3	26		12.91	0.79	6.14
	SB4	24	8	12.74	0.50	3.89
	SB5	24		12.14	1.07	8.80
	SB6	24		12.72	0.24	1.91
	SB7	---	---	11.40	0.24	2.12
CHA	CHA1			10.98	0.55	4.99
	CHA2			9.22	0.31	3.34
	CHA3			10.89	0.69	6.37
	CHA4	20	6.5	9.91	0.20	2.06
	CHA5			10.54	0.69	6.54
	CHA6			8.79	0.47	5.34
	CHA7			10.33	0.26	2.54
	CHA8	---	---	12.57	0.71	5.62

n=3; CHA:chardonnay; SB: sauvignon blanc; *vinos comerciales*

El análisis del %EtOH de los vinos CHA, se realizó al dividir los vinos en 2 lotes: vinos sin estabilización en frío (CHA1-CHA3) y vinos con estabilización en frío (CHA5-CH7). En la Figura 31 se muestra que los vinos control (CHA1 y CHA5) presentaron %EtOH mayor que los elaborados con MPF. También se muestra que el tratamiento de estabilización en frío ($\sim 4\text{ }^{\circ}\text{C}$) antes de la filtración provocó una pequeña disminución de %EtOH.

Al comparar los resultados obtenidos de los vinos *Sauvignon Blanc* elaborados (SB1-SB6) con el vino comercial (SB7), los elaborados presentaron mayor porcentaje de etanol. Con respecto a los vinos *Chardonnay* (CHA1-CHA7), el comercial (CHA8) presentó mayor porcentaje de etanol que los elaborados. No obstante, cabe recalcar que el %EtOH depende de la cantidad de azúcar presente en las uvas y esta depende de factores como el clima, el suelo, etc. Sin embargo, todos los vinos presentaron un %v/v EtOH arriba de 8.5 %v/v, valor mínimo en vinos tranquilos (blancos, tintos y rosados) de acuerdo con la OIV¹ (Tabla 18).

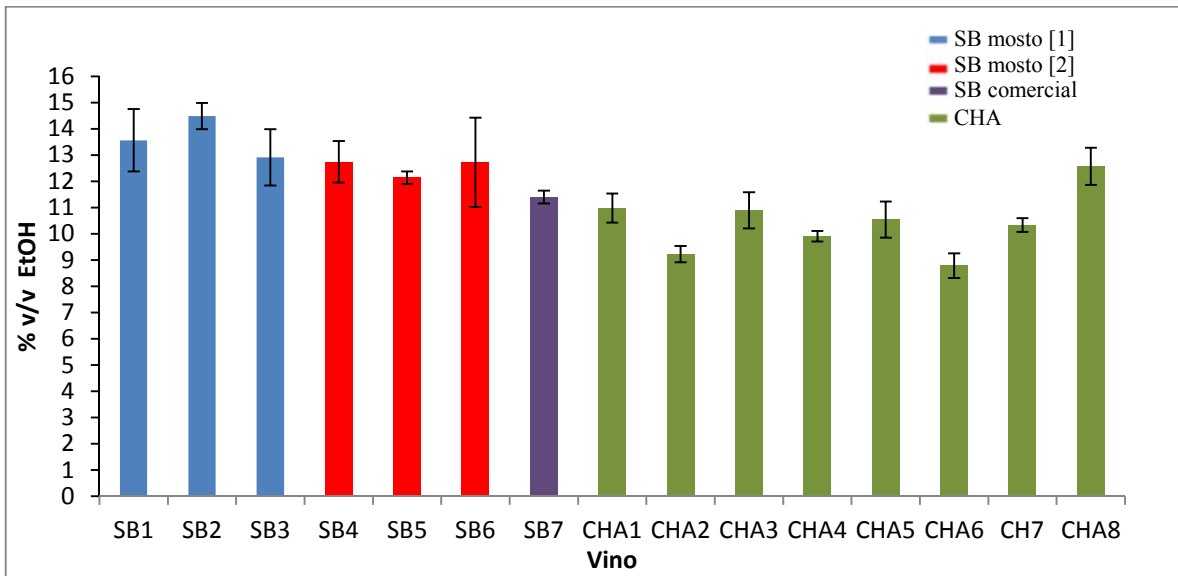


Figura 31. Porcentaje de etanol (%v/v) en vinos elaborados y comerciales

6.2.6. Evaluación de la precisión y exactitud

La exactitud se evaluó con disoluciones estándar y con vinos comerciales (valores de %EtOH considerados como verdaderos), obteniéndose porcentajes de error relativo

menores al $\pm 13\%$ en vinos comerciales y valores menores o igual a $\pm 2\%$ en disoluciones estándar (Tabla 19 y 20), indicando que la metodología resultó exacta^{158,159}.

En la Tabla 19 se muestran %C.V. menores a 2% obtenidos mediante el análisis de 3 disoluciones de EtOH, por lo que la metodología resultó precisa.

Así mismo, en la Tabla 18 se muestran los resultados de %EtOH en los vinos analizados observándose %C.V. menores a 12% de manera que son valores aceptables¹⁵⁸.

Tabla 19. Precisión de la metodología HS-SPME-GC-FID

%v/v EtOH Disolución estándar	% v/v EtOH	D.E (%v/v)	Precisión %C.V.	Exactitud %error relativo
8	8.05	0.11	1.53	0.63
12	11.76	0.12	1.14	-2.00
14	14.20	0.15	1.12	1.43

n=3

Tabla 20. Exactitud del análisis de vinos comerciales por HS-SPME-GC-FID

Variedad de uva	Vino	Etanol (%v/v)	D.E. (% v/v)	Precisión %C.V.	%EtOH (%v/v) etiqueta	Exactitud % error relativo
SB	Sierra Blanca L.A CETTO 2014	11.40	0.24	2.12	13	-12.28
CHA	Chardonnay, Casa Madero 2013	12.57	0.71	5.62	13.2	-4.74

n=3

6.3. Determinación de compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles

6.3.1. Optimización de parámetros: %EtOH, tiempo y temperatura de extracción

6.3.1.1. Influencia del %etanol

Se han realizado estudios sobre la influencia del %etanol en el vino durante el estudio de los compuestos volátiles y semivolátiles por HS-SPME, y se reporta que a mayor

porcentaje de etanol en la muestra es menor la extracción de los compuestos (en área). Por lo que hay mayor extracción de compuestos como ésteres, terpenos y ácidos carboxílicos en muestras con etanol en un intervalo de 2-6 %v/v EtOH¹⁷.

La Figura 32 muestra el número de compuestos por familia química identificados en el vino CHA control* (CHA5) con 10.54 y 5.27 %EtOH. Observándose mayor número de ésteres y alcoholes extraídos en la muestra con 10.54 %EtOH (sin dilución), mientras que con 5.27 %EtOH (dilución 1:1) se identificó mayor número de terpenos, compuestos carbonílicos y fenoles.

Puesto que se esperaba que el perfil aromático de los vinos elaborados iba a depender de manera importante de los terpenos, en el presente trabajo se optó por disminuir el porcentaje de etanol en la muestra (dilución 1:1).

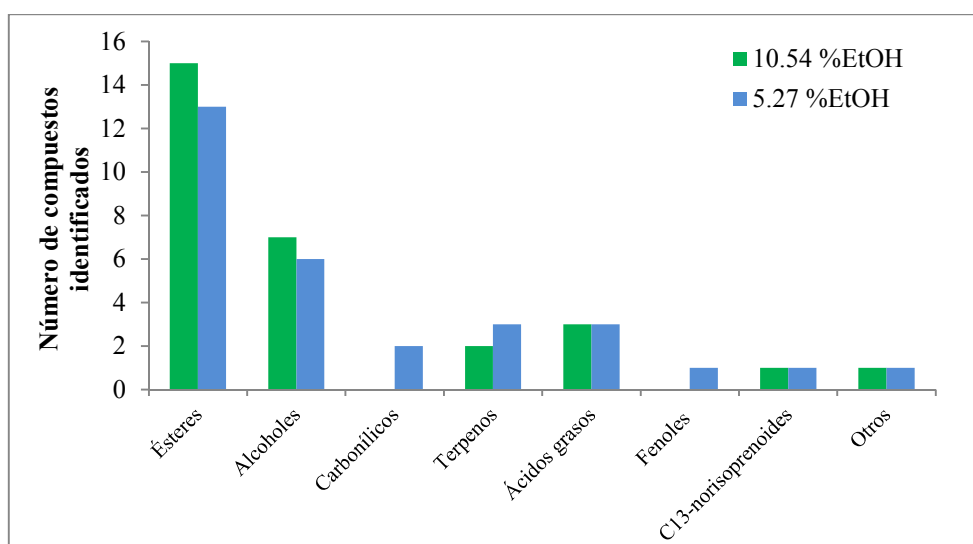


Figura 32. Evaluación del efecto del %EtOH en el análisis por HS-SPME-GC-MS

6.3.1.2. Tiempo de extracción

El análisis del vino CHA con diferentes tiempos de extracción (30 y 60 min), presentó el mismo perfil cromatográfico, es decir, se identificaron los mismos compuestos. En la Figura 33, se graficó el área total por familia química. Donde se observa que hay un aumento en el área extraída al aumentar el tiempo de extracción (excepto de alcoholes).

Debido a que con 30 min de extracción se obtuvo mayor área de alcoholes y además de que el área del resto de los compuestos permite su cuantificación, se seleccionó por realizar el análisis con este tiempo de extracción.

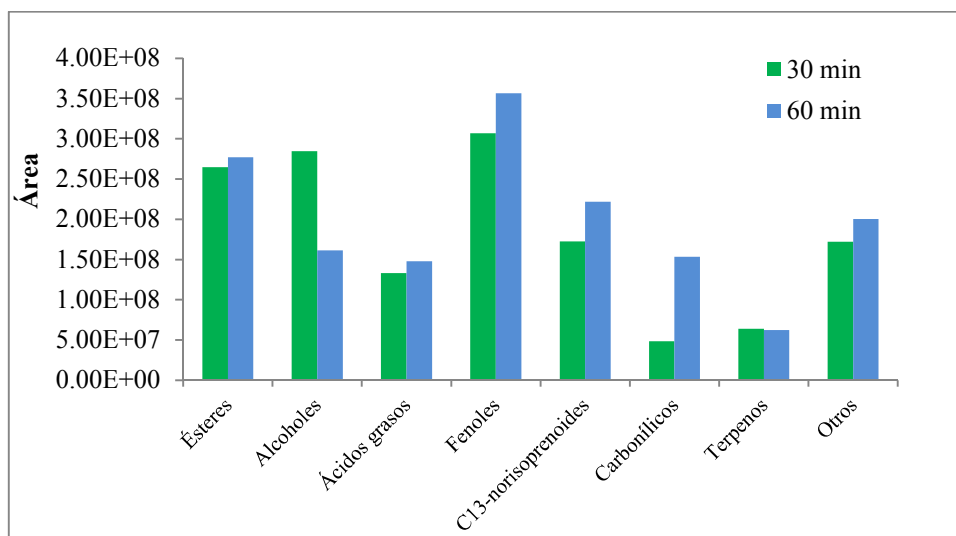


Figura 33. Estudio del efecto del tiempo de extracción en HS-SPME-GC-MS

6.3.1.3. Temperatura de extracción

Una vez que se determinó trabajar con muestras con menor porcentaje de etanol (dilución 1:1) y con 30 min de extracción, se estudió el efecto de la temperatura en la extracción por HS-SPME. En la Figura 34, se representa el área total por familia química de los compuestos identificados, a 20 °C se extrajeron menos compuestos.

A 30 y 50°C se identificó el mismo número de compuestos como se muestra en la Figura 34. A 50 °C el área extraída fue mayor a excepción de ésteres y compuestos carbonílicos. Por lo anterior, se eligió realizar los análisis a 30°C , además a 50°C el recubrimiento de la fibra sufrió mayores daños puesto que se identificaron más picos cromatográficos característicos de la fase extractante de la fibra.

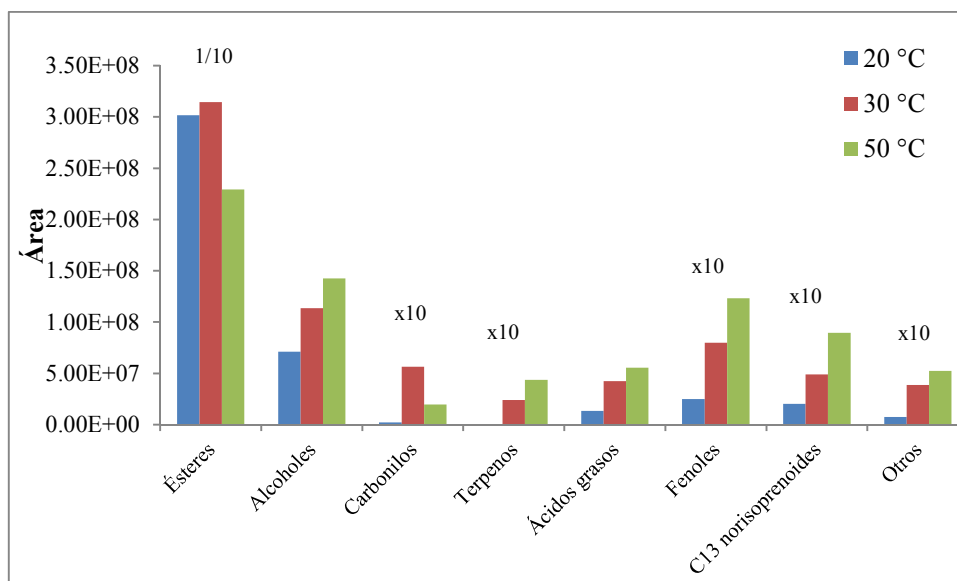


Figura 34. Estudio del efecto de la temperatura en HS-SPME-CG-MS

6.3.2. Identificación de compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles

Una vez determinadas las condiciones de extracción, se continuó con el análisis de las muestras de vino con la metodología descrita en la sección 5.9.2.

En el análisis de los diferentes vinos elaborados y comerciales se identificaron en total 52 compuestos congénicos, como: ésteres, alcoholes, terpenos, norisoprenoides, aldehídos, ácidos grasos, fenoles volátiles, éteres y furanos.

El tiempo de retención, así como la nota aromática que confiere cada uno de ellos se muestra en el Anexo B.

6.3.2.1. Vinos *Sauvignon Blanc*

Como se ha mencionado, la maceración pre-fermentativa con cáscara de frutos (lima, maracuyá) modificó el perfil aromático de los vinos, lo cual se puede observar al comparar los perfiles cromatográficos del vino control **m1** SB1 y el vino SB5 (MPF lima 2.5% **m1**) mostrados en las Figuras 35 y 36. Observándose mayor número de compuestos identificados en el vino SB5, al identificarse 40 compuestos mientras que en el control se identificaron sólo 35 compuestos.

En la Tabla 21 se muestran los compuestos identificados en el análisis de los vinos SB, en general, en los vinos con MPF lima (SB5 y SB2) se identificó mayor número de

compuestos que en los vinos control, principalmente terpenos. Por otro lado, los vinos con MPF maracuyá (SB3 y SB6), presentaron un número similar de compuestos con respecto a los vinos control (SB1 y SB4 respectivamente), observándose principalmente cambios en el número y concentración de algunos ésteres y alcoholes.

Al comparar los vinos SB con MPF lima con los vinos con MPF maracuyá, en particular, la MPF con maracuyá presentó algunos ésteres (decanoato de metilo, octanoato de isopentilo) y alcoholes (2,3-butanodiol, 1-octanol) que no presentaron los vinos con MPF lima. Mientras que en los vinos MPF maracuyá no se identificaron terpenos como: α -terpineol, 4-terpineol, fenchol, geraniol y borneol; y norisoprenoides como la β -ionona que en los vinos con MPF lima si se identificaron.

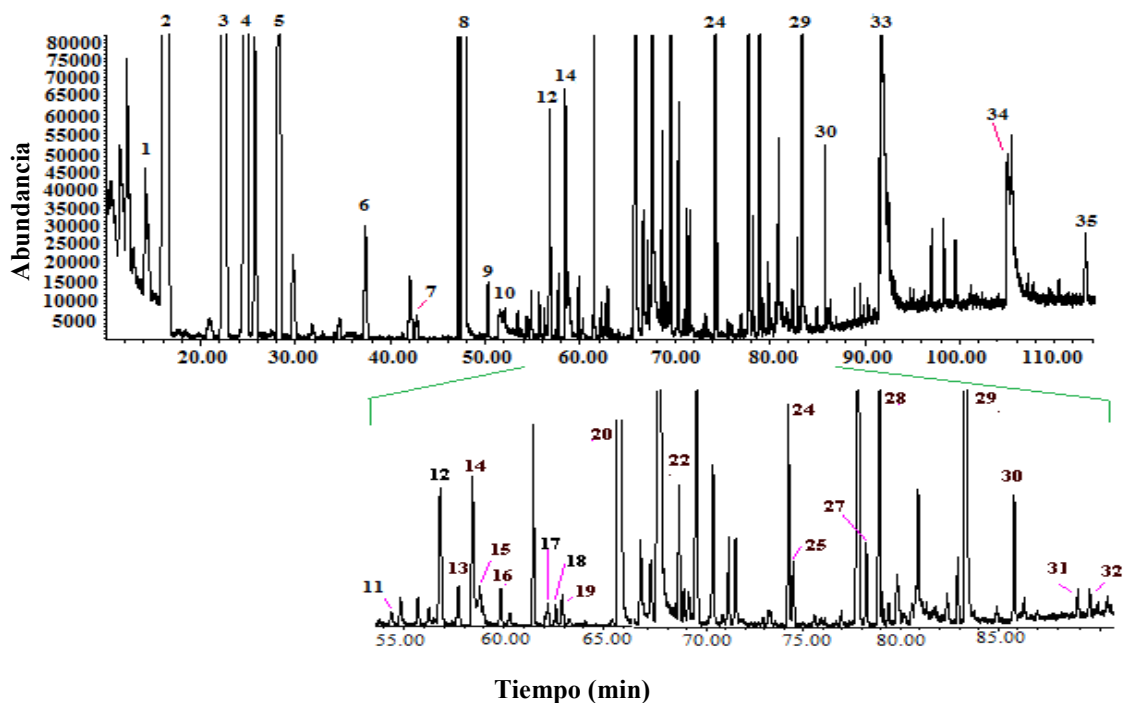


Figura 35. Cromatograma iónico total del análisis del vino SB control m1 (SB1) por HS-SPME-GC-MS
 1) alcohol isobutílico; 2) acetato de isoamilo; 3) alcohol isoamílico; 4) hexanoato de etilo; 5) acetato de hexilo; 6) 1-hexanol; 7) nonanal; 8) octanoato de etilo; 9) hexanoato de isopentilo; 10) ácido acético; 11) decanal; 12) benzaldehído; 13) nonanoato de etilo; 14) 2,3-butanodiol; 15) linalol; 16) 1-octanol; 17) isoborneol acetato; 18) decanoato de metilo 19) 2-metil-1-octanol; 20) decanoato de etilo; 21) nonanol (EI); 22) succinato de dietilo; 23) 9-decenoato de etilo; 24) decanol; 25) β -citronelol; 26) acetato de 2-feniletilo; 27) β -damascenona; 28) dodecanoato de etilo; 29) alcohol 2-feniletílico; 30) dodecanol; 31) éter difenílico; 32) nerolidol; 33) ácido octanoico; 34) ácido decanoico; 35) 2,3-dihidro benzofurano

De acuerdo con la literatura, los grupos de compuestos que contribuyen de manera importante al perfil aromático de los vinos son: ésteres, terpenos, norisoprenoides, alcoholes, ácidos grasos y aldehídos por lo que este trabajo se centró en el análisis de los mismos en los vinos estudiados.

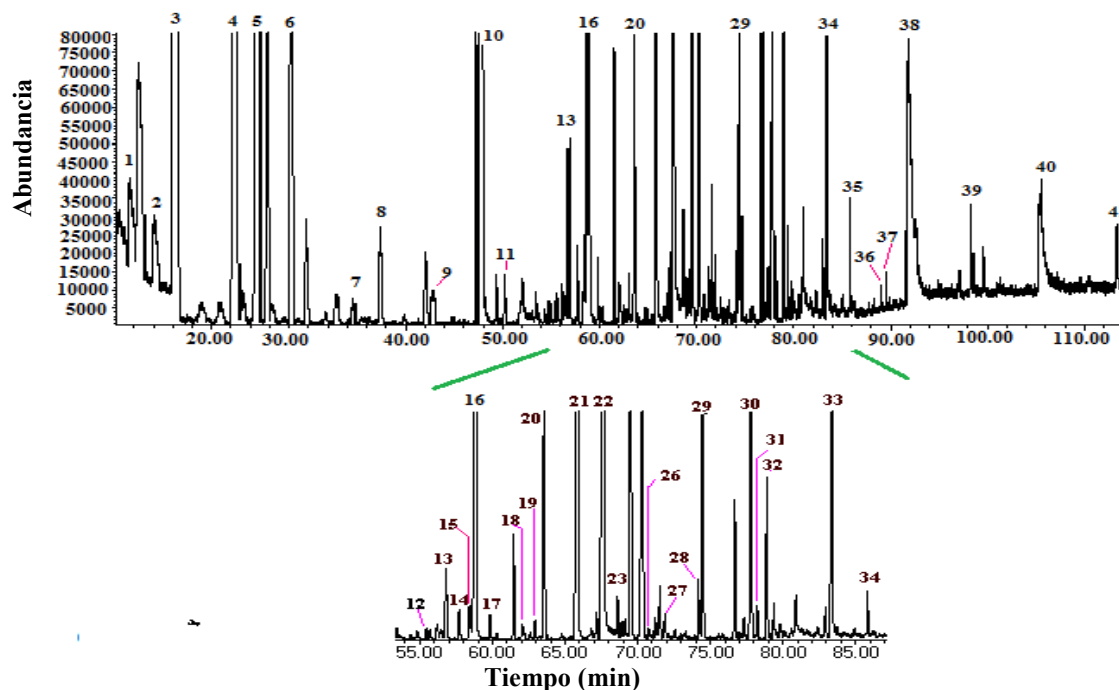


Figura 36. Cromatograma iónico total del análisis del vino SB con MPF lima 2.5% m1 (SB5) por HS-SPME-GC-MS. 1) butirato de etilo; 2) alcohol isobutílico; 3) acetato de isoamilo; 4) alcohol isoamílico; 5) hexanoato de etilo; 6) acetato de hexilo; 7) heptanoato de etilo; 8) 1-hexanol; 9) nonanal; 10) octanoato de etilo; 11) hexanoato de pentilo; 12) α -ionona; 13) benzaldehído; 14) nonanoato de etilo; 15) 2,3-butanodiol; 16) linalol; 17) 1-octanol; 18) fenchol; 19) 2-metil-1-octanol; 20) 4-terpineol; 21) decanoato de etilo; 22) nonanol (EI); 23) succinato de dietilo; 24) 9-decenoato de etilo; 25) α -terpineol; 26) borneol; 27) acetato de nerilo; 28) decanol; 29) β -citronelol; 30) geraniol; 31) acetato de 2-feniletilo; 32) β -damascenona; 33) dodecanoato de etilo; 34) alcohol 2-feniletílico; 35) dodecanol; 36) éter difenílico; 37) nerolidol; 38) ácido octanoico; 39) 4-vinil guayacol; 40) ácido decanoico; 41) 2,3-dihidro benzofurano.

La Figura 37 muestra la comparación del perfil aromático de los principales compuestos identificados en todos los vinos SB analizados. Observándose en forma general, que la MPF con lima incrementó y/o generó la producción de terpenos principalmente; mientras que la MPF con maracuyá incrementó y/o generó la producción de alcoholes y ésteres. En

particular, la MPF con mayor % de cáscara de frutos (lima o maracuyá) incrementó el número o concentración de algunos C₁₃-norisoprenoides, alcoholes y ésteres.

Tabla 21. Compuestos volátiles y semivolátiles identificados en vinos *Sauvignon Blanc*

#	Compuesto	SB1 Control m1	SB2 MPF lima 2.5% m1	SB3 MPF maracuyá 1.5% m1	SB4 Control m2	SB5 MPF lima 1.5% m2	SB6 MPF maracuyá 2.5% m2	SB7 Sierra Blanca 2014
ÉSTERES								
1	<i>Butirato de etilo</i>	---	X	X	X	X	X	X
2	<i>Acetato de isoamilo</i>	X	X	X	X	X	X	X
3	<i>Hexanoato de etilo</i>	X	X	X	X	X	X	X
4	<i>Heptanoato de etilo</i>	---	X	X	---	X	X	---
5	<i>Acetato de hexilo</i>	X	X	X	X	X	X	X
6	<i>Octanoato de etilo</i>	X	X	X	X	X	X	X
7	<i>Octanoato de propilo</i>	---	---	---	X	---	---	---
8	<i>Hexanoato de isopentilo</i>	X	X	X	X	X	X	X
9	<i>Nonanoato de etilo</i>	X	X	X	X	X	X	---
10	<i>Acetato de isobornilo</i>	X	---	---	X	X	X	---
11	<i>Decanoato de metilo</i>	X	---	X	X	---	---	X
12	<i>Decanoato de etilo</i>	X	X	X	X	X	X	X
13	<i>Octanoato de isopentilo</i>	---	---	X	---	---	---	---
14	<i>Succinato de dietilo</i>	X	X	X	X	X	X	X
15	<i>Acetato de nerilo</i>	---	X	--	---	X	--	---
16	<i>Acetato de 2-feniletilo</i>	X	X	X	X	X	X	X
17	<i>9-decenoato de etilo</i>	X	X	X	X	X	X	X
18	<i>Dodecanoato de etilo</i>	X	X	X	X	X	X	X
	Total ésteres	13	14	15	15	15	14	12
ÁCIDOS GRASOS								
19	<i>Ácido acético</i>	X	---	X	X	X	---	---
20	<i>Ácido hexanoico</i>	---	---	---	X	---	---	X
21	<i>Ácido octanoico</i>	X	X	X	X	X	X	X
22	<i>Ácido decanoico</i>	X	X	---	X	X	X	X
	Total ácidos grasos	3	2	2	4	3	2	3
ALCOHOLES								
23	<i>Alcohol isobutilico</i>	X	X	X	---	X	X	---
24	<i>Alcohol isoamílico</i>	X	X	X	X	X	X	X
25	<i>1-hexanol</i>	X	X	X	X	X	X	X
26	<i>2,3-butanodiol</i>	X	X	X	X	---	X	---
27	<i>1-octanol</i>	X	X	X	X	---	X	X
28	<i>2-metil-1-octanol</i>	X	X	---	X	X	X	X
29	<i>1-decanol</i>	X	X	X	X	X	X	X

<i>Continuación Tabla 21</i>		<i>SB1</i>	<i>SB2</i>	<i>SB3</i>	<i>SB4</i>	<i>SB5</i>	<i>SB6</i>	<i>SB7</i>
30	<i>1-dodecanol</i>	X	X	X	X	X	X	X
31	<i>Alcohol 2-feniletílico</i>	X	X	X	X	X	X	X
	Total alcoholes	9	9	8	8	7	9	7
ALDEHÍDOS								
32	<i>Nonanal</i>	X	X	---	X	---	X	X
33	<i>Decanal</i>	X	---	X	X	X	---	---
34	<i>Benzaldehído</i>	X	X	X	X	X	X	---
	Total aldehídos	3	2	2	3	2	2	1
TERPENOS								
35	<i>Linalol</i>	X	X	X	X	X	---	X
36	<i>α-terpineol</i>	---	X	---	---	X	---	---
37	<i>4-terpineol</i>	---	X	---	---	X	---	---
38	<i>β-citronelol</i>	X	X	X	X	X	X	X
39	<i>Fenchol</i>	---	X	---	---	X	---	---
40	<i>Geraniol</i>	---	X	---	---	X	---	---
41	<i>Nerolidol</i>	X	X	X	X	X	---	X
42	<i>Borneol</i>	---	X	---	---	X	---	---
	Total terpenos	3	8	3	3	8	1	3
C₁₃-NORISOPRENOIDES								
43	<i>β-damascenona</i>	X	X	X	X	X	X	X
44	<i>β-ionona</i>	---	X	---	---	---	---	---
	Total norisoprenoides	1	2	0	1	1	1	1
FENOLES VOLÁTILES								
45	<i>4-vinil guayacol</i>	---	X	X	---	---	X	---
OTROS								
46	<i>Éter difenílico</i>	X	X	X	X	X	X	X
47	<i>2,3-dihidro benzofurano</i>	X	X	X	---	---	X	---
	Número compuestos	34	40	34	35	37	32	28

En particular, al analizar los vinos SB control SB1, SB4 y SB7 (Tabla 21), el número de compuestos identificados fueron 34, 35 y 28 respectivamente. El vino SB4 presentó mayor número de ésteres y ácidos grasos. Los 3 vinos presentaron los mismos terpenos: linalol (cítricos y floral), β -citronelol (dulce y cítricos) y nerolidol (herbal, cítrica y floral); y los mismos norisoprenoides: β -damascenona (miel). Respecto a alcoholes, el vino SB1 presentó mayor número de compuestos mientras que el comercial (SB7) fue el que presentó menos. No obstante, el vino comercial presentó compuestos en mayor concentración (decanoato de etilo, ácido hexanoico, ácido decanoico) (Figura 37). De acuerdo con la literatura, la presencia de ácidos grasos puede conferir rancidez, sin

embargo, el vino comercial Sierra blanca (Tabla 17) no presentó notas a rancio y a grasa. No obstante, debido a que presentó menos compuestos y en concentraciones menores, indicó que fue un vino fino (vino con aromas sutiles)²⁸.

Al comparar el perfil cromatográfico del vino control (SB1) con el del vino con MPF lima 2.5% **m1** (SB2), se observó una gran diferencia. Se identificaron compuestos que no se encontraron en el vino control ó que su concentración era muy pequeña. Estos compuestos contribuyen al aroma y sabor con diferentes notas si se presentan en el nivel de percepción adecuado. Los compuestos que se identificaron en el vino SB2 fueron: butirato de etilo (plátano, piña), heptanoato de etilo (afrutada), acetato de nerilo, β -ionona (violetas), α -terpineol (floral, menta, dulce), 4-terpineol, (dulce, herbal), fenchol (alcanfor, limón), geraniol (geranio, rosas), borneol (alcanfor, picante) y 4-vinil guayacol (especias). Los compuestos que aumentaron su concentración fueron: 9-decenoato de etilo (rosas), benzaldehído (almendras); y los compuestos que no se identificaron en el vino SB2 pero en el vino SB1 sí, fueron: acetato de isobornilo, decanoato de metilo, ácido acético, y decanal compuestos que confieren notas: balsámicas, vegetales, florales, avinagradas y cítricas (Tabla 21 y Figura 37).

Al comparar el perfil cromatográfico del vino control (SB1) con el del vino con MPF maracuyá 1.5% **m1** (SB3), en el último se identificaron los compuestos: butirato de etilo (plátano, piña), heptanoato de etilo (afrutada) y 4-vinil guayacol (especias). Los compuestos no identificados fueron: acetato de isobornilo, 2-metil-1-octanol, ácido decanoico (rancio) y nonanal (floral). Los compuestos que aumentaron su concentración fueron: alcohol isoamílico (queso), succinato de dietilo (afrutada), benzaldehído (almendras), β -damascenona (membrillo), nerolidol (rosas, herbal) y dodecanol (floral).

En la comparación del perfil cromatográfico del vino control SB4 con el del vino con MPF lima 1.5% **m2** (SB5), en el último se identificaron los compuestos: heptanoato de etilo, acetato de nerilo, alcohol isobutílico, α -terpineol, 4-terpineol, fenchol, geraniol y borneol. Los compuestos no identificados fueron: octanoato de propilo, decanoato de metilo, ácido hexanoico, 2,3 butanodiol, 1-octanol y nonanal. Los compuestos que aumentaron su

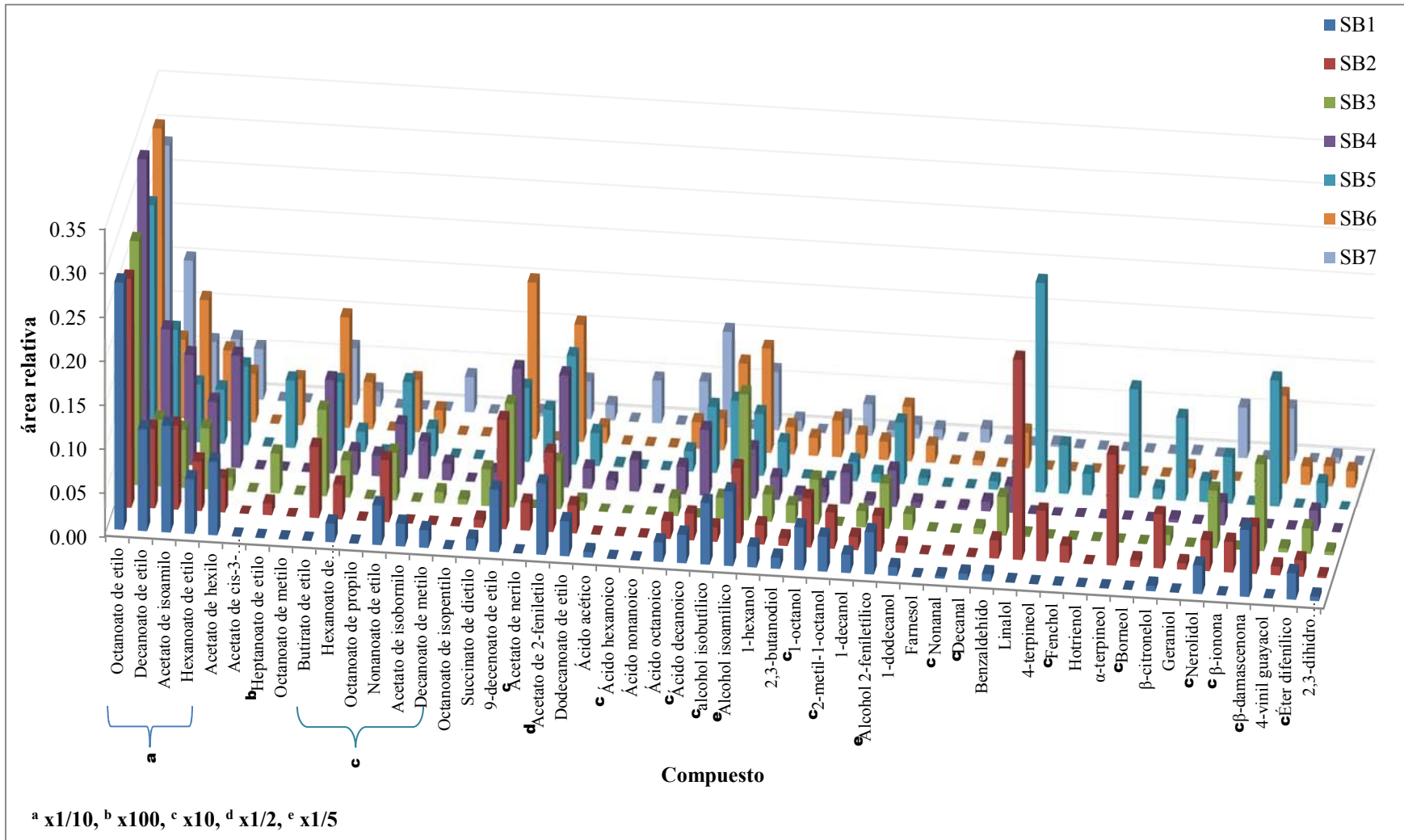


Figura 37. Perfil aromático de vinos *Sauvignon Blanc*.

concentración fueron: nonanoato de etilo, alcohol 2-feniletílico, linalol, nerolidol y β -citronelol; y los compuestos que disminuyeron su concentración fueron: octanoato de etilo y acetato de isoamilo.

En el vino MPF maracuyá 2.5% **m2** (SB6) con respecto al vino control SB4, se identificaron los compuestos: heptanoato de etilo, alcohol isobutílico y 4-vinil guayacol. Los compuestos que se identificaron en el vino control SB4 pero no en el vino SB6 fueron: octanoato de propilo, decanoato de metilo, ácido acético, ácido hexanoico, decanal, linalol y nerolidol. Los compuestos que aumentaron su concentración fueron: butirato de etilo, 9-decenoato de etilo, hexanoato de isopentilo, alcohol isoamílico, 2,3-butanodiol, 1-octanol, dodecanol, benzaldehído, β -citronelol y β -damascenona; y los compuestos que disminuyeron su concentración fueron: decanoato de etilo, acetato de hexilo y ácido decanoico (Figura 37).

6.3.2.2. Vinos Chardonnay

La maceración pre-fermentativa (MPF) con cáscara de frutos (lima y maracuyá) modificó el perfil aromático de los vinos CHA como se observa en la comparación de los cromatogramas (Figura 38 y 39) obtenidos del análisis del vino control (CHA1) y del vino con MPF lima 1.5% (CHA2). En particular, los vinos con MPF lima presentaron mayor número de compuestos que los vinos con MPF maracuyá (Tabla 22).

Con respecto a los vinos control y comercial, en la Tabla 22 se muestra que el vino con menor número de compuestos identificados fue el vino comercial CHA8 y el vino que presentó más compuestos fue el vino control CHA1. En el vino comercial (CHA8) se identificó menor número de ésteres y alcoholes; y se identificó el terpeno nerolidol mientras que en los vinos control (CHA1,CHA4,CHA5) se identificó linalol (Tabla 22). Por otro lado, el vino comercial CHA8 presentó mayor concentración de succinato de dietilo y dodecanol (Figura 40).

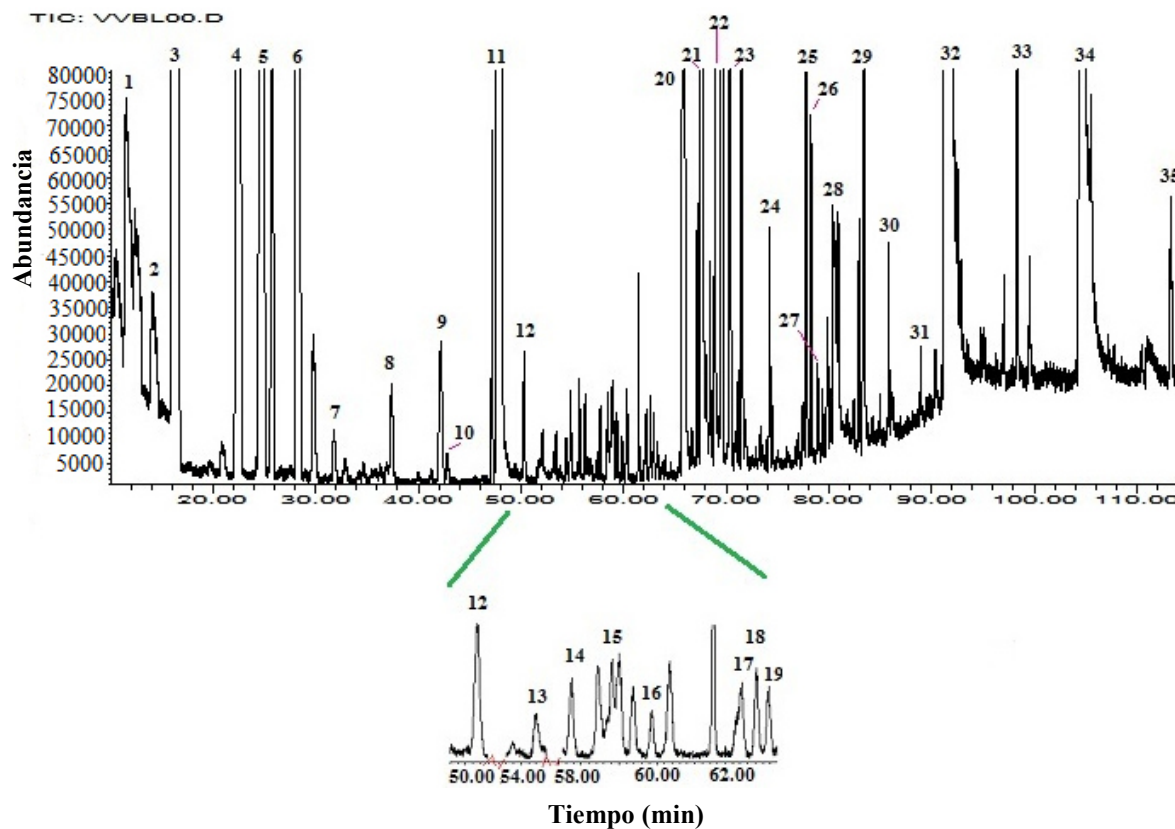


Figura 38. Cromatograma iónico total del análisis del vino CHA control (CHA1) por HS-SPME-GC-MS. 1) butirato de etilo; 2) alcohol isobutílico; 3) acetato de isoamilo; 4) alcohol isoamílico; 5) hexanoato de etilo; 6) acetato de hexilo; 7) acetato de cis-3-hexenilo; 8) 1-hexanol; 9) octanoato de metilo; 10) nonanal; 11) octanoato de etilo; 12) hexanoato de isopentilo; 13) decanal; 14) 2,3 butanodiol; 15) linalol; 16) 1-octanol; 17) acetato de isobornilo 18) decanoato de metilo; 19) 2-metil-1-octanol; 20) decanoato de etilo; 21) nonanol; 22) succinato de dietilo; 23) 9-decenoato de etilo; 24) decanol; 25) acetato de 2-feniletilo; 26) β -damascenona; 27) dodecanoato de etilo; 28) ácido hexanoico; 29) 2 feniletil alcohol; 30) dodecanol; 31) éter difenílico; 32) ácido octanoico; 33) 4-vinil guayacol; 34) ácido decanoico; 35) 2,3-dihidro benzofurano

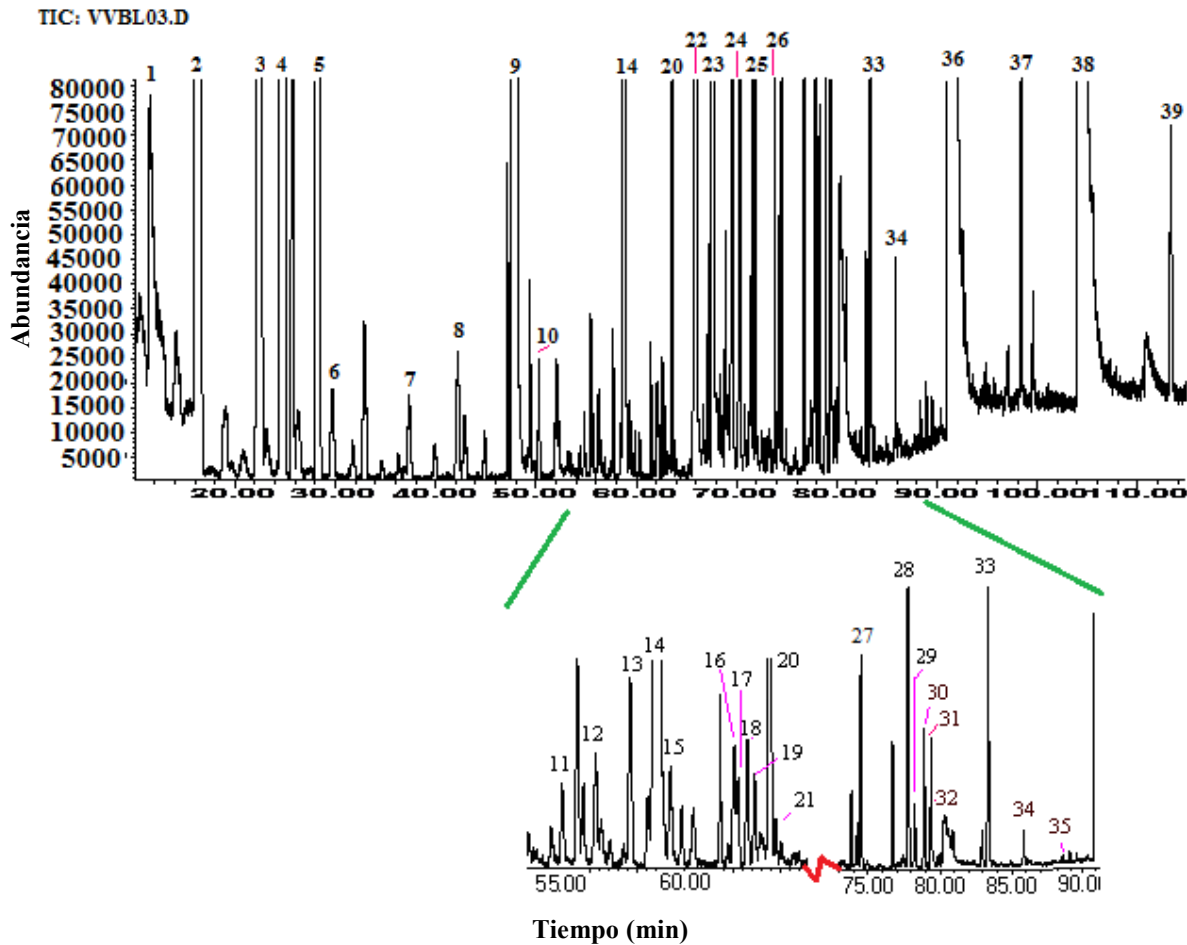


Figura 39. Cromatograma iónico total del análisis del vino CHA con MPF lima 1.5% (CHA2) por HS-SME-GC-MS. 1) butirato de etilo; 2) acetato de isoamilo; 3) alcohol isoamílico; 4) hexanoato de etilo; 5) acetato de hexilo; 6) acetato de cis-3-hexenilo; 7) 1-hexanol; 8) octanoato de metilo; 9) octanoato de etilo; 10) hexanoato de isopentilo; 11) decanal; 12) octanoato de propilo; 13) nonanoato de etilo; 14) linalol; 15) 1-octanol; 16) fenol; 17) acetato de isobornilo; 18) decanoato de metilo; 19) 2-metil-1-octanol; 20) 4-terpineol; 21) hotrienol; 22) octanoato de etilo; 23) nonanol; 24) 9-decenoato de etilo; 25) α -terpineol; 26) decanol; 27) acetato de nerilo; 28) acetato de 2-feniletilo; 29) β -damascenona; 30) dodecanoato de etilo; 31) geraniol; 32) ácido hexanoico; 33) alcohol 2-feniletílico; 34) dodecanol; 35) éter difenílico; 36) ácido octanoico; 37) 4-vinil guayacol; 38) ácido decanoico; 39) 2,3-dihidro benzofurano

Tabla 22. Compuestos volátiles y semivolátiles identificados en vinos *Chardonnay*

#	Compuesto	CHA1 Control	CHA2 MPF lima 1.5%	CHA3 MPF maracuyá 1.5%	CHA4 Control estabilizado a 16 °C	CHA5 Control*	CHA6 MPF lima 1.5% *	CHA7 MPF maracuyá 1.5% *	CHA8 Casa Madero
ÉSTERES									
1	<i>Butirato de etilo</i>	X	X	X	X	X	X	X	X
2	<i>Acetato de isoamilo</i>	X	X	X	X	X	X	X	X
3	<i>Hexanoato de etilo</i>	X	X	X	X	X	X	X	X
4	<i>Acetato de cis-3-hexenilo</i>	X	X	X	---	X	---	---	---
5	<i>Acetato de hexilo</i>	X	X	X	X	X	X	X	X
6	<i>Octanoato de metilo</i>	X	X	X	X	---	X	X	X
7	<i>Octanoato de etilo</i>	X	X	X	X	X	X	X	X
8	<i>Hexanoato de isopentilo</i>	X	X	X	X	X	X	X	X
9	<i>Octanoato de propilo</i>	X	X	X	X	X	X	X	---
10	<i>Nonanoato de etilo</i>	---	X	X	X	X	X	X	---
11	<i>Acetatode isobornilo</i>	X	X	X	X	X	X	X	---
12	<i>Decanoato de metilo</i>	X	X	X	---	X	X	X	X
13	<i>Decanoato de etilo</i>	X	X	X	X	X	X	X	X
14	<i>Succinato de dietilo</i>	X	---	---	X	---	---	---	X
15	<i>Acetato de nerilo</i>	---	X	X	X	---	X	X	---
16	<i>Acetato de 2-feniletilo</i>	X	X	X	X	X	X	X	X
17	<i>9-decenoate de etilo</i>	X	X	X	X	X	X	X	---
18	<i>Dodecanoato de etilo</i>	X	X	X	X	X	X	X	X
	Total ésteres	16	17	17	16	15	16	16	12
ÁCIDOS GRASOS									
19	<i>Ácido hexanoico</i>	X	X	X	X	X	X	X	X
20	<i>Ácido octanoico</i>	X	X	X	X	X	X	X	X
21	<i>Ácido nonanoico</i>	---	---	---	---	---	X	---	---
22	<i>Ácido decanoico</i>	X	X	X	X	X	X	X	X
	Total ácidos grasos	3	3	3	3	3	4	3	3
ALCOHOLES									
23	<i>Alcohol isobutilico</i>	X	---	---	---	---	X	X	---
24	<i>Alcohol isoamilico</i>	X	X	X	X	X	X	X	X
25	<i>1-hexanol</i>	X	X	X	X	X	X	X	X
26	<i>2,3-butanodiol</i>	X	---	---	---	---	---	---	---
27	<i>1-octanol</i>	X	X	X	X	X	X	X	X
28	<i>2-metil-1-octanol</i>	X	X	X	X	X	X	X	---
29	<i>1-decanol</i>	X	X	X	X	X	X	X	X
30	<i>1-dodecanol</i>	X	X	X	X	X	X	X	X
31	<i>Alcohol 2-feniletílico</i>	X	X	X	X	X	X	X	X
32	<i>Farnesol</i>	---	---	---	---	---	X	---	---
	Total alcoholes	9	7	8	7	7	9	8	6

<i>Continuación Tabla 22</i>		<i>CHA1</i>	<i>CHA2</i>	<i>CHA3</i>	<i>CHA4</i>	<i>CHA5</i>	<i>CHA6</i>	<i>CHA7</i>	<i>CHA8</i>
ALDEHÍDOS									
33	<i>Nonanal</i>	X	---	X	X	---	---	X	X
34	<i>Decanal</i>	X	X	---	X	X	---	X	---
35	<i>Benzaldehído</i>	---	---	X	---	---	---	---	---
	Total aldehídos	2	1	2	2	1	0	2	1
TERPENOS									
36	<i>Linalol</i>	X	X	X	X	X	X	X	---
37	<i>Fenchol</i>	---	X	---	---	---	X	---	---
38	<i>Hotrienol</i>	---	X	---	---	---	---	---	---
39	<i>α-terpineol</i>	---	X	---	---	---	X	---	---
40	<i>4-terpineol</i>	---	X	---	---	---	X	---	---
41	<i>β-citronelol</i>	---	X	X	---	---	X	X	---
42	<i>Geraniol</i>	---	X	---	---	---	X	---	---
43	<i>Nerolidol</i>	---	---	---	---	---	---	---	X
44	<i>Borneol</i>	---	---	---	---	---	X	---	---
	Total terpenos	1	6	2	1	1	7	2	1
C₁₃-NORISOPRENOIDES									
45	<i>β-damascenona</i>	X	X	X	X	X	X	X	X
FENOLES VOLÁTILES									
46	<i>4-vinil guayacol</i>	X	X	X	X	X	X	X	---
OTROS									
47	<i>Éter difenílico</i>	X	X	X	X	X	X	X	X
48	<i>2,3-dihidro benzofurano</i>	X	X	X	X	X	X	X	---
	Número compuestos	34	39	35	33	31	40	35	25

* Vinos estabilizados a -4°C

Entre los diferentes vinos CHA existieron pequeñas o grandes diferencias, dependiendo del proceso de elaboración y del proceso de estabilización del vino. Existieron casos donde se identificaron nuevos compuestos y en otros donde no se identificaron algunos compuestos, o aumentaron o disminuyeron su concentración.

En general, los vinos que presentaron mayor número de compuestos fueron los vinos con MPF con lima, principalmente terpenos, compuestos que aportan notas cítrica, frutales y florales, respecto a los vinos control. Mientras que los vinos con MPF con maracuyá presentaron un número similar de compuestos con respecto al control y algunos terpenos, ésteres y alcoholes diferentes.

Al comparar el perfil cromatográfico del vino con MPF lima con el de MPF maracuyá, en general, el primero presentó mayor número de terpenos, mientras que el segundo presentó más aldehídos. Por otro lado, no presentaron diferencias importantes en el número y en la clase de ácidos grasos, alcoholes, norisoprenoides y fenoles volátiles (Tabla 22).

Al comparar el perfil cromatográfico del vino control (CHA1) con el del vino control estabilizado a 16 °C (CHA4), en el último se identificaron los compuestos: nonanoato de etilo y acetato de nerilo. Los compuestos no identificados fueron: acetato de cis-3-hexenilo, decanoato de metilo, alcohol isobutílico y 2,3-butanodiol. Los compuestos que aumentaron su concentración fueron: butirato de etilo, succinato de dietilo, dodecanoato de etilo, decanal y β -damascenona; y los compuestos que disminuyeron su concentración fueron: octanoato de etilo, decanoato de etilo, acetato de isoamilo, hexanoato de etilo, octanoato de propilo, acetato de 2-feniletilo, ácido octanoico y ácido decanoico (Figura 40).

Al comparar el perfil cromatográfico del vino control no estabilizado (CHA1) con el del vino control estabilizado a ~4°C (CHA5), en el último no se identificaron los compuestos: octanoato de metilo, succinato de dietilo, alcohol isobutílico, 2,3-butanodiol y nonanal. El compuesto nuevo que se identificó fue el nonanoato de etilo. Los compuestos que aumentaron su concentración fueron: butirato de etilo, dodecanoato de etilo y 9-decenoato de etilo; y los compuestos que disminuyeron su concentración fueron: octanoato de propilo, acetato de 2-feniletilo, ácido octanoico y ácido decanoico. Por otro lado, la estabilización del vino a 4°C no incrementó el número ni la concentración de terpenos, C₁₃-norisoprenoides y fenoles volátiles (Tabla 22 y Figura 40).

Al comparar el perfil cromatográfico del vino MPF lima 1.5% (CHA2) con el del vino MPF lima 1.5%* (CHA6), en el último se identificaron los compuestos: alcohol isobutílico, ácido nonanoico, farnesol y borneol. Los compuestos no identificados fueron: acetato de cis-3-hexenilo, decanal y hotrienol. El compuesto que aumentó su concentración de manera importante fue el acetato de nerilo. Los compuestos que disminuyeron su concentración fueron: acetato de hexilo, octanoato de propilo, nonanoato de etilo, decanoato de metilo, 9-decenoato de etilo.

Al comparar el perfil cromatográfico del vino con MPF maracuyá 1.5% (CHA3) con el del vino con MPF maracuyá 1.5%* (CHA7), en el último se identificaron los compuestos: alcohol isobutílico y decanal. Los compuestos no identificados fueron: acetato de cis-3-hexenilo y benzaldehído (Tabla 22). Los compuestos que aumentaron su concentración fueron: octanoato de metilo, nonanoato de etilo, acetato de isobornilo y nonanal; y los compuestos que disminuyeron su concentración fueron: decanoato de etilo, hexanoato de isopentilo, decanoato de metilo, 9-decenoato de etilo, dodecanoato de etilo, ácido decanoico y 1-dodecanol (Figura 40).

Para analizar los cambios en el perfil aromático de los vinos con MPF con cáscara frutos (lima y maracuyá) con respecto a los vinos control, se dividieron los vinos elaborados en 2 grupos: vinos sin estabilizar y vinos estabilizados a ~ 4 °C antes del embotellado.

- **Vinos sin estabilizar**

En general, el vino con MPF lima (CHA2) presentó nuevos compuestos con respecto al control (CHA1), los cuales fueron: nonanoato de etilo, acetato de nerilo, fenchol, hotrienol, α -terpineol, 4-terpineol, β -citronelol y geraniol; estos compuestos aportan en general notas afrutadas, florales, cítricas, herbales y dulces. Mientras que el vino con MPF maracuyá (CHA3), presentó los compuestos: nonanoato de etilo, acetato de nerilo, benzaldehído y β -citronelol, compuestos que aportan notas frutales, florales, cítricas y a almendra.

En particular, en los vinos con MPF (CH2,CH3), no se identificaron los compuestos: succinato de dietilo, alcohol isobutílico, 2,3-butanodiol y/o nonanal (decanal vino MPF maracuyá), compuestos que confieren notas afrutadas y florales (Tabla 22) con respecto al control (CHA1).

Los compuestos que disminuyeron su concentración con la MPF lima fueron: acetato de isoamilo, acetato de 2-feniletilo, alcohol 2-feniletílico y 1-dodecanol; y los compuestos que aumentaron su concentración fueron: butirato de etilo y linalol. Mientras que los compuestos que disminuyeron su concentración con la MPF maracuyá fueron: 9-decenoato de etilo, acetato de 2-feniletilo; y los compuestos que aumentaron su concentración fueron: acetato de cis-3-hexenilo y butirato de etilo (Figura 40).

- **Vinos estabilizados a 4 °C**

En general, los vinos con estabilización a 4°C presentaron nuevos compuestos pero también hubo compuestos que desaparecieron, aumentaron o disminuyeron su concentración con respecto a los que no se estabilizaron. En particular, el vino con MPF lima 1.5%* (CHA6) presentó los mismos terpenos que el vino con MPF lima 1.5% (CHA2) (fenchol, α -terpineol, 4-terpineol, β -citronelol y geraniol) a excepción del borneol, compuesto que confiere notas a alcanfor y picante.

Al comparar el perfil cromatográfico del vino control* CHA5 con el vino con MPF con lima 1.5%* (CHA6), en el último no se identificaron los compuestos: acetato de cis-3-hexenilo y decanal; y los compuestos identificados fueron: octanoato de metilo, acetato de nerilo, ácido nonanoico, alcohol isobutílico (Tabla 22). En la Figura 40 se muestra que los compuestos que incrementaron su concentración fueron: ácido decanoico y linalol; y los compuestos que disminuyeron su concentración fueron; acetato de isoamilo, 9-decenoato de etilo, acetato de 2-feniletilo, dodecanoato de etilo, alcohol isoamílico y alcohol 2-feniletílico.

Al comparar el perfil cromatográfico del vino CHA7 (MPF maracuyá 1.5%*) con el vino control* CHA5, en el primero no se identificó el compuesto acetato de cis-3-hexenilo. Se identificaron los compuestos: octanoato de metilo, acetato de nerilo, alcohol isobutílico, nonanal y β -citronelol. Los compuestos que aumentaron su concentración fueron: octanoato de propilo y nonanoato de etilo; y los compuestos que disminuyeron su concentración fueron: decanoato de etilo, decanoato de metilo, 9-decenoato de etilo y dodecanoato de etilo.

En general, la estabilización a 4°C evitó la precipitación de tartratos obteniendo vinos sin presencia de precipitados y cambios de color con el tiempo. En particular, la estabilización a 4°C del vino con MPF lima además de las ventajas mencionadas anteriormente, también incrementó la concentración y el número de terpenos, ésteres y alcoholes importantes.

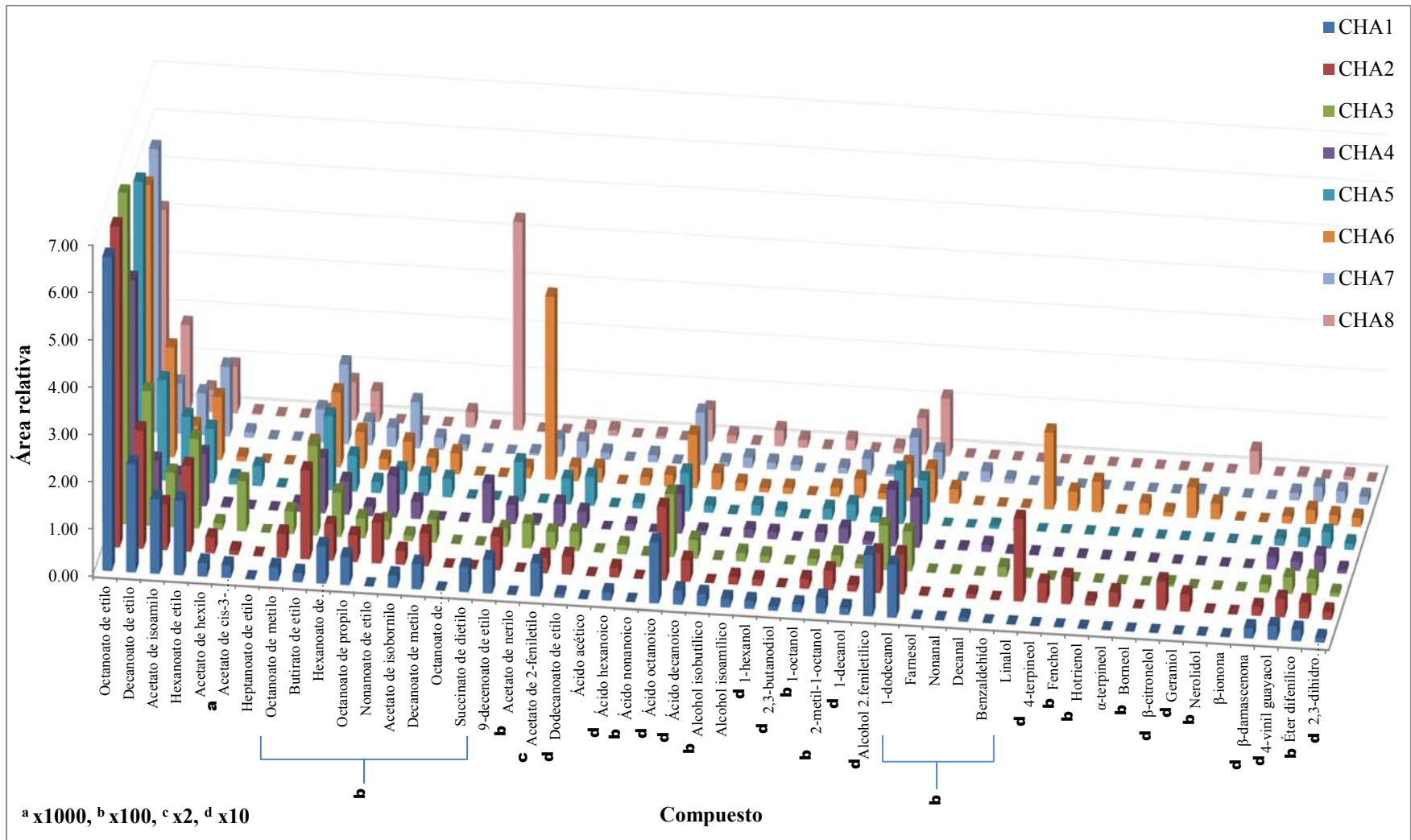


Figura 40. Perfil aromático de vinos *Chardonnay*

6.3.3. Precisión, linealidad, LD y LQ de la metodología HS-SPME-GC-MS

Después del análisis del perfil aromático de los vinos control, con maceración prefermentativa y comerciales se eligieron 18 compuestos congénicos para realizar la cuantificación (Tabla 23). Estos compuestos se seleccionaron con base en su contribución en el sabor y aroma en vinos blancos.

Tabla 23. Linealidad de la metodología HS-SPME-GC-MS

#	Compuesto	Intervalo concentración (mg L ⁻¹)	Ecuación de la recta, área relativa (y) vs concentración relativa (x)	Coefficiente de determinación (r ²)
Ésteres				
1	Butirato de etilo	0.1004-0.5020	y = 0.0150x + 0.0026	0.9880
2	Acetato de isoamilo	0.5011-3.0149	y = 0.1085x + 0.2129	0.9916
3	Hexanoato de etilo	0.0999-1.2400	y = 0.7016x + 0.2277	0.9991
4	Octanoato de etilo	0.0801-0.6010	y = 2.4829x + 1.2857	0.9805
5	Nonanoato de etilo	0.0001-0.0010	y = 5.8182x - 0.0022	0.9864
6	Decanoato de etilo	0.0099-0.0994	y = 4.6968x + 0.2365	0.9961
7	Succinato de dietilo	0.0301-0.4008	y = 0.0722x + 0.0020	0.9911
8	Acetato de 2-feniletilo	0.0501-0.4007	y = 0.2591x + 0.0284	0.9964
Ácidos grasos				
9	Ácido octanoico	0.2991-7.0835	y = 0.0058x - 0.0148	0.9804
10	Ácido decanoico	0.5019-1.6062	y = 0.0085x - 0.0192	0.9891
Terpenos				
11	(±)-linalol	0.0015-0.0060	y = 0.4499x - 0.0016	0.9826
		0.2005-1.5039	y = 0.2256x + 0.2805	0.9828
12	α-terpineol	0.2002-1.0009	y = 0.0843x + 0.0159	0.9965
13	β-citronelol	0.0010-0.0070	y = 0.5459x - 0.0009	0.9980
		0.0200-0.0701	y = 0.5012x + 0.0034	0.9961
14	Geraniol	0.0100-0.1002	y = 0.1099x + 0.0011	0.9950
C₁₃-norisoprenoides				
15	β-damascenona	0.0005-0.0070	y = 1.3798x + 0.0019	0.9938
Alcoholes				
16	1-Hexanol	0.1013-0.7005	y = 0.0137x - 0.0034	0.9916
17	Alcohol 2-feniletílico	4.0492-24.9702	y = 0.0026x + 0.0108	0.9979
Aldehídos				
18	Benzaldehído	0.1000-1.0004	y = 0.0170x - 0.0018	0.9979

6.3.3.1. Precisión

Para la evaluación de la precisión se analizaron 3 concentraciones seleccionadas del intervalo lineal de cada compuesto cuantificado (Tabla 23).

Existen normas que sugieren calcular el porcentaje de coeficiente de variación con base en el nivel de concentración del analito presente en la muestra, para demostrar que la metodología desarrollada es precisa¹⁵⁹, por lo que se calcularon los %C.V. aceptables para cada concentración de los analitos cuantificados (Anexo C). Donde el %C.V. experimental es aceptado cuando es inferior al valor calculado, indicando que la precisión de la metodología analítica es aceptable.

En la Tabla 24 se muestran los %C.V. obtenidos del análisis de estándares, los cuales son menores a los %C.V. calculados (excepto para el ácido octanoico) por lo que la metodología resultó precisa.

En cuanto al ácido octanoico, los altos %C.V. obtenidos (26.6644 y 18.1874 %) se pudieron deber a que fue una cuantificación múltiple en un matriz compleja mediante una técnica de preparación de muestra miniaturizada, por lo que cabe mencionar que los %C.V. calculados de acuerdo a las normas, se basan en la concentración del analito pero no consideran la metodología empleada, ya que existen trabajos publicados que reportan %C.V de hasta 60% al emplear HS-SPME-GC-MS.

Tabla 24. Precisión de la metodología HS-SPME-GC-MS

<i>Compuesto</i>	<i>Concentración mg L⁻¹</i>	<i>%C.V. (n=2)</i>	<i>%C.V. aceptables para cada concentración¹⁵⁹</i>
Butirato de etilo	0.1004	3.0806	22.6138
	1.4965	6.6254	15.0580
	2.4941	4.0028	13.9437
Acetato de isoamilo	0.5011	5.0414	17.7536
	1.7587	3.7146	14.6965
	3.0149	2.2633	13.5513
Hexanoato de etilo	0.0999	2.4721	22.6308
	0.6491	10.9763	17.0753
	1.2400	10.1720	15.4902
Octanoato de etilo	0.0801	8.2599	23.3958
	0.3256	11.4924	18.9438
	0.6010	7.6196	17.2743
Nonanoato de etilo	0.0003	46.7914	54.2457
	0.0007	20.2326	47.7507
	0.0010	13.2906	45.2548

<i>Continuación Tabla 24 Compuesto</i>	<i>Concentración mg L⁻¹</i>	<i>%C.V. (n=2)</i>	<i>%C.V. aceptables para cada concentración¹⁵⁹</i>
Decanoato de etilo	0.0099	24.3405	32.0484
	0.0547	13.1529	24.7783
	0.0994	13.7164	22.6479
Succinato de dietilo	0.0301	3.4206	27.1093
	0.2155	9.2515	20.1579
	0.4008	9.0637	18.3605
acetato de 2-feniletilo	0.0501	10.0903	25.1081
	0.2254	12.3871	20.0221
	0.4007	7.4013	18.3612
Ácido octanoico	0.2991	<u>26.6644</u>	9.76103
	3.6729	<u>18.1874</u>	10.3396
	7.0835	5.2679	12.4595
Ácido decanoico	0.5019	5.5521	12.3614
	1.0541	7.8769	11.7275
	1.6062	3.1845	13.4402
Linalol	0.0015	17.5120	42.5756
	0.2005	3.2892	20.3780
	1.5039	6.3321	15.0468
α-terpineol	0.2002	3.8993	20.3826
	0.6005	8.3282	17.2765
	1.0009	5.4364	15.9978
β-citronelol	0.0010	16.6466	45.2548
	0.0200	8.9654	28.8297
	0.0701	10.8832	23.8702
Geraniol	0.0100	5.4373	32.0000
	0.0551	4.5724	24.7512
	0.1002	3.5476	22.6206
β-damascenona	0.0005	20.6303	50.2313
	0.0038	8.8740	37.0167
	0.0070	17.8158	33.7649
1-hexanol	0.1013	18.8510	22.5835
	0.4000	6.7994	18.3661
	0.7005	1.6194	16.8806
Alcohol 2-feniletílico	4.0492	3.6997	12.9629
	14.3972	5.9355	10.7098
	24.9702	6.7414	9.8579
Benzaldehído	0.1000	21.5420	22.6274
	0.5502	4.6008	17.5055
	0.7753	5.8095	16.6248

6.3.3.2. Linealidad

La linealidad se evaluó con la preparación de curvas de calibración relativas de acuerdo a lo mencionado en la sección 5.9.6. En la Tabla 23 se muestran los intervalos de concentración, las ecuaciones y los coeficientes de determinación para cada compuesto. Para linalol y β -citronelol se realizaron curvas en diferentes intervalos de concentración debido a que las muestras con maceración pre-fermentativa presentaron diferentes niveles de concentración.

La linealidad de la metodología fue aceptable debido a que se obtuvieron coeficientes de determinación entre 0.9804 y 0.9991. Las curvas de calibración se muestran en el Anexo D.

6.3.3.3. Límites de detección y cuantificación

Los límites de detección y cuantificación se obtuvieron experimentalmente. El límite de detección experimental fue la concentración que dio una relación señal/ ruido de 3 veces, mientras que el límite de cuantificación fue la concentración que dio una relación señal/ruido igual a 10 veces¹⁵⁸ (Tabla 25).

Las concentraciones utilizadas para la evaluación de la linealidad (curvas de calibración relativas) (Tabla 23) se encontraron por arriba de los límites de cuantificación por lo que fueron cuantificadas con una precisión adecuada¹⁵⁸.

Tabla 25. Límites de detección y de cuantificación

#	<i>tr</i> (min)	Compuesto	LD_{exp} (mg L ⁻¹)	LC_{exp} (mg L ⁻¹)
Ésteres				
1	11.476	Butirato de etilo	0.0143	0.0478
2	16.159	Acetato de isoamilo	0.0076	0.0253
3	24.596	Hexanoato de etilo	0.0009	0.0029
4	47.922	Octanoato de etilo	0.0001	0.0004
5	57.845	Nonanoato de etilo	0.00002	0.0001
6	66.222	Decanoato de etilo	0.0001	0.0002
7	68.641	Succinato de dietilo	0.0080	0.0265

<i>Continuación Tabla 25</i>	<i>tr (min)</i>	<i>Compuesto</i>	<i>LD_{exp} (mg L⁻¹)</i>	<i>LC_{exp} (mg L⁻¹)</i>
8	77.797	Acetato de 2-feniletilo	0.0007	0.0024
Ácidos carboxílicos				
9	91.742	Ácido octanoico	0.0477	0.1591
10	104.556	Ácido decanoico	0.0893	0.2977
Terpenos				
11	58.778	Linalol	0.0004	0.0012
12	70.320	α-terpineol	0.0031	0.0102
13	74.509	β-citronelol	0.0003	0.0009
14	79.379	Geraniol	0.0018	0.0060
C₁₃-norisoprenoides				
15	78.248	β-damascenona	0.0002	0.0005
Alcoholes				
16	37.366	1-hexanol	0.0258	0.0858
17	83.338	Alcohol 2-feniletílico	0.1652	0.5508
Aldehídos				
18	56.772	Benzaldehído	0.0144	0.0481

6.3.4. Análisis cuantitativo de vinos blancos jóvenes control, con maceración pre-fermentativa y comerciales

La concentración calculada con base en las curvas de calibración relativas así como los coeficientes de variación de los compuestos en los vinos *Sauvignon Blanc* y *Chardonnay*, se muestran en la Tabla 26 y 27. En general, se obtuvieron porcentajes de coeficientes de variación (%C.V.) entre 0.1468% y 21.8766% en vinos *Sauvignon Blanc* y entre 0.0354% y 29.0147% en vinos *Chardonnay* (excepto para nonanoato de etilo y β-damascenona), los cuales son valores aceptables¹⁵⁹.

El análisis de los resultados se basó en la comparación del perfil de concentración de 18 compuestos cuantificados en los vinos control, comerciales y con maceración pre-

fermentativa con cáscara de frutos (lima y maracuyá); y además se comparó la concentración de cada compuesto con su respectivo umbral de percepción.

De acuerdo a la literatura, el umbral de percepción de una sustancia es la concentración mínima para la cual el 50% de la población sometida al estudio de la evaluación de un olor, lo percibe. Por lo tanto, en el análisis, al mencionar que la concentración de algún compuesto es superior o inferior al umbral de percepción se dará por hecho que hay un 50% de probabilidad de que la o las notas aromáticas características de ese compuesto sean percibidas o no. Por otro lado, también es importante mencionar que la percepción de los olores por los individuos dependerá del desarrollo olfativo de cada uno de ellos.

Es importante mencionar que los umbrales de percepción se obtienen a través del análisis sensorial individual de los compuestos por lo que no se toma en cuenta la sinergia o antagonismo entre compuestos. Pues como ya se había mencionado, las diferencias organolépticas entre las bebidas alcohólicas son las proporciones relativas entre los congenéricos y la concentración de etanol ya que modifican los umbrales de percepción de algunos congenéricos⁷⁴.

6.3.4.1. Análisis general

La Figura 41 muestra la concentración dividida por el umbral de percepción de cada compuesto cuantificado con el fin de proporcionar una visión general de los compuestos que probablemente contribuyen en el perfil aromático de los vinos. Se observa que algunos vinos presentaron una concentración mayor al umbral de percepción de algunos compuestos como: acetato de isoamilo, hexanoato de etilo, ácido hexanoico, linalol, terpineol, β -citronelol, damascenona y alcohol 2-feniletílico puesto que presentaron un cociente mayor a 1.

En general, todos los vinos CHA y SB presentaron aromas varietales frutales, dulces, a piña, a manzana, a miel y a membrillo debido a hexanoato de etilo, acetato de isoamilo y damascenona (Tabla 17). Por otro lado, la nota grasa y rancia no se hizo presente en los vinos CHA1, CHA2, CHA3 y CHA6 a pesar de que se encontraron concentraciones mayores al umbral de percepción debido a que no son aromas varietales de los vinos CHA.

Tabla 26. Concentración de compuestos cuantificados por HS-SPME-GC-MS en vinos SB

<i>Compuesto</i>	<i>SB1</i>	<i>SB2</i>	<i>SB3</i>	<i>SB4</i>	<i>SB5</i>	<i>SB6</i>	<i>SB7</i>
Concentración mg L⁻¹ ± D.E (%C.V.)							
Ésteres							
Butirato de etilo	n.d	0.0745±0.0001 ^a (0.1540)	0.0963±0.0086 ^a (8.9516)	0.1067±0.0074 (6.9358)	0.0696±0.0037 ^a (5.3704)	0.1338±0.0199 (14.5671)	0.0516±0.0006 ^a (1.2175)
Acetato de isoamilo	1.8603±0.1017 (5.4647)	1.3886±0.0184 (1.3225)	0.8254±0.0559 (6.7697)	1.9109±0.1080 (5.6504)	0.8212±0.0714 (8.6975)	2.1255±0.3096 (14.5671)	0.7650±0.0355 (4.6435)
Hexanoato de etilo	0.1154±0.0062 (5.3802)	0.0988±0.0041 ^a (4.1134)	0.1320±0.0049 (3.7220)	0.1447±0.0080 (5.5072)	0.1112±0.0106 (9.5671)	0.1638±0.0284 (17.3283)	0.1286±0.0054 (4.1870)
Octanoato de etilo	0.1241±0.0005 (0.4283)	0.1067±0.0021 (1.9361)	0.1203±0.0024 (1.9938)	0.1751±0.0030 (1.6928)	0.1115±0.0150 (13.4752)	0.1616±0.0215 (13.3200)	0.1252±0.0042 (3.3918)
Nonanoato de etilo	0.0001±0.00005 (64.4560)	0.0002±0.00001 (4.5629)	0.0001±0.00001 (9.2127)	0.0001±0.00001 (5.6850)	0.0002±0.00002 (7.4273)	0.0001±0.00002 (18.6766)	n.d
Decanoato de etilo	0.0397±0.0008 (2.0832)	0.0289±0.0004 (1.3709)	0.0222±0.0023 (10.2335)	0.0552±0.0011 (2.0729)	0.0440±0.0042 (9.6291)	0.0282±0.0029 (10.3163)	0.0555±0.0011 (2.0428)
Succinato de dietilo	0.0316±0.0008 (2.4644)	0.0196±0.0019 ^{a,b} (9.5790)	0.1098±0.0056 (5.1214)	0.0297±0.0045 ^a (15.2576)	0.0277±0.0048 ^a (17.3069)	0.0273±0.0020 ^a (7.4230)	0.1146±0.0014 (1.2137)
Acetato de 2-feniletilo	0.1047±0.0101 (9.6672)	0.1186±0.0086 (7.2273)	0.0630±0.0038 (6.0008)	0.1745±0.0089 (5.1257)	0.1683±0.0088 (5.2204)	0.1844±0.0123 (6.6847)	0.0439±0.0001 ^a (0.1468)
Ácidos grasos							
Ácido octanoico	1.2655±0.1365 (10.7871)	1.2105±0.1482 (12.2425)	1.2410±0.0822 (6.6263)	1.5858±0.1625 (10.2442)	1.3008±0.0992 (7.6232)	1.5570±0.0589 (3.7851)	2.2481±0.1822 (8.1061)
Ácido decanoico	0.5275±0.0070 (1.3308)	0.5232±0.0016 (0.3035)	n.d	0.6275±0.0738 (11.7551)	0.6283±0.0015 (0.2426)	0.5357±0.0176 (3.2937)	0.7086±0.0425 (6.0046)

Continuación Tabla 26	SB1	SB2	SB3	SB4	SB5	SB6	SB7
Terpenos							
Linalol	0.0014±0.0003 ^a (20.2396)	0.2037±0.0041 (2.0088)	0.0023±0.0001 (6.2374)	0.0015±0.0002 (14.3966)	0.2129±0.0093 (4.3452)	n.d	0.0029±0.0001 (4.7905)
α-terpineol	n.d	0.2632±0.0072 (2.7400)	n.d	n.d	0.2549±0.0017 (0.6510)	n.d	n.d
β-citronelol	0.0028±0.0003 (10.3761)	0.0248±0.0026 (10.5273)	0.0052±0.0006 (10.9645)	0.0018±0.0002 (13.4552)	0.0379±0.0023 (6.1348)	0.0048±0.0006 (12.4047)	0.0009±0.0001 ^a (15.3643)
Geraniol	n.d	0.0062±0.0013 ^{a,b} (20.7465)	n.d	n.d	0.0230±0.0013 (5.7021)	n.d	n.d
C₁₃-norisoprenoides							
β- damascenona	0.0008±0.0002 (21.8766)	0.0005±0.0003 (58.9661)	0.0012±4.47E-5 (3.8219)	0.0012±0.0001 (8.1071)	0.0018±0.0002 (9.1136)	0.0012±0.00004 (3.8219)	0.0006±0.0001 (9.5945)
Alcoholes							
1-hexanol	0.3915±0.0100 (2.5415)	0.3639±0.0154 (4.2093)	0.5175±0.0116 (2.2360)	0.4244±0.0224 (5.2766)	0.6297±0.0063 (1.0017)	0.5034±0.0631 (12.5354)	0.2303±0.0010 (0.4274)
Alcohol 2-feniletílico	17.4988±0.3940 (2.2515)	14.6676 ±1.1042 (7.5284)	19.2470±1.1825 (6.1440)	14.9982±0.9597 (6.3985)	22.0494±0.3345 (1.2841)	23.0280±2.3408 (10.1651)	5.1634±0.1893 (3.6671)
Aldehídos							
Benzaldehído	0.1177±0.0081 (6.8569)	0.2617±0.0002 (0.0588)	0.7257±0.0410 (5.6471)	0.3934±0.0021 (0.5319)	0.4133±0.0010 (0.2450)	0.4983±0.0786 (15.7686)	n.d

^afuera del intervalo lineal

^b<LDexp

n=2

Tabla 27. Concentración de compuestos cuantificados por HS-SPME-GC-MS en vinos CHA

<i>Compuesto</i>	<i>CHA1^c</i>	<i>CHA2^c</i>	<i>CHA3^c</i>	<i>CHA4^d</i>	<i>CHA5^e</i>	<i>CHA6^e</i>	<i>CHA7^e</i>	<i>CHA8^e</i>
Concentración mg L⁻¹ ± D.E (%C.V.)								
Ésteres								
Butirato de etilo	0.2254±0.0122 (0.8709)	0.2159±0.0140 (6.4996)	0.2194±0.0112 (5.0947)	0.1213±0.0256 (21.0918)	0.1720±0.0021 (1.2013)	0.1744±0.0010 (0.5508)	0.1876±0.0110 (5.8430)	0.0737±0.0040 ^a (5.3576)
Acetato de isoamilo	2.5213±0.1202 (0.7727)	1.4271±0.0969 (6.7895)	1.7522±0.1265 (7.2181)	0.7702±0.0842 (11.0170)	2.1178±0.0259 (1.2236)	0.8652±0.0578 (6.6763)	1.2278±0.0638 (5.1949)	0.4841±0.0161 ^a (3.3284)
Hexanoato de etilo	0.3849±0.0209 (0.8780)	0.4548±0.0273 (6.0015)	0.4762±0.0358 (7.5128)	0.2495±0.0106 (4.2614)	0.2589±0.0993 (18.3762)	0.3130±0.0106 (3.4147)	0.3551±0.0079 (2.2335)	0.2177±0.0054 (2.4832)
Octanoato de etilo	0.4299±0.0725 (2.5549)	0.4425±0.0647 (14.6161)	0.4687±0.1360 (29.0147)	0.2734±0.0064 (2.3536)	0.4020±0.0281 (6.9972)	0.3560±0.0064 (1.7945)	0.3790±0.0068 (1.7960)	0.2347±0.0129 (5.4833)
Nonanoato de etilo	n.d	0.0002±0.0001 (62.9282)	0.0001±0.00001 (17.3420)	0.0002±9.48E-6 (4.1612)	0.0001±5.37E-7 (0.5393)	0.0001±1.15E-4 (84.4047)	0.0003±1.09E-5 (4.2848)	n.d
Decanoato de etilo	0.0875±0.0037 (0.6882)	0.0966±0.0013 (1.3822)	0.1112±0.0022 ^a (2.0143)	0.0283±0.0017 (5.9106)	0.0796±0.0056 (7.0846)	0.0889±0.0001 (0.1525)	0.0350±0.0020 (5.6969)	0.0676±0.0032 (4.7389)
Succinato de dietilo	0.0092±0.0007 ^{a,b} (1.1912)	n.d	n.d	0.0176±2.31E-5 ^{a,b} (0.1314)	n.d	n.d	n.d	0.1166±0.0004 (0.3562)
Acetato de 2-feniletilo	0.2479±0.0055 (0.3658)	0.1093±0.0111 (10.1853)	0.1228±0.0114 (9.3012)	0.1697±0.0018 (1.0514)	0.1846±0.0058 (3.1381)	0.0959±0.0060 (6.2951)	0.1109±0.0062 (5.6264)	0.0244±0.0003 ^a (1.2092)
Ácidos grasos								
Ácido octanoico	4.9277±0.0812 (1.1681)	5.8815±1.4022 (23.8402)	5.1464±0.9292 (18.0545)	3.4630±0.0554 (1.6003)	3.3262±0.2092 (6.2903)	4.3674±0.2801 (6.4136)	4.2935±0.3395 (7.9076)	2.8313±0.0979 (3.4577)
Ácido decanoico	1.1681±0.0314 (0.4547)	1.5137±0.4905 (32.4018)	1.3578±0.2681 (19.7474)	0.6637±0.0038 (0.5661)	0.8063±0.2132 (26.4404)	1.2857±0.0839 (6.5262)	0.6727±0.0926 (13.7700)	0.8261±0.0069 (0.8385)

Continuación Tabla 27	CHA1 ^c	CHA2 ^c	CHA3 ^c	CHA4 ^d	CHA5 ^e	CHA6 ^e	CHA7 ^e	CHA8 ^e
Terpenos								
Linalol	0.0035±0.0001 (1.7787)	0.7791±0.0416 (5.3404)	0.0169±0.0005 ^a (3.1194)	0.0037±9.61E-5 (2.6080)	0.0028±1.79E-5 (0.6373)	0.7170±0.034 5 (4.8098)	0.0100±0.0001 (0.9242)	n.d
α-terpineol	n.d	0.7028 ± 0.0643 (9.1453)	n.d	n.d	n.d	0.5620±0.044 2 (7.8672)	n.d	n.d
β-citronelol	n.d	0.0245±0.0025 (10.2253)	0.0017±7.41E-7 (0.0430)	n.d	n.d	0.0262±0.001 4 (5.3125)	0.0020±0.0002 (10.5628)	n.d
Geraniol	n.d	0.0347±0.0057 ^{a,b} (16.4336)	n.d	n.d	n.d	0.0322±0.001 9 (5.9662)	n.d	n.d
C₁₃-norisoprenoides								
β- damascenona	0.0029±0.0002 (0.9953)	0.0023±0.0004 (15.6945)	0.0023±0.0003 (14.8583)	0.0036±2.63E-5 (0.7330)	0.0020±0.0001 (5.2423)	0.0019±0.0001 (5.0528)	0.0021±0.0001 (5.6669)	0.0003±0.0002 ^b (69.3066)
Alcoholes								
1-hexanol	0.2942±0.0006 (0.0354)	0.2554±0.0040 (1.5518)	0.2605±0.0085 (3.2537)	0.2676±0.0143 (5.3267)	0.2489±0.0063 (2.5229)	0.2346±0.0169 (7.2151)	0.2367±0.0004 (0.1886)	0.2750±9.39E- 6 (0.0034)
Alcohol 2- feniletílico	9.0235±0.0643 (0.1192)	5.6704±0.6178 (10.8959)	6.2877±0.5842 (9.2909)	8.4899±0.0389 (0.4578)	7.9277±0.2421 (3.0541)	5.1557±0.4909 (9.5218)	5.6600±0.6258 (11.0573)	5.0327±0.2049 (4.0716)
Aldehídos								
Benzaldehído	n.d	n.d	0.0453±0.0002 ^{a,b} (0.3322)	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d

^afuera del intervalo lineal

^b<LDexp

^c vinos sin estabilización, ^d vinos estabilizados a 16°C, ^e vinos estabilizados a ~4°C

n=2

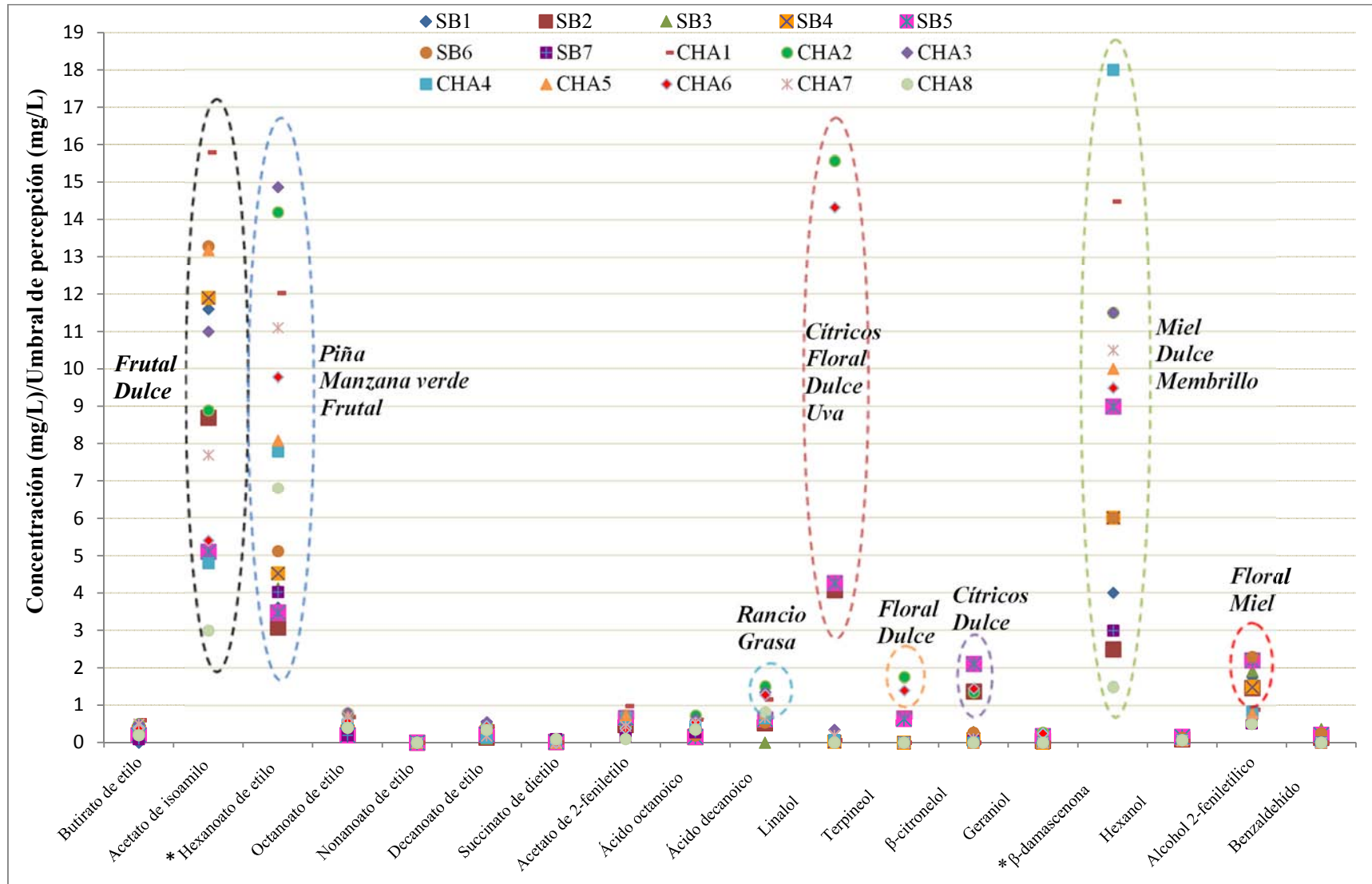


Figura 41. Evaluación de la concentración, umbral de percepción y notas aromáticas de los compuestos cuantificados en vinos blancos.

Valor ≥ 1 , notas aromáticas probablemente percibidas en el vino blanco; * $((Concentración (mg/L))/(Umbral de percepción (mg/L)))/4$

Con respecto al alcohol 2-feniletílico, los vinos SB presentaron concentraciones por arriba del umbral de percepción por lo que en la evaluación sensorial del vino control SB se identificó la nota floral. En cuanto a los terpenos, los vinos CHA con MPF lima (CHA2, CHA6) presentaron una concentración mayor al umbral de percepción de linalol, terpineol y β -citronelol, mientras que los vinos SB con MPF lima (SB5, SB2) presentaron una concentración mayor al umbral de percepción de linalol y β -citronelol; confirmando que se potenciaron los aromas varietales cítricos, florales y dulces de los vinos blancos con la MPF lima (Figura 41). A continuación se realiza un análisis más detallado de los compuestos cuantificados.

6.3.4.2. Ésteres

Los ésteres son los compuestos responsables del aroma afrutado y dulce en los vinos por lo que juegan un papel importante en la composición de vinos jóvenes. Los ésteres más importantes son las ésteres de ácidos grasos y los acetatos de alcoholes^{8,80}. Algunos de ellos son: ésteres etílicos (butirato, hexanoato, octanoato, nonanoato y decanoato de etilo), succinato de dietilo, acetato de isoamilo y acetato de 2-feniletilo; compuestos que confieren notas aromáticas frutales, dulces y florales. En general, los vinos *Chardonnay* presentaron mayor concentración de los ésteres butirato, hexanoato, octanoato y decanoato de etilo que los vinos *Sauvignon Blanc*, y en particular, la MPF con cáscara frutos (lima y maracuyá) no provocó cambios importantes en la concentración de estos ésteres (Figura 42).

El éster nonanoato de etilo no se identificó en los vinos comerciales (SB7, CHA8) y en el vino control CHA1. No obstante, en general, las concentraciones de dicho éster fueron menores a 0.0003 mg/L por lo que a pesar de que la MPF elevó la concentración, probablemente no fue suficiente para alcanzar el umbral de percepción (1.3 mg/L).

En particular, sólo el hexanoato de etilo contribuyó en el perfil aromático de los vinos con notas a piña, manzana verde y frutal debido a que las concentraciones fueron superiores al umbral de percepción (0.008 mg/L) (Figura 42), aromas identificados en las evaluaciones sensoriales del vino SB Sierra blanca, SB control y CHA casa madero debido a que son aromas varietales de vinos CHA y SB (Tabla 17).

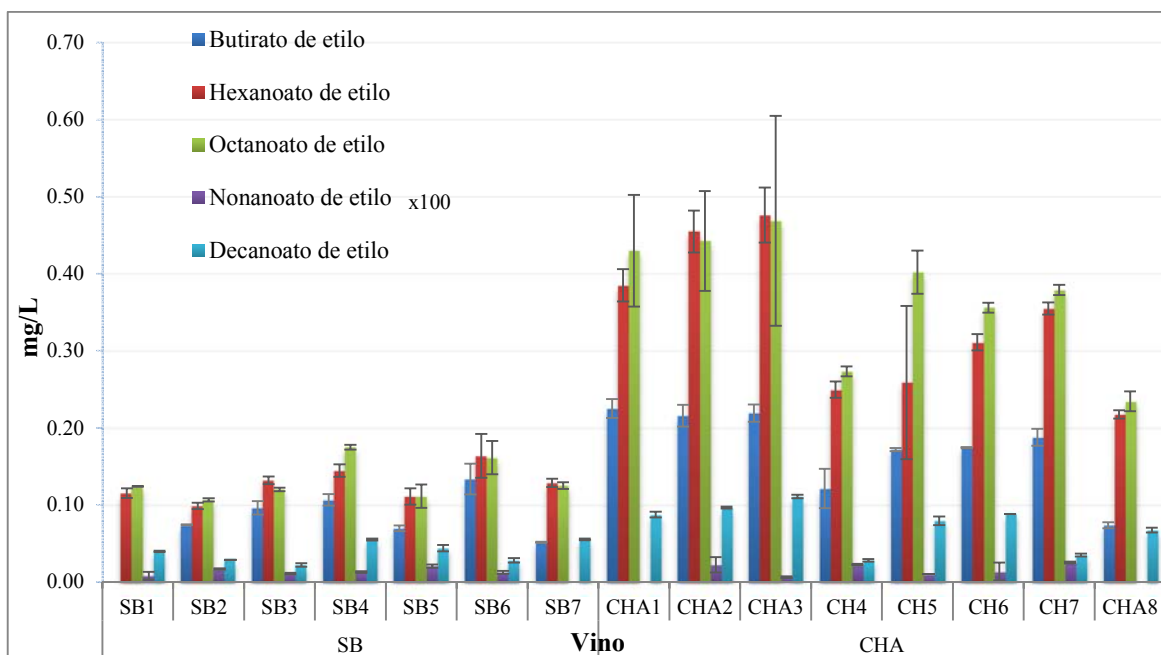


Figura 42. Concentración de ésteres etílicos en vinos blancos *Sauvignon Blanc* y *Chardonnay*. Notas y umbrales de percepción: butirato de etilo (plátano, piña; 0.4 mg/L); hexanoato de etilo (frutal, manzana verde, piña; 0.008 mg/L); octanoato de etilo (pera, brandy, floral, plátano, piña; 0.58 mg/L); nonanoato de etilo (floral, frutal; 1.3 mg/L); decanoato de etilo (cera, frutal, dulce de manzana, brandy, uva; 0.2 mg/L).

Con respecto a los vinos comerciales (SB7,CHA8), presentaron un perfil de concentración de ésteres etílicos similar al de los vinos control (SB1,SB4 y CHA1,CH4,CH5), excepto de butirato de etilo, hexanoato de etilo y decanoato de etilo en el vino CHA8 al presentar concentraciones menores (Figura 42).

En la Figura 43 se muestra que en general la MPF disminuyó la concentración de los ésteres acetato de 2-feniletilo, succinato de dietilo y acetato de isoamilo. Sin embargo, existieron excepciones como el caso de la MPF con maracuyá 1.5% (SB3) donde se incrementó ligeramente la concentración de succinato de dietilo; y en el caso de la MPF con cáscara de maracuyá 2.5% (SB6), donde se incrementó la concentración de succinato de dietilo, acetato de 2-feniletilo y acetato de isoamilo.

El succinato de dietilo y el acetato de 2-feniletilo probablemente no contribuyeron en el aroma de los vinos analizados puesto que la concentración se encontró debajo del umbral de percepción (1.2 y 0.25 mg/L respectivamente). Por otro lado, los vinos sí presentaron notas aromáticas dulces y frutales debido a la presencia de concentraciones mayores de

0.16 mg/L de acetato de isoamilo. Esto último se pudo confirmar con los datos obtenidos de la evaluación sensorial de los vinos comerciales (Sierra blanca, Casa madero) y del vino SB control, al presentar notas frutales y dulces, además de que los vinos CHA y SB presentan aromas varietales frutales y dulces (Tabla 17).

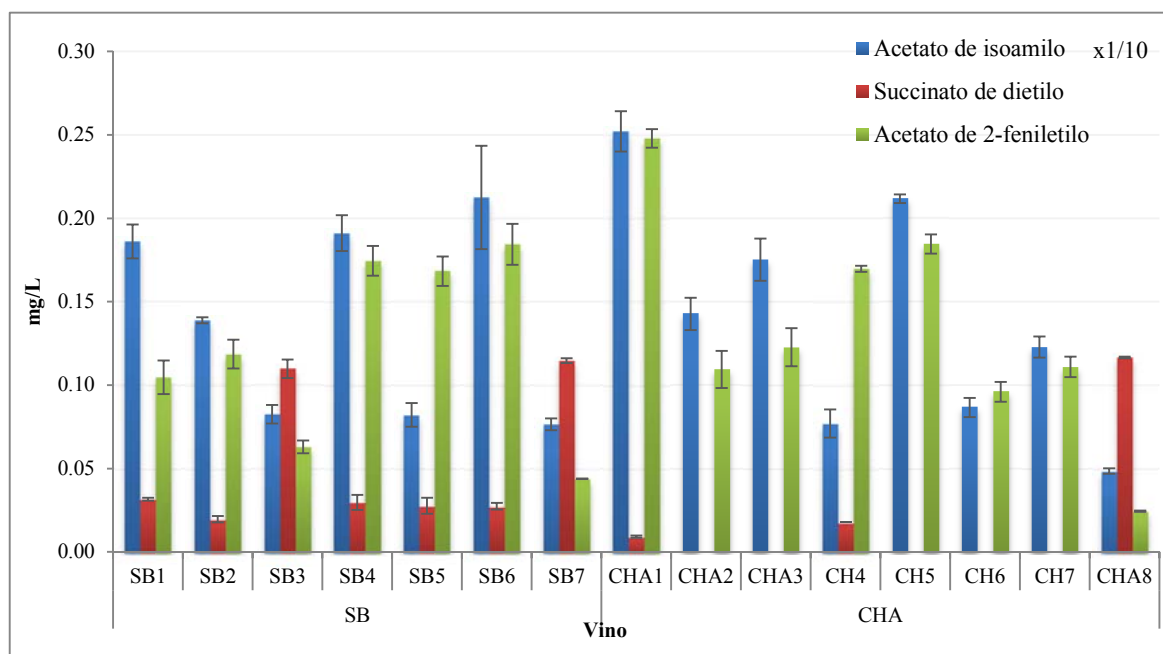


Figura 43. Concentración de acetato de isoamilo, succinato de dietilo y acetato de 2-feniletilo en vinos blancos *Sauvignon Blanc* y *Chardonnay*. Notas aromáticas y umbrales de percepción: acetato de isoamilo (plátano, afrutada, dulce; 0.16 mg/L); succinato de dietilo (ligeramente afrutada; 1.2 mg/L); acetato de 2-feniletilo (floral, miel; 0.25 mg/L).

En particular, la estabilización de vinos a 4°C y a 16°C, disminuyó la concentración de ésteres.

6.3.4.3. Ácidos grasos

Los ácidos grasos de cadena mediana (C₆-C₁₀), se describen como compuestos que confieren notas desagradables a los vinos, notas como: vinagre, mantequilla, queso, grasa y rancio⁸. En general, los vinos con MPF no presentaron cambios importantes en la concentración del ácido octanoico y decanoico con respecto a los vinos control, a excepción del vino con MPF maracuyá 1.5% del vino SB (SB3), al no identificar ácido decanoico (Figura 44).

En particular, los vinos comerciales SB y CHA (SB7,CHA8) presentaron una concentración similar de ácido decanoico, y por otro lado el vino SB7 presentó una concentración mayor y el vino CHA8 una concentración menor de ácido octanoico con respecto a los vinos control elaborados (SB1,SB4,CHA1,CH4,CH5).

La estabilización de los vinos CHA a 4°C (CHA5-CH7) y a 16°C (CHA4) antes del embotellado disminuyó ligeramente la concentración de ambos ácidos con respecto a los vinos no estabilizados (CHA1-CH3).

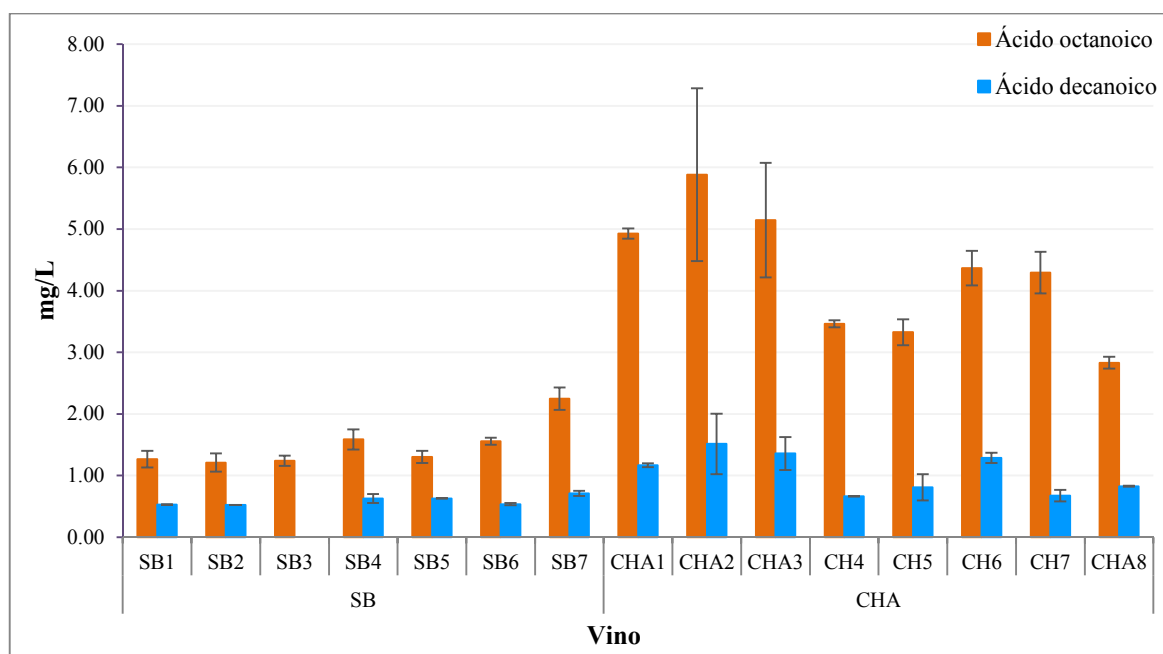


Figura 44. Concentración de ácidos grasos en vinos blancos *Chardonnay* y *Sauvignon Blanc*. Notas aromáticas y umbrales de percepción: ácido octanoico (rancio, grasa; 8 mg/L), ácido decanoico (rancio, grasa; 1 mg/L).

Con base en los resultados, los vinos CHA: control (CHA1), MPF lima (CHA2), MPF maracuyá (CHA3) y MPF lima estabilizado a 4°C (CHA6) presentaron una concentración mayor al umbral de percepción de ácido decanoico (1 mg/L), no obstante no se describieron notas a rancio y a grasa en la evaluación sensorial puesto que estos aromas no son varietales de vinos CHA y SB (Tabla 17). Por otro lado los vinos no presentaron concentraciones de ácido octanoico por arriba del umbral de percepción (8 mg/L) por lo que probablemente tampoco contribuyó en el aroma de los mismos.

6.3.4.4. Terpenos

Los monoterpenos como el linalol, geraniol, β -citronelol y α -terpineol son compuestos que confieren notas aromáticas florales, afrutadas y cítricas especialmente a vinos blancos y a vinos jóvenes^{6,68}.

Con la aplicación de la maceración pre-fermentativa (MPF) con cáscara de frutos (lima y maracuyá), la MPF con lima modificó de manera importante el número y la concentración de terpenos (linalol, α -terpineol, β -citronelol y geraniol), mientras que la MPF con maracuyá sólo aumentó ligeramente la concentración de β -citronelol (Figura 45).

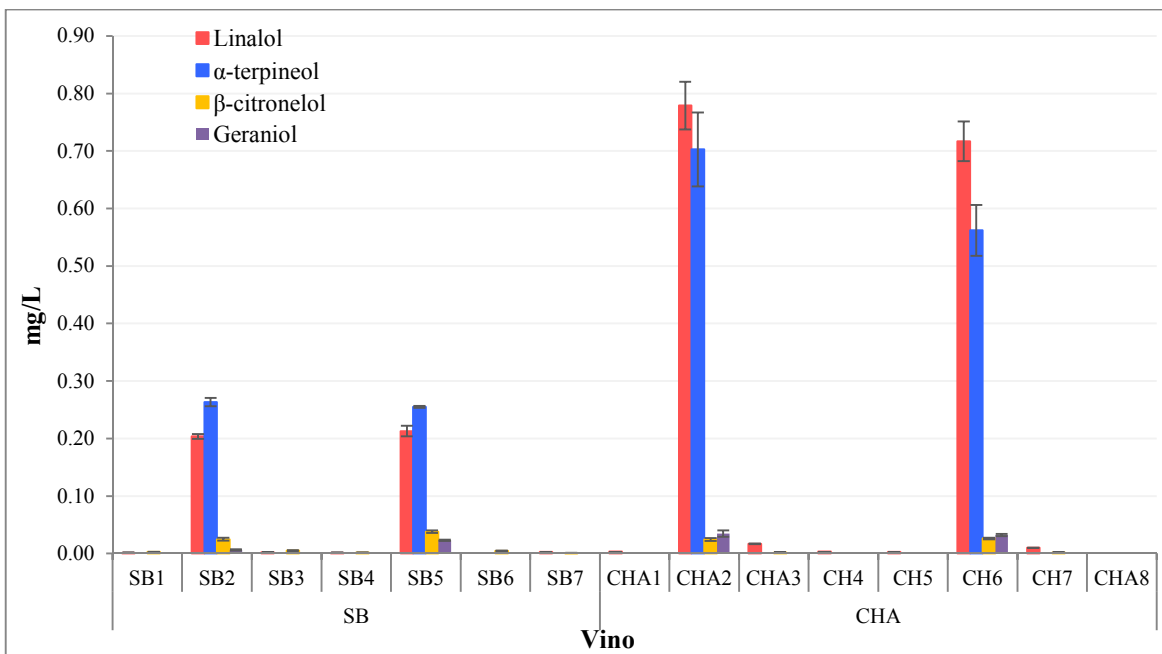


Figura 45. Concentración de terpenos en vinos blancos *Sauvignon Blanc* y *Chardonnay*. Notas aromáticas y umbrales de percepción: linalol (cítricas, floral, dulce, uva; 0.05 mg/L), α -terpineol (floral, flores blancas, dulce, menta; 0.4 mg/L), β -citronelol (dulce, cítrica; 0.018 mg/L), geraniol (dulce, rosas, geranio; 0.13 mg/L).

Como se muestra en la Figura 45, los vinos *Chardonnay* con MPF lima presentaron mayor concentración de linalol y α -terpineol que los vinos *Sauvignon Blanc* con MPF lima; mientras que en ambos vinos se presentaron cambios similares de concentración de β -citronelol y geraniol.

Con respecto a los vinos control y comerciales, los vinos SB (SB1,SB4,SB7) presentaron pequeñas cantidades de linalol y β -citronelol, mientras que los vinos control CHA (CHA1,CHA4,CHA5) presentaron pequeñas cantidades de linalol y el vino comercial (CHA8) no presentó terpenos.

En particular, la MPF con lima con menor porcentaje de cascara (SB5,1.5% m/v) provocó que la concentración de terpenos fuera mayor que con mayor porcentaje de cáscara (SB2,2.5% m/v).

Con respecto al estudio del efecto de la estabilización de los vinos CHA a 4°C antes del embotellado (CH5-CH7), dicho tratamiento disminuyó ligeramente la concentración de linalol y α -terpineol (Figura 45).

Con base en las concentraciones de terpenos (Tablas 26 y 27), se confirmó que al aplicar la maceración pre-fermentativa con cáscara de lima se potenció el perfil aromático ya que se obtuvieron vinos CHA con mayor percepción aromática al presentar aromas varietales cítricos, florales, dulces y a uva más intensos debido a concentraciones mayores de linalol, β -citronelol y α -terpineol; y se obtuvieron vinos SB con notas cítricas, florales y dulces debido mayores concentraciones de linalol y α -terpineol. En cuanto a la evaluación sensorial, los vinos SB y CHA presentan notas florales, dulces y cítricos no obstante en el vino CHA con MPF lima se identificaron notas a lima y naranja mientras que el aroma varietal de los CHA las notas cítricas características son a limón y guayaba (Tabla 17).

6.3.4.5. C₁₃-norisoprenoides

Los norisoprenoides al igual que los terpenos, son compuestos importantes que aportan en el perfil aromático de los vinos particularmente la β -damascenona y la β -ionona, al conferir notas florales, dulces y frutales a vinos al presentar concentraciones muy bajas (umbrales de percepción en ng/L)⁸.

En general, los vinos CHA presentaron mayor concentración de β -damascenona con respecto a los SB. Por otro lado, la MPF disminuyó la concentración con respecto a los vinos control a excepción del vino SB con MPF maracuyá 1.5% al aumentarla, no obstante todos los vinos presentaron concentraciones mayores al umbral de percepción (0.00005

mg/L). Por lo que presentaron aromas a miel, a dulce y a membrillo, notas confirmadas por la evaluación sensorial del vino SB control al presentar aroma dulce; con respecto a los vinos CHA, estos presentan aromas varietales a miel y a membrillo (Tabla 17).

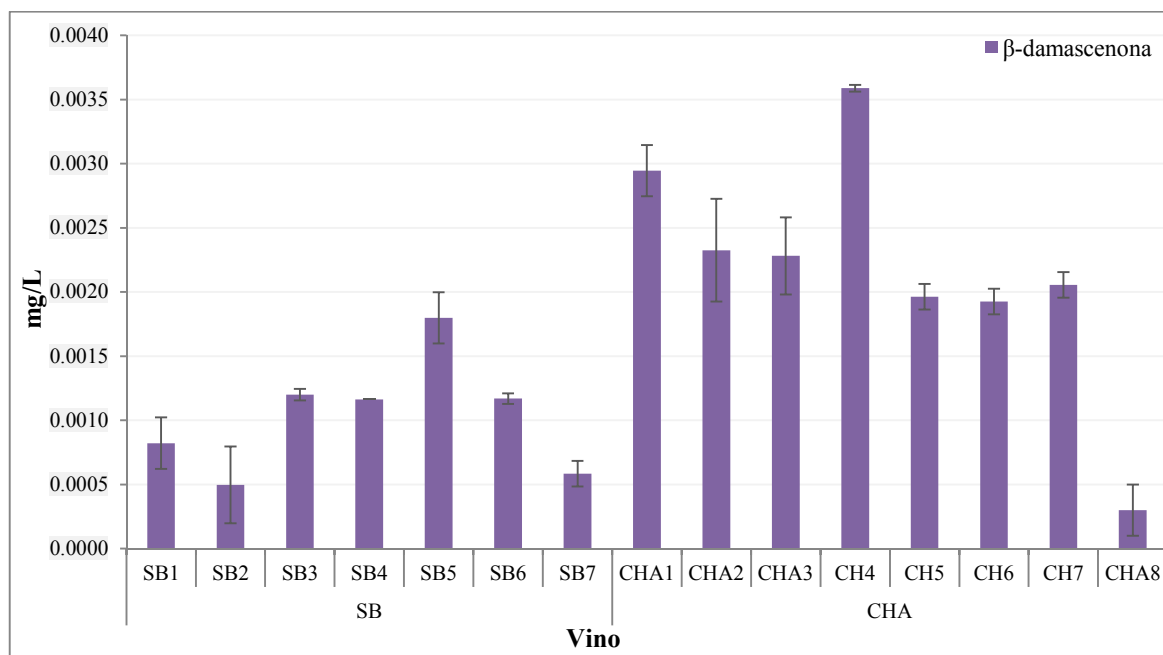


Figura 46. Concentración de β -damascenona en vinos blancos *Chardonnay* y *Sauvignon Blanc*. Nota aromática: miel, dulce, membrillo; umbral de percepción 0.00005 mg/L.

En particular, los vinos control (SB1,SB4,CH1,CH4,CH5) presentaron concentraciones mayores de β -damascenona que los vinos comerciales (SB7,CHA8).

La MPF con lima en mostos SB con mayor porcentaje de cáscara (SB2, 2.5 %m/v) disminuyó la concentración de β -damascenona mientras que con menor cantidad la aumentó (SB5, 1.5%). Por otro lado, la MPF con maracuyá con mayor cantidad de cáscara (SB6, 2.5 %m/v) no produjo cambios importantes en la concentración de β -damascenona mientras que con menor cantidad aumentó (SB3, 1.5 % m/v) (Figura 46).

En general, la estabilización a 4°C de los vinos CHA (CHA5-CHA7) disminuyó la concentración de β -damascenona, mientras que la estabilización a 16°C (CHA4) aumentó la concentración.

6.3.4.6. Alcoholes

Los alcoholes superiores tienen importancia organoléptica e influencia toxicológica en las bebidas alcohólicas. Se restringe su presencia pero si una bebida no presenta alcoholes superiores se dice que es falsa. El alcohol 2-feniletílico y el 1-hexanol son los principales alcoholes superiores en vino otorgando notas a rosas y herbáceas.

En general, los vinos SB presentaron mayor concentración que los vinos CHA de 1-hexanol y alcohol 2-feniletílico (Figura 47). Los vinos CHA con MPF presentaron menor concentración de alcohol 2-feniletílico y no presentaron cambios importantes en la concentración de 1-hexanol con respecto a los vinos control.

La MPF lima en mostos SB con menor porcentaje de cáscara (1.5%,SB5) aumentó la concentración de alcohol 2-feniletílico y hexanol mientras que un mayor porcentaje de cáscara la disminuyó la concentración de alcohol 2-feniletílico (2.5%, SB2) con respecto a los vinos control. Con respecto a los vinos SB con MPF con maracuyá (SB3,SB6), se observó un aumento de la concentración de alcohol 2-feniletílico y 1-hexanol con respecto a los vinos control (SB1 y SB4), observándose un incremento mayor con MPF con cáscara en mayor porcentaje (2.5%, SB6) (Figura 47).

La Figura 47 muestra que el vino comercial SB7 presentó menor concentración que los vinos control SB4 y SB5 de los dos alcoholes mientras que el vino comercial CHA8 presentó menor concentración de alcohol 2-feniletílico y concentración similar de 1-hexanol con respecto a los vinos control elaborados CHA1,CHA4 y CHA5.

En particular, la estabilización de los vinos CHA a 16°C y a 4°C antes del embotellado (CHA4-CH7) no provocó cambios importantes en la concentración de los alcoholes alcohol 2-feniletílico y 1-hexanol (Figura 47).

En particular, sólo los vinos SB elaborados presentaron concentraciones mayores al umbral de percepción de alcohol 2-feniletílico (10 mg/L) por lo que probablemente presentaron notas aromáticas a rosas y a miel, estas notas no son aromas varietales de los vinos SB no obstante el vino control SB evaluado sensorialmente presentó nota floral (Tabla 17).

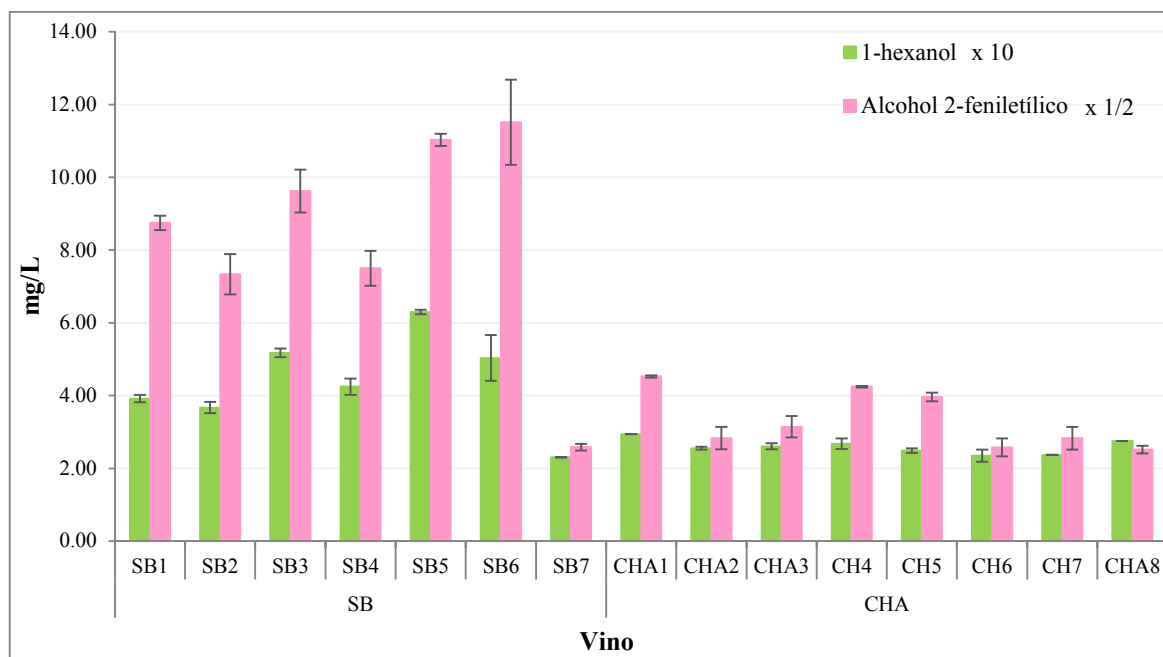


Figura 47. Concentración de alcoholes en vinos blancos *Chardonnay* y *Sauvignon Blanc*. Notas aromáticas y umbrales de percepción: 1-hexanol (hierba, cáscara de manzana; 4 mg/L), alcohol 2-feniletílico (rosas, miel; 10 mg/L).

En cuanto al 1-hexanol, todos los vinos presentaron concentraciones debajo de umbral de percepción (4 mg/L) por lo que probablemente los vinos no presentaron notas herbáceas o a cáscara de naranja debido a este compuesto. Sin embargo, la nota herbal es parte del aroma varietal de los vinos SB y se encontró mediante la evaluación sensorial del vino SB control (Tabla 17), por lo que probablemente este aroma se debió a la presencia de otros alcoholes como el 1-decanol o 1-dodecanol, los cuales fueron identificados y probablemente se encontraron en concentraciones iguales o cercano a su umbral de percepción (Tabla 22).

6.3.4.7. Aldehídos

El benzaldehído es el aldehído que aporta notas a almendras, mazapán y azúcar quemado cuando se encuentra en una concentración mayor o igual a 2 mg/L (umbral de percepción). En general, los vinos SB elaborados presentaron concentraciones de benzaldehído mayores que los vinos CHA elaborados mientras que los vinos comerciales (SB7, CH8) no presentaron benzaldehído (Figura 48).

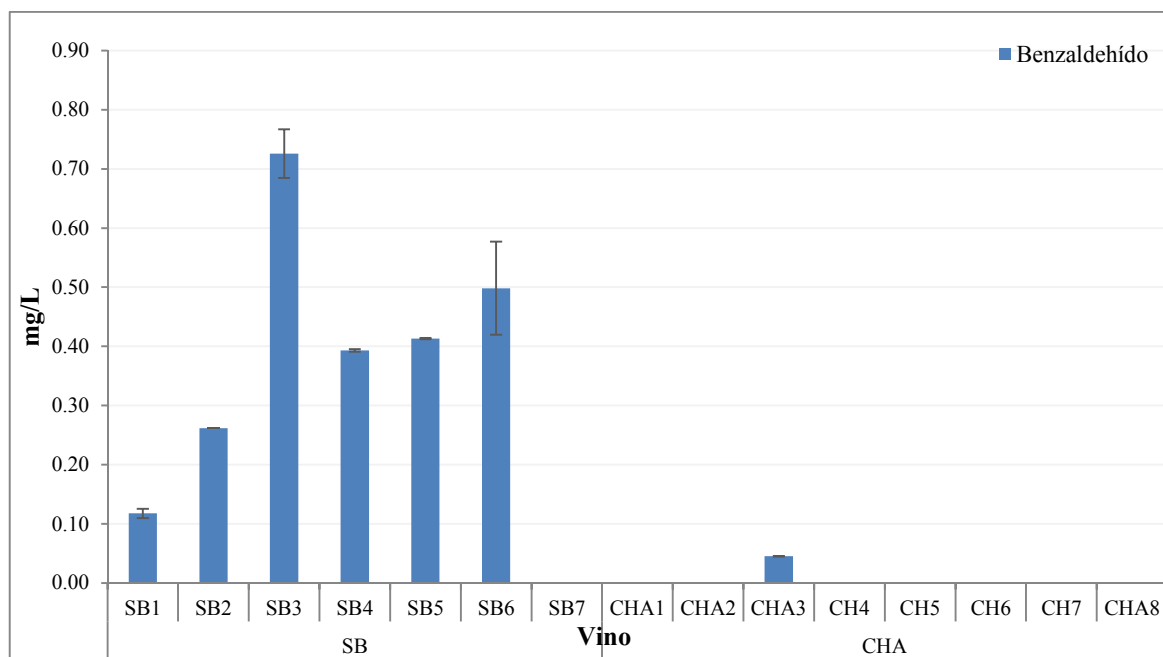


Figura 48. Concentración de benzaldehído en vinos elaborados a partir de uva: *Chardonnay* y *Sauvignon Blanc*. Notas aromáticas: almendras, mazapán, azúcar quemada; umbral de percepción: 2 mg/L.

La MPF con cáscara de frutos (lima y maracuyá) en los mostos SB aumentó la concentración de benzaldehído, observándose un mayor incremento con la MPF maracuyá (SB3, SB6). En el caso de los vinos CHA, sólo el vino con MPF maracuyá y sin estabilización en frío (CHA3) presentó benzaldehído (Figura 48). No obstante, a pesar de que la MPF aumentó la concentración de benzaldehído, los resultados cuantitativos y sensoriales indicaron que no se percibieron notas aromáticas a almendras, mazapán y azúcar quemada por lo que probablemente se debió a que no son aromas varietales de vinos SB y CHA (Tabla 17).

6.3.5. Otros compuestos que aportan al perfil aromático de vinos blancos

El análisis cromatográfico y cuantitativo realizado en el presente trabajo no logró explicar por completo las notas aromáticas varietales de los vinos SB y CHA, notas como a guayaba, mango y maracuyá; y notas que además identificaron sommeliers, en particular litchi. Por lo que se realizó una búsqueda bibliográfica de los compuestos químicos que confieren estos aromas a los vinos, mismos que se muestran en la Tabla 28 y Figura 50.

Tabla 28. Compuestos responsables de algunos aromas de los vinos evaluados

<i>Nota aromática</i>	<i>Vino en el que fue identificada</i>	<i>Compuesto responsable del aroma^{8,160}</i>	<i>Umbral de percepción (mg/L)^{8,160}</i>
Guayaba	-CHA7 -Aroma varietal SB y CHA	4-metil-4-mercaptopentan-2-ona	0.0000008
Mango	-CHA7 -Aroma varietal SB y CHA	3-mercaptohexanol	0.00006
Litchi	CH6	Cis-óxido de rosa	0.0002
Maracuyá	-CHA7 -Aroma varietal SB y CHA	Acetato de 3-mercaptohexilo	0.000004

Los tioles volátiles son constituyentes importantes del aroma de varios alimentos y bebidas, incluyendo los vinos obtenidos a partir de ciertas variedades de uva, entre ellas *Sauvignon Blanc* y *Chardonnay*. Son compuestos con muy bajos umbrales de percepción (ng/L, µg/L) y que se han relacionado con aromas frutales como: grosella negra, maracuyá, pomelo, mango y guayaba⁸ (Tabla 28).

Los tioles volátiles más importantes son: 4-metil-4-mercaptopentan-2-ona, 3-mercaptohexanol y acetato de 3-mercaptohexilo encontrándose en las uvas en forma no volátil, los cuales son resultado del rompimiento de precursores cisteína-S-conjugado por la levadura *Saccharomyces cerevisiae* durante la fermentación alcohólica del mosto; mediante la hidrólisis a través de una reacción β -eliminación catalizada por cisteína-S-Conjugado β -liasa⁸ (Figura 49).

Para la determinación de estos tioles volátiles se presentan 2 desventajas: 1) que la concentración en la que se encuentran en los vinos es muy baja, y 2) la alta reactividad de estos compuestos con el oxígeno durante la extracción o preconcentración. Por lo que para su determinación se utiliza la derivatización (ej. sales de organomercurio y bromuro de pentafluorobencilo) y posteriormente se extraen por extracción líquido-líquido o extracción en fase sólida; o se realiza derivatización en la fibra SPME. Debido a que las concentraciones son muy bajas, se han utilizado algunos sistemas de separación y detección como: GC-MS/MS con analizador triple cuadrupolo y LC-ESI-HRMS (cromatografía de líquidos-electrospray-espectrometría de masas de alta resolución)^{162,163}.

Lo mencionado anteriormente, fueron las razones por las que en el presente trabajo no se pudieron identificar tioles volátiles

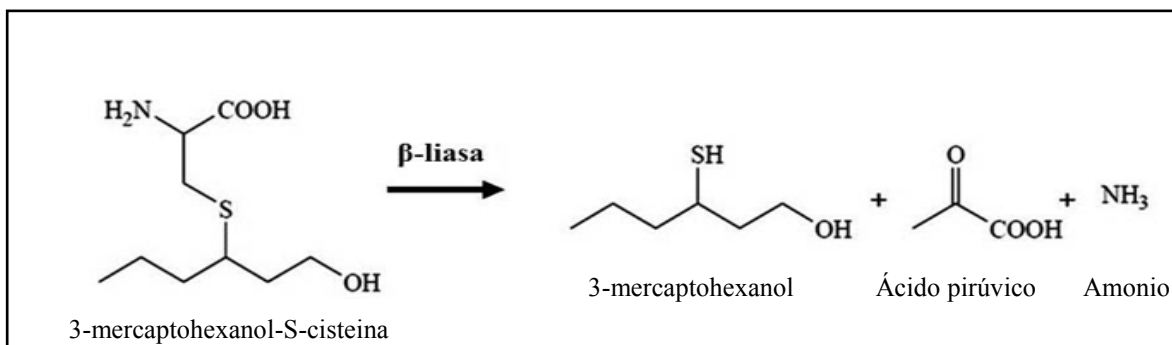


Figura 49. Liberación de 3-mercaptohexanol por acción de la actividad β -liasa de levaduras a partir de su conjugado natural presente en el mosto de uva¹⁶¹.

El cis-óxido de rosa es un monoterpene quiral que confiere aroma floral y a litchi a vinos, fue un compuesto que no se identificó en el vino CHA6 (MPF lima estabilizado a 4°C) mediante la metodología HS-SPME-GC-MS desarrollada en el presente trabajo. Sin embargo, la determinación de este terpeno en vinos se ha realizado por HS-SPME y DI-SPME seguida de CG-MS con el uso del mismo recubrimiento polimérico PDMS/DVB¹⁵⁴, por lo que posiblemente no se detectó por falta de tiempo de extracción y/o del modo de adquisición del espectro ya que la extracción reportada es de 60 min y con monitorización selectiva de iones (SIM, por sus siglas en inglés).

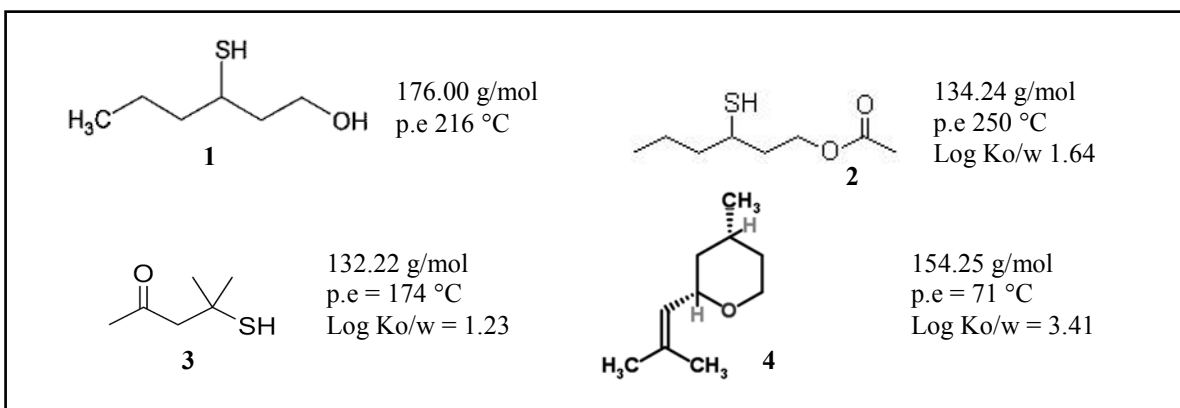


Figura 50. Estructura química de tioles volátiles y terpeno cis-óxido de rosa. 1) acetato de 3-mercaptohexilo, 2) 3-mercaptohexanol, 3) 3-mercapto-4-metilpenten-2-ona, 4) (-)-cis-óxido de rosa.

7. Conclusiones

1. Se elaboró un total de 13 vinos blancos jóvenes con uva *Sauvignon Blanc* y *Chardonnay* de manera tradicional y aplicando maceración pre-fermentativa con cáscara frutos (lima y maracuyá).
2. Se estudió el efecto de la estabilización en frío antes del embotellado concluyendo que al aplicarla se obtienen vinos más limpios y brillantes sin presentar residuos sólidos ni cambios de color con el tiempo.
3. Se desarrolló una metodología mediante HS-SPME-GC-FID exacta y precisa (%C.V.<5.62% y %error relativo <12.5%) para la cuantificación de etanol en vino.
4. La maceración pre-fermentativa (MPF) disminuyó ligeramente el %EtOH, no obstante todos los vinos con MPF presentaron %EtOH mayor al valor mínimo requerido de acuerdo a la Organización Internacional de la Viña y el Vino (8.5% v/v). Con respecto a los vinos comerciales, el vino SB presentó menor %EtOH y el vino CHA presentó mayor %EtOH que los vinos elaborados.
5. Se desarrolló y optimizó una metodología por HS-SPME-GC-MS precisa (%C.V. < 15%) y lineal en el intervalo de concentración estudiado. La cual se aplicó para la caracterización de compuestos congenéricos en vinos blancos jóvenes (*Sauvignon Blanc* y *Chardonnay*) comerciales, control y con maceración pre-fermentativa con cáscara de frutos (lima y maracuyá).
6. Se propuso una metodología analítica basada en HS-SPME como alternativa a la técnica SPE, la cual es la más utilizada para la extracción de compuestos volátiles y semivolátiles en vinos blancos. Con importantes ventajas como: mínima cantidad de muestra, rápida y libre de disolventes.

7. Aplicando la metodología desarrollada (HS-SPME-GC-MS) se identificaron 52 compuestos congénicos en vinos blancos, entre ellos: ésteres, alcoholes, terpenos, norisoprenoides, aldehídos, ácidos grasos, fenoles volátiles, éteres y furanos.
8. Mediante HS-SPME-GC-MS se cuantificaron 18 compuestos en vinos blancos jóvenes *Sauvignon Blanc* y *Chardonnay*: butirato de etilo, hexanoato de etilo, octanoato de etilo, nonanoato de etilo, decanoato de etilo, acetato de isoamilo, succinato de dietilo, acetato de 2-feniletilo, ácido octanoico, ácido decanoico, linalol, α -terpineol, β -citronelol, geraniol, β -damascenona, 1-hexanol, alcohol 2-feniletílico y benzaldehído. La concentración de estos compuestos se determinaron en un amplio intervalo de 0.100 $\mu\text{g/L}$ a 23.028 mg/L.
9. El análisis cromatográfico indicó que la maceración pre-fermentativa con cáscara de frutos (lima y maracuyá) modificó el número y la concentración de algunos compuestos congénicos, entre ellos, terpenos, alcoholes, C_{13} -norisoprenoides, aldehídos y ésteres.
10. En particular, la maceración pre-fermentativa con cáscara de lima en la elaboración de vinos blancos jóvenes *Sauvignon Blanc* y *Chardonnay* aumentó el número y la concentración de terpenos principalmente (linalol, α -terpineol, β -citronelol y geraniol) presentando notas aromáticas cítricas, florales y dulces; aromas varietales de los vinos blancos *Sauvignon Blanc* y *Chardonnay*. Mientras que la maceración pre-fermentativa con maracuyá aumentó el número y la concentración de ésteres, alcoholes y aldehídos. Por lo tanto, la MPF con cáscara de frutos (lima y maracuyá) puede aplicarse para potenciar el perfil aromático de los vinos blancos y promover una mayor aceptación por parte de consumidor.
11. La maceración pre-fermentativa modificó el perfil aromático de los vinos, sin embargo, dependerá de la variedad de uva, de factores como el clima y suelo durante el cultivo de la uva, del proceso de elaboración, del fruto utilizado, del porcentaje de masa/volumen de cáscara empleada en la maceración y del tiempo de maceración.

8. Anexos

Anexo A

Fórmulas para el cálculo del límite del detección y cuantificación con base en la desviación estándar de la respuesta y la pendiente¹⁵⁷

Pendiente	$m = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$
Coefficiente de determinación	$r^2 = \frac{(n(\sum xy) - (\sum y)(\sum x))^2}{(n(\sum x^2) - (\sum x)^2)(n(\sum y^2) - (\sum y)^2)}$
Ordenada al origen	$b = \frac{\sum y - m \sum x}{n}$
Desviación estándar de la regresión	$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum y^2 - m \sum xy - b \sum y}{n - 2}}$
Límite de cuantificación	$LD = \frac{3.3 \times S_{y/x}}{m}$
Límite de detección	$LC = \frac{10 \times S_{y/x}}{m}$

Anexo B

NOTAS AROMÁTICAS DE LOS COMPUESTOS IDENTIFICADOS EN LOS VINOS BLANCOS
ANALIZADOS

#	Tiempo de retención (min)	Compuesto	Nota aromática 16, 76.78, 80, 155
ÉSTERES			
1	11.476	Butirato de etilo	Plátano, piña

2	16.094	Acetato de isoamilo	Plátano, afrutada, dulce
3	24.665	Hexanoato de etilo	Frutal, piña, manzana verde
4	28.211	Acetato de hexilo	Frutal, grasa, fresco, manzana, pera, cereza, floral
5	31.799	Acetato de cis-3-hexenilo	Herbal, menta, floral
6	34.615	Heptanoato de etilo	Afrutada
7	42.220	Octanoato de metilo	Cítricos
8	47.992	Octanoato de etilo	Dulce, floral, afrutada, plátano, pera, brandy, humedad, piña
9	50.303	Hexanoato de isopentilo	Fruta dulce
10	56.241	Octanoato de propilo	Afrutada
11	57.732	Nonanoato de etilo	Floral, afrutada
12	62.237	Acetato de isobornilo	Balsámica
13	62.640	Decanoato de metilo	Heno seco, pasto de limón, frijol, floral
14	65.906	Decanoato de etilo	Ceroso, afrutada, dulce de manzana brandy, uva
15	67.199	Octanoato de isopentilo	---
16	68.641	Succinato de dietilo	Afrutada
17	69.559	9-decenoato de etilo	Rosas
18	71.881	Acetato de nerilo	---
19	77.808	Acetato de 2-feniletilo	Floral, miel
20	78.886	Dodecanoato de etilo	Dulce, floral, crema con sabor a frutas

ÁCIDOS GRASOS

21	51.687	Ácido acético	Vinagre
22	80.404	Ácido hexanoico	Queso, graso
23	81.407	Ácido nonanoico	Graso
24	91.158	Ácido octanoico	Rancio, graso
25	104.443	Ácido decanoico	Rancio, graso
ALCOHOLES			
26	14.097	Alcohol isobutílico	Fusel, alcohol
27	22.348	Alcohol isoamílico	Queso
28	37.383	1-hexanol	Afrutada, hierba, graso, madera, cáscara de manzana y aceitoso
29	58.451	2,3-butanodiol	Afrutada
30	59.856	1-octanol	Cítricos intensa
31	62.956	2-metil-1-octanol	---
32	74.246	1-decanol	Dulce, herbal
33	83.380	Alcohol 2-feniletílico	Rosas, miel
34	85.848	1-dodecanol	Floral
35	89.511	Farnesol	Floral suave
ALDEHÍDOS			
36	42.827	Nonanal	Cítricos, floral
37	54.390	Decanal	Cáscara de naranja, graso
38	56.831	Benzaldehído	Almendras, perfumada, mazapán, azúcar quemada, plástico
TERPENOS			

39	58.815	Linalol	Cítricos, floral, dulce, uva
40	63.557	4-terpineol	Dulce, herbal
41	62.066	Fenchol	Alcanfor, pino, madera seca, limón
42	63.836	Hotrienol	Tila
43	70.342	α -terpineol	Floral, dulce, menta
44	70.771	Borneol	Alcanfor, picante
45	74.509	β -citronelol	Dulce, cítricos
46	79.379	Geraniol	Dulce, rosas, geranio
47	89.506	Nerolidol	Rosas, manzana, herbal, cítricos
C₁₃-NORISOPRENOIDES			
48	56.171	β -ionona	Balsámica, rosas, violetas
49	78.248	β -damascenona	Miel, dulce, membrillo
FENOLES VOLÁTILES			
50	98.329	4-vinil guayacol	Especias, curry
OTROS			
51	89.948	Éter difenílico	Herbal
52	113.336	2,3-dihidro benzofurano	---

Anexo C

CÁLCULO DE COEFICIENTES DE VARIACIÓN PARA LA EVALUACIÓN DE LA PRECISIÓN DE LA METODOLOGÍA HS-SPME-GC-MS CON BASE EN LA CONCENTRACIÓN DE LOS ANALITOS¹⁵⁹

La evaluación de la precisión de la metodología HS-SPME-GS-MS se realizó con el cálculo del coeficiente de variación en función de la concentración de los analitos. Donde el resultado se considera como %C.V aceptable para cada concentración de analito.

$$C.V. (\%) = 2^{(1-0.5 \log c)}$$

Donde c es la concentración fraccional del analito expresada en potencia de 10.

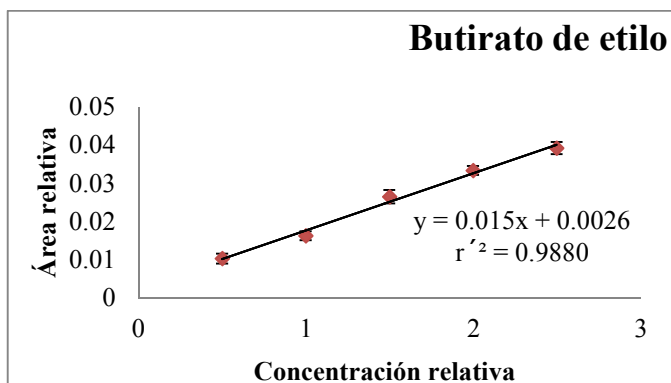
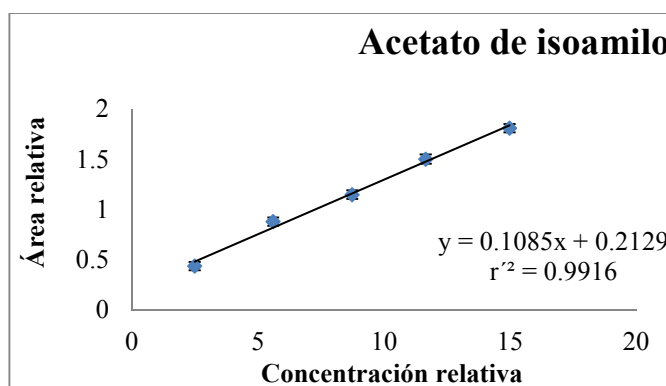
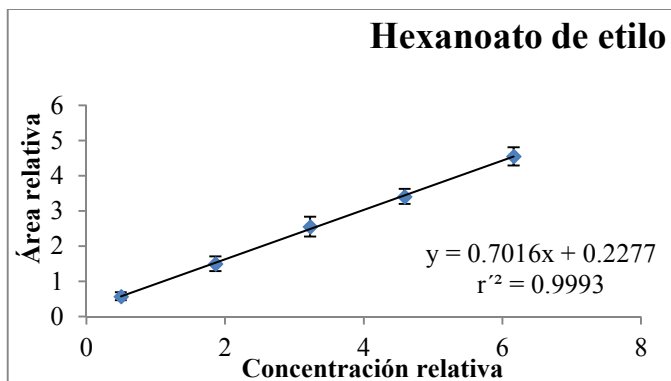
Ejemplo para una concentración de 1.5 mg/L

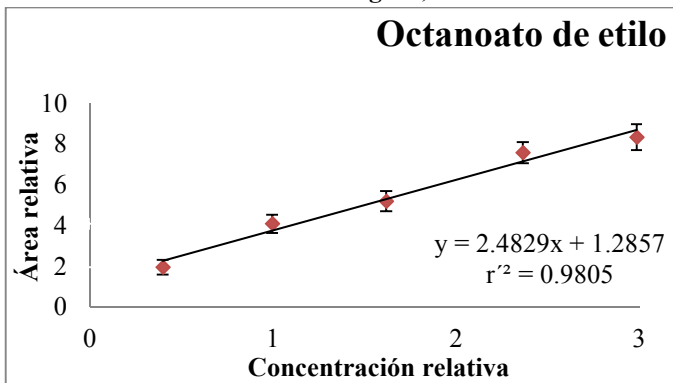
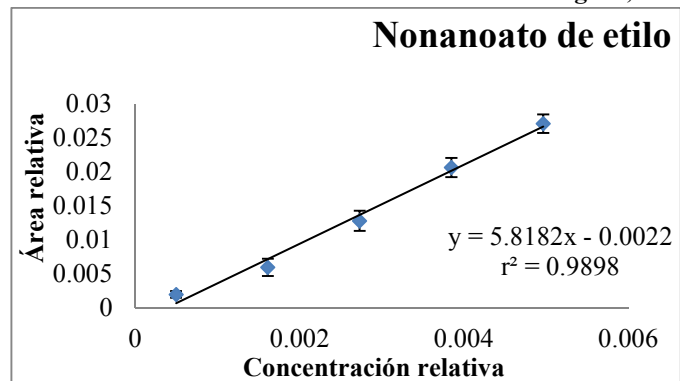
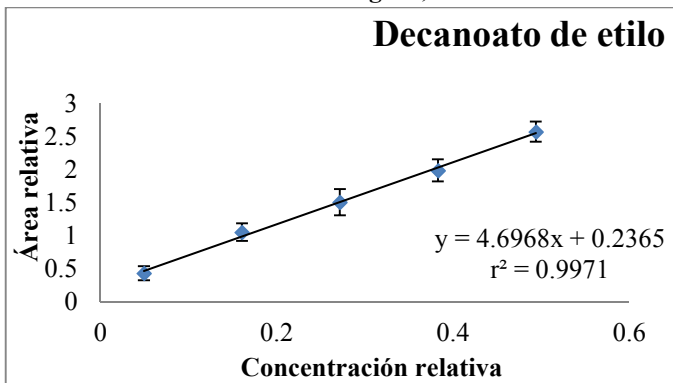
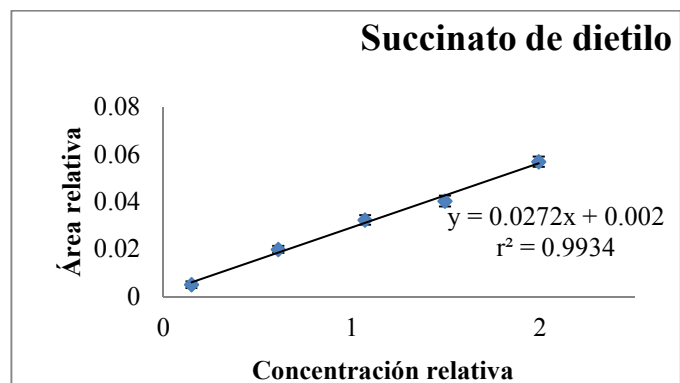
$$1.5 \text{ mg/L} = 0.0000015 \text{ kg/L}$$

$$C.V. (\%) = 2^{(1-0.5 \log 0.0000015)}$$

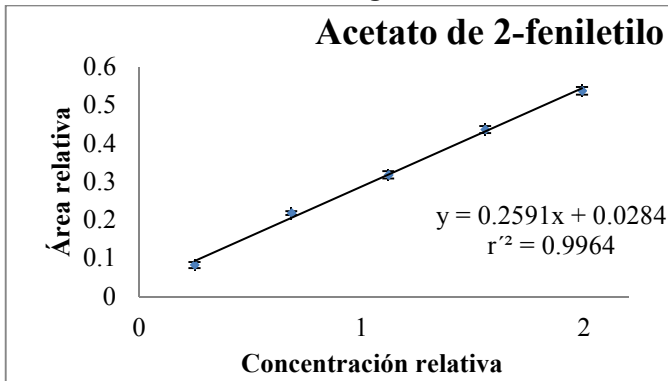
$$C.V. (\%) = 15.1$$

Anexo D

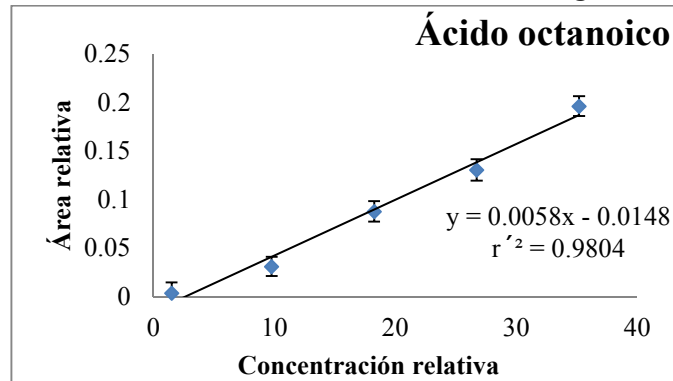
CURVAS DE CALIBRACIÓN RELATIVAS AJUSTADAS DE LOS COMPUESTOS ORGÁNICOS
VOLÁTILES Y SEMIVOLÁTILES CUANTIFICADOS MEDIANTE HS-SPME-GC-MSConcentración: 0.1004-0.5020 mg L⁻¹, n=3Concentración: 0.5011-3.0149 mg L⁻¹, n=2Concentración: 0.0999-1.2400 mg L⁻¹, n=2

Concentración: 0.0801-0.6010 mg L⁻¹, n=3Concentración: 0.0001-0.0010 mg L⁻¹, n=2Concentración: 0.0099-0.0994 mg L⁻¹, n=2Concentración: 0.0301-0.4008 mg L⁻¹, n=2

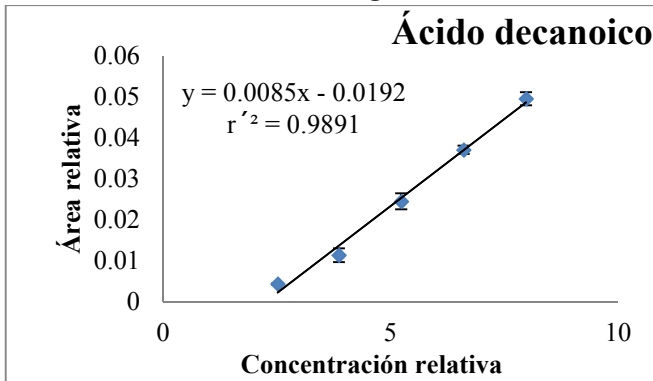
Concentración: 0.0501-0.4007 mg L⁻¹, n=2



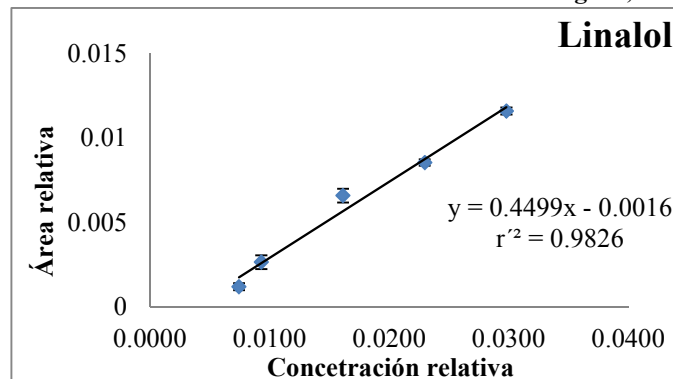
Concentración 0.2991-7.0835 mg L⁻¹, n=2



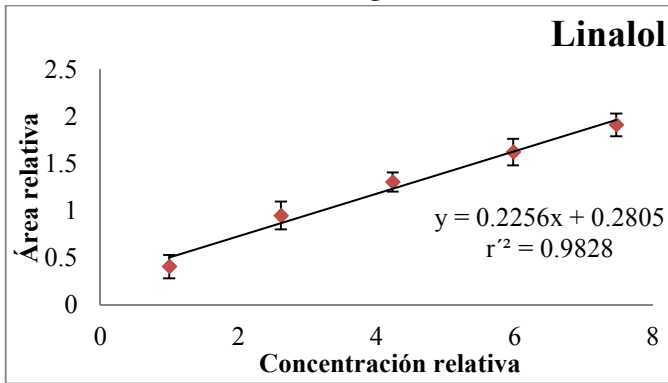
Concentración: 0.5019-1.6062 mg L⁻¹, n=2



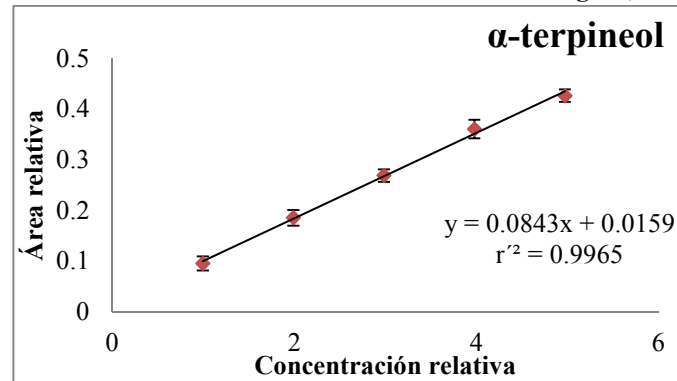
Concentración: 0.0015-0.0060 mg L⁻¹, n=2



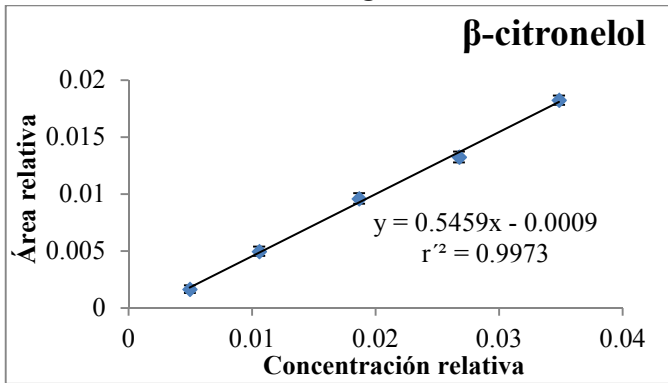
Concentración: 0.2005-1.5039 mg L⁻¹, n=3



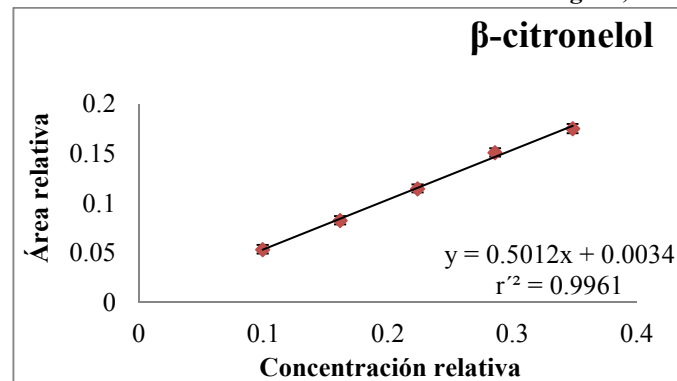
Concentración: 0.2002-1.0009 mg L⁻¹, n=3

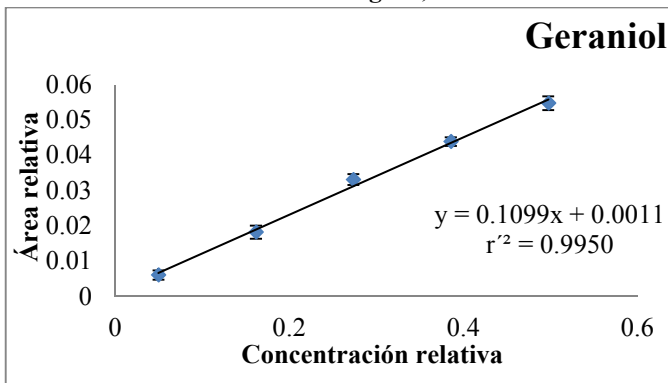
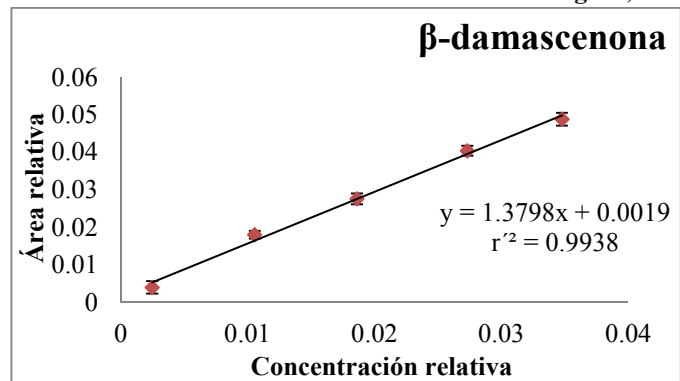
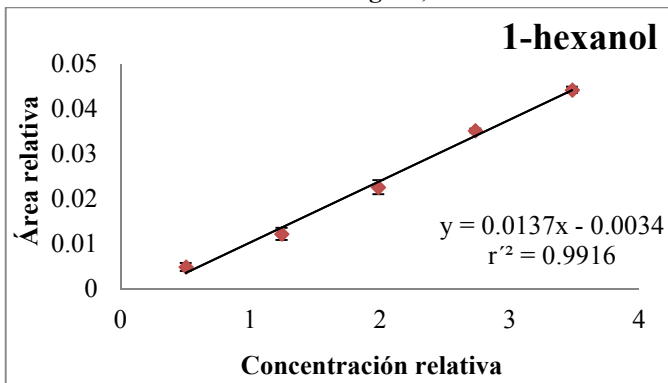
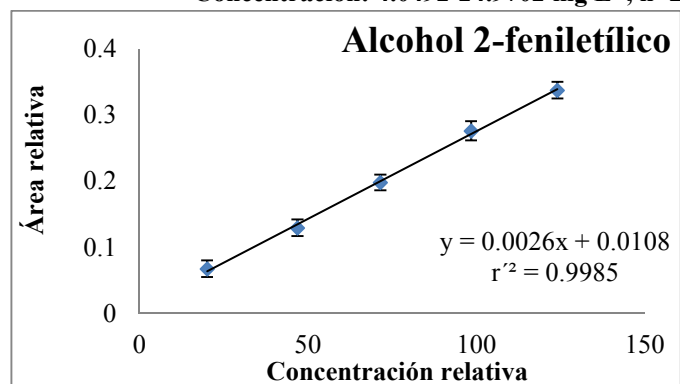


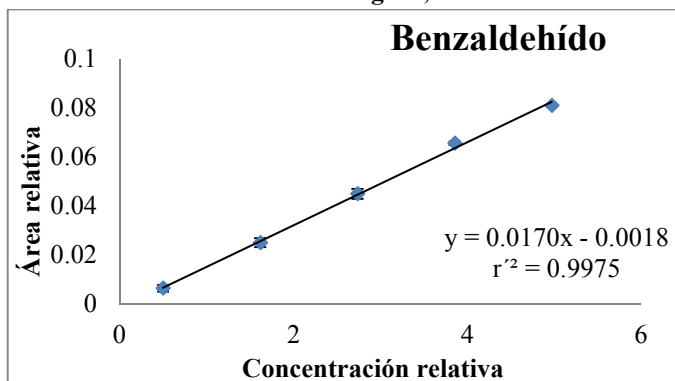
Concentración: 0.0010-0.0070 mg L⁻¹, n=2



Concentración: 0.0200-0.0701 mg L⁻¹, n=3



Concentración: 0.0100-0.1002 mg L⁻¹, n=2Concentración: 0.0005-0.0070 mg L⁻¹, n=3Concentración: 0.1013-0.7005 mg L⁻¹, n=3Concentración: 4.0492-24.9702 mg L⁻¹, n=2

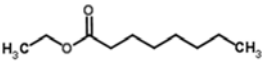
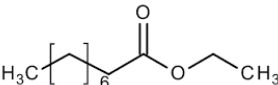
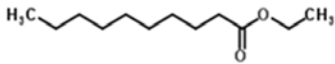
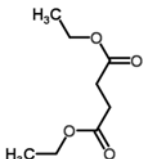
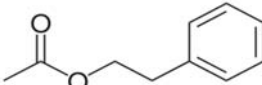
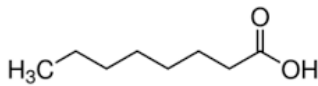
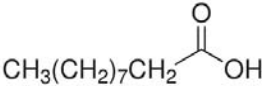
Concentración: 0.1000-1.0004 mg L⁻¹, n=2

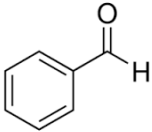
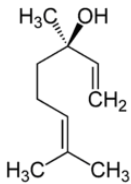
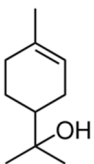
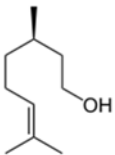
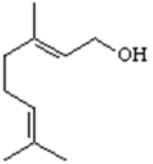
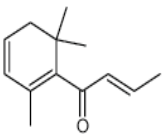
Anexo E

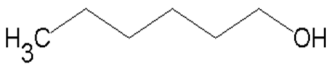
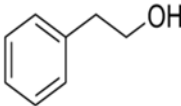
**ESTRUCTURA, PROPIEDADES FÍSICAS E INTERVALOS DE CONCENTRACIONES DE LOS
COMPUESTOS ORGÁNICOS VOLÁTILES Y SEMIVOLÁTILES CUANTIFICADOS EN VINO**

BLANCO

#	Compuesto	Estructura química, peso molecular, punto de ebullición	Log Ko/w	Intervalo de concentración reportado en vinos blancos (mg L ⁻¹)
Ésteres				
1	Butirato de etilo	<chem>CCCC(=O)OCC</chem> 116.58 g/mol p.e: 121 °C	1.73	0.0600 - 15.1897
2	Acetato de isoamilo	<chem>CC(C)CCOC(=O)C</chem> 130.18 g/mol p.e: 142.5 °C	2.13	0.1500 - 2.6300
3	Hexanoato de etilo	<chem>CCCCCC(=O)OCC</chem> 144.21 g/mol p.e: 168 °C	2.83	0.0600 - 0.4900

4	Octanoato de etilo	 $\text{H}_3\text{C}-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{C}_7\text{H}_{15}$ 172.27 g/mol p.e: 207 °C	3.81	0.0019-.5.1000
5	Nonanoato de etilo	 $\text{H}_3\text{C}-[\text{CH}_2]_6-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_3$ 186.3 g/mol p.e: 119 °C	4.30	0.0002 - 1.6037
6	Decanoato de etilo	 $\text{H}_3\text{C}-\text{C}_9\text{H}_{19}-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_3$ 200.31 g/mol p.e: 251 °C	4.79	0.0500 - 2.5000
7	Succinato de dietilo	 $\text{H}_3\text{C}-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{C}_2\text{H}_4-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-\text{CH}_3$ 174.19 g/mol p.e: 217 °C	1.39	0.0900 - 4.8500
8	Acetato de 2-feniletilo	 $\text{CH}_3-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$ 164.20 g/mol p.e: 239 °C	2.57	0.0200 - 3.4200
Ácido grasos				
9	Ácido octanoico	 $\text{H}_3\text{C}-\text{C}_7\text{H}_{15}-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$ 144.22 g/mol p.e: 239.7°C	3.03	1.1500 - 50.6000
10	Ácido decanoico	 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$ 172.27 g/mol p.e: 269 °C	4.02	0.0400 - 14.1500

Aldehídos					
11	Benzaldehído		106.2 g/mol p.e: 178 °C	1.48	0.003 - 0.6649
Terpenos					
12	Linalol		154.25 g/mol p.e: 199 °C	3.38	0.0160 - 0.5000
13	Terpineol		154.25 g/mol p.e: 217 °C	3.28	0.0003 - 1.1007
14	Citronelol		156.27 g/mol p.e: 222 °C	3.56	0.0040 - 0.1240
15	Geraniol		154.26 g/mol p.e: 230 °C	3.47	0.0030 - 0.5060
C ₁₃ -norisoprenoides					
16	β-damascenona		190.28 g/mol p.e: 274 °C	4.21	0.0008 - 0.1700

Alcoholes				
17	1-hexanol	 102.18g/mol p.e: 156 °C	2.03	0.0542 - 1.8900
18	Alcohol 2-feniletílico	 122.17 g/mol p.e: 220 °C	1.57	0.0032 - 153.6795

Referencias 2,3,63,76,86,153,154,164,165

9. Referencias

1. OIV (Organismo Internacional de la Viña y el Vino). Definición de productos. <http://www.oiv.int/oiv/info/esdefinitionproduit> (consultado: 6 de Marzo 2015).
2. Barros, E.; Moreira, N.; Pereira, G.; Ferreira, S.; Moraes, C.; Guedes De Pinho, P. *Talanta* **2012**, *101*, 177–186.
3. Perestrelo, R.; Nogueira, J.; Câmara, J. *Talanta* **2009**, *80*, 622–630.
4. Rocha, S.; Coutinho, P.; Delgadillo, I.; Coimbra, M. *J. Chromatogr. A* **2007**, *1150*, 155–161.
5. Xi, Z.; Tao, Y.; Zhang, L.; Li, H. *Food Chem.* **2011**, *127*, 516–522.
6. Clarke, R.; Bakker, J. *Wine Flavour Chemistry*; Blackwell Publishing: Dahli, India, 2004, pp 14–30, 60-72.
7. Romero, E.; Muñoz, G.; Alvarez, P.; Coello, M. *Food Sci. Technol. Int.* **1999**, *5*, 149–157.
8. Moreno, M.; Polo, M. *Wine Chemistry and Biochemistry*; Springer: 2009, Madrid, España, pp 3-58, 251-274
9. Canuti, V.; Conversano, M.; Calzi, M. ; Heymann, H.; Matthews, M. ; Ebeler, S. *J. Chromatogr. A* **2009**, *1216*, 3012–3022.
10. Sánchez, E.; Díaz, M.; Pérez, M. *Talanta* **2005**, *66*, 1152–1157.
11. Janzantti, N.; Monteiro, M. *LWT - Food Sci. Technol.* **2014**, *59*, 612–620.
12. Blanco, C.; Stashenko, E.; Combariza, M.; Martinez, J. *J. Chromatogr. A* **1995**, *697*, 501–513.
13. Bonaccorsi, I.; Sciarrone, D.; Schipilliti, L.; Dugo, P.; Mondello, L.; Dugo, G. *J. Chromatogr. A* **2012**, *1226*, 87–95.
14. Leão, K.; Sampaio, K.; Pagani, A.; Da Silva, M. *Ind. Crops Prod.* **2014**, *58*, 280–286.
15. Andujar, I.; Moreno, M.; Martín, P.; Pozo, M. *J. Chromatogr. A* **2009**, *1216*, 7351–7357.
16. Jiang, B.; Xi, Z.; Luo, M.; Zhang, Z. *Food Res. Int.* **2013**, *51*, 482–489.
17. Zhang, M.; Pan, Q.; Yan, G.; Duan, C. *Food Chem.* **2011**, *125*, 743–749.
18. Estreicher, S. *Wine: From Neolithic times to the 21st century*; Algora Publishing: Nueva York, USA, 2006, pp 3-10.
19. Etimologías de Chile. Etimología del vino. <http://etimologias.dechile.net/?vino> (consultado 22 de mayo 2015).
20. Cata del vino. La historia del vino jamás mejor contada. <http://www.catadelvino.com/blog-cata-vino/la-historia-del-vino-jamas-mejor-contada> (consultado 22 de mayo 2015).
21. Moreno, M. ¿Qué sabemos de? El vino; Consejo Superior de Investigaciones Científicas: Madrid, España, 2011, pp 2-16.

22. Jacas, J.; Caballero, P.; Avilla, J. El control biológico de plagas y enfermedades, la sostenibilidad de la agricultura mediterránea; Universidad Jaume: Castellón de la Plana, España, 2005, pp 17.
23. Todo el mundo del vino. Historia del vino. <http://todoelmundodelvino.blogspot.mx/> (consultado 22 de mayo de 2015).
24. Diario ABC Sevilla. La cerveza, la segunda bebida con alcohol más consumida en el mundo. <http://www.abc.es/sociedad/20140815/abci-bebidas-alcohol-201408141852.html>. (consultado 23 de mayo 2015).
25. La economía online. Qué bebida alcohólica se consume más en el mundo. <http://www.laeconomiaonline.com/2014/08/15/que-bebida-alcoholica-se-consume-mas-en-el-mundo/> (consultado 22 de mayo 2015).
26. ChartsBin statics collector team 2011. Most consumed alcoholic beverage by country. <http://chartsbin.com/view/1017> (consultado 23 de Mayo 2015).
27. BusinessTech. The world's biggest wine producers. <http://businesstech.co.za/news/international/86672/the-worlds-biggest-wine-producers/> (consultado 24 de mayo 2015).
28. Acosta, Y.; Etxabe, R.; Fábrega, J. El mundo de vino, Editorial Larousse; Barcelona, España, 2013, pp 10-134.
29. *La historia completa del vino mexicano*. <http://vinoclub.com.mx/print.php?module=Articulos&aid=22> (consultado 04 de junio 2015).
30. Oficina económica y comercial de la embajada de España en México. El mercado del vino en México, estudios de mercado, Noviembre 2014, España exportación e inversiones.
31. Instituto Nacional de Vitivinicultura. México: mercado de vinos, mostos, uvas frescas y pasas, Febrero 2015.
32. OIV. Vine and wine outlook 2010-2011. World viticultural statistics.
33. Consejo mexicano vitivinícola, A.C. Volumen de producción del vino mexicano. <http://www.uvayvino.org/index.php/el-sector/vinos-de-mexico/84-el-sector> (consultado 26 de mayo 2015).
34. Ruiz O. *Elements for an economic diagnosis of vitiviniculture in México*, *Revista de Economía* **2014**, 31, 9-50.
35. Casa Madero. Descubre los vinos. <http://www.madero.com.mx/vinos/> (consultado 25 de Junio 2015).
36. Monte Xanic. Vinos. <http://www.montexanic.com.mx/vinos/>(consultado 25 de Junio 2015).

37. Freixenet. Vinos tranquilos. <http://www.freixenetmexico.com.mx/> (consultado 25 de Junio 2015).
38. L.A. Cetto. Vinos. <http://www.lacetto.mx/vinos/linea-clasica> (consultado 25 de Junio 2015).
39. La Redonda. Nuestros vinos. <http://www.xn--viedoslaredonda-zqb.com/> (consultado 25 de Junio 2015).
40. Adobe Guadalupe. Nuestros vinos. http://www.adobeguadalupe.com/nuestros_vinos.html?l=esp.(consultado 25 de Junio 2015).
41. Industria Alimenticia. Informe anual de México, 2014. <http://www.industriaalimenticia.com/articulos/87404-informe-anual-de-mexico> (consultado 26 de Junio 2015).
42. Rosas, C. El vino, Agosto 2014. http://www.etcetera.com.mx/articulo/el_vino/28941/ (consultado 26 de Junio 2015).
43. Alto Nivel. Bebidas alcohólicas y sus tendencias en México, 2013. <http://www.altonivel.com.mx/38414-bebidas-alcoholicas-y-sus-tendencias-en-mexico.html> (consultado 6 de Julio 2015).
44. Enología y enotecnia. El vino y su clasificación. <https://fundamentosdeenologia.wordpress.com/2013/02/20/el-vino-y-su-clasificacion/> (consultado 24 Junio 2015).
45. Taringa. Tipos de vino. <http://www.taringa.net/posts/info/15063846/Tipos-de-vinos.html> (consultado 25 de Junio 2015).
46. Franquicia Expo. Franquicias de vinos, un mundo por explotar. <http://www.franquiciaexpo.es/> (consultado 27 de Junio 2015).
47. The collective wine company. 3D printed...wines? what's next?!. <http://www.thecollectivewinecompany.com.au/blog/3d-printed-wines/> (Consultado 28 de Mayo 2015).
48. Consejo regulador de vino en Madrid. Pliego de condiciones para la presentación de los nombres de vino existentes.http://www.madrid.org/cs/Satellite?blobcol=urldata&blobheader=application%2Fpdf&blobheadername1=ContentDisposition&blobheadervalue1=filename%3DPliego_de_condiciones.pdf&blobkey=id&blobtable=MungoBlobs&blobwhere=1310745121036&ssbinary=true (consultado 8 de Mayo 2015).
49. Girard, G. Bases científicas y tecnológicas de la enología; Acribia: Zaragoza, España, 2004, pp 5-150.

50. Cata del vino. La denominación de Origen vinos de Madrid.
<http://www.catadelvino.com/blog-cata-vino/las-denominaciones-de-origen-en-espana-la-denominacion-de-origen-vinos-de-madrid> (consultado 8 de Mayo 2015).
51. Andrés, C. 43 temas sobre el vino; Enotria: Madrid, España, 2007, pp 19-22.
52. iMujer Gourmet. Características de los vinos Sauvignon Blanc.
<http://www.imujer.com/gourmet/3908/caracteristicas-de-los-vinos-sauvignon-blanc> (consultado 6 de Mayo 2015).
53. Diccionario del vino. Sauvignon Blanc.
<http://www.diccionariodelvino.com/index.php?qv=Sauvignon+Blanc> (consultado 5 de Mayo 2015).
54. Vinisfera.com. De uvas a uvas: la Sauvignon Blanc. <http://vinisfera.com/r/archivo/788>. (consultado 6 de Mayo 2015).
55. Robles, G. Elaboración de vinos.
http://www.asturiasadaptada.org/intranet/imagenes/us2x_1_doc_201008_501.pdf. (consultado 15 de Junio 2015).
56. Segarra, O. La cultura de vino: Una guía amena para pasar de iniciado a experto de vinos; Amat: Barcelona, España, 2003, pp. 41-51.
57. Trujillo, R.; Prieto, I. Cultivo de la Vid; Gráficas Monterreina: Madrid, España, 2008, pp 3-14.
58. Grainger, K.; Tattersall, H. Wine Production: vine to bottle; Blackwell Publishing: Pondicherry, India, 2005, pp 12-19.
59. Moreno, A.; Vila, R.; Fernández, J.; Martínez, A.; Gil, R. *Food Chem.* **2013**, *139*, 770–776.
60. Rodríguez, J.; Méndez, J.; Pérez, J.; Cacho, J. *Food Chem.* **2008**, *110*, 214–225.
61. Sokolowsky, M.; Rosenberger, A.; Fischer, U. *Food Qual. Prefer.* **2015**, *39*, 285–297.
62. Sánchez, E.; Pérez, M.; Díaz, M.; González, M.; Cabezudo, M. *Food Chem.* **2006**, *95*, 279–289.
63. Palomo, E.; González, M.; Díaz, M.; Soriano, A.; Pérez, M. *Food Chem.* **2007**, *103*, 631–640.
64. Tecnicoagricola. Caracteres de las uvas de la vid. <http://www.tecnicoagricola.es/caracteres-de-las-uvas-de-la-vid/> (consultado 18 de Mayo 2015).
65. Flamini, R. Hyphenated techniques in grape and wine chemistry; John Wiley & Sons Inc.: Padstow, Reino Unido, 2008, pp 4-7.
66. Gómez, E.; Gil, R.; López, J.; De la Hera, M.; Martínez, A. *J. Wine Res.* **2000**, *11*, 223–231.
67. Blouin, J.; Peynaud, É. Enología práctica: conocimiento y elaboración de vino, 4th ed.; Mundi-Prensa: Madrid, España, 2003, pp 235-243.

68. Ribéren, P.; Glories, Y.; Maujean, A.; Dubourdiou, D. *Hanbook of Enology. The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments*, vol 2, 2nd ed.; John Wiley & Sons Inc.: Inglaterra, Reino Unido, 2006, pp 132-135.
69. Montero Riquelme, F. *El viñedo en Castilla-La mancha ante el siglo XXI: el sector vitivinícola y el agua*; Universidad de castilla-la mancha: Ciudad Real, España, 1998, pp 215-234.
70. Dixon Geoffrey, Aldous, D. *Horticulture: Plants for people and places*, vol 1; Springer: Dordrecht, Paises Bajos, 2014; pp 199–248.
71. De la Peña, L. *El pequeño Larousse de los vinos: Los mejores de América y el mundo*; Larousse: México, 2015, pp 80-85.
72. Jackson, R. *Wine Science: principles and applications*, 4th ed.; Elsevier: Waltham, USA, 2014, pp 347-350.
73. Barthelemy, C.; Cornago, P.; Esteban, S.; Gálvez, Ma. *La química en la vida cotidiana*; UNED: Madrid, España, 2013, pp 89-149.
74. García, M.; Quintero, R.; López, M. *Biotechnología alimentaria*, 5ta reimpression; Limusa ed.; D.F, México, 2004. pp 263-269.
75. Rodríguez, J.; Conde, J.; García, F.; Pérez, J. *J. Chromatogr. A* **2003**, *991*, 13–22.
76. Welke, J.; Zanus, M.; Lazzarotto, M.; Alcaraz, C. *Food Res. Int.* **2014**, *59*, 85–99.
77. Gil, A. *Tratado de nutrición: Composición y calidad nutritiva de los alimentos*, vol. 2, 2nd ed.; Editorial medica panamericana: Madrid, España, 2010, p 293.
78. Green, J.; Parr, W.; Breitmeyer, J.; Valentin, D.; Sherlock, R. *Food Res. Int.* **2011**, *44*, 2788–2797.
79. König, H.; Uden, G.; Fröhlich, J. *Biology of microorganisms on grape, in must and in wine*; Springer: Heidelberg, Alemania, 2009, pp 167-209.
80. Chin, S.; Eyres, G.; Marriott, P. *J. Chromatogr. A* **2012**, *1255*, 221–227.
81. Robinson, A.; Boss, P.; Solomon, P.; Trengove, R.; Heymann, H.; Ebeler, S. *Am. J. Enol. Vitic.* **2014**, *65*, 1–24.
82. Feduchi, E. *Bioquímica: Conceptos esenciales*; Médica panamericana: Madrid, España, 2014, p 50.
83. Leffingwell, J. *Chirality & odour perception: The borneols*. <http://www.leffingwell.com/chirality/borneol.htm> (consultado 16 de Mayo 2015).
84. Verzera, A.; Tripodi, G.; Dima, G.; Conduurso, C.; Scacco, A.; Cincotta, F.; Giglio, D.; Santangelo, T.; Sparacio, A. *J. Sci. Food Agric.* **2015**

85. Petrozziello, M.; Borsa, D.; Guaita, M.; Gerbi, V.; Bosso, A. *Food Chem.* **2012**, *135*, 2483–2489.
86. Gambetta, J.; Bastian, S.; Cozzolino, D.; Jeffery, D. *J. Agric. Food Chem.* **2014**, *62*, 6512–6534.
87. Suárez, R.; Suárez, J.; Morata, A.; Calderón, F. *Food Chem.* **2007**, *102*, 10–21.
88. Botanical online. lima. http://www.botanical-online.com/lima_medicinales.htm. (consultado 25 Mayo 2015).
89. Botanical online. Propiedades del maracuya. http://www.botanicalonline.com/propiedades_maracuya.htm (consultado 25 Mayo 2015).
90. Tranchida, P.; Bonaccorsi, I.; Dugo, P.; Mondello, L.; Dugo, G. *Flavour Fragr. J.* **2012**, *27*, 98–123.
91. Tripathi, A.; Upandhyay, S.; Bhuiyan, M.; Bhattacharya, P. *J. Pharmacogn. phitotherapy* **2009**, *1*, 52–63.
92. Can, H.; Buchbauer, G. Handbook of essential oils. Science, technology and applications; CRC Press: Philadelphia, USA, 2010, p 83.
93. Atti, A.; Rossato, M.; Serafini, L.; Cassel, E.; Moyna, P. *Brazilian Arch. Biol. Technol.* **2005**, *48*, 155–160.
94. Pawliszyn, J. Handbook of Solid Phase Microextraction; Elsevier: Londres, 2012, pp 1-16.
95. Vas, G.; Vékey, K. *J. Mass Spectrom.* **2004**, *39*, 233–254.
96. Jeleń, H.; Dziadas, M.; Majcher, M. *J. Chromatogr. A* **2013**, *1313*, 185–193.
97. Piñeiro, Z.; Natera, R.; Castro, R.; Palma, M.; Puertas, B.; Barroso, C. *Anal. Chim. Acta* **2006**, *563*, 165–172.
98. Cecchi, T.; Alfei, B. *Food Chem.* **2013**, *141*, 2025–2035.
99. Cheong, K.; Tan, C.; Mirhosseini, H.; Chin, S.; Che Man, Y.; Hamid, S.; Osman, A.; Basri, M. *Food Chem.* **2011**, *125*, 1481–1489.
100. Oh, S.; Shin, H.; Kim, S.; Hong, J. *J. Chromatogr. A* **2008**, *1183*, 170–178.
101. Le, V.; Zheng, X.; Chen, J.; Han, B. *J. Inst. Brew.* **2012**, *118*, 107–113.
102. Bianchin, J.; Nardini, G.; Merib, J.; Dias, A.; Martendal, E.; Carasek, E. *Food Chem.* **2014**, *145*, 1061–1065.
103. Steffen, A.; Pawliszyn, J. *J. Agric. Food Chem.* **1996**, *44*, 2187–2193.
104. Riu, M.; Miró, P.; Serra, A.; Buxaderas, S.; López, E. *Food Res. Int.* **2014**, *57*, 196–202.
105. Câmara, J.; Marques, J.; Perestrelo, R.; Rodrigues, F.; Oliveira, L.; Andrade, P.; Caldeira, M. *J. Chromatogr. A* **2007**, *1150*, 198–207.

106. Sgorbini, B.; Bicchi, C.; Cagliero, C.; Cordero, C.; Liberto, E.; Rubiolo, P. *J. Chromatogr. A* **2015**, *1376*, 9–17.
107. Bail, S.; Stuebiger, G.; Krist, S.; Unterweger, H.; Buchbauer, G. *Food Chem.* **2008**, *108*, 1122–1132.
108. Fustinoni, S.; Mercadante, R.; Campo, L.; Scibetta, L.; Valla, C.; Foà, V. *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* **2005**, *817*, 309–317.
109. Gao, L.; Liu, J.; Wang, C.; Liu, G.; Niu, X.; Shu, C.; Zhu, J. *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* **2014**, *944*, 136–140.
110. Mohammadi, A.; Ameli, A.; Alizadeh, N. *Talanta* **2009**, *78*, 1107–1114.
111. Zuazagoitia, D.; Millan, E.; Garcia, R. *J. Chromatogr. Sci.* **2009**, *47*, 97–107.
112. Antoniou, C.; Koukouraki, E.; Diamadopoulou, E. *J. Chromatogr. A* **2006**, *1132*, 310–314.
113. Pizarro, C.; Pérez-del-Notario, N.; González, J. *J. Chromatogr. A* **2007**, *1143*, 176–181.
114. Bozalongo, R.; Carrillo, J.; Fernández, M.; Tena, M. *J. Chromatogr. A* **2007**, *1173*, 10–17.
115. Raffo, A.; Carcea, M.; Castagna, C.; Magri, A. *J. Chromatogr. A* **2015**, *1406*, 266–278.
116. Moscoso, C.; Fernández, V.; Moreda, J.; López, P.; Muniategui, S.; Prada, D. *J. Chromatogr. A* **2015**, *1385*, 85–93.
117. Dong, C.; Mei, Y.; Chen, L. *J. Chromatogr. A* **2006**, *1117*, 109–114.
118. Tomkins, B.; Ilgner, R. *J. Chromatogr. A* **2002**, *972*, 183–194.
119. Saito, K.; Okamura, K.; Kataoka, H. *J. Chromatogr. A* **2008**, *1186*, 434–437.
120. Kwon, S.; Shin, H. *J. Chromatogr. A* **2015**, *1407*, 216–221.
121. Scheppers, S. *Solid Phase Microextraction. A practical guide*; CRC Press: Boca Ratón, Florida, 1999, pp 1-8.
122. Pawliszyn, J. *Applications of solid phase microextraction*; The Royal Society of Chemistry: Letchworth, Londres, 1999, pp 1-36.
123. Sigma-Aldrich. Selection Guide for Supelco SPME Fibers.
<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/supelco/57355u?lang=es®ion=MX>.
(consultado 15 Junio 2015).
124. Alpendurada, M. *J. Chromatogr. A* **2000**, *889*, 3–14.
125. Martendal, E.; Carasek, E. *J. Chromatogr. A* **2011**, *1218*, 1707–1714.
126. Risticvic, S.; Vuckvic, D.; Lord, H.; Pawliszyn, J. *Comprehensive sampling and sample preparation*; Elsevier Inc.: Beijing, China 2012; pp 419–460.
127. McNair, H.; Miller, J. *Basic Gas Chromatography*, 2nd ed.; John Wiley & Sons Inc.: Nueva York, USA, 1997, pp 1-29, 101-124.

128. Harris, D. Análisis químico cuantitativo, 6th ed.; Reverté: Barcelona, Barcelona, España, 2007, pp 517-539.
129. Chromedia Analytical Science. Introduction to capillary GC injection techniques. <http://www.chromedia.org/chromedia?waxtrapp=wlqdcDsHqnOxmOIIecClBwFjE&subNav=rwhpbjDsHqnOxmOIIecClBwFjEQ> (consultado 20 Junio 2015).
130. Poole, C. Gas chromatography; Elsevier Inc.: Waltham, USA, 2012, pp 187-220.
131. Sparkma, D.; Penton, Z.; Kitson, F. Gas chromatography and mass spectrometry. A practical guide; Academic Press.: San Diego, California, 1996, pp 3-23.
132. Agilent Technologies, The Programmable Temperature Vaporization Inlet. web: <http://www.ecs.umass.edu/eve/facilities/equipment/Agilent6890/The%20Programmable%20Temperature%20Vaporization%20Inlet.pdf> (Consultado 30 Junio 2015).
133. Grob, R.; Barry, E. Modern practice of gas chromatography, 4th ed.; John Wiley & Sons Inc.; Hoboken, Nueva Jersey, 2004, pp 277-338.
134. Robinson, A.; Ebeler, S.; Heymann, H.; Boss, P.; Solomon, P.; Trengove, R. *J. Agric. Food Chem.* **2009**, *57*, 10313–10322.
135. Fundación de la cultura del vino. Informe Técnico Gestión de pH en el vino de calidad; Madrid, España, 2005, pp 9-22.
136. Manel Barba, L. *La cata de vinos*; House ed.; Penguin Random: Barcelona, España, 2014, pp 1-10.
137. De la Garza, D. Perfil sensorial de vinos blancos mexicanos: cepas *Chenin Blanc*, *Sauvignon Blanc* y *Silvaner*. Tesis licenciatura. Facultad de Química, UNAM, 2015.
138. Piquet, C., Toit, W. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* **2014**, *35*, 278–282.
139. Marais, J. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* **1994**, *15*, 41–45.
140. Pinu, F.; Edwards, P.; Villas, S. *Metabolomics* **2014**, *10*, 556–573.
141. Benkwitz, F.; Nicolau, L.; Lund, C.; Beresford, M.; Wohlers, M.; Kilmartin, P. *J. Agric. Food Chem* **2012**, *60*, 6293–6302.
142. Benkwitz, F.; Tominaga, T.; Kilmartin, P.; Lund, C.; Wohlers, M.; Nicolau, L. *Am. J. Enol. Vitic.* **2012**, *63*, 62–72.
143. Campo, E.; Do, B.; Ferreira, V.; Valentin, D. *Aust. J. Grape Wine Res.* **2008**, *14*, 104–115.
144. Wine Folly. The essential guide to wine. Enthusiast's guide to Sauvignon Blanc. www.winefolly.com/review/enthusiasts-guide-sauvignon-blanc/.(consultado 28 octubre 2015).
145. García, J. Marinaje, enología y cata de vinos; Innovación y cualificación: Málaga, España, 2008. pp. 241-245.
146. Olejar, K.; Fedrizzi, B.; Kilmartin, P. *LWT-Food Sci. Technol.* **2015**, *65*, 152–157.

147. Vilanova, M.; Genisheva, Z.; Graña, M.; Oliveira, J. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* **2013**, *34*, 212–222.
148. Reynolds, A.; Taylor, G.; Savigny, C. *Am. J. Enol. Vitic.* **2013**, *64*, 180–194.
149. Boido, E.; Fariña, L.; Dellacassa, E. *Food Chem.* **2013**, *141*, 2513–2521.
150. Saberi, S.; Cliff, M.; Van Vuuren, H. *Food Res. Int.* **2012**, *48*, 725–735.
151. Wine Folly. The essential guide to wine. Comparing Chardonnay and Sauvignon Blanc. www.winefolly.com/review/difference-chardonnay-vs-sauvignon-blanc/. (consultado 28 octubre 2015).
152. Wang, M.; Choong, Y.; Su, N.; Lee, M. *J. Food Drug Anal.* **2003**, *11*, 133–140.
153. Dziadas, M.; Jeleń, H. *Anal. Chim. Acta* **2010**, *677*, 43–49.
154. Metafa, M.; Economou, A. *J. Chromatogr. A* **2013**, *1305*, 244–258.
155. Soares, R.; Welke, J.; Nicolli, K.; Zanus, M.; Caramão, E.; Manfroi, V.; Zini, C. *Food Chem.* **2015**, *183*, 291–304.
156. Neri, M. E. Determinación de compuestos volátiles en vino por microextracción en fase sólida (MEFS) y microextracción líquido-líquido (MELL) acoplada a cromatografía de gases (CG). Tesis licenciatura. Facultad de Química, UNAM, 2014.
157. García, A., Soberón, E., Cortes, M., Rodríguez, R., Herrera, J., Alcántara, A., Chárvel, A., Mota, R., Garzón, A. Métodos Analíticos, Guía de Validación. Editada por el colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos, A.C., 2002.
158. ICH Q2B, Validation of Analytical Procedures: Methodology; Ginebra, Suiza, 2005.
159. Currell, G. Analytical instrumentation: performance characteristics and quality; John Wiley & Sons Inc.: Chichester, Inglaterra, 2000, pp 1-14, 25-35.
160. Considine, J.; Frankish, E. A complete quality in small-scale wine making; Academic Press: Waltham, USA, 2014, cap 3, pp 41-47.
161. Thibon, C.; Pons, A.; Mouakka, N.; Redon, P.; Méreau, R.; Darriet, P. *J. Chromatogr. A* **2015**, *1415*, 123–133.
162. Mateo, L.; Cacho, J.; Ferreira, V. *J. Chromatogr. A* **2007**, *1146*, 242–250.
163. Vichi, S.; Cortés, N.; Caixach, J. *Food Chem.* **2015**, *175*, 401–408.
164. Ortega, C.; Lopez, R.; Cacho, J.; Ferreira, V. *J. Chromatogr. A* **2001**, *923*, 205–214.
165. Antalick, G.; Perello, M.; De Revel, G. *Food Chem.* **2010**, *121*, 1236–1245.