



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**CARACTERIZACIÓN Y CUANTIFICACIÓN
DE ANALITOS DE INTERÉS EN VINOS
TINTOS MEXICANOS**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICO

P R E S E N T A:
ERICA ELIZABETH CRUZ HERNÁNDEZ

ASESORA:
DRA. MARÍA GABRIELA VARGAS MARTÍNEZ

CUAUTITLÁN IZCALLI

2016

ESTADO DE MÉXICO



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**

**ATN: M. EN A. ISMAEL HERNÁNDEZ MAURICIO
Jefe del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

“Caracterización y cuantificación de analitos de interés en vinos tintos mexicanos”.

Que presenta la pasante: **Erica Elizabeth Cruz Hernández**
Con número de cuenta: **303143242** para obtener el Título de la carrera: **Licenciatura en Química**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 30 de septiembre de 2015.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. María Guadalupe Pérez Caballero	
VOCAL	Dra. María Gabriela Vargas Martínez	
SECRETARIO	Dra. Alma Luisa Revilla Vázquez	
1er. SUPLENTE	Dra. María del Rosario Moya Hernández	
2do. SUPLENTE	M.C. Miriam Aide Castillo Rodríguez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

IHM/prc*

Para Félix, Beatriz y Javier
Por brindarme la fortaleza para seguir adelante



AGRADECIMIENTOS

La caracterización y cuantificación de analitos de interés en vino tintos mexicanos ha sido un proyecto muy especial que ha visto la luz gracias al esfuerzo de gente muy especial. Estoy profundamente agradecida con **Dios**, ese ser superior que me ha acompañado en cada paso que doy, por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mis padres Félix y Beatriz

Les agradezco profundamente por todo su apoyo, sus consejos, su amor, su confianza, su paciencia y por el gran esfuerzo que han hecho para proporcionarme lo necesario y estar conmigo en los momentos más importantes, en fin por ser los ángeles que me cuidan cada día. Son lo más importante de mi vida, gracias por ser mis padres, lo único que espero es que estén orgullosos de mí, los admiró y los quiero mucho, sé que nunca podré pagar todo lo que me han dado solo espero poder recompensar aunque sea una pequeña parte. Les dedico esta tesis porque gracias a ustedes logre una profesión.

A mi novio Javier

Te agradezco por todo el apoyo que me has brindado, has estado a mi lado en los momentos difíciles y también alegres, con lágrimas y risas, pero siempre ayudándome y comprendiéndome. No fue sencillo culminar con éxito este proyecto, sin embargo tú siempre me motivaste a seguir adelante. Te amo lagartija.

A mi hermano Luis

A pesar de los interminables desacuerdos agradezco que seas parte de mi vida, gracias por el apoyo por no facilitarme la vida y preocuparte por mí aun cuando no soy la mejor hermana.

A mi familia

En especial, a ese ángel que me cuida desde el cielo, mi tío Víctor, por su apoyo, sus regaños, pero sobre todo por su cariño incondicional. Siempre permanecerá en mi corazón.

A la Dra. Gaby

Le agradezco el apoyo brindado, porque sin ella no hubiera sido posible la realización de este trabajo, por tomarse el tiempo para explicar algo y por la confianza. Agradezco haberla conocido, es una persona admirable, merece todo mi respeto y cariño, gracias y espero que me dé la oportunidad de seguirla conociendo.

A mis sinodales

Gracias no sólo por tomarse el tiempo de revisar mi trabajo, sino también por transmitirme parte de su conocimiento.

A mis amigos

Nayeli, Paula, Itzel, Rebeca y Rodrigo, porque a lo largo de toda la carrera hicieron que los momentos más difíciles, se sintieran más sencillos con sus risas, puntadas y compañía.

A mis compañeros y ahora amigos, Elia, Miriam, Delia, Sonia, Julio, Guillermina, Esther, Janeli y Alma por su paciencia, su confianza y apoyo en el día a día.

Y sin olvidar quiero expresar mi reconocimiento a mi facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Ha sido un honor y un privilegio haber asistido a ella. Porque mi vida profesional y mi carrera como Química han dependido profundamente de las bases y el conocimiento que aprendí y disfruté en esta hermosa institución.

No es suficiente saber, hay que saber aplicar lo que uno sabe, no es suficiente querer, hay que saber realizar lo que uno quiere.

Johann Wolfgang von Goethe

ÍNDICE

ÍNDICE.....	i
ABREVIATURAS	iii
INTRODUCCIÓN.....	1
RESUMEN.....	2
OBJETIVOS.....	4
CAPÍTULO 1	5
ANTECEDENTES	5
1.1 EL VINO	5
1.1.1 Historia del Vino	6
1.1.2 Regiones Vinícolas.....	9
1.1.3 Definición.....	14
1.1.4 La Uva	15
1.1.5 Composición.....	18
1.1.6 Elaboración.....	20
1.2 POLIFENOLES.....	27
1.2.1 Definición	27
1.2.2 Clasificación.....	27
1.2.3 El vino tinto como nutracéutico.....	34
1.3 TÉCNICAS ANALÍTICAS.....	36
1.3.1 Electroforesis Capilar	36
1.3.2 Espectroscopia Atómica	40
1.4 QUIMIOMETRÍA	47
1.4.1 Análisis de Conglomerados	47
CAPÍTULO 2	49
METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....	49
2.1 DIAGRAMA DE ACTIVIDADES	49

2.2 MATERIALES Y REACTIVOS.....	50
2.3 PROCEDIMIENTOS DE ENSAYOS	52
CAPÍTULO 3	58
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	58
3.1 FENOLES TOTALES	58
3.2 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE.....	65
3.3 CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS MEDIANTE LA TÉCNICA DE ELECTROFORESIS CAPILAR	72
3.4 CUANTIFICACIÓN DE ELEMENTOS METÁLICOS MEDIANTE LA TÉCNICA ANALÍTICA DE ICP-OES Y EAA.....	80
3.5 ANÁLISIS QUIMIOMÉTRICO	90
3.6 ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES (PCA)	92
CONCLUSIONES.....	95
BIBLIOGRAFÍA	97
ANEXOS.....	101
ÍNDICE DE FIGURAS	126
ÍNDICE DE TABLAS.....	129

ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado	Abreviatura	Significado
EC	Electroforesis capilar	EAA	Espectroscopia de Absorción Atómica
ICP-OES	Espectroscopia Óptica de Emisión Atómica con Plasma de Acoplamiento Inductivo (Siglas en Inglés)	PCA	Análisis de Componentes Principales (Siglas en Inglés)
°C	Grados Celsius	FDA	Food and Drug Administration
μA	Microampere	Fer	Ácido Ferúlico
μm	Micrómetro	F_{valor}	F de Fisher experimental
A	Área	g	Gramo
ANOVA	Análisis de varianza	H	Altura
b₀	Ordenada al origen	H₀	Hipótesis nula
b₁	Pendiente	H₁	Hipótesis alternativa
LCH	Lámpara de cátodo hueco	h	Horas
E	Campo Eléctrico	IC	Intervalo de confianza
CE	Electroforesis capilar	kg	Kilogramo
cm	Centímetro	S	Desviación estándar
DAD	Arreglo de diodos	DMPD	N,N-dimetil-p-fenilendiamina

INTRODUCCIÓN

En la actualidad existe un creciente interés a nivel mundial por el desarrollo de productos de origen natural, capaces de detener o inhibir procesos oxidativos asociados a diferentes alteraciones de la salud, en el cual los compuestos fenólicos arrojan resultados prometedores en cuanto a su acción como antioxidantes. Los estudios realizados a compuestos fenólicos han comprendido diversos tipos de matrices entre las que se encuentran principalmente las plantas. Dichos estudios se han dirigido igualmente hacia el desarrollo de técnicas analíticas que permitan el análisis simultáneo de diferentes clases de analitos en tiempos reducidos (Casares, 2010).

México cuenta con más de 200 variedades de vinos entre tintos, blancos, rosados y espumosos, elaborados con la más moderna tecnología y con la mano experta de enólogos profesionales que cultivan en zonas vinícolas de Baja California, Coahuila, Querétaro, Zacatecas y Aguascalientes principalmente. Los vinos mexicanos en los últimos años han logrado un mayor prestigio debido a la gran cantidad de premios obtenidos a nivel internacional, por lo que México ha aumentado su consumo (Casares, 2010).

El vino tinto que será el tema de estudio, tiene uno de los efectos más beneficioso que tiene un vino debido a que en su elaboración se incorporan semillas y piel de las uvas, repercutiendo en las altas concentraciones de compuestos fenólicos y en conjunto con la presencia de elementos metálicos, las cuales serán las características utilizadas como descriptores de la zona geográfica de origen, tipo de uva y casa vitivinícola. Las propiedades como el sabor, olor y otras capacidades sensitivas varían dependiendo de las características ya antes mencionadas. Igualmente dichas características son de gran relevancia en la acción de enfermedades cardiovasculares, cáncer y otras enfermedades degenerativas, que es la principal preocupación de la salud pública mundial. Debido a este gran efecto que tiene, es muy importante realizar un estudio para caracterizar los vinos tintos, en especial de los diversos tipos varietales mexicanos, ya que no existe una amplia gama de información, ni publicaciones acerca de la caracterización de los polifenoles que contienen, ni estudios sobre la utilización de marcadores que permitan su clasificación y que pudieran ser utilizados para confirmar su autenticidad.

RESUMEN

El objetivo de este trabajo se centró en el desarrollo de un nuevo método analítico por Electroforesis Capilar para la determinación de los polifenoles presentes en 16 muestras de vinos tintos mexicanos monovarietales de la zona de Baja California, Coahuila y Querétaro. Inicialmente se utilizaron 2 métodos espectrofotométricos para la medición total de la concentración de fenoles (Follin-Ciocalteu) y la actividad antioxidante (DMPD), con la finalidad de tener una idea general de la magnitud su contenido en los vinos tintos estudiados. Posteriormente se utilizó la técnica de Electroforesis Capilar para llevar a cabo la identificación, separación, y cuantificación individual de los compuestos fenólicos presentes en las muestras. Para tal fin se desarrolló el método analítico, donde se estudiaron parámetros como el pH, la concentración del buffer y/o la adición de modificadores orgánicos. La identificación certera de cada polifenol se realizó en base a los tiempos de migración, la adición de estándar del polifenol sospechoso a la muestra donde se observó el claro crecimiento de la señal y confirmación mediante la comparación del espectro de absorción del pico obtenido con la del estándar. Adicionalmente se determinó la presencia de elementos metálicos mediante técnicas de ICP-OES y EAA obteniéndose la concentración de cada uno en las muestras, con el fin de observar las diferencias y concluir si dichos resultados dan información acerca de la influencia de la composición de la tierra de cultivo (“terruño”) en la composición elemental de los vinos obtenidos de éstas localidades.

Los vinos tintos estudiados presentaron un contenido de compuestos fenólicos de entre 25.43 a 140.55 mg/L de ácido gálico y una actividad antioxidante de entre 10.26 a 22.58 mg equivalentes de Trolox por cada 100 mL de Vino. El compuesto fenólico identificado en todos los vinos de estudio fue el tirosol, siendo los vinos procedentes de Baja California los de mayor presencia de compuestos fenólicos (sumatoria de la concentración de cada polifenol individual), siguiéndole Coahuila y finalmente Querétaro; mientras que el ácido gentísico y ácido cinámico fueron fenoles característicos de vinos de Baja California. Cabe hacer mención que en la determinación de fenoles totales por Folin-Ciocalteu, los vinos de Coahuila son los de niveles más altos, mientras los de Baja California y Querétaro se pueden considerar en niveles iguales. Esto indica

que en los vinos de Coahuila existen otras fuentes de compuestos antioxidantes que al parecer generan resultados de altos niveles debido a la reacción poco selectiva de Folin-Ciocalteu y esto coincide con los altos niveles de actividad antioxidante presentados por los vinos de éste estado. Con respecto a los elementos metálicos se observó que en la zona de Baja California el azufre (S) y fósforo (P) son característicos, mientras que los vinos de Querétaro pueden identificarse por sus contenidos significativamente bajos de P, S, Mn, V y una concentración alta de Cu.

Otro objetivo de este trabajo fue aportar nuevas metodologías para facilitar la tipificación de muestras de vino mexicano de las cuales no existen estudios publicados, realizándolo con la ayuda de herramientas quimiométricas, las cuales permiten analizar diferentes datos químicos y en base a los mismos realizar dicha clasificación. La información obtenida permitirá conocer un posible comportamiento de la muestra y por lo tanto poder predecir su procedencia y/o variedad. Además al tener una clasificación de un producto es posible identificar si algún otro producto cumple o no con la tendencia establecida y así ofrecer una posible herramienta para detectar fraude (autenticidad) en la industria del vino mexicano.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Proponer un método de clasificación de vinos tintos mexicanos provenientes de los estados de Baja California, Coahuila y Querétaro, combinando la información obtenida (fenoles totales, capacidad antioxidante, tipo y concentración de cada polifenol y los elementos metálicos) mediante las técnicas de espectrofotometría UV-Vis, Electroforesis Capilar y Espectroscopia de Emisión Atómica con Plasma de Acoplamiento Inductivo, a fin de evaluar los resultados mediante técnicas Quimiométricas para determinar la localidad y/o tipo de uva usada en los mismos y así aportar información valiosa sobre su autenticidad.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar los parámetros químicos: Fenoles Totales y Capacidad Antioxidante de los diferentes vinos tintos mexicanos por Espectrofotometría UV/Visible, utilizando los métodos de Folin-Ciocalteu y DMPD respectivamente.
- Establecer las condiciones óptimas de trabajo para llevar a cabo la separación, identificación y cuantificación de los diferentes compuestos fenólicos presentes en las muestras de vino tinto, mediante la técnica de Electroforesis Capilar.
- Identificar y cuantificar los elementos metálicos presentes en las muestras de estudio mediante las Espectroscopias de Emisión Atómica con Plasma de Acoplamiento Inductivo y de Absorción Atómica. .
- Utilizar la información obtenida por las técnicas mencionadas y procesarla mediante técnicas Quimiométricas, con el fin de encontrar conclusiones sobre el origen (localidad) y/o variedad de uva usada y concluir si aporta información valiosa sobre la autenticidad del vino.

CAPÍTULO 1

ANTECEDENTES

1.1 EL VINO

Desde el momento en que se planta una viña, todos los factores que lo rodean, desde su variedad hasta aspectos más generales como las condiciones climáticas o las prácticas vitícolas, hacen de cada uva única y especial. Solo de uvas con características óptimas se puede obtener un vino que se diferencie del resto. Desde hace muchos años se ha intentado remarcar esa diferencia y asegurar la procedencia del vino al consumidor.

Las características que diferencian los vinos, provienen de las propiedades de muchos compuestos presentes en el vino. Algunos de ellos proceden de la misma uva, pero otros son generados durante el proceso de vinificación. En los últimos años, han surgido numerosos trabajos de investigación con la finalidad de poder diferenciar y clasificar vinos. En algunos de ellos se unen técnicas analíticas junto a la Quimiometría para el análisis de elementos en el vino (Fabani, y otros, 2010), metales absorbidos del suelo por parte de la uva (Fabani, Vázquez, Díaz, & Wunderlin, 2009) o el análisis de monoterpenos presentes en la uva (Rocha, 2007). Aunque más recientemente se ha comenzado otras técnicas como la RMN y Quimiometría, con la finalidad de obtener una información más completa de un vino. Trabajos de este tipo se han llevado a cabo para clasificar vinos en Corea (Son, 2009) y en China (Du, 2007). El principal interés se ha centrado en poder diferenciar vinos de diferentes denominaciones de origen, basándose en el contenido de elementos absorbidos del suelo (Moreno & González-Weller, 2008) (Aceto, 2002). También en distinguir distintos tipos de vinos (Fernández, 2006) y variedades de uva, (González, 2010).

Si bien los vinos mexicanos no se distinguen por ser producidos en grandes cantidades, como los franceses o los españoles, sí se puede decir que cumplen con dos premisas fundamentales:

en primer lugar, satisfacen plenamente la demanda nacional y aún se exportan a unos 30 países, en segundo, han ganado más de 350 premios internacionales de gran prestigio (Sánchez, 2013), lo que habla muy bien de su calidad, la cual proviene de la tierra adecuada y las uvas de buena cepa (Zona Norte, 2015).

Es necesario resaltar que en ninguno de los casos descritos en la bibliografía, ha sido realizada la clasificación para vinos de origen mexicano, por lo que estudios al respecto contribuirán en gran manera en la autenticidad de los productos mexicanos, así como en la diferenciación con el único vino mexicano con denominación de origen que son los del valle de parras en Coahuila (México campo adentro, 2015).

1.1.1 Historia del Vino

El vino, del latín, es el licor alcohólico que se obtiene del zumo de la uva exprimida y fermentada. Algunos autores sitúan los orígenes de la vid en Asia Central, mientras que en otros aseguran su origen es europeo. Lo que sí se puede afirmar, es que el vino era conocido por todos los pueblos antiguos. La revelación del proceso de esa elaboración se atribuye a Osiris entre los egipcios y a Dionisio entre los griegos. Por su parte, los hebreos afirman que Noé fue el primero en cultivar la vid. Los romanos heredaron la afición al vino de los griegos gracias a las viñas plantadas por los etruscos (Garritz, 2011).

La viticultura debe su mayor desarrollo a la propagación del cristianismo, por ser necesario para la celebración de la misa. Durante la Edad Media la elaboración del vino fue un menester importante en los monasterios. Cada uno poseía su propio viñedo de donde se extraían los vinos litúrgicos. Así junto al carácter religioso, el vino ha tenido desde la antigüedad un gran valor político (Cedrón Fernández , 2014).

México es un importante productor de vinos pero escaso consumidor de ellos, es el más antiguo fabricante vinícola de América. Sus orígenes se remontan desde la época precolombina en la que los indígenas utilizaban la vid para hacer una bebida a la que agregaban frutas y miel. La historia de la viticultura mexicana inicio en el siglo XVI con la llegada de los españoles al Nuevo

Mundo y por consiguiente de la *Vitis vinifera* debido a que era fundamental en su dieta cotidiana y en las celebraciones eucarísticas, además que es la especie más apropiada para la elaboración de vinos de calidad, a diferencia de la *Vitis rupestris*, *Vitis labrusca* y *Vitis barlandieri* que eran utilizadas por las poblaciones locales antes de la llegada de los españoles (Hernández Vega, Mendoza Tolentino, & Conde Pérez, 2011).

El viñedo de la Nueva España se extendió a partir de la capital del virreinato hacia las regiones septentrionales, Baja California y Sonora. Los viñedos de la provincia de Puebla de los Ángeles (Huejotzingo y Tehuacán) fueron reconocidos por el virrey. Al adaptarse esta vid se volvieron lo suficientemente productivas para la elaboración de vino y aguardiente, razón por lo que poco a poco dejó de ser utilizado solamente en misas, por los reyes y la gente de poder. Al darse cuenta de esto, la corona española prohibió la siembra de más viñas en México permitiendo solo utilizar las ya existentes por el temor de que se volviera competencia para el vino peninsular. Los misioneros se negaron a acatar esta disposición y continuaron difundiendo en pequeña escala la elaboración del vino con fines sacramentales (Hernández Vega, Mendoza Tolentino, & Conde Pérez, 2011).

Posteriormente el desarrollo vinícola se detuvo como resultado de la guerra de Independencia y después la pérdida de los territorios del norte ocasionó que las hectáreas del viñedo mexicano se redujeran. En 1917 los vinos mexicanos empezaron a producirse seriamente, pero el vino mexicano carecía de personalidad por factores como la insuficiencia de conocimiento de la viticultura, la utilización de equipo defectuoso y la selección de variedades de uva.

Años después la producción y consumo del vino en México prosperó debió a la influencia que los españoles ejercieran en la población local, provenientes de la migración que ocasionó la guerra civil en España. La industria local elaboraba sustitutos que trataban de imitar las características de los vinos españoles, logrando su equilibrio entre los vinos nacionales y los de importación. Un año notable para la industria del vino en México fue 1984, ya que 15 de las más importantes empresas productoras de vino formaron la Asociación Nacional de Vitivinicultores y en los siguientes 6 años se afiliaron 14 compañías más. Posteriormente durante la década de los 90's se inició una nueva etapa para el consumo de los vinos en el país,

las principales empresas productoras de brandis aumentaron la elaboración de vinos de mesa como respuesta a las medidas creadas por el gobierno para disminuir el consumo de bebidas alcohólicas. Aunado a esto, la calidad de los vinos de vinificación y la integración de los procesos de la ciencia enológica moderna (Hernández Vega, Mendoza Tolentino, & Conde Pérez, 2011).

Para 1980 la Oficina Internacional del Vino eligió a México como sede para la celebración de su asamblea anual lo que significó que el resto del mundo comenzaba a reconocer al país como un reciente productor de vinos. En esta misma década de crisis económica provocó problemas en la importación de mercancías trayendo como consecuencia un favorable anuncio al consumo de vinos nacionales como sustituto de los productos extranjeros para los residentes ya aficionados al vino. Lamentablemente esta condición positiva duró poco ya que al reabrirse las fronteras como consecuencia de los tratados de libre comercio con América del Norte y Chile se empezaron a comercializar vinos extranjeros en forma amplia e indiscriminada, lo que obligó al cierre de más de 50 compañías productoras de vino por la falta de apoyo por parte de las autoridades mexicanas, aunque ahora se sabe que la verdadera razón por la que se originó este problema, fue que las casas vinícolas mexicanas más que preocuparse por la calidad del vino, le daban mayor énfasis al volumen; hecho que no se hacía evidente ante la falta de competencia.

A finales de los 80's y principios de los 90's un gran número de productores se dedicaron a crear un vino mexicano de alta calidad y por otro lado a la segunda oleada del vino del Nuevo Mundo que de acuerdo a la Asociación Nacional de Vitivinicultores (2004), estos vinos son los que se producen en lugares que no necesariamente tiene una tradición vitivinícola centenaria de alta calidad. Los californianos, australianos, sudafricanos y chilenos siendo precursores de los vinos del Nuevo Mundo fueron los primeros en ofrecer productos de calidad a la altura de los países vitivinicultores tradicionales. De esta manera, los estereotipos como la denominación de origen y *appellations contrôlées* empezaron a ser cuestionados al demostrarse que estos productos vinícolas podían competir con los buenos vinos españoles, italianos y franceses que aunque no tuvieran características similares, poseían la misma calidad (Salomón, 2004).

En el caso de México fue hasta la segunda oleada del Nuevo Mundo que junto con los neozelandeses y argentinos, empezaron a expandirse en los principales mercados internacionales (Consejo Mexicano de Vitivinícola, 2015). Dicha situación fue posible con el proyecto de Santo Tomás y Monte Xanic ya que fueron estas las primeras vinícolas mexicanas dedicadas a la producción de vino de calidad pues contaba con estándares internacionales reconocidos por especialistas. Además, el vino de Monte Xanic fue impulsado por la élite política de ese tiempo debido a que era éste, el vino que se bebía en Los Pinos. Aun así de acuerdo a Pinceles (2003) al vino mexicano le ha costado más de 15 años limpiar su mala imagen para ser competitivos con los vinos extranjeros.

De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) de 68 países productores de vino en 2002 México ocupó el lugar 25 con una producción de 10.1 millones de litros, lo cual representó 0.38% del total registrado por el organismo. Por su parte, la Asociación Nacional de Vitivinicultores señala que el consumo per cápita de vino en México en ese año fue de 200 mL, una cantidad muy lejana a la registrada en Italia (62 L), Francia (58 L), Chile (20 L) y Estados Unidos (8 L). La misma fuente señala que la producción fue de 1.2 millones de cajas de vino, de las cuales se exportaron 200 000 (16.7%). Al mismo tiempo se importaron 1.5 millones de cajas, es decir, 125% de los que se produjo ese año. Lo anterior sugiere que hay mucho por hacer en la industria vitivinícola nacional. La suerte de contar con los microclimas que exige la actividad para producir vino en gran escala, por un lado, y el bajo consumo per cápita y la magnitud de las importaciones, por otro, permiten augurar que a la industria le esperan tiempos mejores (Salomón, 2004).

1.1.2 Regiones Vinícolas

México produce vino en diversas zonas geográficas de características climáticas muy diferentes unas de otras. Actualmente, en el país hay cerca de 3 500 hectáreas dedicadas a la siembra de plantas de uva con fines vinícolas. El sector vinícola está integrado por más de 90 bodegas así como productores de uva para el vino, ofreciendo más de 350 etiquetas de vino, mismas que se encuentran en las principales zonas de la franja vinícola: Baja California, Coahuila, Querétaro, Zacatecas, Guanajuato y Aguascalientes (Figura 1).

México es el más antiguo productor americano y de acuerdo al criterio geográfico las hectáreas se clasifican en tres zonas vinícolas que son: Zona Norte, Comarca Lagunera y Zona Centro. (Cedrón Fernández , 2014)

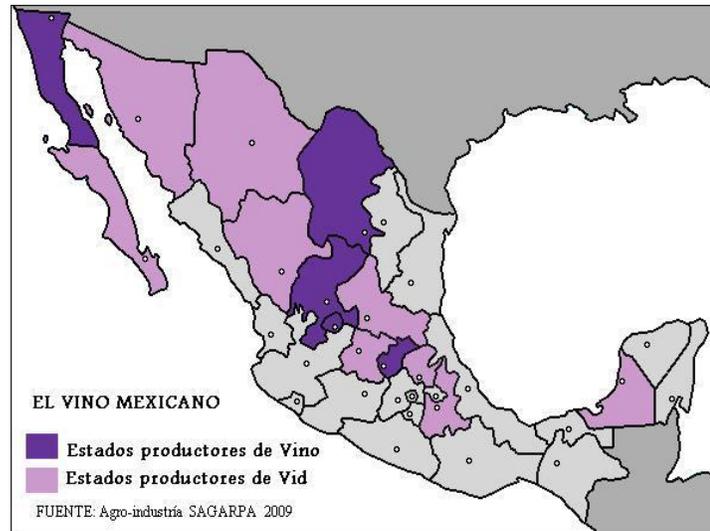


Figura 1. Zonas geográficas vitivinícolas de la República Mexicana

Zona Norte: Baja California y Sonora

Los estados que comprenden esta zona son Sonora y Baja California. En Sonora se produce la cantidad más grande de uva de toda la República Mexicana, aunque el clima no es considerado el mejor para la producción de vino, se obtiene un gran número de uva de mesa, uva pasa y aguardiente. Sus dos regiones vinícolas más importantes son Hermosillo y Caborca. Por otra parte, Baja California en el área sur de la línea fronteriza que se extiende de Mexicali hasta Ensenada en la costa del Pacífico, conocida como la franja del vino, cuyas propiedades climáticas consisten en inviernos húmedos y veranos de secos a templados. En esta región se encuentran las zonas de cultivo más importantes que son Valle de Guadalupe, Valle de Calafia, Tecate, Valle de Santo Tomás, San Vicente, Valle de Mexicali, Tijuana, Ensenada y Santo Domingo, de donde se obtienen las cosechas de máxima calidad (Cedrón Fernández , 2014).

Del total de los vinos elaborados en México, el 83% son producidos en esta zona, considerándose la más importante del país. Cuenta con 14 casas productoras de vino, entre las más destacadas por orden de tamaño de población son L.A. Cetto, Industrias Pedro Domeq y

Bodegas de Santo Tomas. Sin embargo, existen algunas otras con vinícolas que no han destacado por la calidad del vino. (Salazar, 2015)

Las principales cepas tintas y blancas que se encuentran en estos viñedos son Cabernet Sauvignon, Merlot, Cabernet Franc, Barbera, Zinfandel, Chardonnay, Sauvignon Blanc, Chenin Blanc y no menos importantes, al igual que en las otras variedades blancas, se incluyen variedades como Nebbiolo, Tempranillo, Grenache, Malbec, Petit Verdot, Syrah y Petit Syrah. Son utilizadas puras o mezcladas como propuestas de vinos por los diferentes productores. (Salazar, 2015)

✓ Vitivinícola L.A. Cetto

Es la empresa más importante en cuanto a producción de vino mexicano se refiere. Su fundador, un hombre visionario, Don Angelo Cetto que con gran convicción y fortaleza en 1928 siembra en tierras fértiles de Baja California la noble tradición vinícola europea, pero fue hasta el año 1983 cuando se lanzaron al mercado los primeros varietales de la línea L.A. Cetto y que en poco tiempo fueron apetecidos por los paladares más exigentes.

El Valle de Guadalupe, es único, mágico y misterioso, contrasta lo ancestral con lo moderno, lo tradicional con lo innovador; el verde de los viñedos y el ocre, el tostado, de los cerros y las colinas, San Vicente, San Antonio de las Minas y Tecate son los valles en que se encuentran los grandes viñedos de L.A. Cetto, los cuales son conocidos 'por su gran belleza y por la obtención de vinos de gran calidad con 14, 000 toneladas anuales de uva cosechadas de las 1,200 hectáreas que los componen y en donde existen viñas con hasta 100 años de edad (Diéz, 2013).

L.A Cetto cuenta actualmente con varias líneas de vinos, cada una con personalidades diferentes. *Clásica*, que son vinos excelentes para el primer paladar, que inician en el mundo del vino, cuenta con seis variedades (tres tintos, tres blancos) y dos vinos jóvenes: Cabernet Sauvignon, Petite Sirah, Zinfandel, Chardonnay, Chenin Blanc y Fumé Blanc, además de los jóvenes el Blanc de Zinfandel y el Blanc de Blancs. *Reservas Privadas*, para paladares más evolucionados, dispuestos a descubrir aromas y sabores más complejos, cuenta con tres vinos: Nebbiolo, Chardonnay y Cabernet Sauvignon; *Don Luis Selección*, resultado de un gran

esfuerzo por brindar vinos más sofisticados, tiene dos “coupage” Terra, Concordia y dos varietales, Merlot y Viognier y *Boutique*, que tras años de investigación, tiene unos vinos especiales: Malbec, Sangiovese, Syrah y un “coupage” compuesto por Chardonnay, Viognier y Pinot Noir. Además de estas cuatro líneas de vinos, cuenta con el primer vino de temporada en México (Salazar, 2015).

✓ Casa Pedro Domecq

Fundada en 1972, es uno de los productores más importantes de México con etiquetas populares como Padre Kino, Los Reyes, Calafia y Reserva Magna. El viñedo consta de más de 500 hectáreas que abarcan el Valle de Guadalupe, San Antonio de las Minas y San Vicente. El área de viñedos de Casa Pedro Domecq es conocida como Valle de Calafia, del cual su vino tomó el nombre (Ruta del Vino, 2015).

Cuenta con líneas de vino que van desde económicas hasta Premium, como Reyes, Varietales XA, Resserva Real, Chateau Domecq y Cava Reservada. Para la elaboración de dichos productos se utilizan uvas como French Colombard Riesling, Cabernet Sauvignon, Merlot, Chenin Blanc y Sauvignon Blanc.

✓ Bodega de Santo Tomás

Es la bodega más antigua de Baja California fundada el 1 de enero de 1988 por Don Francisco Andonegui que hasta nuestros días ha mantenido su tradición histórica y vocación vinícola, enfocándose en obtener volúmenes menores, pero de mayor calidad. Los valles de San Antonio de las Minas, Santo Tomas y san Vicente son hogar de más de 400 hectáreas de viñedos y 120 olivares.

Bodegas Santo Tomas tiene distintas opciones de vino ST, Misión, varietales, México Vientos, Tardo, Proyecto Kumiai, Pitxos y Kanté , Calviñe, Soleras, entre Santos y su vino Premium es el **Duetto**. Las cepas que se utilizan para su elaboración son Cabernet Sauvignon, Cabernet Franc, Merlot, Petit-Verdot, Malbec y Syrah. (Tomás, 2015)

En la actualidad existen otras bodegas dedicadas a la producción de vino menor prestigio, que tienen producción reducida, su promoción es prácticamente de boca en boca y sus vinos se caracterizan por venderse en altos costos.

Zona Comarca Lagunera

Esta zona abarca el 4% de la producción vinícola del país y comprende los estados de Coahuila y Durango. Las principales cepas ubicadas en estos viñedos son Cabernet Sauvignon, Chardonay, Merlot, Sauvignon Blanc, Tempranillo y Semillón. (Cedrón Fernández , 2014)

El estado de Durango, con clima seco desértico, es el destino de las cosechas de uva para la producción de destilados en un 74.85 %, uva de mesa y uva para hacer vinos en un 25.15 %, aproximadamente. La **Vinicola del Vergel**, en las cercanías de Gómez Palacio, fue fundada en 1943 por Luis García y produce brandis, vinos jóvenes y de postre; su orgullo es el vino tinto Viña Santiago (Salazar, 2015)

✓ Casa Madero

Se ubica en el Valle de Parras considerada la más antigua de América, nacida en el año 1597 por Lorenzo García, convirtiéndose en el primer productor de vinos con fines comerciales al fundar La Hacienda de San Lorenzo. En 1893 la propiedad fue vendida a don Evaristo Madero cuyos descendientes la operan hasta ahora bajo la razón social Casa Madero. Sus vinos se dividen en Casa Grande Gran Reserva, Casa Madero, San Lorenzo, Monte Viña, Carlón doble y Casa Grande (Cedrón Fernández , 2014).

Zona Centro

Los viñedos de Querétaro, Guanajuato y Aguascalientes se encuentran en una de las zonas vitivinícolas más peculiares del mundo. Ubicados fuera de la franja natural de producción de vino (nunca entre los trópicos), estos viñedos representan el punto más al sur de la producción vinícola del hemisferio norte. Aguascalientes, (D'Acosta, 1987) fue reconocido durante mucho tiempo como el estado vitícola más importante del país, tanto por su superficie como por su producción. Pero hoy, a pesar de esta tradición, su potencial enológico está limitado a unos cuantos viñedos aislados. Las principales viníferas cultivadas en los ocho municipios que

comprenden esta región, son las variedades Salvador, Cariñana, Chenin Blanc, Ugni Blanc o Trebbiano y Palomino.

Por otro lado, se encuentran Zacatecas y Querétaro, en donde Zacatecas es una de las zonas de más reciente incorporación a la viticultura mexicana; ambas regiones vitivinícolas son núcleos productores pues ambos satisfacen el gusto de los conocedores. Las diferentes cepas que estos estados cultivan son: Merlot, Ugni Blanc, Sauvignon Blanc, Semillón, Malbec, Gamay, entre otras (Cedrón Fernández , 2014).

En particular Querétaro tiene un clima muy adecuado para el cultivo de la vid, templado con veranos cálidos, lluvias abundantes de junio a septiembre y un suelo arcilloso y arenoso. Es zona donde las variedades de uva de ciclo corto obtienen un alto contenido en azúcares en detrimento de la acidez, por lo que se aconsejan variedades de ciclo medio o largo. Para cultivar el suelo del viñedo, se fresa y se ara para mantener la tierra sin cobertura vegetal, se usa el azadón y la cultivadora (tipo mecanizado). Entre las variedades de vinos producidos destacan los espumosos, pero también tintos de Cabernet Sauvignon y uva Salvador, propia de la zona.

1.1.3 Definición

El vino es un producto natural que puede definirse de diferentes maneras; una de las más sencillas probablemente es definido como una bebida alcohólica obtenida por la fermentación directa de la uva o de su mosto; contiene alcohol y múltiples productos secundarios, además contiene otras sustancias precedente en la que radica especialmente su valor desde el punto de vista de la salud. Otra más compleja y técnica es definirlo como una solución hidroalcohólica con cientos de componentes (algunos aún desconocidos) en su mayoría en pequeñas cantidades. Finalmente la definición descrita en el código internacional de prácticas enológicas de la OIV: *el vino es el resultado de la fermentación biológica y natural de la uva entera o de su mosto, llevada a cabo por microorganismos presentes en el medio ambiente de la bodega o en la superficie de la propia uva.* Una definición más completa es que se establece en la **ley 24/2003, 10 de julio de la Viña y el Vino en España: “EL vino es el alimento natural obtenido exclusivamente por fermentación alcohólica total o parcial de uva fresca, estrujada o de mosto de uva”** (Casares, 2010)

1.1.4 La Uva

La vid europea, *Vitis Vinífera*, son el elemento por el cual se elabora finalmente el vino, es una especie de antiguo conocimiento de la humanidad, teniéndose referencias de ella y de su producto (el vino) hace más de 5000 años en Egipto. Su origen parece haber sido entre los mares Negro y Carpio, donde todavía crece en condiciones silvestres. Esta planta adquirió importancia cuando se extendió a los países del mediterráneo y por todo el imperio Romano. Una importantísima viticultura se desarrolló en Francia, España, Italia, Bulgaria y en menor grado Alemania, Hungría entre otros.

Los conquistadores españoles fueron los encargados de diseminar esta especie por América consolidándose fuertemente en México, el suroeste de los Estados Unidos de América, Chile, Argentina y en menor cantidad Perú, Brasil y Uruguay.

Las variedades de la vid para vino que existían en la antigüedad se han seleccionado lentamente desde tiempos muy remotos. La variedad Moscatel era conocida por los griegos y la variedad Syrah fue llevada por los romanos desde Siracusa a Francia en tiempos de imperios. Con el tiempo en cada localidad productora de Vino se fueron seleccionando aquellas plantas que presentaban mejor adaptación y calidad en el producto, quedando de esta forma ligadas a ciertos tipos de vino.

1.1.4.1 Morfología de la Vid

Una planta de vid contiene en su interior todos los elementos necesarios para la elaboración del vino. Por esta razón es necesario comprender la morfología del fruto que puede ayudar a comprender el resultado final del vino. Esta morfología corresponde a las raíces, raicillas y una parte aérea del tronco, los brazos, los sarmientos o brotes, las hojas, yemas y las inflorescencias. Cada una de estas estructuras cumple un rol específico en la vida de la planta (Agudo García, 2014).

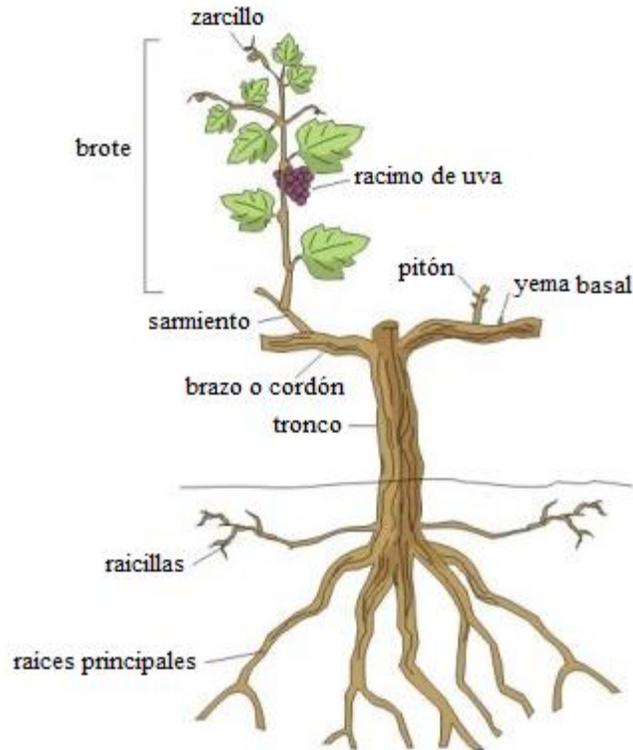


Figura 2. Morfología de la Vid (Tecniagrícola, 2013)

El fruto: Es una baya de forma esférica u ovalada, tamaño medio de 12-18 mm de diámetro y presenta una división concéntrica de zonas sin solución de continuidad (UPM, 2015):

- ✓ *Primera zona:* Se encuentran las semillas rodeadas de una fina capa protectora (endocarpio), las cuales contienen una muy alta concentración de azúcares (la mayor zona de concentración se encuentra rodeando las semillas) y ácido málico (se transforma en un azúcar mediante gluconeogénesis). Esta zona presenta ligeras tonalidades verdes. Las semillas están presentes en número de 0-4 por baya, cuando una baya no tiene semillas se le denomina *baya apirena*. Exteriormente se diferencian tres zonas: pico, vientre y dorso; interiormente se encuentra el albumen y embrión. (Figura 3)
- ✓ *Segunda zona (Mesocarpio):* Se compone principalmente de la pulpa, que es traslúcida a excepción de las variedades tintóreas (acumulan aquí sus materias colorantes). En esta zona, la concentración de azúcares disminuye progresivamente y aumenta la presencia de ácido tartárico. El segundo componente químico de la uva, tras los azúcares, es la presencia de estos dos ácidos: ácido málico y ácido tartárico. Ambos ácidos juegan un

papel importante en la elaboración de los vinos y los vinicultores son los que deciden modificar la presencia de cualquiera de ellos en el producto final (Figura 3).

- ✓ *Tercera zona (Epicarpio)*: Es la parte más externa de la uva y sirve de protección. Es membranoso, elástica y con epidermis cutinizada, en su exterior hay una capa cerosa llamada pruina, encargada de fijar las levaduras que fermentan el mosto y actúan como capa protectora (Figura 3).

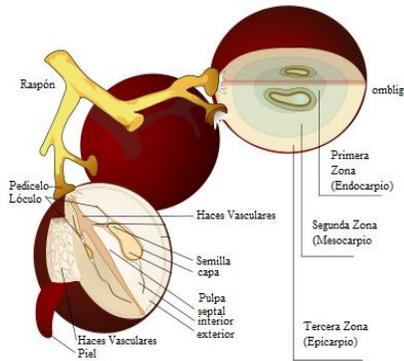


Figura 3. Partes del fruto de la Vid (Vinos, 2010)

La piel u *hollejo* varía según el estado fenológico en el que se encuentra. En la fase herbácea es de color verde y a partir del envero se torna de color amarillo en variedades blancas y rosado violáceo, en variedades tintas. Se conforma de 6-8 cepas de células en cuyo interior están los pigmentos que le dan color a las uvas y contiene *ácido linoléico, oleico, palmítico y estéarico, compuestos aromáticos*, que proporcionan las características de la variedad y *compuestos fenólicos* que dan cuerpo, color y gusto al vino. En esta parte se encuentran la mayor parte de los compuestos colorantes del vino (*antocianos*) y de los taninos de la uva que aporta una sensación de astringencia al vino.

El *raspón* también llamado raspa o escobajo forma la estructura o el esqueleto del racimo. Su estudio es de gran importancia porque permite conocer las sustancias que pueden incorporarse al vino durante la fermentación, llegando a la bodega en dos estados verde o maduro (lignificado).

El raspón verde tiene un gran contenido en agua, clorofila, taninos, ácido málico, ácido tartárico y sales minerales. Durante la fermentación le confiere al vino un sabor vegetal o herbáceo. En

cambio, los raspones maduros contienen menos agua, taninos, ácidos libres, pero mayor proporción de sales ácidas.

Durante la fermentación de los vinos tintos, una parte de estas sustancias se incorporan a los vinos aumentando su acidez y su contenido en taninos, de forma que se hacen más duros y astringentes. En el caso de fermentaciones defectuosas o largamente encubadas, los raspones pueden ceder al vino sabores desagradable y herbáceos (Agudo García, 2014).

1.1.5 Composición

1.1.5.1 Azúcares

Los principales azúcares presentes en el mosto son la glucosa y la fructosa, mientras que en la uva su concentración es insignificante, la cual es medida en Estados Unidos en Brix, y en Europa en grados Baumé.

La presencia de los azúcares es crítica para el desarrollo de las levaduras durante la fermentación, siendo la principal levadura *Saccharomyces*, alimentada de glucosa y fructosa. Los azúcares que no son consumidos durante la fermentación se denominan azúcares residuales (pentosa, arabinosa, ramnosa y xilosa).

Los azúcares residuales son de gran importancia en la tonalidad de un vino y su concentración puede aumentar durante la maduración en madera por la presencia de glucósidos. Dichos azúcares diferencian los vinos secos de los dulces. Su concentración se encuentra alrededor de 1.5 mg/mL.

1.1.5.2 Alcoholes

La fermentación alcohólica es un proceso metabólico anaeróbico que permite a las levaduras consumir los azúcares del mosto para liberar CO_2 y $EtOH$, que permanecen en el vino final. La concentración de etanol se suele medir en porcentaje en vino total y su variación depende del tipo de vino, en un intervalo del 7% - 19%.

Por otra parte, el vino tinto posee otros alcoholes como el CH_3OH , resultado de la hidrolización de las pectinas, existente en la piel de la uva mediante acción enzimática. Como este es tóxico, el mosto es precalentado para disminuir la concentración, su intervalo de concentración permitido es de 120-250 mg/L. Otros alcoholes presentes son el glicerol, relacionado

directamente con la temperatura de la fermentación en un intervalo de concentración de 15 – 25 mg/mL dependiendo el tipo de vino y el eritritol, dependiente de la cepa de la levaduras de la fermentación, Algunos otros son el arabitol, manitol, sorbitol, inositol. Todos los polialcoholes aportan dulzura al vino.

1.1.5.3 Ácidos

Los ácidos tienen la capacidad de conservar el vino, por lo que su presencia es necesaria para el añejamiento y en general refuerza de forma natural los sabores del vino en la cata.

La mitad del aporte de acidez es ocasionada por la presencia del ácido málico, encargado de detener la maduración de la fruta en épocas calurosas y su concentración es un indicador de la época de vendimia. Otro ácido es el tartárico, el cual reacciona con el potasio.

El ácido acético es otra sustancia presente generado durante la fermentación en concentraciones menores de 300 mg/L, su función es reforzar los olores y sabores proporcionando “complejidad”. Conjuntamente se encuentran el ácido succínico (sabor saldo-agrio) y láctico involucrado en la fermentación maloláctica. En general el medio ácido proporciona un efecto antimicrobiano (Casares, 2010).

1.1.5.4 Ésteres

Son los compuestos más abundantes encargado de aportar al vino un bouquet. Se suelen categorizar en enología en dos categorías: los que proviene de reacciones enzimáticas (butanoato, exanoato) y los formados por esterificación.

La mayoría de los ésteres tienen un aroma característico, permitiendo una clasificación orientada a la cata, siendo los volátiles y los no volátiles.

1.1.5.5 Compuestos nitrogenados

Se encuentran fundamentalmente es el mosto para que se realice una correcta fermentación. Los compuestos predominantes en las uvas son la prolina y la arginina, los cuales varían significativamente por el tipo de vitis vinífera. La glutamina y alanina están presentes en menor concentración.

1.1.5.6 Compuestos fenólicos

Son el tercer compuesto más abundante en el vino después de los carbohidratos y ácidos, pero son los que proporcionan los mayores atributos al vino. Los polifenoles afectan directamente a los sabores, los olores y otras capacidades sensitivas del vino, es por esta razón que los viticultores cuidan en detalle de su evolución durante las fases de vinificación. Su concentración depende de la variedad *Vitis vinifera* y del clima en el que se haya cultivado.

Además ocupan un papel importante en los procesos de oxidación del vino (oxidación fenólica) y es una de las reacciones más habituales en la maduración de los vinos tintos.

1.1.5.7 Constituyente inorgánicos

Los compuestos principales son carbonatos y óxidos, siendo el potasio el elemento metálico más abundante en las frutas *Vitis vinifera*, su concentración está afectada por las condiciones climáticas. Otro compuesto importante es el dióxido de azufre en una proporción desde 12 hasta 64 mg/L, acumulado durante la fermentación y empleado como fumigante de las cubas.

1.1.6 Elaboración

El vino llega al consumidor dotado de cualidades que se generan en los viñedos. Todos los atributos que apreciamos en esta bebida son concebidos por la naturaleza y por las manos de miles de hombres y mujeres que otorgan un carácter distintivo. Desde la viña, la uva recorre numerosas etapas que gestan la maravillosa transformación. Así, cada año, nacerá un vino nuevo que expresará las características de la procedencia y la cultura que le da origen. (Fondo Vitivinícola, 2014)

La elaboración de un buen vino necesita uvas sanas, en estado de madurez apropiado. Dado que es un producto natural, es susceptible a diferentes transformaciones, por ello debe ser guiado con pericia y cuidado por los técnicos.

Vendimia

La determinación exacta de la fecha de la vendimia depende de una infinidad de factores entre los cuales los más importantes son:

- ✓ El clima que haya existido durante la temporada de crecimiento
- ✓ El manejo de la fertilización, riego y poda que se le haya dado a la plantación durante la temporada de crecimiento
- ✓ Búsqueda de alguna característica en particular como: mayor acidez, mayor contenido de azúcar, pudriciones nobles, etc.; las cuales son necesarias para la elaboración de un producto especial.

Como regla general, las fechas de la vendimia de variedades blancas son anteriores a las variedades tintas, existiendo a su vez una variación en la fechas de un producto en especial.

La vendimia de las variedades tintas se basa en la característica más importante que es en su cuerpo y color, obtenida en gran parte de la piel de la uva. El proceso es absolutamente opuesto a la vendimia de los blancos, siendo más tolerable a la condiciones de manejo y temperatura.

Cosecha

Entre finales del siglo XIX y principios del XX la uva se recolectaba en canastos de mimbre, pero este recipiente era difícil de manipular y el jugo de la uva se filtraba por las aberturas del tejido. Por lo que, con el tiempo, se remplazaron y actualmente la recolección se realiza en cajas metálicas (tachos) o cajas plásticas. Los cosechadores recorren las hileras cortando, con tijeras, los racimos de uva, se depositan en los recipientes que pueden contener entre 15 y 20 kg de uva y una vez completado el contenido del tacho se traslada hasta un camión, que más tarde llevará la uva hacia la bodega, donde el operario recibe como pago una ficha, que es una especie de moneda de aluminio, con el nombre del viticultor o de la empresa dueña del viñedo y al final de la semana o del día, cambia esas fichas por su equivalente en dinero, según el precio que se haya pactado con anterioridad. Los camiones suelen utilizar una carpa impermeable para evitar que se pierda el líquido y en otros casos, la uva es trasladada directamente en las cajas plásticas.

La Vendimiadora mecánica es otra forma de llevar a cabo la cosecha, la cual funciona con un sistema de bastones que sacuden la planta de modo que los granos se separen del escobajo, a continuación la uva es transportada mediante unas cintas que la depositan en un recipiente llamado tolva, la cual, en la mayoría de los casos, forma parte de la máquina cosechadora. La versatilidad de las máquinas hace posible que se regule el proceso de acuerdo a distintos

requerimientos: en función de la variedad, de las condiciones climáticas y del terreno el viñedo y en esto interviene la capacitación y experiencia del conductor. Entre las ventajas que se mencionan de las máquinas cosechadoras para uva hay que destacar su rapidez, ya que pueden vendimiarse entre 4 y 8 hectáreas por día, ingresar al viñedo aún en malas condiciones climáticas (con lluvias) o realizar cosecha nocturna, lo cual en zonas cálidas resulta fundamental para mantener a baja temperatura las uvas y conservar muchas de sus características aromáticas. Así también se ahorra energía ya que la uva debe enfriarse menos al llegar a la bodega. Si bien cualquier viñedo puede ser cosechado con máquina, en muchos casos es imprescindible adaptar su diseño a la vendimiadora. Por eso, deben cambiarse palos y alambres en mal estado, sacar los frutales u olivos que están en los extremos de las hileras, entre otras cosas. Lo mismo ocurre con las bodegas, en las cuales será conveniente tener la tecnología de recepción y el equipamiento adecuados. (Fondo Vitivinícola, 2014)

Una vez transportada la uva a la bodega, se deposita en el lagar o es dispuesta en la cinta de selección, en la que se separan racimos o granos defectuosos, hojas o cualquier elemento extraño que pueda venir con la uva. Los cuidados en esta etapa tienen una importancia fundamental, ya que influyen directamente en la calidad final del vino. Los aspectos a tener en cuenta son la temperatura y el tiempo transcurrido entre la cosecha y el arribo de la uva a la bodega. Lo que se procura es evitar las oxidaciones y otros procesos microbiológicos que no son convenientes para el vino.

Las etapas de la vinificación varían según el tipo de vino. En el caso del vino tinto que es de nuestro interés las etapas son las siguientes: (Figura 4). (Fondo Vitivinícola, 2014)

***Selección de la uva:** Para determinados tipos de vinos se procede a una selección previa de la uva. Los racimos depositados se separan de los granos rotos, enfermos o verdes, los restos de hojas u otras partes de la planta y elementos extraños.

***Despalillado:** Los objetivos principales de este proceso son la separación del racimo, las bayas o granos de uva de las partes vegetales (raspón), para eliminar sabores y aromas vegetales desagradables y moler parcial o totalmente los granos de uva ya separados para facilitar el prensado, la maceración y la acción de las levaduras en los vinos tintos específicamente.

En el proceso los racimos son colocados enteros en el interior de un despallador, que consiste en un tambor rotativo de acero inoxidable con perforaciones circulares en toda la superficie y en el interior hay una serie de varillas ordenadas de forma helicoidal que rotan en sentido opuesto a la rotación del tambor, separando el grano del resto del raspón, el cual cae por las perforaciones del tambor hacia el molidor mientras el raspón es descartado por las mismas varillas. El molidor es el encargado de reventar el grano, está constituido de dos o más cilindros de superficie ondulada que giran en forma paralela entre sí y en sentido transversal de la caída de las uvas.

*Molienda o estrujado: Encargado de separar las partes sólidas (piel de las uvas, semillas, hojas y trozos de raspón), de las partes líquidas (jugo de uva sin fermentar).

*Sulfitado: Una vez que el mosto y los orujos son colocados en la vasija, se agrega una dosis de anhídrido sulfuroso que cumple con dos funciones principales: antiséptico y antioxidante.

*Encubado: El mosto se encuba junto con la pulpa, el hollejo y las semillas o pepitas. Se puede colocar en distintos tipos de vasija: acero inoxidable o piletas de hormigón armado.

*Fermentación alcohólica: Se realiza a temperaturas que van de los 24°C a los 30°C dependiendo del tipo de vino a elaborar. Pasa lo mismo con los tiempos de encubado que varían de 7 a 20 días o más. En esta etapa, además de comenzar la fermentación, se produce otro proceso que es el de maceración, por el cual el jugo de la uva al estar en contacto con la piel y otros elementos sólidos irá ganando color, taninos, aromas y sabores. En los tintos de guarda la fermentación es a temperaturas más altas y las maceraciones son más prolongadas ya que le otorgan una mayor estructura al vino, con más cantidad de polifenoles y mayor suavidad en los taninos.

La fermentación se completa cuando la cantidad de azúcares reductores es inferior a los dos gramos por litro. En ese momento se procede al descube o la separación del vino flor de los orujos (semillas, hollejos y pulpa).

*Prensado: La calidad final del vino depende en gran medida del prensado a que es sometido y se tiene como regla general **que mientras más fuerte y prolongado sea el prensado, el vino será de menor calidad final**. Esto se debe a que los prensadores excesivos extraen de la piel u orujos una serie de sustancias (aromas, taninos, vegetales) que deterioran enormemente la calidad.

Por esta razón, todas las vinícolas separan los productos obtenidos por los diferentes grados de prensado en distintas calidades del vino final, las cuales son:

- ✓ Vino gota o flor: Es aquel vino que se separa de la piel por medio de la acción de gravedad, es decir no se lleva a cabo el prensado. El vino obtenido es de mejor calidad y generalmente se emplea en vino de reserva o de producción limitada.
- ✓ Vino de prensado suave: El vino se obtiene mediante la acción leve de equipo de prensa. Dependiendo de la calidad obtenida es empleado en vino exclusivos o de consumo barato.
- ✓ Vino de prensado fuerte: Es aquel que se extrae del último y más fuerte prensado que se le realiza a la uva. Se emplea para vinos baratos o subproducto de vinificación para la producción de otras bebidas.

Existen diferentes tipos de prensas: *Prensa continuas*, que trabajan de manera continua y violenta que destruye enormemente los tejidos vegetales liberando un vino contaminado y *Prensas manuales*, son un conjunto de trozos de madera separados por un espacio entre sí, en forma circular y sostenida con cinturones metálicos utilizadas en la antigüedad.

*Fermentación maloláctica: La uva contiene ácido tartárico, ácido málico y ácido cítrico. Este último desaparece rápidamente durante el proceso de fermentación alcohólica. El ácido málico es de suma importancia biológica para el vino. Durante la fermentación alcohólica el ácido málico comienza a transformarse por las levaduras y ciertas bacterias lácticas, en ácido láctico. Pero terminada la fermentación alcohólica estas bacterias que suceden a las levaduras alcohólicas efectúan lo que se conoce como fermentación maloláctica. En ella el ácido málico termina de transformarse en ácido láctico, anhídrido carbónico y una serie de compuestos, que aportan a los vinos aromas mantecosos. En esta etapa el vino debe mantenerse a temperaturas cercanas a 20°C.

*Trasiego: En los vinos nuevos se produce una clarificación espontánea. Esto implica que los sedimentos se depositan en el fondo de la vasija formando borras. No es aconsejable que los vinos estén mucho tiempo sobre ellas, por lo que los trasiegos son frecuentes en las bodegas. Esta operación consiste en sacar los vinos que se encuentran sobre borras y pasarlos a otra vasija limpia, evitando arrastrar los sedimentos.

*Clarificación: Consiste en agregar al vino una sustancia de naturaleza coloidal (mineral, vegetal o animal) que es capaz de arrastrar hacia el fondo de la vasija aquellos elementos en suspensión no deseados en el vino.

*Crianza: Los vinos tintos pueden ser jóvenes, frescos, frutados. Se los llama tintos jóvenes, primicia o del año. Otros vinos pueden atravesar un proceso llamado crianza, que consiste en estacionar los vinos generalmente en barricas de madera (generalmente roble francés o americano), lo cual permitirá, después de la fermentación maloláctica, que el vino se enriquezca en aromas, sabores y estructura. La crianza en barricas, además, favorece la estabilización del color.

*Embotellado: Cuando se completa la crianza se procede a fraccionar el vino y embotellarlo cuidadosamente. (Fondo Vitivinícola, 2014)

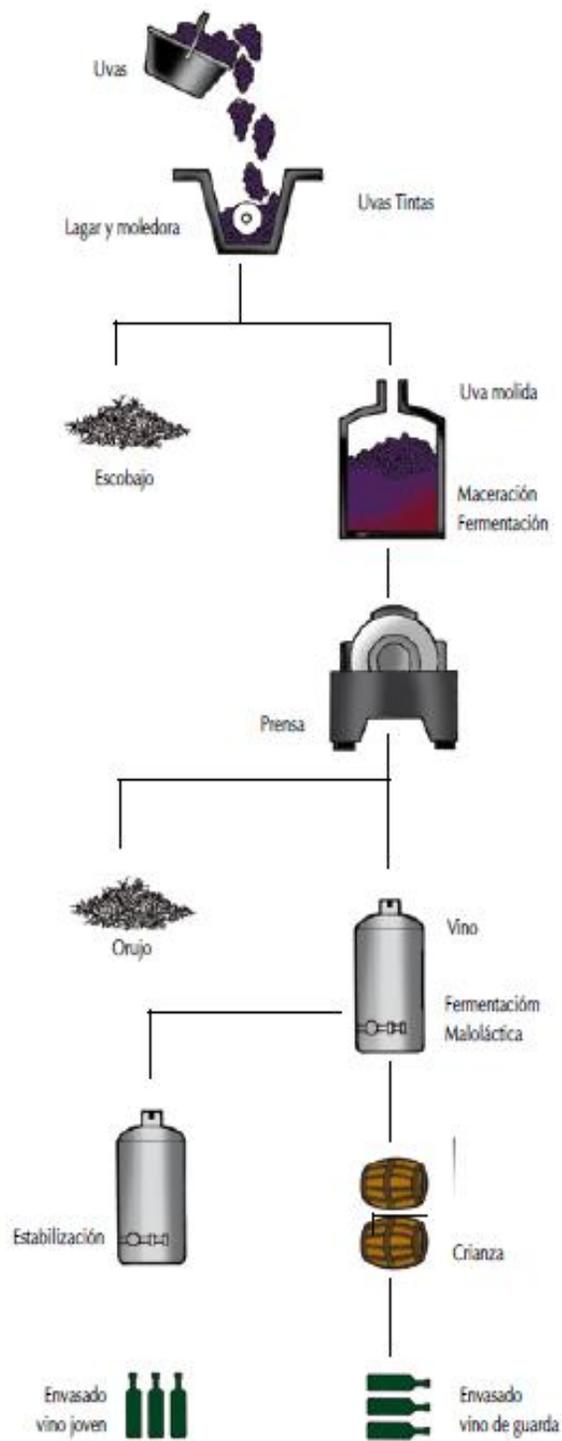


Figura 4. Proceso de elaboración del vino tinto (Fondo Vitivinícola, 2014)

1.2 POLIFENOLES

1.2.1 Definición

Los polifenoles se originan principalmente en las plantas, que los sintetizan en gran cantidad, como producto de su metabolismo secundario, se localizan en todas las partes de las plantas y su concentración es variable. Estos compuestos son indispensables para las funciones fisiológicas vegetales como la asimilación de nutrientes, la síntesis proteica, la actividad enzimática, la fotosíntesis, la formación de componentes estructurales, la alelopatía y la defensa ante los factores adversos del ambiente.

Los fenoles están asociados al color, las características sensoriales (sabor, astringencia, dureza), las características nutritivas y las propiedades antioxidantes de los alimentos de origen vegetal. La característica antioxidante de los fenoles se debe a la reactividad del grupo fenol (Robbins, 2003; Kähkönen et al, 2001).

1.2.2 Clasificación

El término fenoles comprende aproximadamente a 8000 compuestos que aparecen en la naturaleza. Todos ellos poseen una estructura común: un anillo fenol, que es un anillo aromático o bencénico que lleva al menos un sustituyente hidroxilo (Figura 5).

Según su estructura química, existen varias clases y subclases de polifenoles que se definen en función del número de anillos fenólicos que poseen y de los elementos estructurales que presentan estos anillos. Los principales grupos de polifenoles son: ácidos fenólicos (derivados del ácido hidroxibenzoico o del ácido hidroxicinámico), estilbenos, lignanos, alcoholes fenólicos y flavonoides. Todos estos compuestos según su estructura química están concentrados en dos grandes grupos: **Fenoles Flavonoides y Fenoles No Flavonoides.**

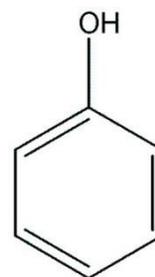


Figura 5.
Estructura
química del
Fenol

1.2.2.1 FENOLES NO FLAVONOIDES

Esta denominación abarca a los ácidos fenólicos, divididos en ácidos benzoicos (C₆-C₁) y ácidos cinámicos, portadores de una cadena lateral insaturada (C₆-C₃), pero también a otros derivados fenólicos como los estilbenos.

Ácidos Fenólicos

Los ácidos fenólicos son incoloros, inodoros e insípidos, aunque con el tiempo y la oxidación puede tornarse de color amarillo, así como también, bajo la acción de algunos microorganismos, pueden transformarse en fenoles volátiles, que presentan olores característicos. Los vinos tintos contienen mayor cantidad de ácidos fenólicos que los blancos encontrándose en concentraciones de 100 a 200 mg/L. Se caracterizan por la presencia de un solo anillo bencénico en su molécula y se clasifican en dos grupos: (Tsao, 2010)

Ácidos benzoicos: Se consideran derivados del ácido *p*-hidroxibenzoico (Figura 6) y son los siguientes:

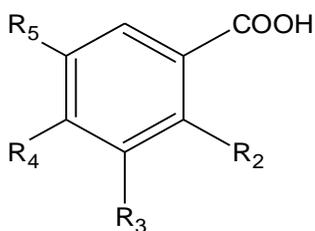


Figura 6. Estructura química de los ácidos benzoicos de mayor importancia enológica.

Nombre del ácido <i>o</i> -benzoico	R_2	R_3	R_4	R_5
<i>p</i> -hidroxibenzoico	H	H	OH	H
protocatéquico	H	OCH ₃	OH	H
vanílico	H	OH	OH	H
gálico	H	OH	OH	OH
siringico	H	OCH ₃	OH	OCH ₃
salicílico	OH	H	H	H
gentísico	OH	H	H	OH

Las formas libres de estos compuestos son más comunes sobre todo en el vino tinto, debido a la hidrólisis de esas combinaciones, en particular las antocianinas, abajo la acción del calor.

Ácidos Cinámicos: Se caracterizan por poseer una estructura C₆ – C₃ (Figura 7). Los ácidos cinámicos de mayor importancia enológica son:

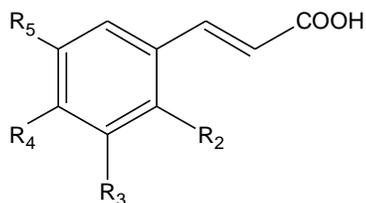


Figura 7. Estructura química de los ácidos cinámicos de mayor importancia enológica

Nombre	R_2	R_3	R_4	R_5
<i>p</i> -cumárico	H	H	OH	H
caféico	H	OH	OH	H
ferúlico	H	OCH ₃	OH	H
sinapico	H	OCH ₃	OH	OCH ₃

Debido a la presencia del doble enlace existen dos formas isoméricas, La más frecuente en la naturaleza es la formas *trans*, ya que es termodinámicamente la más estable, pero se isomeriza fácilmente por acción de la luz. Los isómeros *cis*, largo tiempo confundidos con los derivados glucósilados, existen en pequeña cantidad.

La mayoría de los ácidos cinámicos están presentes en la uva y en el vino de forma esterificada, en su mayor parte con ácido tartárico. Estos son los ácidos cafeoil tartárico o caftárico ($R_1=OH$), *p*-cumaroil tartárico o cutárico ($R_1=H$) y feruloil tartárico o fertartarico ($R_1=OCH_3$) (Figura 8).

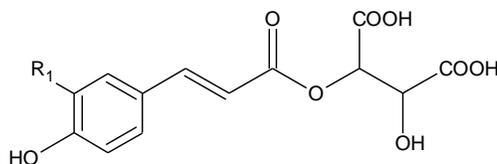


Figura 8. Ésteres hidrocínámicos de la uva

Los esteres con el ácido tartárico son constituyentes del jugo de uva y son particularmente oxidables siendo la causa del ennegrecimiento del mosto blanco, en particular el ácido caftárico.

Estilbenos

Se caracterizan por poseer dos ciclos bencénicos unidos generalmente por una cadena etanol o eventualmente etileno. A esta familia de compuestos fenólicos pertenecen las fitoalexinas, sustancias sintetizadas por las plantas en respuesta a restricciones o estrés de diversa índole. En la uva se ha encontrado el resveratrol, bajo su forma *trans*. El resveratrol se encuentra en tejidos vivos que forman parte de diferentes órganos como las hojas o los frutos, en el caso de la uva se acumula principalmente en la epidermis, y por ellos, las uvas y el vino constituyen una fuente

casi exclusiva de resveratrol en la dieta humana juega un rol importante en la resistencia de ciertas bayas de uva al ataque de enfermedades fúngicas como las Podredumbre del racimo. Las concentraciones de resveratrol encontradas oscilan para los vinos tintos entre 0.001 – 10 mg/L (Rebolo López, 2007).

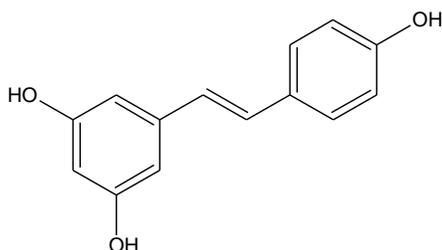


Figura 9. Estructura química del Resveratrol

1.2.2.2 FENOLES FLAVONOIDES

Estos productos proceden de la piel de la uva y tienen gran importancia enológica al dar el color, esencia y sabor al vino (tinto). Estos compuestos, están principalmente unidos a azúcares, aunque también se pueden encontrar sus formas libres. La presencia de muchos de ellos es fácilmente reconocible como pigmentos de flores y frutos. Están caracterizados por un esqueleto base de 15 átomos de carbono $C_6 - C_3 - C_6$ del tipo 2-fenil-benzopirona, es decir, están

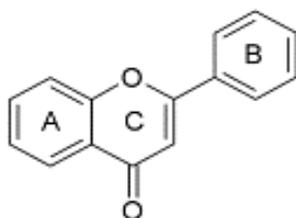


Figura 10. 2-fenil.benzopirona

formados por dos anillos bencénicos unidos por una cadena de 3 carbonos, que se cierra en heterociclo oxigenado compuesto de 6 eslabones (Figura 10).

Estos compuestos están divididos en varias subclases que se distinguen por el grado de oxidación de su núcleo pirano. Entre ellos se encuentran los polifenoles más interesantes de los vinos, por concentración y por propiedades específicas. Se clasifican en: **antocianos, taninos y flavonoles** (Figura 11).

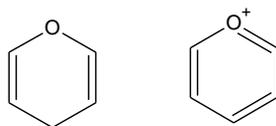


Figura 11. Estructuras química de pirano (izquierda) y pirilo (derecha)

Antocianos

Son pigmentos muy abundantes en los vinos tintos, pues son responsables de las coloraciones rojas, azules y violetas; en general a pH ácido estos compuestos presentan coloraciones rojizas, mientras que a pH más básicos envejecimiento del vino, generando entre otros factores, sabores amargos. Están localizadas en la vacuola de las células del hollaje y en las tres o cuatro primeras capas celulares de la hipodermis y presentan tonos azulados. Estos compuestos se encuentran en el vino durante su proceso de elaboración, mayoritariamente en los vinos tintos y pueden sufrir modificaciones durante el proceso de fermentación.

En dicho grupo pirilo (Figura 12) se observa el oxígeno tetravalente con una valencia libre que confiere carácter iónico a la molécula entera de antociano. EL grupo constituido por el primer anillo bencénico (A) ligado con el grupo pirilo recibe el nombre de grupo benzopirílico. Este grupo unido a su vez con el segundo anillo bencénico (B), se llama conjuntamente catión flavilio.

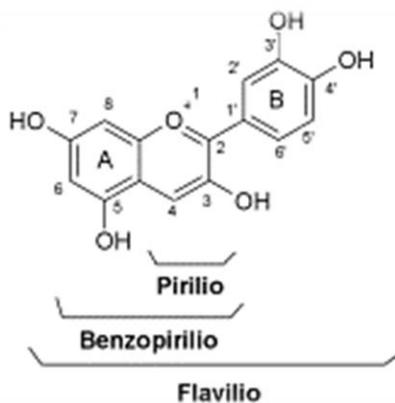


Figura 12. Catión flavilio

Estos compuestos no existen en la naturaleza bajo forma antocianidina, pero si bajo la forma antocianina, dado que las antocianidinas están siempre esterificadas con una o más moléculas de una azúcar que le confiere estabilidad. Este complejo esterificado es el que toma el nombre de antocianina o antociano, es decir, químicamente los antocianos son los glicósidos de las antocianidinas y a su vez son las agliconas de los antocianos.

Las agliconas (antocianidinas) de los antocianos presentan en varios carbonos grupos hidroxilo (OH) y a veces grupos metoxilo (OCH₃).

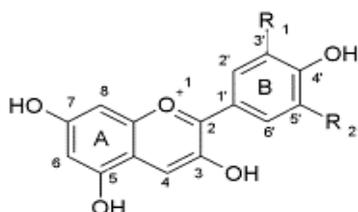


Figura 13. Fórmula estructural de las antocianidinas comunes

Nombre		R_2	R_3
Pelargonidina		H	H
Cianidina		OH	H
Peonidina		OCH ₃	H
Delfinidina		OH	OH
Petunidina		OCH ₃	OH
Malvidina		OCH ₃	OCH ₃

La relación entre los diferentes antocianos presentes en un vino tinto varía con la variedad de uva. Además, la cantidad global de antocianos varía notablemente de un año a otro, pero representan siempre aproximadamente la mitad del contenido total fenólico presentes en las células de la piel. A todo ello hay que añadir que los niveles relativos de antocianos pueden variar en función del terreno, de la temperatura y de las condiciones climáticas.

Taninos

Desde el punto de vista químico, son moléculas fenólicas relativamente voluminosas y por lo tanto forman complejos estables con las proteínas y con otros polímeros vegetales como los polisacáridos. Este modo de los taninos tienen pesos moleculares entre 600 y 3500 g/mol. Según la naturaleza de las moléculas elementales, se pueden clasificar en dos grandes grupos: los taninos hidrolizables (gálicos) y los taninos condensados (Rebolo López, 2007).

Taninos hidrolizables: Comprenden a los galotaninos y a los elagitaninos, liberando por hidrólisis ácida respectivamente ácido gálico y ácido elágico y ambos contiene una molécula de glucosa. Los más abundantes pertenecen a los elagitaninos, donde destacan la vescalagina y las catagalina, que al hidrolizarse se transforman respectivamente en vescalina y castalina.

Estas sustancias son muy solubles en medios hidroalcohólicos como es el vino o los aguardientes. Su oxidabilidad y sus propiedades gustativas les confieren un sabor característico a los vinos tintos y blancos criados en barricas de robles.

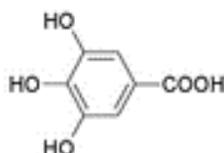


Figura 14. Estructura del ácido gálico

Taninos condensados: Son polímeros más o menos complejos de flavan-3-oles o 3-flavanoles, también llamados catequinas. Estas sustancias se localizan principalmente en las semillas, aunque se han detectado también trazas de monómeros y dímeros en la pulpa. Los principales 3-flavanoles monómeros de la uva cuya estructura puede observarse son la (+) catequina y su isómero la (-) epicatequina, pudiendo encontrarse este último bajo forma de éster gálico (3-galato de epicatequina). La galocatequina, el 3-galato de catequina y el 3-galato de galocatequina han sido igualmente puestos de manifiesto, pero parecen específicos de ciertas variedades del género *Vitis* (Figura 15).

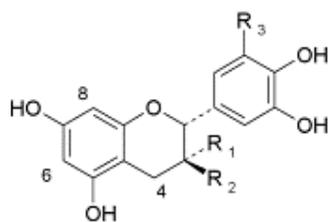


Figura 15. Estructura de los flavonoles monómeros de la uva

Nombre	R_1	R_2	R_3
Catequina	H	OH	H
Galocatequina	H	OH	OH
Epicatequina	OH	H	H
Epigalocatequina	OH	H	OH

En los vinos el contenido de taninos es muy variables, en el vino tinto depende del cepaje y de las condiciones de vinificación, oscilando de 1 – 4 g/L. (Rebolo López, 2007)

Flavonoles

Están únicamente presentes en los hollejos, bajo forma de glucósidos en posición 3. Son pigmentos de color amarillo que se encuentran tanto en los vinos tintos como en los blancos. Las cantidades de flavonoles en los vinos tintos la proporción es notablemente alta de 15-20 mg/L. Las agliconas de los flavonoides están presentes en los vinos tintos después de algunos meses de la vinificación, mientras que en la uva están presentes sus glucósidos, los cuales después se hidrolizan en el vino. En la uva se han caracterizado ocho flavones monoglucósidos y tres diglucósidos. Las formas glucosiladas son las más abundantes, pero también se encuentran unidas a galactosa, xilosa y arabinosa.

1.2.3 El vino tinto como nutracéutico

El ser humano siempre ha buscado una mejor forma de vivir, de tener una excelente salud y condición de vida, así como de vivir por más tiempo y en los últimos años se ha generado una necesidad de ingerir macro-nutrientes (proteínas, carbohidratos y grasas) y micro-nutrientes (vitaminas y minerales esenciales). Siendo así que el sector de la alimentación y los consumidores han empezado a ver la comida no únicamente desde una óptica nutricional, sino una opción benéfica para la salud. Así la interacción de alimentos-medicina denomina a los componentes alimenticios como “nutrientes esenciales” por el mantenimiento de la vida y la salud y “nutrientes no nutricionales” a los que contribuyen a prevenir o retardar las enfermedades crónicas de la edad madura. Dirigiendo la tendencia mundial hacia la introducción de los llamados productos Nutracéuticos, los cuales se definen como sustancias químicas o biológicas que pueden encontrarse como componente naturales de los alimentos o adicionarse a los mismos y que resulten especialmente beneficiosos (Pérez Leonard, 2006).

Este papel beneficioso va más allá del que se podría atribuir a los constituyentes nutritivos de los alimentos (lípidos, proteínas, carbohidratos, micronutrientes) y en muchos casos se asocia a la presencia de sustancias antioxidantes naturales en los alimentos. Estos efectos sólo tienen reflejo en la fisiología cuando forman parte de un hábito alimentario que hace que se ingieran estas sustancias durante un largo periodo de tiempo, cuando los síntomas de la enfermedad que ayudan a combatir, todavía no han aparecido. (Barbarán, 2003)

Diversos estudios sugieren un efecto beneficioso del consumo de polifenoles del vino como factor de protección cardiovascular, por la riqueza y la composición de los antioxidantes que dependen de numerosos factores: variedad de viña, tipo de vino, clima y terreno, cosecha temprana o tardía, procedimientos de prensado de la uva, tiempo de fermentación del mosto con la piel, método de clarificación, crianza en barricas de roble o en cubas de acero, duración de la conservación en barrica o en botella, etc.

Así, algunos polifenoles tienen un papel relevante en la prevención de enfermedades cardiovasculares, cáncer y enfermedades neurodegenerativas como se desprende de estudios epidemiológicos y experimentaciones *in vitro* y en animales de experimentación. Entre sus beneficios evitan la oxidación del LDL reduciendo la incidencia de enfermedades cardiovasculares. El reino vegetal de los polifenoles nos ofrece una amplia variedad de otros ingredientes con efectos positivos en la salud, dependiendo del metabolito presente. Dichos beneficios los se pueden encontrar en productos como el té verde, el vino tinto y el chocolate (Barbarán , 2003).

Tanto la sociedad de Cardiología Española como el Colegio Americano de Cardiología están seguros de que el vino en dosis moderadas protege a las arterias coronarias de padecer un infarto de miocardio o una angina de pecho. Si la OMS tiene que dar un mensaje a todo el mundo no puede decir que el alcohol es bueno, pero el consumo de dosis bajas de vino tinto puede tener un efecto beneficioso. Aunque es importante recordar que el vino no es la única ni la principal fuente de flavonoides de la alimentación. La fruta, las legumbres y el té en una dieta occidental estándar aportan más de 25 mg de flavonoides/día. El vino tinto a dosis moderadas (< de 250 mL/día) puede contribuir con 2,5 a 5 mg suplementarios. Aunque algunos autores han calculado que la alimentación occidental aporta hasta 1 g de flavonoides al día, una gran parte es destruida o no absorbida en el intestino (Matev, 1994).

1.3 TÉCNICAS ANALÍTICAS

1.3.1 Electroforesis Capilar

La Electroforesis Capilar es una técnica analítica de separación que se utiliza también para identificación y cuantificación de gran importancia y auge internacional en diversa áreas de investigación, pero poco utilizada en nuestro país por la existencia de un mínimo de expertos y el desconocimiento de sus ventajas.

1.3.1.1 Fundamento

Muchas moléculas importantes poseen grupos ionizables y pueden tenerse en solución en forma de especies con carga eléctrica, ya sea como cationes (+) o aniones (-) Además las moléculas que posean cargas similares suelen tener distintas relaciones carga/masa. En conjunto, estas diferencias constituyen base suficiente para una migración diferencial, cuando los iones en disolución se someten a un campo eléctrico (Castillo M., et. Al. 2005).

Los cationes se trasladan hacia el cátodo (-) y los aniones hacia el ánodo (+) a velocidades que dependen del equilibrio entre la fuerza impulsora del campo eléctrico sobre los iones cargados de la muestra y las fuerza de retardo entre las moléculas que migran y el medio circundante, que son principalmente fuerzas electrostáticas. La corriente se mantiene por todos el circuito ya que los electrodos, están sumergidos en viales que contiene amortiguador. Las separaciones electroforéticas se originan por las diferentes movilidades de los analitos cuando están sometidas a un campo eléctrico. La **movilidad electroforética** se ve afectada por la carga, la forma y tamaño del analito así como de la viscosidad del medio y del flujo electroosmótico.

1.3.1.2 Principios de la separación electroforética

1.3.1.2.1 Movilidad electroforética

La electroforesis es el proceso en el cual los iones de la muestra se mueven a diferentes velocidades por la influencia de un voltaje aplicado. La velocidad de un analito iónico (para electrolitos fuertes) está dada por la fórmula:

$$v = \mu E$$

v = velocidad del analito

μ = Movilidad electroforética

E = campo eléctrico

El campo eléctrico esta dado en volts/cm, por lo que depende de la longitud del capilar y la fuerza del potencial aplicado. Asimismo la movilidad electroforética depende de la especie iónica, tamaño, carga, temperatura, naturaleza y concentración, por lo tanto la movilidad electroforética se define con la siguiente ecuación, haciendo evidente que especies o analitos cargados pequeños tienen alta movilidad, mientras que especies cargadas con gran peso molecular muestran baja movilidad:

$$\mu_{EF} = \frac{Q}{f} = \frac{Q}{6\pi\eta r}$$

Q = Carga del analito

η = viscosidad de la solución

r = radio molecular

1.3.1.2.2 Flujo electroosmótico

Es un constituyente fundamental, generado por la presencia del campo eléctrico en una solución iónica cuando entra en contacto con una superficie sólida cargada. Por ejemplo, en un capilar de sílice fundida, la interface se pone en contacto con la solución que contiene el electrolito soporte, la superficie del sólido está con carga negativa debido a la ionización del grupo silanol ($\text{pH} > 4.0$) y conjuntamente con sus iones forman una doble capa eléctrica, los iones presentes en el sistema bajo la influencia del voltaje aplicado son desplazados hacia el cátodo o ánodo de acuerdo a su carga, arrastrando al disolvente con ello, dada su solvatación, originado por el flujo electroosmótico (FEO).

Es importante señalar que el FEO puede modificar la migración de los iones, ya que los cationes son impulsados por este a una mayor velocidad. Si por otra parte la especie se mueve en contra

del FEO su velocidad disminuye. La movilidad del FEO varía de acuerdo al pH del amortiguador, observándose así que a pH alto la movilidad del FEO es significativamente más grande que a pH bajo.

1.3.1.2.3 Movilidad Electroforética Efectiva

Como la carga del analito depende del medio, su movilidad electroforética se ve afectada por el pH y el medio. Por ejemplo, de un compuesto A, siendo electrolito débil puede existir en diferentes formas protonadas (especies), que poseen diferente carga y movilidades iónicas: A, HA⁺, H₂A²⁺, H₃A³⁺. Por tal razón surge el concepto de movilidad electroforética efectiva que se define como:

$$\mu_{EF} = \frac{1}{CA} \sum C_i \mu_i = \sum \chi_i \mu_i$$

Donde, $CA = \sum c_i = [A] + [HA^+] + [H_2A^{2+}] + [H_3A^{3+}]$ es la concentración analítica total

μ_i = movilidad iónica del ion **i** de concentración c_i

χ_i = fracción molar de la forma **i** del compuesto

Cabe aclarar que microscópicamente, el compuesto se comportara como uno solo, con una movilidad efectiva determinada que corresponde a la anterior sumatoria, observándose su elución en un solo pico, ya que está asociado a equilibrios rápidos.

1.3.1.3 Instrumentación

Un sistema típico de CE (Figura 16) consta de: dos electrodos (ánodo y cátodo), fuente de poder, deposito (viales) donde se colocan los electrodos y el electrolito soporte respectivamente, capilar, sistema de enfriamiento del capilar, sistema de introducción muestra, detector y un dispositivo de salida.

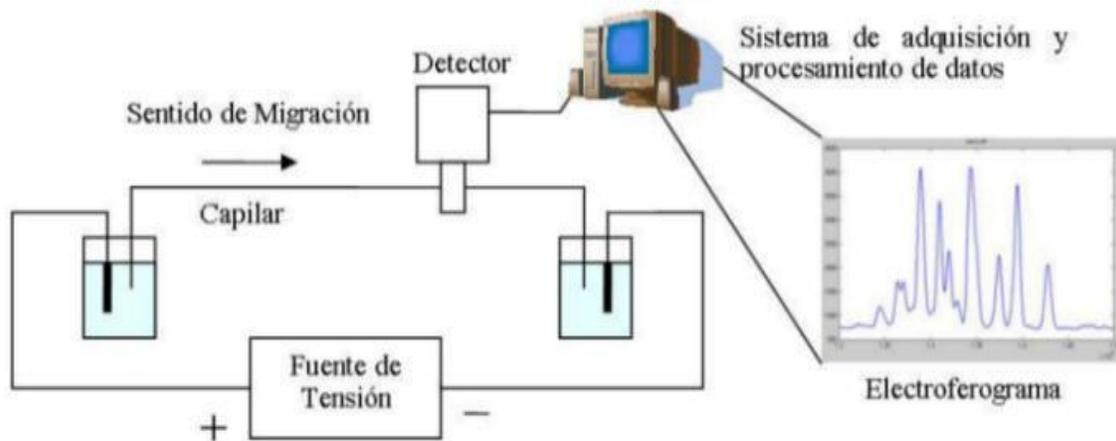


Figura 16. Sistema electroforético general (Hernández & Paredes, 2007)

Introducción de la Muestra: Es un paso muy importante, debido al diámetro interno del capilar, el cual es pequeño de una magnitud de 25 a 200 μm , por lo que el volumen de muestra se limita a solo algunos nanolitros (nL); grandes volúmenes provocan ensanchamiento de picos y pueden afectar la separación.

La magnitud de la introducción debe ser de una manera adecuada y reproducible, por lo que se vuelve un parámetro crítico, para llevar a cabo una introducción cuantitativa existen diversos métodos, pero los más utilizados son *hidrodinámico* y *electrocínético*.

1.3.2 Espectroscopia Atómica

La espectroscopia es un término general para la ciencia que trata de las distintas interacciones de la radiación con la materia. Históricamente, las interacciones de interés se producían entre la radiación electromagnética y la materia, sin embargo, ahora el término espectroscopia se ha ampliado para incluir las interacciones entre la materia y otras formas de energía. La espectrometría y los métodos espectrométricos hacen referencia a la medida de la intensidad de la radiación mediante un detector fotoeléctrico o con otro tipo de dispositivo electrónico.

Los métodos espectrométricos más ampliamente utilizados son los relacionados con la radiación electromagnética, que es un tipo de energía que toma varias formas, de las cuales las más fácilmente reconocibles son la luz y el calor radiante. Sus manifestaciones más difícilmente reconocibles incluyen los rayos gamma y los rayos X, así como las radiaciones ultravioleta, de microondas y de radiofrecuencia.

Las técnicas espectroscópicas atómicas emplean la transformación de los elementos de la muestra en átomos en estado gaseoso (vapor) y miden la radiación electromagnética transmitida, y de esta forma se calcula la radiación absorbida por dichos elementos. Los espectros atómicos presentan picos estrechos y bien definidos, originados por las transiciones entre los distintos niveles de energía electrónica, por lo cual, esta técnica es selectiva y presenta buena sensibilidad (Hernández & González, 2002).

1.3.2.1 Espectroscopia de Absorción Atómica

La Espectroscopia de Absorción Atómica es una técnica analítica usada para la determinación cuantitativa de elementos metálicos, ya que la cantidad de luz absorbida es directamente proporcional al contenido del analito en una muestra. Se basa en la capacidad que poseen los átomos libres en estado fundamental de absorber la luz a una longitud de onda específica (Skoog, West, & Holler, 1995), porque siguen la ley de Beer-Lambert, es decir, que el aumento de la absorbancia tiene una relación lineal (la mayoría de las veces) a la concentración de los átomos del analito en fase gaseosa.

1.3.2.1.1 Instrumentación

Los componentes instrumentales básicos (Figura 17), para la Espectroscopia de Absorción Atómica con llama son:

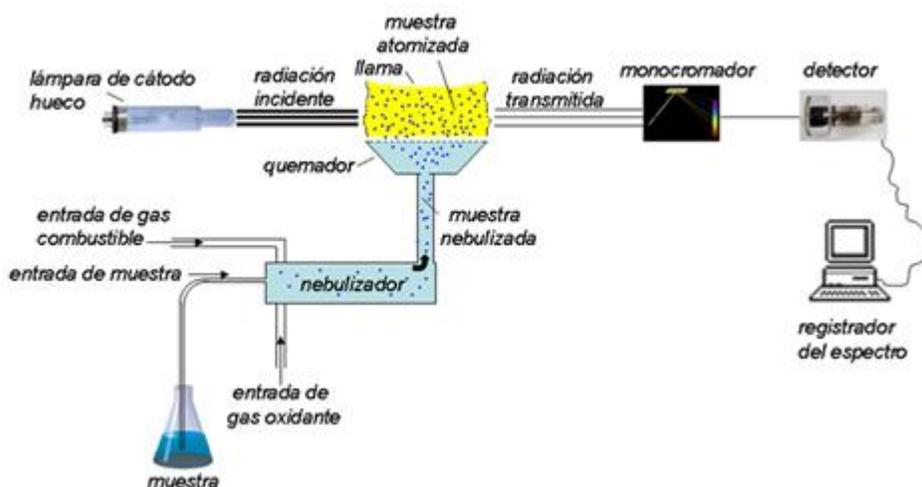


Figura 17. Esquema de un equipo de Espectroscopia de Absorción Atómica

La **Fuente de radiación** que es considerada la parte más crítica porque debe generar un haz de radiación continua de potencia suficiente para la medición. (Skoog, West, & Holler, 1995). En este trabajo se empleó la **lámpara de cátodo hueco**, el cual es un cilindro de vidrio o cuarzo relleno de gas inerte (Ne o Ar) a una presión de 1 a 5 torr que consiste de un ánodo de tungsteno y un cátodo del metal cuyo espectro se desea obtener, estas funcionan aplicando un potencial de orden de 300 V entre los electrodos produciéndose la ionización del gas inerte, lo que da lugar a una corriente aproximadamente de 5 a 15 mA.

Sistema de atomización su función principal es la conversión de la solución de la muestra por primera vez en el aerosol y luego en el vapor atómico. Se inicia cuando la solución de la muestra es aspirada hacia el nebulizador por efecto neumático, y en mezcla con el oxidante y el combustible llegan a la cabeza del quemador.

En el quemador está el sistema de llama, que es la fuente de energía (calor) para la producción de los átomos libre, comúnmente se utiliza una llama de aire/acetileno (2400°C) u óxido nitroso/acetileno (2800°C). La cabeza del quemador es alineada de manera que el haz de

radiación que proviene de la lámpara de cátodo hueco pase a través de la llama (Skoog, West, & Holler, 1995).

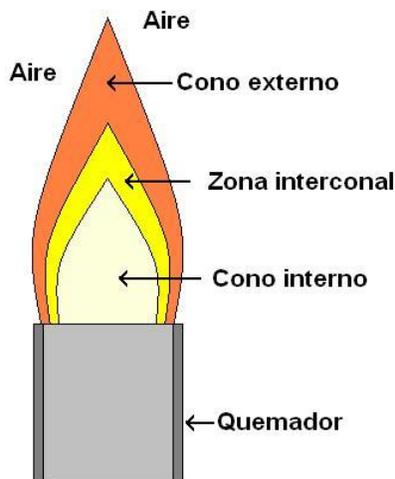


Figura 18. Constitución típica de una flama (Alva, 2009)

En la llama suceden dos fenómenos muy importantes, el primero es la *desolvatación*, donde el disolvente se evapora para producir un aerosol molecular dividido. Luego, este se *volatiliza* para formar moléculas de gas. La disociación de la mayor parte de dichas moléculas produce un gas atómico. (Skoog, West, & Holler, 1995)

La atomización de un analito no es homogéneo en toda la llama. La máxima producción de átomos libres en la flama es dictada por la variación de temperatura en las diferentes zonas de la misma y por la tasa de difusión de los gases para diluir la población de átomos libres. Las zonas importantes de la flama (Figura 18) son el cono interno donde se lleva a cabo una combustión parcial, es decir no hay equilibrio térmico. Esta zona se calienta por conducción y radiación. Inmediatamente encima de la región del cono interno se encuentra la zona interconal, que es parte más caliente y en ella tiene lugar una combustión completa y se alcanza casi un equilibrio termodinámico. La región del cono externo es una zona de combustión secundaria en la que los productos parcialmente oxidados como el monóxido de carbono y en general es una región poco útil.

Parte óptica: Está compuesta por el **monocromador** y **detector**. La función del **monocromador** es aislar la radiación de la longitud de onda seleccionada o línea de resonancia a la que se va a cuantificar el analito, y permitir que esté llegue al detector. (Robinson J.W., 1996). Sus componentes básicos son las aberturas de entrada y salida y una rejilla de dispersión (Skoog, West, & Holler, 1995).

El **detector** es el dispositivo encargado de captar la señal óptica proveniente del monocromador y transformarlo en una señal electrónica capaz de ser convertida en un valor legible. El más común es el fotomultiplicador, tubo de vacío provisto de placas fotosensibles que recibe fotones, los convierte en impulsos electrónicos y multiplica hasta obtener la suficiente intensidad eléctrica.

1.3.2.1.2 Interferencias

La EAA presenta tres tipos básicamente de interferencias, las espectrales, químicas y las físicas.

- **Interferencia espectrales**

Cuando la absorción de una especie interferente está muy cerca a la longitudes de onda de analito que se sobrepone a los picos de absorción

- **Interferencias físicas**

Se originan con el cambio de las características básicas de las soluciones que se medirán (viscosidad, tensión superficial, presión de vapor, temperatura).

- **Interferencias Químicas**

Se presentan cuando existe la formación de compuestos de baja volatilidad disminuyendo la velocidad e atomización. Estas se pueden eliminar o modificar mediante el uso de temperaturas más elevadas o adicionar modificadores de matriz, para reducir las pérdidas del analito durante la calcinación, haciendo más volátil la matriz o menos volátil el analito, obteniéndose así una mejor separación de matriz y analito. (Skoog, West, & Holler, 1995).

1.3.2.2 Espectroscopia Óptica de Emisión Atómica con plasma acoplamiento inductivo

La espectrometría de emisión óptica por plasma acoplado inductivamente permite obtener información analítica de concentraciones desde ppm hasta ppb, en lo longitudes de onda desde 167.022 nm hasta 430 nm para Ultravioleta y de 430 nm hasta 780.023 nm para Visible, alrededor de 74 elementos de la tabla periódica a la vez.

La técnica se basa en medir la intensidad de una línea de emisión específica del elemento que se desea determinar. Cuanto mayor sea la intensidad de esta línea mayor es su concentración, debido a que cada elemento tiene un número específico de electrones asociado a su núcleo en la configuración más estable y normal de un átomo es el **estado basal o fundamental**. Si se aplica energía a un átomo, este la absorberá a una longitud específica pasando a una configuración menos estable conocida como **estado** excitado, ocasionando que el electrón regresé inmediatamente al “estado basal” liberando energía luminosa conocido como fotón, el cual es diferente dependiendo del elemento.

1.3.2.2.1 Instrumentación

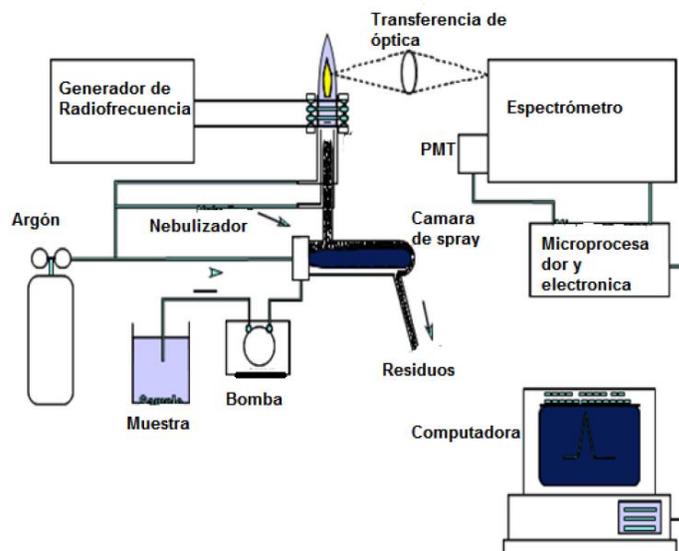


Figura 19. Espectrómetro de emisión Atómica con plasma acoplado inductivamente (Ramírez Guerrero , 2012)

Para poder realizar los análisis mediante dicha técnica, el proceso inicia al introducir la muestra mediante una bomba peristáltica con un flujo de Ar de 0.3 a 1.5 L/min al interior del equipo, para ser transformada en aerosol mediante el proceso de nebulización. (Skoog, West, & Holler, 1995)

Posteriormente, pasa a la **antorcha** o fuente de plasma de acoplamiento inductivo, el cual consiste en tres tubos concéntricos de cuarzo o alúmina donde fluye una mezcla gaseosa conductora de electricidad o gas ionizado generalmente de Argón, a una velocidad de 5 -20 L/min, cada uno de los tubos tiene un punto de entrada, el de en medio contiene plasma y los externos sirven como refrigerante y se encuentran de manera tangencial (Skoog, West, & Holler, 1995).

El plasma tiene un núcleo no transparente, blanco brillante y muy intenso coronado por una cola en forma de llama, su temperatura es de aproximadamente de 6800 K, esta característica ayuda a mejorar la excitación y eficiencia de ionización. Las temperaturas altas del plasma eliminan las interferencias químicas. Además cuando la muestra llega al plasma quita el solvente es decir la “desolvata” quitando el agua de la muestra dejando una aerosol, una vez hecho esto sigue la “descomposición” del aerosol a gas de moléculas individuales por vaporización y después se disocia en átomos a los que se le llama “atomización” estos tres procesos ocurren en la zona de precalentamiento. Después sigue la excitación y la ionización, para que un átomo o ion emita su radiación característica.

Una vez que la muestra ha emitido su radiación característica, pasa al sistema óptico, empezando por la entrada de un dispositivo dispersivo de longitud de onda, llamada rejilla de echell, que son redes de difracción fabricadas con menos surcos por mm, pero con alta precisión y son empujadas a ángulos de incidencia elevados. Una vez finalizado el proceso de dispersión el haz pasa a la cámara Schmitt que tiene su corrector como primer elemento, un espejo plano para doblar el haz y el espejo esférico de la cámara. Este sistema óptico completo está encerrado en un compartimiento purgado y termostataado.

Una vez que la línea de emisión apropiada ha sido separada por el espectrómetro, el **detector** la emplea para la medición de la intensidad de la línea de emisión.

El **tubo fotomultiplicador** es un tubo de vacío que contiene un material fotosensible llamado fotocátodo, este emite electrones cuando es golpeado por la luz.

1.3.2.2.2 Interferencias

Las interferencias en ICP pueden originarse desde la preparación de la muestra hasta la operación y mantenimiento adecuado del plasma. Las interferencias más comunes se describen a continuación:

- **Interferencias Químicas:** Las temperaturas tan elevadas que se alcanzan en un plasma se encargan de eliminarlas.
- **Interferencias Físicas:** Causan variación en la luz emitida por la misma concentración de un elemento debido a las diferencias de la matriz entre estándares y muestras, provocando efectos cinéticos; diferencias de densidad, viscosidad y tensión superficial; y efectos termodinámicos por la habilidad de las soluciones para absorber o conducir energía alterando la alta temperatura del plasma.
- **Interferencias espectrales:** Estas son las más importantes, se originan en el espectro inherente del Ar o de la línea y de espectros continuos de especies atómicas o moleculares inyectadas al plasma. Las interferencias espectrales son aquellas donde no se tiene una señal espectral aislada del analito en estudio y se presentan dos o más componentes de la matriz que emiten radiación a la misma longitud de onda, de esta manera se traslapan los espectros, obteniendo una concentración del analito más elevada que la concentración real.
- **Interferencia de Fondo:** Las líneas de emisión espectrales en ICP siempre estas sobrepuestas a una emisión de fondo continua debida a la “corriente oscura” del detector y al espectro continuo emitido por el plasma, conocido como ruido de fondo, este puede arrojar una señal falsa positiva, que afecta la cuantificación del analito de interés.

1.4 QUIMIOMETRÍA

La Quimiometría se define como la disciplina química que finalmente utiliza la Matemática, la Estadística y la lógica formal para diseñar o seleccionar procedimientos experimentales óptimos, proporcionar la máxima información química relevante a partir del análisis de datos químicos, y obtener conocimientos a partir de sistemas químicos (Massart, 1998).

La Quimiometría puede considerarse como una herramienta auxiliar o esencial en la mejora del rendimiento del proceso analítico en todas sus etapas, con la de asegurar la calidad de los resultados, comenzando desde la toma de muestra y el diseño de los experimentos con un mínimo esfuerzo experimental, además de que una vez obtenidos los datos, el tratamiento de los mismos utilizando esta disciplina, permite aumentar la calidad de ellos, facilitando su interpretación y fundamentando las conclusiones con rigor. Adicionalmente potencia la incorporación del químico a la cadena de control de los procesos productivos para generar, interpretar y comunicar la información relevante en la toma de decisiones. Así que la finalidad de la Quimiometría es gestionar conocimiento previo, planeación del experimento, procesamiento e interpretación de datos que contienen información compleja en información.

1.4.1 Análisis de Conglomerados

El Análisis de Clusters (o Análisis de conglomerados) es una técnica de análisis exploratorio de datos para resolver problemas de clasificación. Su objeto consiste en ordenar objetos (personas, cosas, animales, plantas, variables, etc.) en grupos (conglomerados o clusters) de forma que el grado de asociación/similitud entre miembros del mismo cluster sea más fuerte que el grado de asociación/similitud entre miembros de diferentes clusters. Cada cluster se describe como la clase a la que sus miembros pertenecen.

El análisis de cluster es un método que permite descubrir asociaciones y estructuras en los datos que no son evidentes a priori pero que pueden ser útiles una vez que se han encontrado.

Por ser tan laxa la definición de un cúmulo (conglomerado o cluster) existen muchos algoritmos que pretenden resolver el problema sin embargo la mayoría de ellos sólo se aboca a la búsqueda de conglomerado esféricos y es difícil detectar conglomerados no esféricos. Hay un sin-número

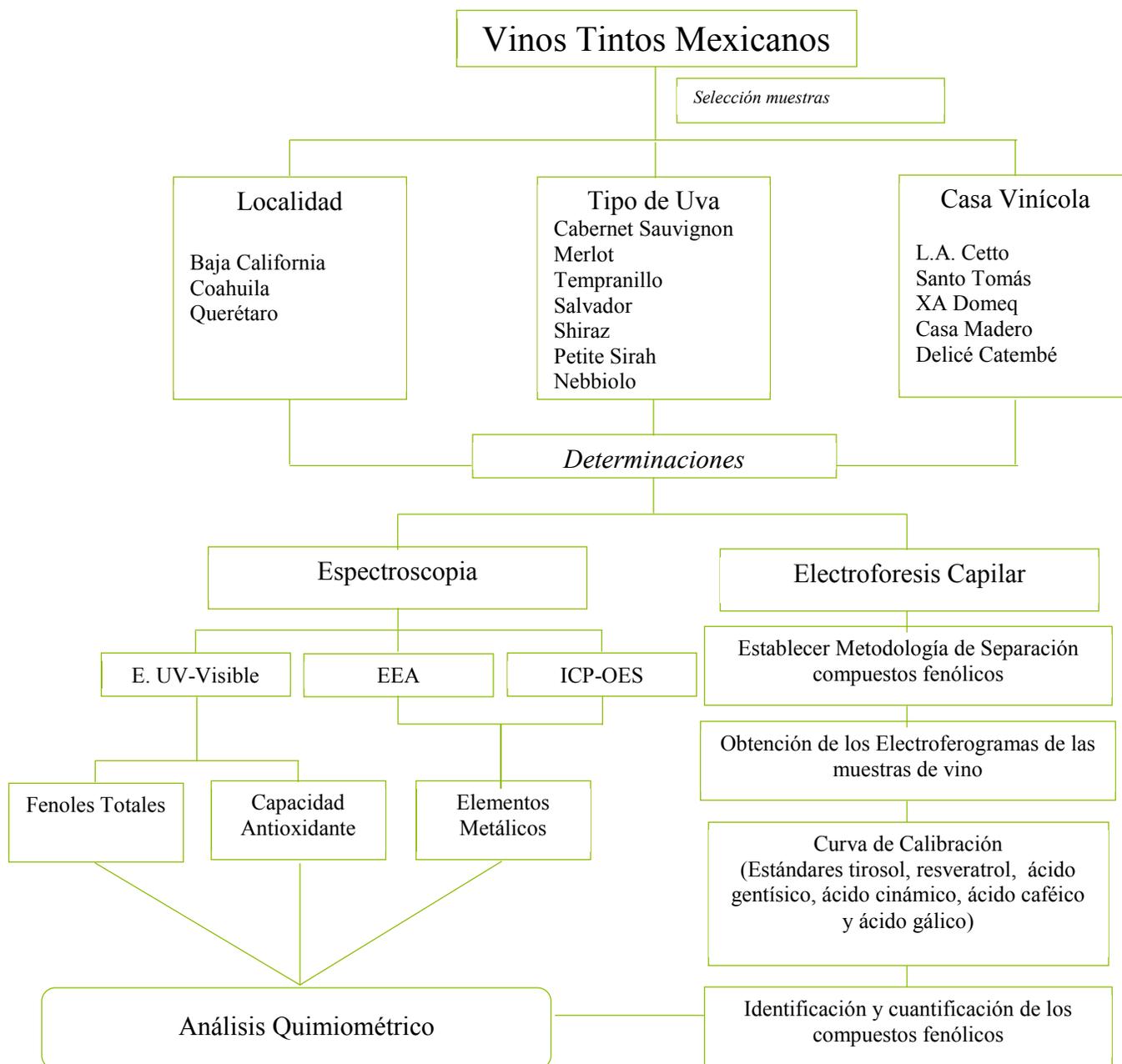
de algoritmos de la distancia **entre-cluster** y estos se pueden determinar por las distancia entre centroides. Como el objetivo es reducir de **n** unidades a **g** grupos donde: $n > g$.

Un dendrograma es un tipo de representación gráfica o diagrama de datos en forma de árbol que organiza los datos en subcategorías que se van dividiendo en otros hasta llegar al nivel de detalle deseado (asemejándose a las ramas de un árbol que se van dividiendo en otras sucesivamente). Este tipo de representación permite apreciar claramente las relaciones de agrupación entre los datos e incluso entre grupos de ellos aunque no las relaciones de similitud o cercanía entre categorías. Observando las sucesivas subdivisiones es posible establecer una idea sobre los criterios de agrupación de los mismos, la distancia entre los datos según las relaciones establecidas, etc. También podríamos referirnos al dendrograma como la ilustración de las agrupaciones derivadas de la aplicación de un algoritmo de clustering jerárquico (Vicente Villardón, 2014).

CAPÍTULO 2

METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

2.1 DIAGRAMA DE ACTIVIDADES



2.2 MATERIALES Y REACTIVOS

Material de Estudio: Se utilizaron 14 Vinos Tintos Mexicanos mono-varietales* y 2 vinos artesanales procedentes de los Estados de Coahuila, Baja California y Querétaro. En la Figura 20 y Tabla 1, se muestran los vinos utilizados en el presente estudio.



Figura 20. Muestras de vinos tintos analizados

Tabla 1. Vinos Tintos Mexicanos de estudio

Estado Productor	Casa Vitivinícola	Tipo de Uva
Baja California	L.A. Cetto	Cabernet Sauvignon, Petite Sirah, Nebbiolo, Merlot, Tempranillo
	Santo Tomás	Cabernet Sauvignon, Tempranillo y Merlot
	XA Pedro Domeq	Cabernet Sauvignon
Coahuila	Casa Madero	Cabernet Sauvignon, Shiraz y Merlot
	Casa Grande Madero	Cabernet Sauvignon y Shiraz
Querétaro	Delice Catembe Semidulce	Salvador
	Delice Catembe Seco	Salvador

* Un vino monovarietal, por definición es un vino elaborado con una sola variedad de uva. Aunque en España se considera monovarietal a la variedad cuya cepa de uva predomine del 80 al 100%.

Reactivos: En la Tabla 2 se indican los reactivos utilizados para llevar a cabo la experimentación correspondiente.

Tabla 2. Información de los reactivos utilizados para realizar la experimentación.

Reactivo	Pureza	Proveedor
Tetraborato de sodio decahidratado,		J.T. Baker
Hidróxido de sodio		J.T. Baker
Dimetil sulfóxido (DMSO)	99%	Técnica Química
Ácido acético	99.8 %	J.T. Baker
Metanol	≥ 98%	J.T. Baker
Acetato de sodio		J.T. Baker
Cloruro férrico	100.8 %	Sigma Aldrich
N-N-dimetil-p-fenilendiamina (DMPD)	99.5%	Sigma Aldrich
Ácido 6-hidroxi-2,3,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (Trolox)	97%	Sigma Aldrich
Carbonato de sodio anhidro		J.T. Baker
Reactivo comercial Folin-Ciocalteu		Sigma Aldrich
Nitrógeno	99 %	Praxair

Estándares de compuestos fenólicos: En la Tabla 3 se muestran los datos de los estándares fenólicos empleados en la cuantificación e identificación.

Tabla 3. Información de los estándares empleados para la cuantificación de fenoles en vinos.

Estándar	Pureza	Proveedor
Ácido ferúlico	≥ 98%	Sigma Aldrich
Ácido trans-cinámico	≥ 98%	Sigma Aldrich
Ácido vanilínico	≥ 98%	Sigma Aldrich
Ácido gálico	97.5 – 102.5%	Sigma Aldrich
Ácido caféico	≥ 98%	Sigma Aldrich
Ácido p-cumárico	≥ 98%	Sigma Aldrich
Ácido cloéogenico	≥ 98%	Sigma Aldrich
Ácido gentsico	≥ 98%	Sigma Aldrich
Resveratrol	≥ 98%	Sigma Aldrich
Tirosol	≥ 98%	Sigma Aldrich
Rutina	≥ 98%	Sigma Aldrich
Epicatequina	≥ 98%	Sigma Aldrich
Vainillina	≥ 98%	Sigma Aldrich
Miricetina	≥ 98%	Sigma Aldrich
Quercetina	≥ 98%	Sigma Aldrich
Kaempferol	≥ 98%	Sigma Aldrich

Equipos:

- Equipo de electroforesis capilar P/ACE™ MDQ de Beckman Coulter (Fullerton, CA, USA), equipado con un detector de arreglo de diodos UV-VIS. La detección se realizó a una longitud de onda de 214 nm.
- Equipo de ICP Thermo Jarrell Ash 1000 (MA, USA)
- Balanza analítica 10 mg a 250 g (Boeco, BCBC100; Alemania)
- Agitador magnético (Thermolyne Cimarec 2; E.U.A)
- Centrifuga Beckman Coulter, Allegra 21 (Fullerton, CA, USA)
- Espectrofotómetro con longitud de onda visible Perkin Elmer (Waltham, MA, USA)
- Espectrofotómetro de Absorción Atómica SpectrAA 800, Varian (Palo Alto, CA, USA)

2.3 PROCEDIMIENTOS DE ENSAYOS

2.3.1 Preparación de Carbonato de sodio anhidro 20% p/v

Pesar 20 g de carbonato de sodio anhidro y disolverlo en 80 mL de agua destilada hirviendo. Enfriar a temperatura ambiente, después de 24 horas, filtrar sobre papel y llevar a la marca de aforo 100 ml.

2.3.2 Preparación de la solución amortiguadora de Acetatos [0.1 M], pH 5.25

- Pesar la cantidad necesaria de reactivo analítico de Acetato de Sodio
- Agitar magnéticamente durante 5 minutos.
- Agregar agua desionizada (aproximadamente una tercera parte del volumen total)
- Ajustar pH a 5.25 utilizando NaOH o HCl 0.1 M
- Transferir la solución al matraz volumétrico correspondiente (250 mL), enjuagando el vaso de precipitados tres veces con agua desionizada.
- Llevar al volumen de aforo con agua desionizada

2.3.3 Determinación de Fenoles Totales

Curva de Calibración

A partir de una solución stock de 0.1 mg/mL de ácido gálico. Se prepararon los sistemas descritos en la Tabla 4. .

Tabla 4. Descripción de la Preparación de la Curva de Calibración de Fenoles Totales

Sistema	Volumen (μL) [Ácido Gálico]stock	Folin-Ciocalteu (μL)	Na_2CO_3 (μL)	Volumen de Aforo (μL)	Concentración [Ac. Gálico] (mg/L)
Blanco	0	100	200	2000	0
1	40				2
2	80				4
3	120				6
4	160				8
5	200				10

Cada uno de los sistemas se agitó y se dejaron en reposo durante 30 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad para su posterior medición.

Preparación de Muestras

Se tomaron 200 μL de vino en estudio, adicionándole 100 μL de reactivo Folin-Ciocalteu, 200 μL de carbonato de sodio al 20% y aforando a 2000 μL con agua desionizada. Los tubos se agitaron y se dejaron reposar durante 30 minutos en la oscuridad antes de tomar la lectura en el espectrofotómetro a 765 nm.

2.3.4 Determinación de Capacidad Antioxidante

Generación del radical $\text{DMPD}^{\bullet+}$

El radical $\text{DMPD}^{\bullet+}$ se obtiene si a 2 mL de solución de DMPD, que se encuentra en 200 mL de buffer de acetatos 0.1 M (pH 5.25), se le añaden 400 μL de FeCl_3 0.05M.

Curva de Calibración

A partir de una solución estándar de Trolox 4 mM, se preparan los siguientes sistemas como se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 5. Descripción de la Preparación de la Curva de Calibración de Capacidad Antioxidante

Vol (μL) Estándar Trolox 4.0 mM	Vol. Aforo (μL) MeOH	Concentración Estándar Trolox (μM)
25	475	20
50	450	40
75	425	60
100	400	80
125	375	100
150	350	120

Posteriormente, a 100 μL cada uno de los sistemas anteriores se hacen reaccionar con 1900 μL del radical $\text{DMPD}^{\bullet+}$, dejándolo reposar durante 10 minutos para la toma de lectura en el espectrofotómetro a una longitud de onda de detección de 505 nm. Los resultados son expresados en TEAC (actividad antioxidante equivalente a Trolox).

Preparación de Muestras

A 100 μL cada uno de los vinos en estudio se le añadieron 1900 μL del radical $\text{DMPD}^{\bullet+}$ tomando la absorbancia (505nm) después de 10 minutos; los resultados son expresados en TEAC (actividad antioxidante equivalente a Trolox).

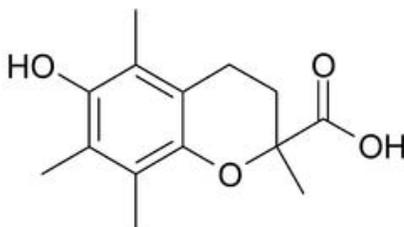


Figura 21. Ácido-2-carboxico (\pm)-6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano (análogo de la vitamina E)

Los métodos químicos permiten obtener correlaciones entre la actividad antioxidante y la vida media de los productos, pero sólo permiten ligeras aproximaciones a sus efectos protectores de la salud que son evaluados por los métodos biológicos.

2.3.5 Cuantificación de Compuestos Fenólicos Mediante la Técnica de Electroforesis Capilar.

Para la identificación, separación y cuantificación de los polifenoles presentes en los Vinos tintos mexicanos, se desarrolló una metodología por Electroforesis Capilar, con un detector de arreglo de diodos en línea (DAD) UV-Vis y software 32 Karat.

Condiciones de Análisis

Se utilizó un capilar de sílice fundida de Polymicro Technologies (Phoenix AZ, USA) de 51.9 cm de longitud total, 42.5 cm de longitud efectiva y 50 μm de diámetro interno, 30 kV, 22°C. El detector utilizado es de diodos en línea (DAD) a una longitud de detección de 214 nm, software 32Karat, Búfer de boratos (preparado a partir de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) 50mM (pH 9.4); Inyección 0.5 psi durante 5 s; detección.

Pre-acondicionamiento de la columna capilar

Al inicio de cada día el capilar se lava con agua desionizada durante 5 min, sucesivamente 10 min con NaOH 0.1 M, retornando a 3 min con agua desionizada y finalmente 15 min con el Buffer de separación para condicionar el capilar.

Medición de estándares y de la muestra

Los estándares (Tiroso, Resveratrol, Catequina, Ácido Clorogénico, Ácido Ferúlico, Ácido trans-cinámico, Ácido Vanílico, Ácido Caféico, Ácido Gálico, Ácido Gentísico) se prepararon a una concentración de 1000 ppm, disolviéndolos en una solución Etanol al 80% en agua desionizada. Mientras que los estándares de la Miricetina, Quercetina, Rutina y Kaempferol fueron disueltos en Dimetilsulfóxido al 10 % en etanol.

Para el proceso de separación de los polifenoles, se mezclaron cada uno de los estándares para hallar las condiciones óptimas de trabajo.

Una vez encontradas dichas condiciones, las muestras de vinos se centrifugaron a 14,000 rpm durante 30 minutos para su posterior inyección en el equipo.

Curva de calibración

Los sistemas para la curva de calibración se prepararon con la mezcla de los siguientes polifenoles en los rangos de concentración que se describen a continuación: Tirosol (12 - 192 ppm), Resveratrol (7 – 84 ppm), Ácido Cinámico (4 – 48 ppm), Ác. Gentísico (6 – 72 ppm), Ácido Vanílico (18 – 216), Ácido Gálico (9 – 126 ppm) y Ácido Caféico (3 -42 ppm).

2.3.6 Cuantificación de elementos metálicos mediante la técnica analítica de ICP-OES y EAA.

Digestión de la Muestra

Antes de determinar el contenido de los elementos metálicos en la muestras, fueron tratadas en un horno de microondas modelo Mars 5 CEM con sensor de temperatura-presión (Falcon, EUA). A 1.5 mL de muestra de vino se le añaden 8 mL de Ácido Nítrico (HNO₃) [53%], utilizado el siguiente programa de temperaturas y potencia aplicada por el microondas:

Tabla 6. Rampa utilizada para la digestión de las muestra en el horno de microondas

Paso	Temperatura °C	Tiempo (min)	Potencia (W)
1	0-90	9	100
2	90	5	100
3	90-120	8.5	100
4	120-170	6	100
5	170	2	100
6	170-100	8	1000

Una vez enfriadas a temperatura ambiente, las muestras se aforan a 10 mL con agua desionizada, para su posteriormente medición por la técnica instrumental.

2.3.6.1 Determinación de Ca, Cu, Fe, Mn, S, P, V y Zn por Espectroscopia Óptica de Emisión Atómica de plasma con acoplamiento inductivo (ICP-OES).

El análisis de estos metales se realizó en el equipo de ICP Thermo Jarrell Ash 1000, se utilizó una óptica radial y una potencia incidente de 1972 W. El gas de nebulización se aplicó a 28.06 psi, el flujo de gas auxiliar de 0.5 L/min, flujo de la muestra de 1.7 mL/ min y se utilizó un

patrón de flujo ciclónico en el nebulizador. El gas utilizado en todos los casos fue argón de ultra alta pureza.

Curva de Calibración

Para llevar a cabo la cuantificación de los elementos metálicos, se utilizó el Método de Curva de Calibración, preparándose 6 sistemas compuestos de la mezcla de elementos metálicos a diferentes rangos de concentración; Ca (0.01 – 200 ppm), Cu (0.005 – 10 ppm), Fe (0.01 – 10 ppm), Mn (0.01 – 100 ppm), P (0.9 – 180 ppm), V (0.001 – 10 ppm) y Zn (0.01 – 100 ppm).

Muestras

A partir de las muestras obtenidas después de la digestión, se procede a su medición en el equipo de ICP-OES.

Determinación de potasio (K) por Espectrofotometría de Absorción Atómica (AAS).

La cuantificación de potasio fue realizada en el espectrofotómetro de absorción atómica SpectrAA 800. Se utilizó la lámpara de cátodo hueco de potasio, la corriente de la lámpara a 5 mA. El combustible utilizado fue acetileno-aire a presión de 20 psi. Se determinó por separado debido a la interferencia que se presenta con otros metales.

Curva de Calibración y muestras problemas

Se prepararon 5 sistemas como se muestra en la Tabla 7, partiendo de una solución patrón de Potasio (K) de concentración 10 ppm, adicionándole a cada uno de los sistemas 1 mL de una solución de CsCl [25 ppm] para eliminar la interferencia química producida por la ionización del analito. A partir de las muestras obtenidas después de la digestión, se tomaron 50 µL, llevándose a un aforo de 25 mL, para su medición en el equipo (Tabla 7).

Tabla 7. Preparación de Sistemas para Curva de Calibración de Potasio

<i>Solución/Sistema</i>	Blanco	1	2	3	4	5	Problema
Soln. [K]stock de 100 ppm (mL)	0	0.5	2	4	6	8	-
Soln. Problema (mL)	---	---	---	---	---	---	0.05
Aforo Agua desionizada (mL)	25	25	25	25	25	25	25

CAPÍTULO 3

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 FENOLES TOTALES

El ensayo desarrollado por Folin-Ciocalteu, se utiliza como medida del contenido de compuestos fenólicos totales en productos naturales y se fundamenta en su carácter reductor. Se utiliza como reactivo, a una mezcla de ácidos wolframio (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}). La oxidación de los fenoles, presentes en la muestra, causa la aparición de una coloración azulada que presenta un máximo de absorción a 765 nm, que se cuantifica por espectrofotometría UV-Vis con base en una curva de calibración de ácido gálico. (Kuskoski, 2005)

Este ensayo tiene limitaciones ya que este reactivo no sólo mide los fenoles totales, sino que reaccionará con cualquier sustancia reductora. Por lo tanto, el ensayo mide la capacidad reductora total de una muestra, no sólo el nivel de compuestos fenólicos. (Kuskoski, 2005)

Los compuestos fenólicos presentes en los vinos están directamente relacionados con su calidad, ya que contribuyen a las características organolépticas, como color, astringencia y amargor; además, por su capacidad de captura de radicales libres, tienen un papel importante en el control de la oxidación en el organismo humano. (Moreno et al. 2006). Si bien, el llamado índice de fenoles totales es una medida de gran utilidad (método oficial de la AOAC*), éste no especifica la composición del vino en los diferentes compuestos fenólicos.

La cuantificación de los fenoles totales se realizó mediante una Curva de Calibración, con una solución de referencia el ácido gálico**. (Figura 22). Las mediciones de cada uno de los sistemas se realizaron por triplicado. Al verificar la linealidad y dispersión de los datos (Figura 22), se corrobora que la curva tiene un comportamiento lineal, debido al coeficiente de determinación (r^2) de 0.9931; también se observa que fluctúan muy poco los valores de absorbancia de cada sistema, es decir, la desviación estándar es de 0.0309.

* Association of Official Analytical Chemists

**El ácido gálico se utiliza como fenol moelo que reacciona con mezcla de molibdato y tungstato (reactivo de folin-ciocalteu) provocando la reducción del reactivo a óxidos azules de molibdeno y tungsteno medible a 765 nm.

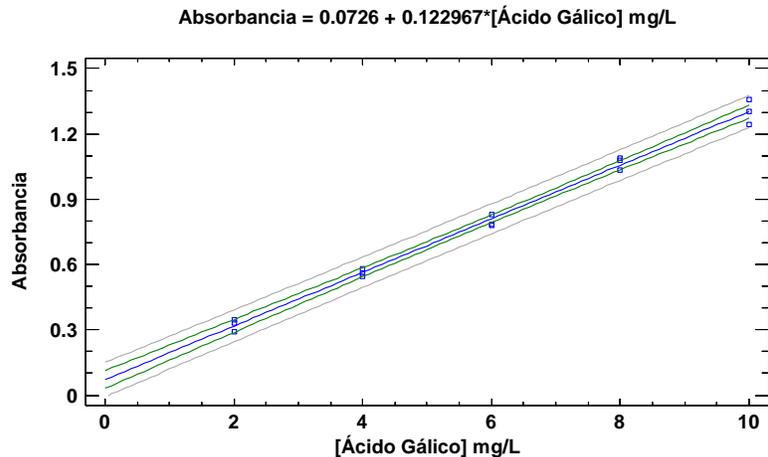


Figura 22. Curva de Calibración de Ácido Gálico para la cuantificación de Fenoles Totales

Tabla 8. Contenido de Fenoles Totales en vino tintos mexicanos

Vino Tinto Mexicano	[Ácido Gálico] mg/L	mg Ácido Gálico /100 mL. de Vino
Baja California		
L.A. Cetto Petite Sirah	140.55 + 18.57	14.05 + 1.86
L.A. Cetto Nebbiolo	57.35 + 6.52	5.73 + 0.65
Santo Tomas Cabernet	42.66 + 9.82	4.27 + 0.98
Santo Tomas Tempranillo	39.60 + 8.47	3.96 + 0.85
Santo Tomas Merlot	32.20 + 3.36	3.22 + 0.34
XA Domeq Cabernet	28.49 + 4.08	2.85 + 0.41
Sierra Blanca Tempranillo	28.16 + 6.3	2.82 + 0.63
L.A. Cetto Cabernet	36.86 + 2.20	3.69 + 0.22
L.A. Cetto Don Luis Merlot	25.43 + 2.51	2.54 + 0.25
Coahuila		
Casa Madero Cabernet	136.81 + 12.91	13.68 + 1.29
Casa Madero Merlot	65.18 + 1.45	6.52 + 0.14
Casa Madero Shiraz	54.94 + 8.8	5.49 + 0.88
Casa Grande Shiraz	58.51 + 10.99	5.85 + 1.10
Casa Grande Cabernet	55.07 + 6.21	5.51 + 0.62
Querétaro		
Delice Catembe Semidulce	38.70 + 3.31	3.87 + 0.33
Delice Catembe Seco	39.38 + 1.91	3.94 + 0.19

El contenido de Fenoles Totales en las muestras de vino estudiadas se muestra en la Tabla 8 expresados en unidades de concentración de ppm (mg/L) y (mg/ 100 mL de vino) de Ácido Gálico en el vino.

3.1.1.1 Influencia del Estado de origen en la concentración de Fenoles Totales en Vino Tinto Mexicanos

Los resultados obtenidos nos indican que los vinos se encuentran en un intervalo de 2.54 a 14.05 mg de Ácido Gálico por cada 100 mL de vino tinto. Al realizar un análisis de varianza (ANOVA) de la totalidad de los datos (con sus 3 réplicas), se observa que existen diferencias significativas en la concentración de fenoles totales con respecto al estado de procedencia (Figura 23), ya que las cajas y su dispersión (bigotes) no se traslapan totalmente, lo cual se confirma con la prueba de hipótesis correspondiente (ver ANOVA completo en el Anexo A).

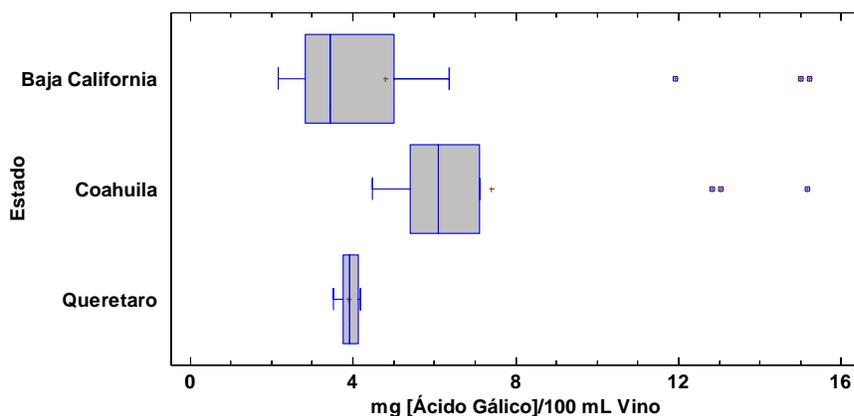


Figura 23. Influencia del Estado de origen en la concentración de Fenoles Totales

Se observa que existen diferencias entre las medias de las concentraciones de los Fenoles totales de Baja California & Coahuila y Querétaro & Coahuila, mientras que las medias de las concentraciones de los Fenoles totales entre Baja California & Querétaro pueden considerarse iguales (ver tabla de contraste de medias en el Anexo A). Como conclusión se puede ver que claramente los vinos tintos del Estado de Coahuila contienen una concentración mayor de Fenoles Totales que los de Baja California y Querétaro, cuyo contenido se puede considerar igual.

Coahuila presenta mayor cantidad promedio de Fenoles Totales, debido a las condiciones climáticas, principalmente en los veranos soleados y con variaciones térmicas por el día de 25 a 30°C y por la noche de 18 a 20°C. Estos intervalos de temperatura permiten que la maduración de la Vid sea paulatina y completa, siguiéndole Baja California y Querétaro. La primera con un clima no muy apto para la producción de vino, pero en una de las zonas más importantes en producción del vino y la segunda con clima no extremo muy beneficioso para la Agricultura.

3.1.2 Influencia del Tipo de Uva en la concentración de Fenoles Totales en Vino Tinto Mexicano

Con respecto al Tipo de Uva, se realizó el ANOVA correspondiente, obteniéndose el siguiente diagrama de cajas con bigotes (Figura 24):

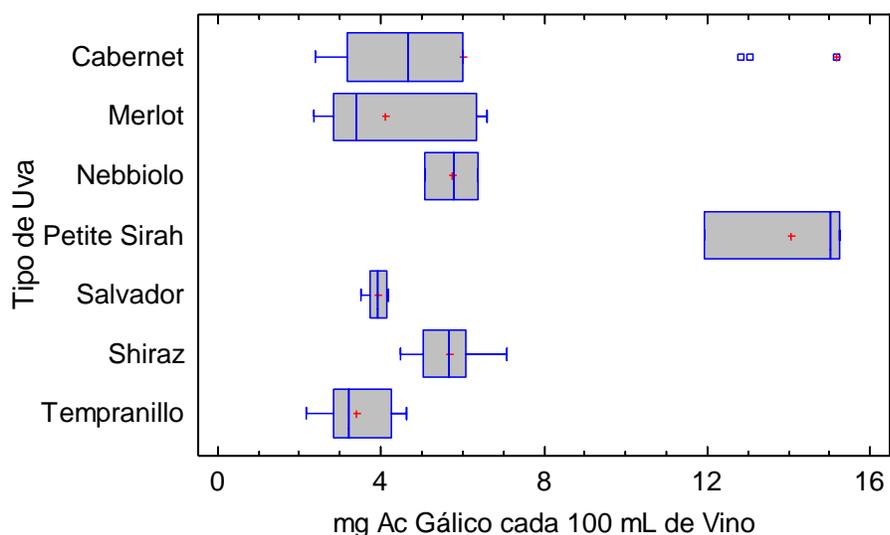


Figura 24. Influencia del Tipo de Uva en la concentración de Fenoles Totales

En la Figura 24 se puede observar que existen diferencias significativas entre las medias de la concentración de Fenoles totales de la uva Petite Sirah con todas los demás variedades de uva, ya que no hay traslape. Adicionalmente en la Tabla de rangos múltiples (Anexo A) se pone en manifiesto que la uva Cabernet & Tempranillo presentan diferencias significativas, Está

deducción debe tomarse con reserva, ya que al parecer el modelo NO paramétrico (Figura 24) parece describir mejor los datos, al presentar una mayor simetría. Sin embargo la validez de este análisis se comprobó con la prueba de Levene (Anexo A).

Como conclusión se puede dar un orden de contenido de Fenoles Totales según la variedad de uva utilizada, como sigue:

Petite Sirah > Cabernet > Salvador, Merlot, Shiraz, Nebbiolo > Tempranillo

Siendo la variedad Petite Sirah la de un mayor contenido de Fenoles Totales en comparación con todas las demás, cuya diferencia es menor.

3.1.3 Influencia de la Casa Productora en la concentración de Fenoles Totales en Vino Tinto Mexicanos

Con respecto a la concentración de Fenoles Totales & la Casa Productora, se observan los resultados con el diagrama de caja con bigotes (Figura 25):

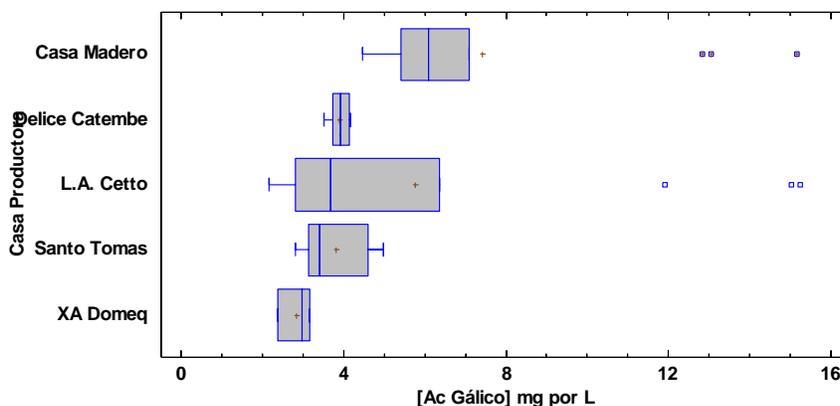


Figura 25. Influencia del Estado de origen en la concentración de Fenoles Totales

Con la Figura 25 se observa que no existe una diferencia significativa por el factor de Casa Productora con respecto a la concentración de Fenoles Totales. Sin embargo en las casas

productoras de Casa Madero y L.A. Cetto presentan mayor dispersión, debido a que son las que presentan una mayor cantidad de tipos de Uva. Por otra parte, Delice Catembe es la casa productora que presenta menor dispersión porque sólo produce vinos con un tipo de Uva. Estas diferencias se confirman con la tabla de rangos múltiples y así como el análisis realizado con la prueba de Levene. (Anexo A).

Con dicha información se puede ordenar el contenido de Fenoles Totales según la casa productora, como sigue:

Casa Madero > L.A. Cetto > Delice Catembe > Santo Tomás > XA Domeq

Los datos obtenidos se tomaron como la cantidad de fenoles totales contenidos en cada vino, pero como se ha mencionado anteriormente, la reacción que se lleva a cabo con el reactivo de Folin-Ciocaltecu es una reacción oxido-reducción; donde el reactivo Folin (agente oxidante) se reduce y los polifenoles se oxidan (agente reductor). Los vinos contienen en su mayoría como agentes reductores a los distintos polifenoles; sin embargo podrían contener diferentes sustancias reductoras a los polifenoles. Así que esta técnica determina los agentes reductores totales y por lo tanto es conveniente nombrar a la Tabla como Capacidad Reductora Total contenida en Vinos.

Consecuentemente este método para la determinación de Fenoles Totales tiene ciertas limitaciones, ya que reacciona con cualquier sustancia reductora como un polifenol y se limita a utilizar como estándar de referencia al ácido gálico o tánico.

Tabla 9. Resumen de parámetros de validación evaluados para Fenoles Totales

Parámetro de Desempeño	Criterios de aceptación	Resultado	Veredicto
Especificidad	Respuesta debido únicamente al analito de interés	La respuesta no se debe únicamente al analito de interés	No cumple
Linealidad	$r^2 \geq 0.98$	$r^2 \geq 0.9931$	Cumple
	L.C. (b) debe incluir al cero	L.C. (b) 0.0726 ± 0.0104 No incluye al cero	No cumple
	L.C. (m) debe ser mayor a cero	L.C. (m) 0.1229 ± 0.0016 Es mayor a cero	Cumple
Límite de detección	$L.O.D = \frac{S_{x/y} \cdot 3.3}{m}$	L.O.D = $0.8317[\text{Ácido Gálico}]mg/L$	Cumple
Límite de cuantificación	$L.O.Q = \frac{S_{x/y} \cdot 10}{m}$	L.O.Q = $2.5202 [\text{Ácido Gálico}]mg/L$	Cumple

En la Tabla 9 se presenta un resumen de los parámetros de validación evaluados para Fenoles Totales, siendo que la especificidad no cumple porque el reactivo de Folin Ciocaltecu no es específico para reaccionar con los fenoles, sino con cualquier analito reductor, así mismo al comprobar la linealidad con respecto a la ordenada al origen no cumple, debido a los errores sistemáticos durante la experimentación.

3.2 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

Basado en el método de (Fogliano, 1999), el cual se basa en la capacidad que tienen los polifenoles de reaccionar con los radicales libres. Se utiliza el N,N-dimetil-p-fenilendiamina (DMPD) (Figura 25), compuesto que, en presencia de un agente oxidante como el FeCl₃, da lugar al radical DMPD^{•+} con una coloración purpura (medible a 505 nm). La adición de un

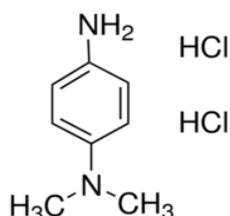
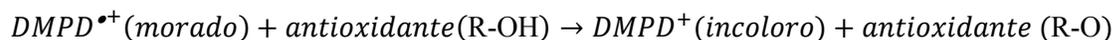
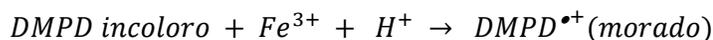


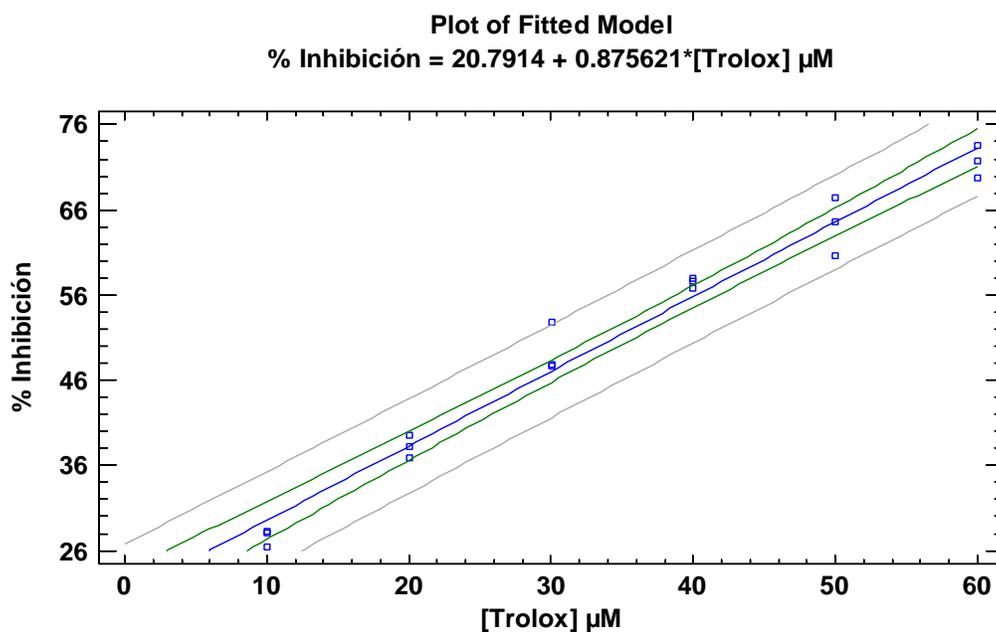
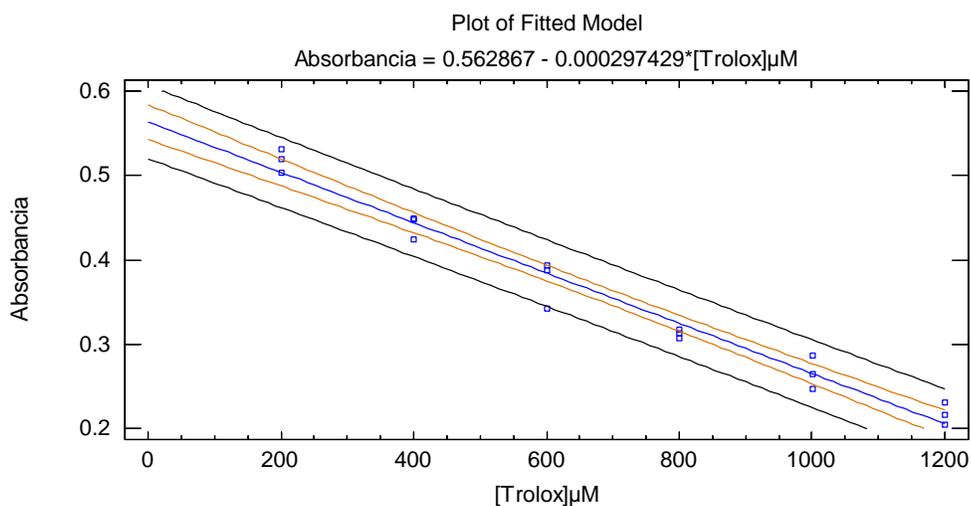
Figura 26. N,N-dimetil-p-fenilendiamina (DMPD)

agente antioxidante capaz de transferir hidrógeno provoca una decoloración de la solución. De este modo, la decoloración es proporcional a la cantidad de agente antioxidante presente en el vino. La reacción que ocurre es la siguiente:



Si se graficarán los datos de Absorbancia & Concentración de Trolox, la pendiente de la regresión tendría valor negativo, lo cual nos indica que mientras aumenta la concentración de Trolox, disminuye la concentración del radical DMPD^{•+}, comprobando así que se lleva a cabo la reacción de óxido-reducción, donde el electrón desapareado del radical DMPD^{•+}, capta el Hidrógeno del grupo Hidroxilo de los compuestos Fenólicos, para que el radical DMPD^{•+} se oxide transformándose a DMPD⁺.

El radical DMPD^{•+} tiene absorbancia a los 505nm y al añadirle el polifenol provocan su decoloración la cual es proporcional a su concentración. (Figura 27)



Los resultados de la actividad antioxidante de cada una de las muestras de vino de estudios a partir de la curva de calibración (Figura 28), Dichos datos se encuentran reportados en la Tabla 10 en unidades μ moles ó mg Equivalentes de Trolox (ET) por cada 100 mL Vino.

Tabla 10. Resultados de la determinación de capacidad antioxidante de los Vinos Tintos Mexicanos

Vino Tinto Mexicano	Capacidad Antioxidante $\mu\text{moles ET /100 mL Vino}$	Capacidad Antioxidante $\text{mg ET /100 mL Vino}$
<i>Baja California</i>		
Santo Tomas Merlot	41.01 + 4.94	10.26 + 1.24
Santo Tomas Tempranillo	48.33 + 4.59	12.10 + 1.15
L.A. Cetto Don Luis Merlot	48.53 + 4.96	12.15 + 1.24
Santo Tomas Cabernet Sauvignon	57.64 + 6.89	14.43 + 1.73
L.A. Cetto Cabernet Sauvignon	58.40 + 2.79	14.62 + 0.70
XA Domeq Cabernet Sauvignon	58.82 + 3.89	14.72 + 0.97
L.A. Cetto Nebbiolo	62.45 + 4.54	15.63 + 1.14
L.A. Cetto Sierra Blanca Tempranillo	63.52 + 1.55	15.90 + 0.39
L.A. Cetto Petite Sirah	90.22 + 6.16	22.58 + 1.54
<i>Coahuila</i>		
Casa Grande Shiraz	64.91 + 5.76	16.25 + 1.44
Casa Grande Cabernet Sauvignon	69.69 + 5.8	17.44 + 1.45
Casa Madero Shiraz	71.22 + 7.51	17.83 + 1.88
Casa Madero Merlot	77.11 + 4.9	19.30 + 1.23
Casa Madero Cabernet Sauvignon	80.69 + 7.26	20.20 + 1.82
<i>Querétaro</i>		
Delice Catembe Semidulce	63.09 + 11.63	15.79 + 2.91
Delice Catembe Seco	77.76 + 1.38	19.46 + 0.35

3.2.1 Influencia del Estado de origen en la concentración de Capacidad Antioxidante en Vino Tinto Mexicanos

Los resultados obtenidos se encuentran en un intervalo de Capacidad Antioxidante de 10.26 a 22.58 mg equivalentes de Trolox por cada 100 mL de Vino. De manera general se podría describir que el Vino L.A. Cetto Petite Sirah presenta mayor inhibición, mientras que el Vino Santo Tomas Merlot presenta la menor capacidad de inhibir el Radical DMPD^{•+}, es decir, presenta menor capacidad para capturar el radical. A primera instancia vemos que los resultados obtenidos de Capacidad Antioxidante se relacionan directamente proporcionales con los Fenoles Totales.

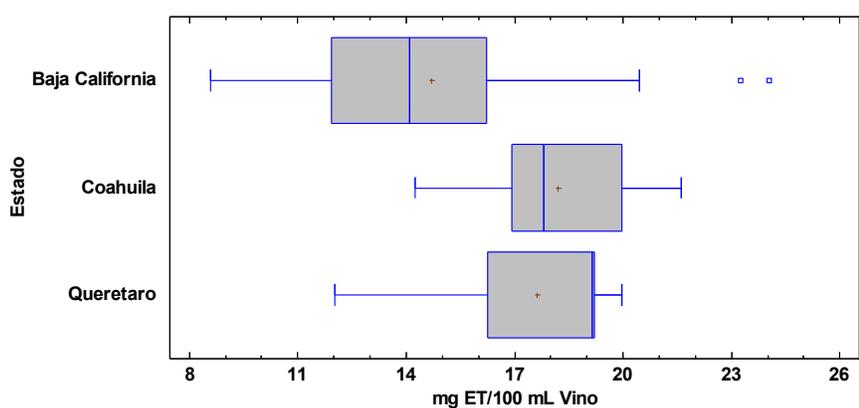


Figura 29. Influencia del Estado de origen en la concentración de Capacidad Antioxidante

En la Figura 29 se observa que existen diferencias entre las medias de las concentraciones de Capacidad Antioxidante Baja California & Coahuila y Querétaro & Baja California. Mientras que las medias de la capacidad antioxidante entre Coahuila & Querétaro pueden considerarse iguales. Todo esto se confirma con la tabla de rangos múltiples (Anexo B). Como conclusión se puede ver que claramente los vinos tintos del Estado de Querétaro y Coahuila contienen una concentración mayor de Capacidad Antioxidante que los de Baja California.

3.2.2 Influencia del Tipo de Uva en la concentración de Capacidad Antioxidante en Vino Tinto Mexicanos

Con respecto al Tino de Uva se realizó el ANOVA correspondiente obteniéndose el siguiente

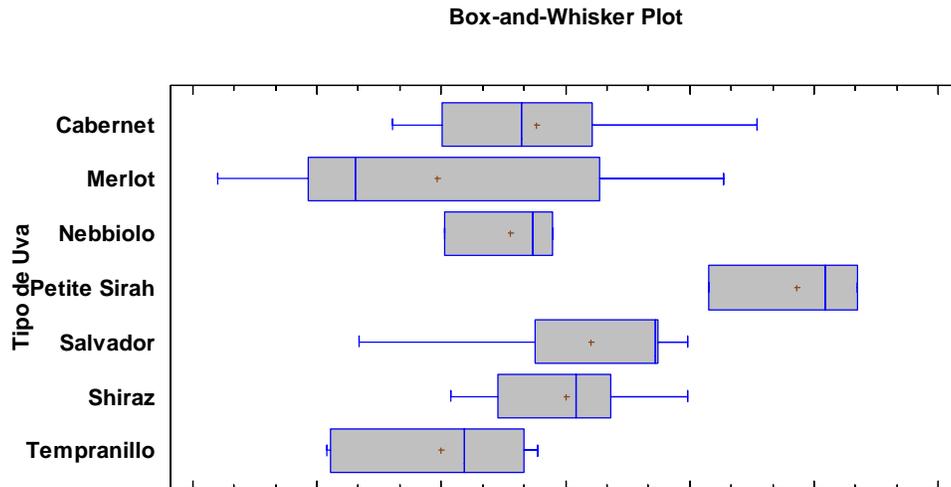


Figura 30. Influencia del Tipo de uva en la concentración de Capacidad Antioxidante

En la Figura 30 se puede observar que existen diferencias significativas entre las medias de la concentración de Capacidad Antioxidante de la uva Petite Sirah & todas los demás variedades de uva, ya que no hay traslape. Adicionalmente con la tabla de rangos múltiples (Anexo B), se comprueba los anterior y además que el tipo de uva Salvador & Merlot y Salvador & Tempranillo, presentan diferencias significativas, siendo que la validez de este análisis se comprobó con la prueba de Levene (Anexo B).

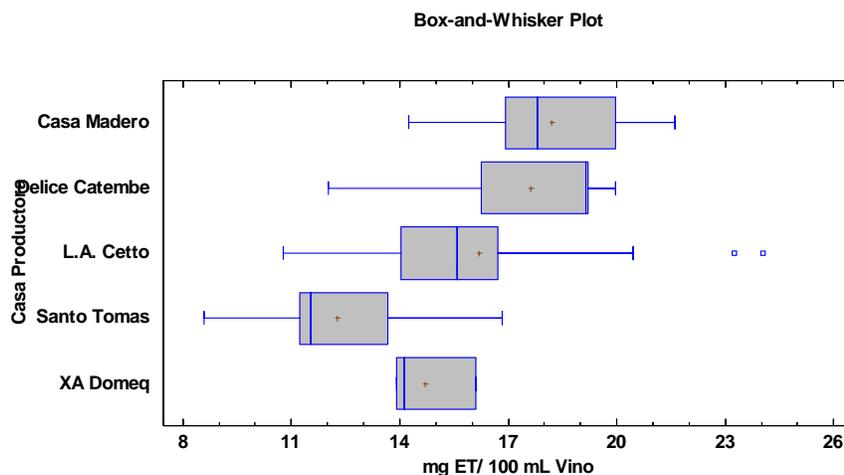
Como conclusión se puede dar un orden de contenido de Capacidad Antioxidante según la variedad de uva utilizada, como sigue:

*Petite Sirah > Salvador > Shiraz > Cabernet > Nebbiolo > Tempranillo
> Merlot*

Siendo la variedad Petite Sirah la de un mayor contenido de Capacidad antioxidante en comparación con todas las demás.

3.2.3 Influencia de la Casa Productora en la concentración de Capacidad Antioxidante en Vinos Tintos Mexicanos

Con respecto a la concentración de Fenoles Totales & la Casa Productora se observan los resul



Con la Figura 31 se observa que no existe una diferencia significativa por el factor de Casa Productora con respecto a la concentración de Capacidad Antioxidante, pero la casa productora L.A. Cetto presenta mayor dispersión, debido a que es la que presenta una mayor cantidad de tipos de uva. Por otra parte, Delice Catembe, Casa Madero, Santo Tomas y L.A. Cetto son las casas productoras que presenta medias muy parecidas, confirmadas con la Tabla de rangos múltiples y el análisis realizado con la prueba de Levene. (Anexo B).

Con dicha información influencia de la Casa Productora con respecto a la concentración de Capacidad Antioxidante va de la mayor concentración

$$\textit{Casa Madero} > \textit{Delice Catembe} > \textit{L.A.Cetto} > \textit{XA Domeq} > \textit{Santo T3omas}$$

En conclusión las Casas productoras de Coahuila y Quer3taro presentan mayor concentración de Capacidad Antioxidante en comparaci3n con las ubicadas en Baja California.

Tabla 11. Resumen de parámetros de validación evaluados para Capacidad Antioxidante

Parámetro de Desempeño	Criterios de aceptación	Resultado	Veredicto
Especificidad	Respuesta debido únicamente al analito de interés	La respuesta no se debe únicamente al analito de interés	No cumple
Linealidad	$r^2 \geq 0.98$	$r^2 \geq 0.9846$	Cumple
	L.C. (b) debe incluir al cero	L.C. (b) 20.2405 ± 0.6222 No incluye al cero	No cumple
	L.C. (m) debe ser mayor a cero	L.C. (m) 0.8815 ± 0.0158 Es mayor a cero	Cumple
Límite de detección	$L.O.D = \frac{S_{x/y} \cdot 3.3}{m}$	L. O. D = 7.7135 [Trolox] μ M	Cumple
Límite de cuantificación	$L.O.Q = \frac{S_{x/y} \cdot 10}{m}$	L. O. Q = 23.3743 [Trolox] μ M	Cumple

En la Tabla 11 se presenta un resumen de los parámetros de validación evaluados para Capacidad Antioxidante, siendo que la linealidad con respecto a la ordenada al origen no cumple, debido a los errores sistemáticos durante la experimentación.

3.3 CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS MEDIANTE LA TÉCNICA DE ELECTROFORESIS CAPILAR

3.3.1 Optimización del método para la separación de polifenoles por Electroforesis Capilar

Para la selección de las condiciones óptimas para la separación de los polifenoles en vinos tintos mexicanos por Electroforesis Capilar (CE), se realizó el estudio de los factores más importantes que influyen en la separación, como son:

a) La concentración del electrolito soporte.

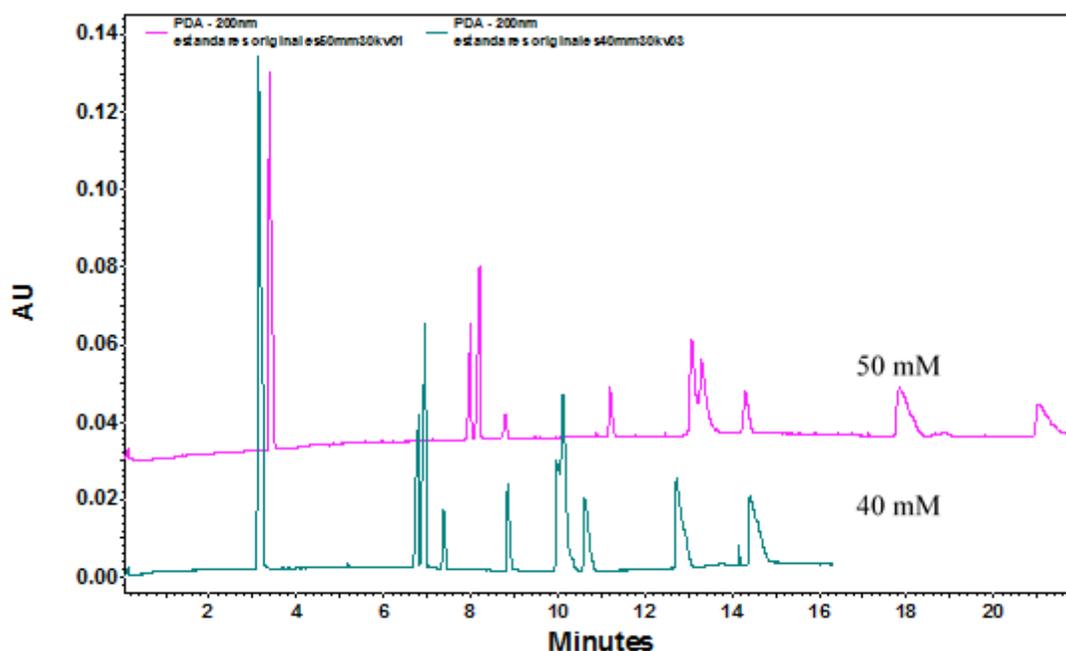


Figura 32. Electroferogramas de la separación de una mezcla de estándares de polifenoles utilizando diferentes concentraciones de buffer. Condiciones: búfer de boratos pH 9.25, inyección hidrodinámica 0.5psi, 5s, 30kV, 25°C, detección a 214 nm

El buffer seleccionado fue el de boratos (a partir de tetraborato de sodio) ya que con éste regulador se asegura un buen amortiguamiento a pH alrededor de 9.2 ($pK_a=9.2$). Se realizaron las separaciones de una mezcla de polifenoles utilizando buffers a las concentraciones de 40 y 50 mM y los electroferogramas (Figura 32).

En los electroferogramas (Figura 32), se muestra que existen aún señales traslapadas a los 10 min al utilizar el buffer de boratos 40 mM, mientras que utilizando la concentración de 50 mM la resolución entre los dos picos mejora considerablemente. Por esta razón se seleccionó la concentración de 50 mM de buffer de boratos.

b) El pH impuesto, se midieron electroferogramas a pH's 9.25, 9.4 y 9.5

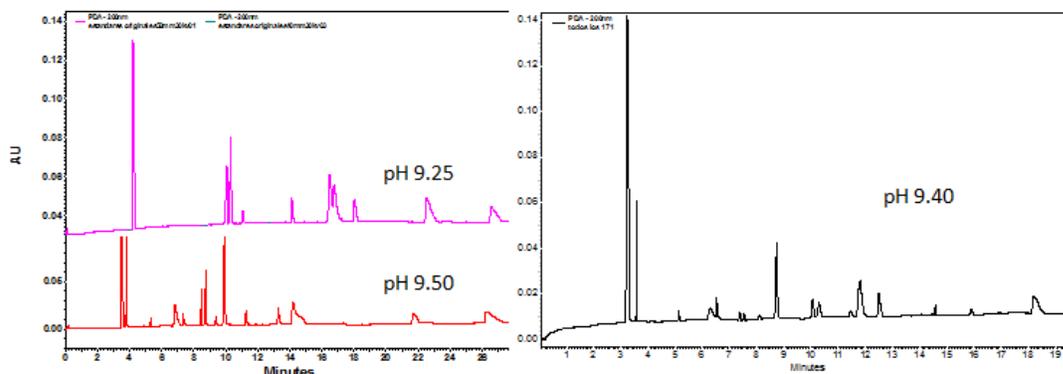


Figura 33. Electroferogramas de la separación de una mezcla de estándares de polifenoles utilizando diferentes pH's. Condiciones: como en la Fig. 32 excepto que se variaron los pH's del buffer siendo estos pH: 9.25, 9.40 y 9.50.

En los electroferogramas (Figura 33) se observa que la máxima resolución de las señales de la mezcla de los polifenoles se logra a pH 9.4, ya que a otros pH existe traslapamiento de los picos de varios polifenoles, mientras que a pH 9.4 todos se resuelven con excepción de 2 picos con baja resolución aproximadamente a los 10 min. Por tal motivo se seleccionó el pH 9.4 como óptimo para las subsecuentes mediciones.

c) Adición de MeOH en concentraciones del 5% y 10%

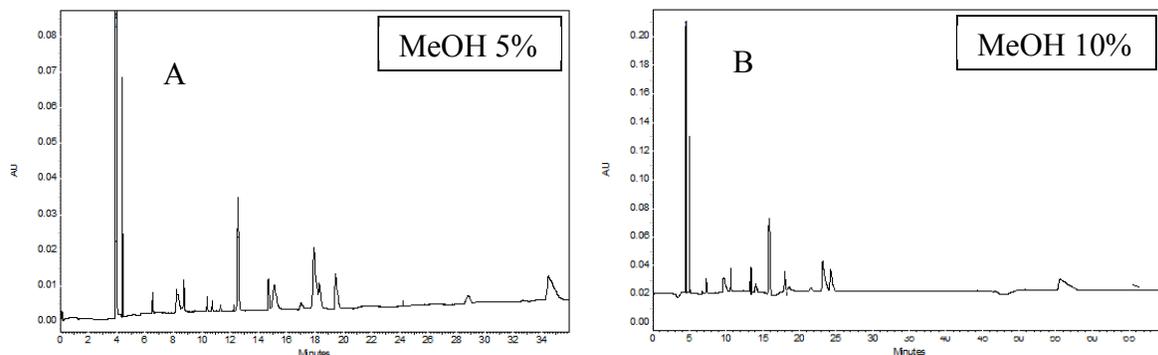


Figura 34. Electroferogramas de la separación de una mezcla de estándares de polifenoles con buffer de boratos [50 mM] pH: 9.4 y adición de MeOH al 5% (A) y 10% (B).

Se adiciona metanol como aditivo al buffer para ayudar a reducir el flujo electroosmótico y modificar la movilidad de algunos estándares para mejorar su resolución. El metanol se añadió al 5% (Figura 34A) y al 10% (Figura 34B) al buffer de boratos 50 mM de pH 9.4. En el electroferograma (Figura 34A) se observa que el tiempo de migración aumenta en comparación con la Figura 32 (superior); sin embargo, no se observa mejoría en la separación de los estándares.

Con MeOH al 10%, se observa en la Figura 34B, que hay un ensanchamiento de picos y aumento considerable del tiempo de migración; esto ocurre debido a que entre mayor tiempo pase la muestra en el capilar pueden presentarse interacciones con el medio soporte (pared del capilar). Por lo tanto, es posible suponer que al cambiar las condiciones de separación se presentan nuevas interacciones entre los polifenos, resultando una separación más complicada y tiempo de medición más largos, por lo tanto dichas condiciones no son adecuadas para el análisis.

3.3.2 Análisis Cualitativo

Una vez seleccionadas las condiciones de separación óptima para las muestras de vinos, se procedió a inyectar los vinos en el equipo de Electroforesis Capilar e identificar los polifenoles que los componen a partir de los picos de los electroferogramas.

Una primera aproximación para la identificación de los picos resultantes fue la comparación con los tiempos de migración con los tiempos obtenidos para los Estándares Figura 35, reportados en la Tabla 13.

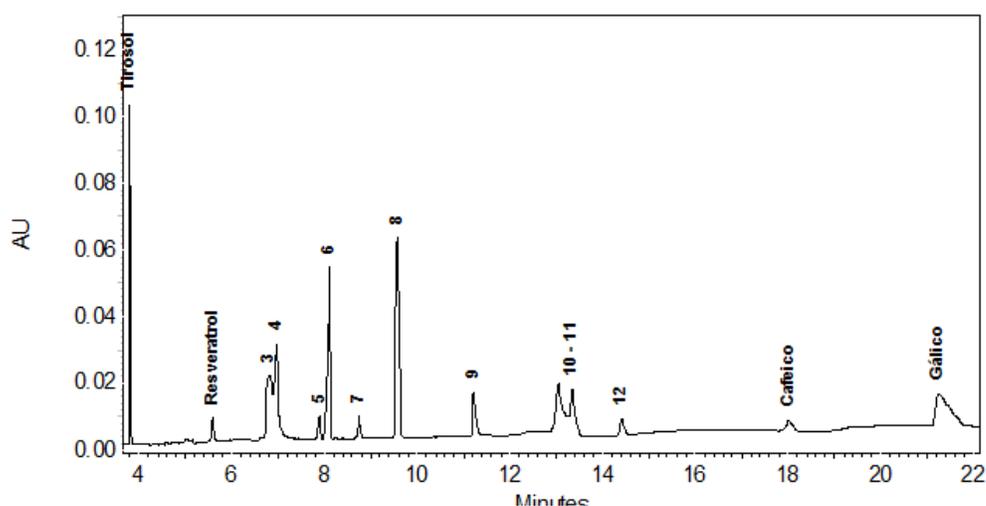


Figura 35. Electroferograma obtenido de la separación de una mezcla de 14 compuestos fenólicos estándares a condiciones de separación: Buffer de Boratos 50 mM, pH 9.4, inyección hidrodinámica 0.5psi, 5s, 30 kV, 25 oC, detección a 214 nm

Tabla 12. Tiempos de retención de los Estándares de Polifenoles Puros a 1000 mg/L.

Compuesto Fenólico	Tiempo de migración (min)
Tirosol	3.8
Resveratrol	4.6
Catequina (3)	6.8
Rutina (4)	7.0
Vainillina (5)	7.9
Ácido trans-cinámico (6)	8.0
Ácido Clorogénico (7)	8.8
Ácido Gentísico (8)	9.6
Ácido Ferúlico (9)	10.3
Ácido Cumárico (10-11)	13.1
Quercetina (10-11)	13.4
Ácido Vanílico (12)	14.4
Ácido Caféico	18.0
Ácido Gálico	21.3

3.3.3 Análisis Cuantitativo

Una vez identificados los polifenoles presentes en cada una de las muestras, se integró el área y altura de los picos correspondientes. Cada vino se inyectó por triplicado y se calculó el área y altura media. Para llevar a cabo la cuantificación de los compuestos fenólicos, se utilizaron curvas de calibración. En la Figura 35 se realizó una inyección de una mezcla de 14 estándares de compuestos fenólicos; sin embargo, al llevar a cabo la identificación de los compuestos fenólicos en la muestras de vinos, sólo fue necesario la medición de 8 estándares (Tirosol, Resveratrol, Ác. Cinámico, Ac. Gentísico, Ácido Ferúlico, Ácido Vanilínico, Ác. Cafeico y Ác. Gálico). En la Figura 36 se observa el electroferograma obtenido.

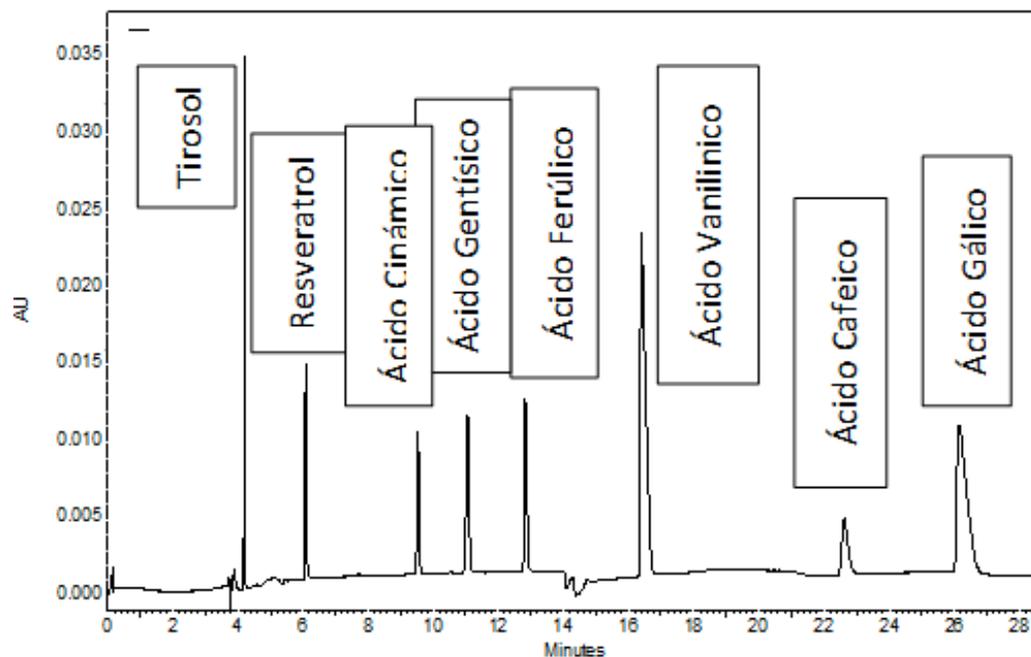


Figura 36. Electroferograma obtenido de la mezcla de 8 estándares a condiciones de separación de Buffer de Boratos 50 mM y pH 9.4, inyección 0.5 psi, 5s, 30 kV, 25oC, detección a 214 nm.

Curva de Calibración

En la Tabla 13 se muestran las ecuaciones del modelo lineal para cada compuesto fenólico, además de su coeficiente de determinación (r^2). En la Figura 37 se presentan los electroferogramas obtenidos de la medición de las diferentes soluciones de las curvas de calibración. Otros parámetros de validación del modelo lineal obtenidos con la ayuda del software statgraphics centurión XVI (Anexo C).

Tabla 13. Ecuaciones obtenidas de la curva de calibración para cada Fenol de estudio

<i>Polifenol</i>	<i>Propiedad</i>	<i>Pendiente (m±s)</i>	<i>Ordenada al origen (b±s)</i>	<i>Coefficiente de determinación r²</i>	<i>Cumple con homocedasticidad</i>
Tirosol	Área	288.1970±1.7304	363.7340±197.9070	0.9992	Si
Resver<atrol	Área	481.2270±2.6244	-811.038±115.591	0.9994	Si
Ácido Cinámico	Altura	197.7170±2.1597	-207.1950±61.9703	0.9973	Si
Ácido Gentísico	Área	883.1440±8.2223	-1460.32±350.8530	0.9979	Si
Ácido Vanílico	Área	1085.07±23.9197 0.47536±0.1016	-3128.05±1146.90	0.9994	Si
Ácido Caféico	Altura	87.6136±0.5937	-25.4057±14.6094	0.9989	Si
Ácido Gálico	Área	1641.87±15.5939	-3625.16±1200.68	0.9978	Si

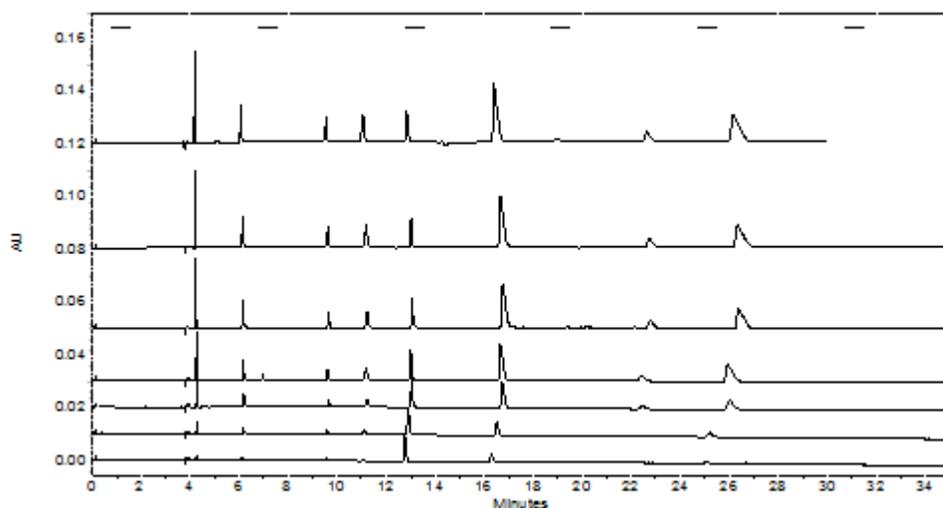


Figura 37. Conjunto de electroferogramas correspondientes a la curva de calibración de la separación de compuestos fenólicos. Condiciones Buffer de Boratos 50 mM, pH 9.4

La cuantificación de los polifenoles estudiados se realiza seleccionando el área bajo la curva o la altura de pico del compuesto que son proporcionales a la concentración, siempre y cuando cumplan con ciertos criterios de validación de este modelo lineal. Como se observa en la Tabla 13, ambas propiedades cumplen con dicha características y se seleccionó la que posee un ajuste mejor al modelo. En la Tabla 14 se muestra el contenido de fenoles de cada muestra de vino analizado.

Tabla 14. Contenido de compuestos fenólicos en mg/100mL las muestras de vinos tintos

VINO TINTO MEXICANO	[Tirosol] mg/100 mL	[Resveratrol] mg/ 100 mL	[Cinámico] mg/100 mL	[Gentísico] mg/100 mL	[Vanílico] mg/ 100 mL	[Cafeico] mg/100 mL	[Gálico] mg/100 mL
XA Domeq Cabernet	4.597	1.614	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Santo Tomas Tempranillo	7.841	4.287	0.00	0.00	7.497	2.338	2.899
Santo Tomas Merlot	4.846	4.994	0.00	0.00	6.732	0.633	2.978
Santo Tomas Cabernet Sauvignon	7.752	1.346	0.00	1.034	11.464	1.555	2.302
L.A. Cetto Sierra Blanca Tempranillo	3.642	2.589	0.00	0.993	0.00	0.00	0.00
L.A. Cetto Petite Sirah	2.906	4.341	2.069	0.00	6.077	0.647	18.074
L.A. Cetto Nebbiolo	2.077	1.439	0.00	0.00	4.165	0.00	0.623
L.A. Cetto Don Luis Merlot	4.489	3.346	0.00	0.00	3.912	0.00	4.948
L.A. Cetto Cabernet Sauvignon	5.730	2.615	0.00	0.00	7.321	0.642	6.355
Casa Madero Shiraz	4.102	3.788	0.00	0.00	6.28	0.397	3.564
Casa Madero Merlot	5.569	0.169	0.00	0.00	4.991	0.681	8.473
Casa Madero Cabernet Sauvignon	5.811	4.922	0.00	0.00	6.686	0.00	4.941
Casa Grande Shiraz	2.770	2.715	0.00	0.00	7.626	0.979	3.678
Casa Grande Cabernet	5.612	2.183	0.00	0.00	6.600	0.904	3.842
Delice Catembe Semidulce	1.606	0.169	0.00	0.00	0.00	0.391	1.440
Delice Catembe Seco	1.599	0.169	0.00	0.00	0.00	0.809	1.747

Se realizó la sumatoria de las concentraciones de los polifenoles individuales para realizar la comparación con diagramas de caja

.OS

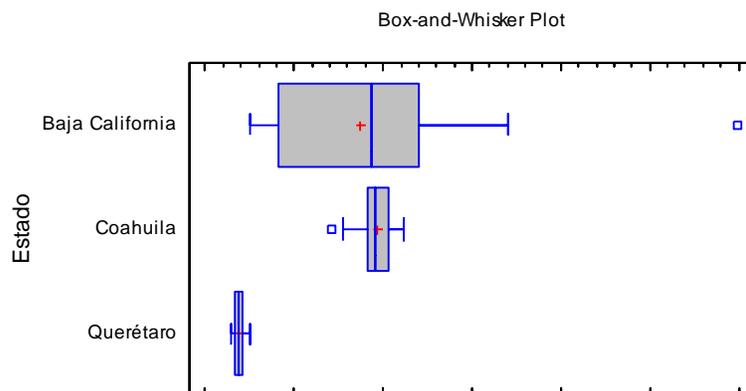


Figura 38. Influencia del Estado en la concentración de Polifenoles Totales en los vinos

En la Figura 38 se observa que las medias de las concentraciones del total de polifenoles de Baja California & Coahuila son muy similares. Mientras que Querétaro es diferente de ambas regiones y de menor concentración. Al compararse dichos resultados con la Figura 23 donde se analiza la concentración de Fenoles Totales, se confirma que los vinos procedentes del estado de Querétaro son los que presentan menor contenido de polifenoles. Sin embargo, los vinos procedentes del estado de Coahuila que contienen una notoriamente mayor concentración en Fenoles Totales, con respecto a cada polifenol, presentan una media muy cercana a los de Baja California, siendo posible considerarlos iguales, por lo que es posible suponer que los vinos procedentes de Coahuila contienen otros compuestos con capacidad reductoras además de los polifenoles.

Posteriormente, se realizó en análisis de varianza con respecto al factor de los polifenoles cuantificados individualmente en cada muestra vino (Figura 39), donde se observa que la concentración de cada uno de los polifenoles no presentan diferencias significativas. Sin embargo en la tabla de rangos múltiples (Anexo C), se verifica que la medias del ácido caféico, ácido cinámico y ácido gentísico si se pueden considerar iguales; así como también las medias entre tirosol & ác vanílico. Sin embargo, resveratrol, y ácido gálico presentan diferencias significativas en el rango de concentraciones de los diferentes vinos estudiados. Además se pueden ver 4 grupos homogéneos, es decir 4 grupos que presentan un comportamiento común.

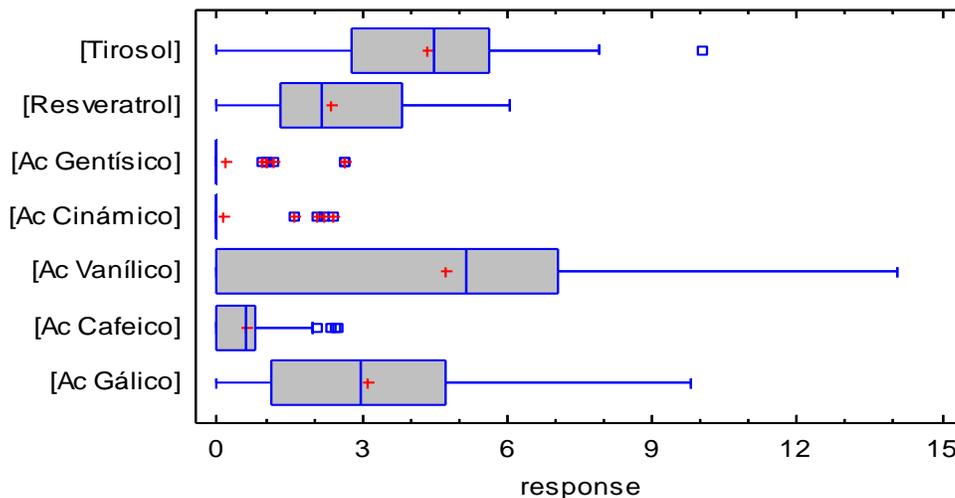


Figura 39. Influencia de las concentraciones de los polifenoles en las muestra de vinos

3.4 CUANTIFICACIÓN DE ELEMENTOS METÁLICOS MEDIANTE LA TÉCNICA ANALÍTICA DE ICP-OES Y EAA.

La identificación y cuantificación de los elementos metálicos en vinos se ha considerado de gran interés ya que permite la definición de lo que se llama “Huella Dactilar” de cada uno de ellos, lo que permitirá verificar en cada caso su denominación de Origen. Esta “huella” manifiesta que la composición del vino está fuertemente influida por los factores relacionados con el área específica de producción (variedad de Uva, suelo y climatología, levaduras y prácticas de cultivo y vinificación). El estudio de los elementos metálicos que se producen en el vino en el orden de mg/L (ppm) provenientes de la uva (y probablemente de la maquinaria que se utiliza, debido a que el vino y el mosto atacan los metales), son de gran importancia ya que aunque no se relacionan directamente con el sabor del producto final, su contenido debe ser determinado, porque el exceso es indeseable y en algunos casos prohibido, debido a la toxicidad potencial.

De los diferentes métodos para la determinación de metales, las Técnicas de Espectroscopia Atómica son los más sensibles y rápidas. La mayoría de los elementos metálicos presentes en el vino puede ser determinada con estas técnicas, en concentraciones que van desde el orden de mg/L hasta $\mu\text{g/L}$.

3.4.1. Análisis Cualitativo de los elementos Metálicos por Espectroscopia de Emisión Atómica de plasma con acoplamiento inductivo (ICP-OES).

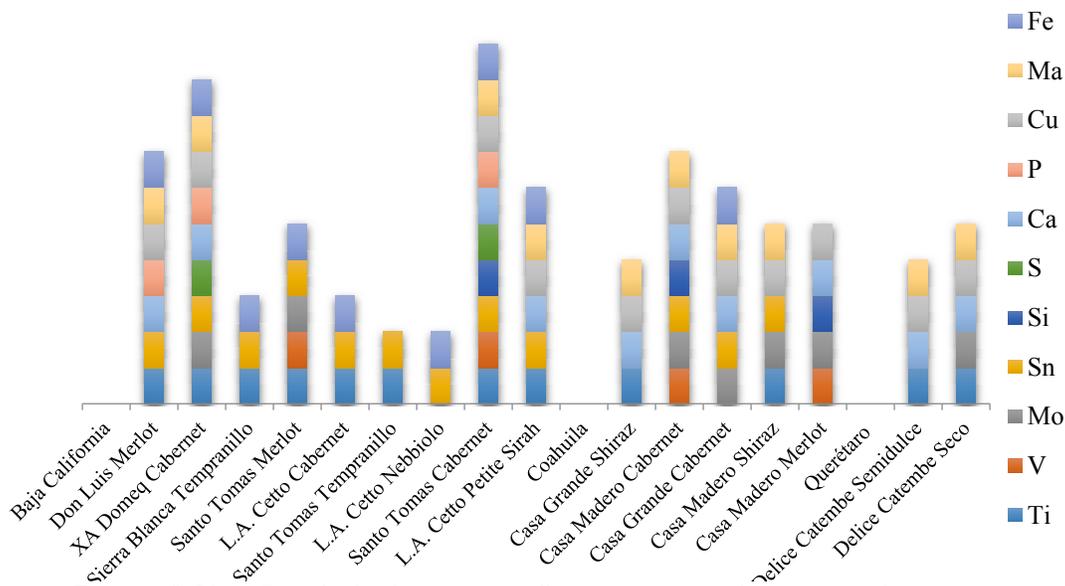


Figura 40. Identificación de elementos metálicos presentes en las muestras de vino.

Al inicio se llevó a cabo un estudio cualitativo de los elementos metálicos presentes en cada una de las muestras de los Vinos, para su posterior cuantificación mediante la misma técnica de Espectroscopia Atómica.

En el Figura 40 se observa que en las Zonas Vinícolas de Baja California, hay un mayor número de elementos metálicos, entre los cuales se encuentran exclusivamente el Azufre (S) y Fósforo (P); mientras que el Vanadio (V) se encuentra presente en Coahuila y Baja California. Por otra parte los vinos procedentes de Querétaro presentan una menor cantidad de elementos, sin ser alguno característico de la zona.

3.4.2. Determinación de Ca, Cu, Fe, Mn, S, P, V y Zn por Espectroscopia de Emisión Atómica de plasma con acoplamiento inductivo (ICP-OES).

Una vez realizado el análisis cualitativo, que permitió conocer los elementos metálicos presentes en las muestras, se procedió a la cuantificación de los elementos que se consideran de mayor importancia. Para lograr lo anterior, se prepararon las soluciones correspondientes para construir las curvas de calibración y obtener los modelos lineales que fueron utilizados para la interpolación de las muestras. El estudio se realizó a partir de 16 muestras de vinos previamente digeridos en un microondas. Los resultados se muestran en la Tabla 17

Tabla 15. Cuantificación de 8 elementos Metálicos presentes en las muestras de Vino

Vino Tinto Mexicano	Ca	Cu	Fe	Mn	P	S	V	Zn
	(mg / L de Vino)							
<i>Baja California</i>								
L.A. Cetto Cabernet Sauvignon	213.73	2.56	5.29	1.48	2006	1518.67	0.26	1.29
L.A. Cetto Sierra Blanca Tempranillo	217.27	4.92	5.02	1.41	2012.67	1467.33	0.34	1.38
L.A. Cetto Nebbiolo	191.93	1.6	6.48	1.56	2002	1719.33	0.29	1.72
XA Domeq	194.4	1.87	5.6	1.95	2294	1218.67	0.31	1.19
L.A. Cetto Don Luis Merlot	196.87	5.87	5.38	1.49	1880	1672	0.33	1.54
L.A. Cetto Petite Sirah	182.8	2.17	4.18	1.54	1954	1216	0.24	1.12
Santo Tomas Merlot	167.4	1.74	5.37	2.07	1727.33	1210	0.22	1.11
San Tomas Tempranillo	175.47	18.01	40.0	2.21	1929.33	1244	0.18	4.05
San Tomas Cabernet Sauvignon	178.87	4.3	5.31	3.03	2236.67	1289.33	0.24	1.76
<i>Coahuila</i>								
Casa Madero Shiraz	150.93	4.42	2.72	1.9	1863.33	1368	0.31	1.43
Casa Madero Cabernet Sauvignon	169.87	2.4	1.19	1.28	1716.67	1500	0.25	1.39
Casa Grande Cabernet Sauvignon	167.87	6.08	15.84	1.83	1751.33	1620.67	0.26	1.79
Casa Grande Shiraz	130.47	5.85	1.21	1.6	1700	1638.67	0.21	1.72
Casa Madero Merlot	200.87	3.01	1.47	1.63	1483.33	1082	0.24	1.87
<i>Querétaro</i>								
Delice Catembe Salvador	233.0	11.81	2.4	1.0	1260	324.8	0.4	1.4
Delice Catembe orgánico	152.33	12.25	1.38	0.7	805.33	403.73	0.26	1.85

3.4.2.1 Análisis de la presencia de Azufre y Fósforo en los Vinos Tintos Mexicanos

Los resultados del estudio de elementos metálicos en vinos tintos mexicanos oscilan entre 0.7 y 2294 mg/ L de vino. Al realizar un análisis de varianza (ANOVA) de la totalidad de los datos, se observa que los vinos del estado de Querétaro, con la Uva Salvador típica de este estado y con su casa productora Delice Catembé, presentan un menor contenido de fósforo. Nótese que el contenido de dicho elemento presenta diferencias significativas claras entre los otros dos estados, ya que las cajas con bigotes y su dispersión (bigotes) no se traslapan totalmente por lo que es un buen marcador “terruño*” del origen del vino (Figura 41).

*Factor que otorga al vino la cualidad de ser diferente, al dotarlo de unas características específicas e identificables, por el hecho de cultivarse la vid y elaborarse el vino, en un espacio concreto y determinado.

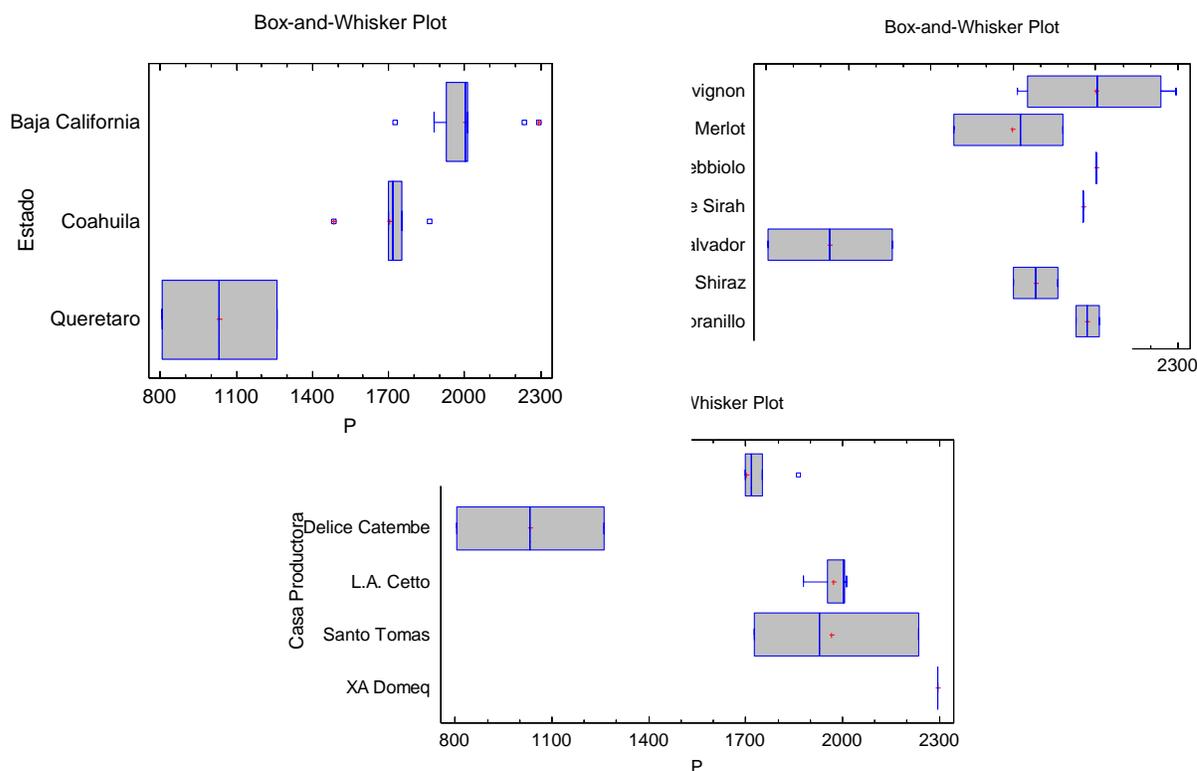


Figura 41. Influencia de la concentración de fósforo en las muestras de vinos mexicanos

Por otra parte, al realizar el análisis de varianza (ANOVA) con respecto al elemento metálico Azufre, se observa en la caja con bigotes y su dispersión que los vinos del estado de Querétaro, presentaron un menor contenido que a los de Coahuila y Baja California. (Figura 42),

confirmándose esta misma tendencia con la uva Salvador típica de ese estado y con su casa productora Delice Catembé.

Estos resultados se deben a la ubicación de dichas zonas vinícolas, ya que Baja California se encuentra en el sur de la línea fronteriza que se extiende, desde Mexicali hasta Ensenada, en una posición perpendicular al océano Pacífico, por lo que tienen un buen grado de influencia marina debido a un permanente ir y venir de los vientos tierra-mar-tierra.

Esta es la zona templada conocida como la franja del vino, situada entre los 30 y 50 grados de latitud norte y cuyas propiedades climáticas se conocen como las de clima mediterráneo, con inviernos húmedos, veranos secos y templados, lo cual permite obtener cosechas de máxima calidad.

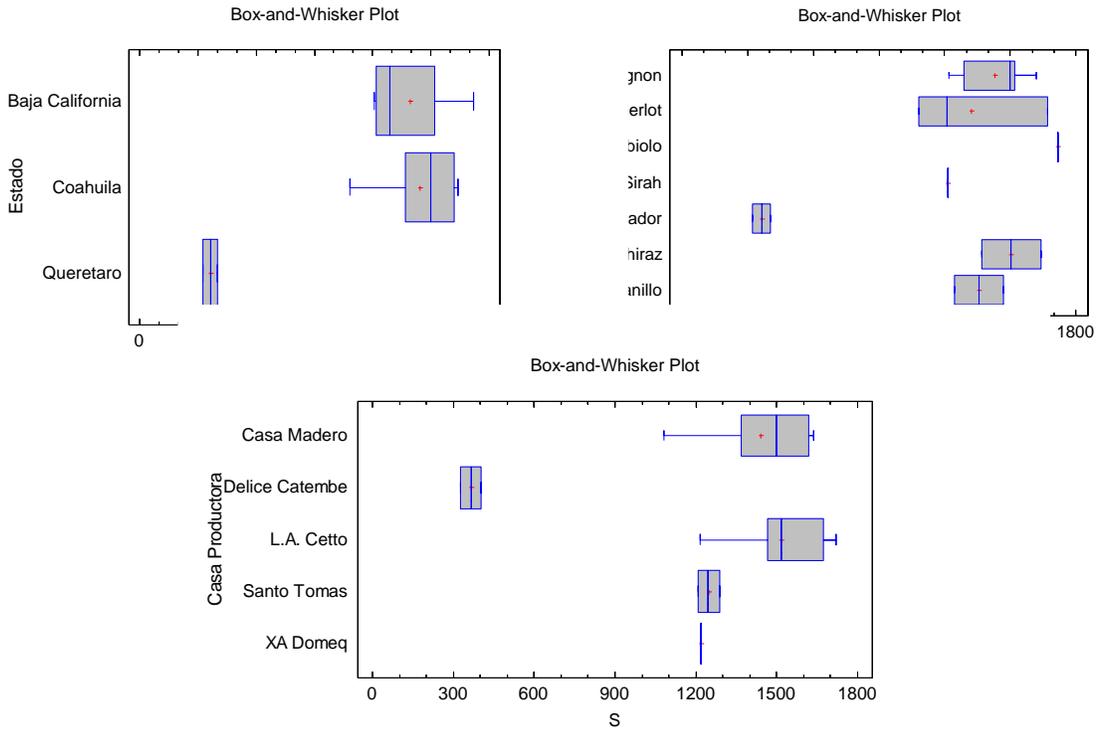
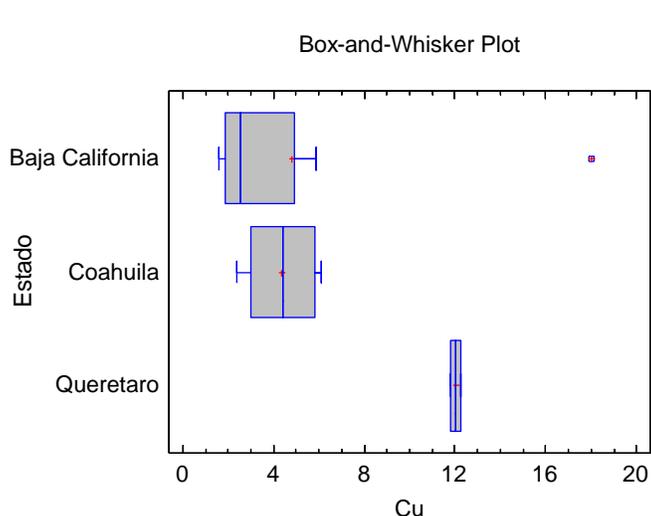


Figura 42. Influencia de la concentración de azufre en las muestras de vinos mexicanos

3.4.2.2 Análisis de la presencia de Cobre en los Vinos Tintos Mexicanos

La presencia de cobre es en bajas cantidades, en un intervalo de 1.6 a 18.01 mg/L. Al realizar el ANOVA, se observa en la caja con bigotes que los vinos de Querétaro poseen una mayor contenido de cobre que los de Coahuila y Baja California (Figura 43). Esto es posible atribuirlo a la incapacidad de



puede ser proveniente de los vinos la concentración de cobre puede ser exógena o endógena; la mayoría de la endógena proviene del sulfato de cobre usado para prevenir el crecimiento de mohos en los vinos (Nikolakaki et al., 2002). Otra manera de la liberación de cobre es por parte de ciertos metales (latón o bronce) en contacto con la vendimia o el mosto. El cobre originado de la viña es eliminado durante la vinificación (Girad, 2003); se elimina con las levaduras y las borras en forma de sulfuros. Principalmente los contenidos excesivos de cobre pueden provenir del contacto posterior del mosto o el vino con utensilios en los cuales se empleó este metal para su realización; sin embargo, el uso cada vez más frecuente de acero inoxidable reduce estos riesgos.

Figura 43. Influencia de la concentración de cobre en las muestras de vinos mexicanos en función del estado.

3.4.2.3 Análisis de la presencia de Hierro en Vinos Tintos Mexicanos

Este elemento se encuentra en un intervalo de 1.21 a 40 mg /L. Al realizar el ANOVA, se observa en la caja con bigotes y su dispersión que sólo existen diferencias significativas en el contenido entre la Uva Salvador y la Tempranillo, por lo que su presencia no es un buen marcador de diferenciación. Es posible que esto se deba a que el hierro se encuentra en el vino

en pequeñas cantidades debido a la procedencia del mosto de la uva que va de 2 a 5 mg/L, de la tierra que puede ensuciar las uvas o material metálico de vinificación que se utiliza para su manipulación y transporte, así como también para su conservación.

En los vinos conservados fuera del contacto del aire al ser el medio reductor el hierro se encuentra como ion ferroso (Fe^{2+}), forma que es soluble en el vino aún en concentraciones elevadas. Pero en el vino que contiene oxígeno disuelto por ejemplo por una aireación, el hierro se oxida pasando a la forma férrica (Fe^{3+}), que es insoluble, capaz de precipitar con la materia colorante o con el ácido fosfórico, generando la conocida quiebra azul o quiebra blanca. Estos dos tipos de quiebras pueden aparecer cuando el hierro se encuentra en una cantidad de 10 a 20 mg/L, aunque a un pH >2.9 el fierro puede combinarse con alcoholes, ácido málico o ácido cítrico existentes en el vino formando complejos estables que actúan como protector de la quiebra férrica.

3.4.2.4 Análisis de la presencia de Calcio en los Vinos Tintos Mexicanos

El calcio es un elemento de gran importancia, porque un exceso de este catión puede generar en la botella un precipitado cristalino de tartrato de calcio (Carazola y Xirau, 2005). El contenido de calcio en los vinos analizados fue de 130.47 a 233 mg/L, lo que se confirmó en la caja con bigotes que no existen diferencias significativas en los vinos de las diferentes casas productora y zonas geográficas; además, es importante señalar que es un compuesto natural de las uvas, pero que diversas prácticas enológicas como la desacidificación (adición de $CaCO_3$) o la adición $CaSO_4$, usado como estabilizador y agente antibacteriano alternativo, pueden incrementar el nivel de este mineral en los vinos.

3.4.2.5 Análisis de la presencia de Zinc en los Vinos Tintos Mexicanos

El Zinc es un mineral que presenta niveles de concentración bajos con valores de 1.6 a 4.05 mg/L, que en comparación con los que se encuentran reportados en la literatura por *Álvarez et al. (2006)* con un contenido de 0.53 mg/L, está por encima. Al realizar el ANOVA se observa

que no existen diferencias significativas entre los vinos tintos analizados, por lo tanto, no se puede considerar como un marcador característico.

La presencia de dicho elemento posiblemente es ocasionado por la influencia de factores como: prácticas agrícolas, calidad de maquinaria usada durante el procesamiento y agentes plaguicidas para el control de plagas (Nikolakaki *et al.*, 2002) y adicionalmente, factores climáticos y ecológicos los cuales influyen en la variabilidad de los patrones nutricionales de los alimentos y por ende de los productos obtenidos a partir de ellos (Azcon y Talon 2002).

3.4.2.6 Análisis de la presencia de Manganeso en los Vinos Tintos Mexicanos

Los vinos del estado de Querétaro presentaron un contenido menor de Manganeso que los de Coahuila y Baja California. Esto se confirma observando que la Uva Salvador típica de Querétaro, así como la casa productora Delice Catembe de ese mismo estado, poseen las menores concentraciones de Mn del resto de los tipos de uva y casa productoras. Adicionalmente, se encontró a la mayor concentración en la casa productora Santo Tomas procedente de Baja California.

3.4.2.7 Análisis de la presencia de Vanadio en los Vinos Tintos Mexicanos

Las casas productoras L.A. Cetto y Delice Catembe tienen vinos con contenido significativamente más alto de vanadio que el resto de las casas productoras.

3.4.3. Determinación de potasio (K) por Espectrofotometría de Absorción Atómica (EAA).

El potasio es un elemento que se ha hecho necesario, ya que las nuevas técnicas agrícolas de abonado y fertilización elevan su concentración, dando lugar a la elevación del pH del vino, por lo que la pérdida de acidez ocasiona alteración en las propiedades de un vino. Su cuantificación se llevó a cabo con el método de curva de calibración (Figura 44), mediante un modelo lineal, con coeficiente de correlación es igual a 0.995 lo que indica una fuerte relación entre las variables y estadísticamente hay una relación significativa entre la absorbancia y la

concentración de [K] en unidades de ppm, dado que $p < 0.05$. A dicho comportamiento le

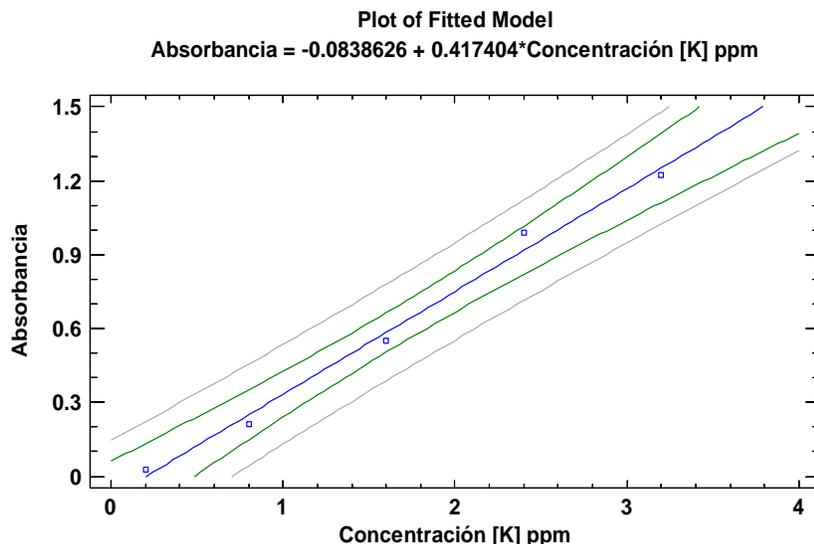


Figura 44. Curva de Calibración para la determinación de la concentración de Potasio, presente en los vinos tintos.

Las concentraciones obtenidas de potasio en las muestras de vino se encuentran en un intervalo de 320.24 a 3909.12 mg/L, los cuales se muestran en la Tabla 16.

En la caja con bigotes y su dispersión (Figura 45) se observa que los vinos del estado de Querétaro tienden a tener bajo contenido de potasio, confirmándose misma tendencia con la uva Salvador de ese estado y con su casa productora Delice Catembe. Mientras en las otras zonas geográficas no hay diferencias significativas.

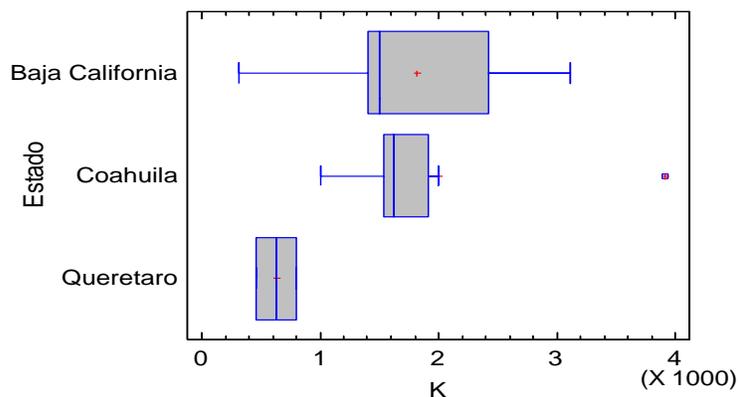


Figura 45. Influencia de la concentración de potasio en las muestras de vinos mexicanos en función del estado. La variación de las concentraciones de potasio está en función de la variedad de uvas, de las condiciones climatológicas en su desarrollo y del tiempo de recolección, junto con otras

variables como son la temperatura de fermentación y almacenamiento, duración del mismo, pH, porcentaje de alcohol, uso de resinas de intercambio iónico, agentes de acabado, auxiliares de filtración y otros, todos los cuales influyen en el contenido de potasio en el vino terminado.

Tabla 16. Contenido de Potasio mg/L ó mg/100 mL en la muestras de Vino

Vino Tinto Mexicano	Concentración [K] mg/L Vino	mg [K] /100 mL
<i>Baja California</i>		
L.A. Cetto Nebbiolo	320.24	32.02
Don Luis Merlot	1124.42	112.44
L.A. Cetto Cabernet	1404.73	140.47
Santo Tomas Tempranillo	1447.85	144.79
Santo Tomas Merlot	1506.95	150.69
Sierra Blanca Tempranillo	2398.18	239.82
L.A. Cetto Petite Sirah	2419.74	241.97
XA Domeq Cabernet	2602.62	260.26
Santo Tomas Cabernet Sauvignon	3113.72	311.37
<i>Querétaro</i>		
Delice catembe Orgánico	459.19	45.92
Delice catembe Salvador	798.59	79.86
<i>Coahuila</i>		
Casa Madero Cabernet	3909.12	390.91
Casa Madero Merlot	1003.83	100.38
Casa Grande Shiraz	1534.10	153.41
Casa Madero Shiraz	1629.13	162.91
Casa Grande Cabernet	1911.04	191.10

3.5 ANÁLISIS QUIMIOMÉTRICO

Durante este trabajo de tesis se analizaron 16 vinos tintos (monovarietales) mexicanos utilizando diferentes técnicas analíticas. Con la finalidad de encontrar modelos que nos expliquen de mejor forma la influencia de factores como el Estado de procedencia, el tipo de uva y su composición se aplicaron a los datos obtenidos los métodos quimiométricos siguientes:

- Análisis de Clusters (conglomerados)
- Análisis de Componentes Principales (PCA)

Los modelos para ambas metodologías se generaron a partir de datos autoescalados, es decir, los datos se preprocesaron centrándolos a media 0 (restándole a cada dato la media de cada columna) y posteriormente dividiendo cada columna por su desviación estándar, según la fórmula:

$$X_{ik}^* = \frac{X_{ik} - \bar{X}_k}{S_k} \quad \text{with} \quad S_k = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (X_{ik} - \bar{X}_k)^2}{N - 1}}$$

Los datos ya autoescalados se analizaron utilizando el software GenEx de la compañía TATAA Biocenter AB, Göteborg, Suecia.

Se utilizaron todos los datos de cada vino tinto resultantes de esta tesis, siendo:

1. Capacidad Antioxidante (Trolox)
2. Fenoles Totales por el método de Folin-Ciocalteu,
3. La concentración de cada polifenol obtenido por Electroforesis Capilar: Tirosol, Resveratrol, Ácido Cinámico, Ácido Vanílico, Acido Caféico y Acido Gálico.
4. La concentración de los elementos determinados por Espectroscopias atómicas: Ca, Cu, Fe, Mn, P, S, V, Zn y K.

3.5.1. Análisis de CLUSTER y Construcción de Dendogramas

El análisis de conglomerados (Figura 46), se llevó a cabo utilizando la totalidad de los datos obtenidos durante los diferentes apartados de esta tesis.

El mejor resultado del análisis cluster se obtuvo con el método Ward y la distancia Euclídea (o Euclidiana). Las mayores similitudes entre los datos se observan por Estado de la República. En la Figura 46 se muestra el dendograma donde se observan dos agrupaciones diferentes. En la primera (1) se agruparon en una sola rama (subgrupo 1a) los vinos de Querétaro (código QS color rosa), siendo éstos diferentes de todos los demás vinos al provenir de la uva Salvador.

Con respecto a los vinos de Baja California codificados como BC color azul, las de uvas Nebbiolo (BCN), Merlot (BCM), Cabernet (BCC) y Tempranillo (BCT) conforman el subgrupo 1b por lo presentan altas similitudes. Sin embargo, en el grupo 2, subgrupo 2a aparecen otros vinos de Baja California de las uvas Tempranillo, Cabernet y Merlot, quizá debido a que fueron elaborados por Casas Vitivinícolas de diferente origen. Entre los vinos de Baja California de mayor diferencia están los Petite Sirah (BCPS) que son los aparecen hasta el extremos derecho del dendograma en el subgrupo 2b.

Por último, el subgrupo 2b inicia con últimos tres cabernet de Coahuila y hasta el extremo derecho aparecen los Petite Sirah de Baja California.

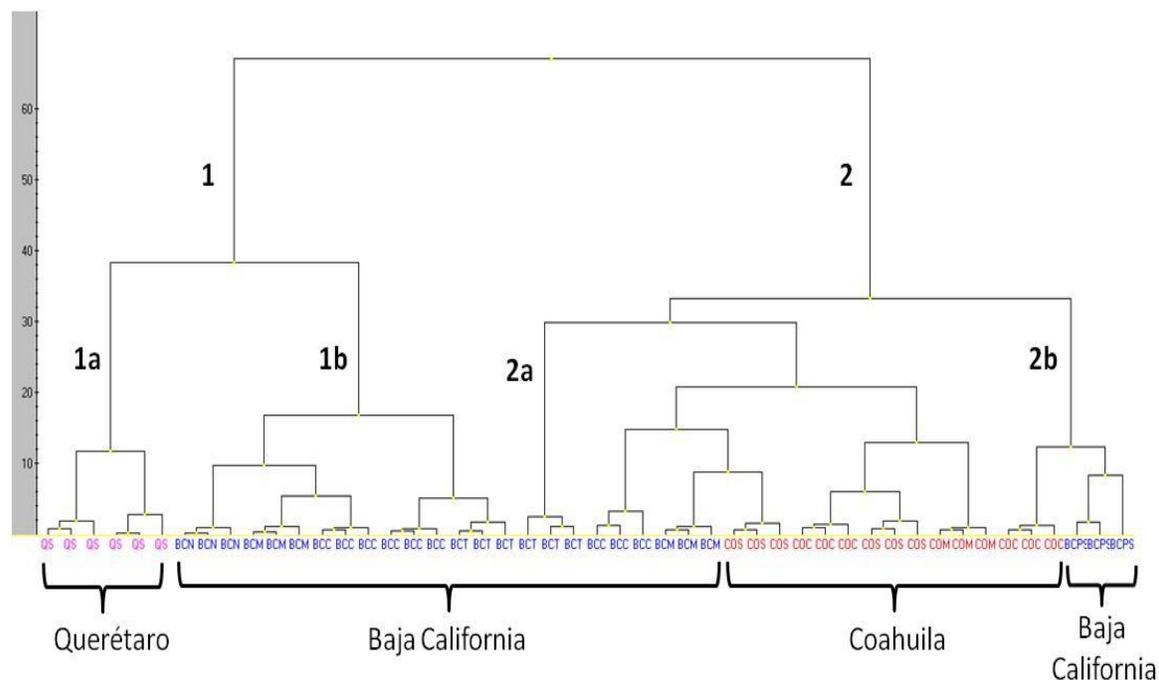


Figura 46. Dendrograma, para el conjunto de los vinos mexicanos, con el método Ward y la distancia Euclídea

Por otra parte, la mayoría de los vinos del estado de Coahuila (código CO en letras rojas), se ubican en el subgrupo 2a de las uvas Shiraz, Cabernet y Merlot, siendo los dos primeros los más similares por provenir de un solo ramal.

3.6 ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES (PCA)

A partir del perfil químico obtenido para cada uno de los vinos analizados en esta tesis, se realizó un análisis de componentes principales (PCA) con el fin de encontrar el mejor modelo que permita destacar las diferencias entre los vinos mexicanos por zona geográfica, tipo de uva y tiempo de añejamiento.

La tabla 17 muestra los vinos analizados por estado, tipo de uva, código y símbolos usados para el análisis.

Tabla 17. Estados de origen, tipos de uva, códigos y símbolos de los vinos mexicanos

Estado	Tipo de Uva	Código	Símbolo
Coahuila	Cabernet	COC	■
Coahuila	Merlot	COM	●
Coahuila	Shiraz	COS	◆
Baja California	Cabernet	BCC	■
Baja California	Merlot	BCM	●
Baja California	Nebbiolo	BCN	▲
Baja California	Petite Sirah	BCPS	◆
Baja California	Tempranillo	BCT	▶
Querétaro	Salvador	QS	●

El mejor modelo se obtuvo con autoescalado en el subespacio PC1–PC3, ya que en este subespacio es donde mejor se observa la discriminación de vinos por estado y tipo de uva. La Figura 46 muestra el gráfico de los scores de PC1-PC3. Tres PCs explican 67.0278 % de la varianza inicial (PC1:28.8662 %, PC2:22.8369 %, PC3:15.3187 %). Específicamente, se observa una separación entre los vinos de Querétaro y los vinos de Coahuila y Baja California, a lo largo de PC1. El grupo de los vinos de Querétaro aparece a valores de PC1 menores. Después a valores de PC1 medios, se ubican los grupo de Coahuila y Baja California. Además, a lo largo de PC3 existe una separación entre los de Querétaro y los de Baja California. Con respecto a los vinos de Querétaro, su comportamiento puede deberse a su composición, al ser de un solo tipo de uva, el tipo de cultivo mecanizado utilizado y la zona geográfica de clima templado que influye en el cultivo de la vid. La diferencia entre los vinos de Baja California y los de Coahuila puede deberse a las diferentes condiciones del clima de cada uno de estos estados. Baja California posee inviernos húmedos y veranos secos y templados, el cual contribuye a la complejidad, profundidad de aromas y sabores del fruto. En el caso de Coahuila el clima es extremadamente caluroso, con cambios bruscos de temperatura.

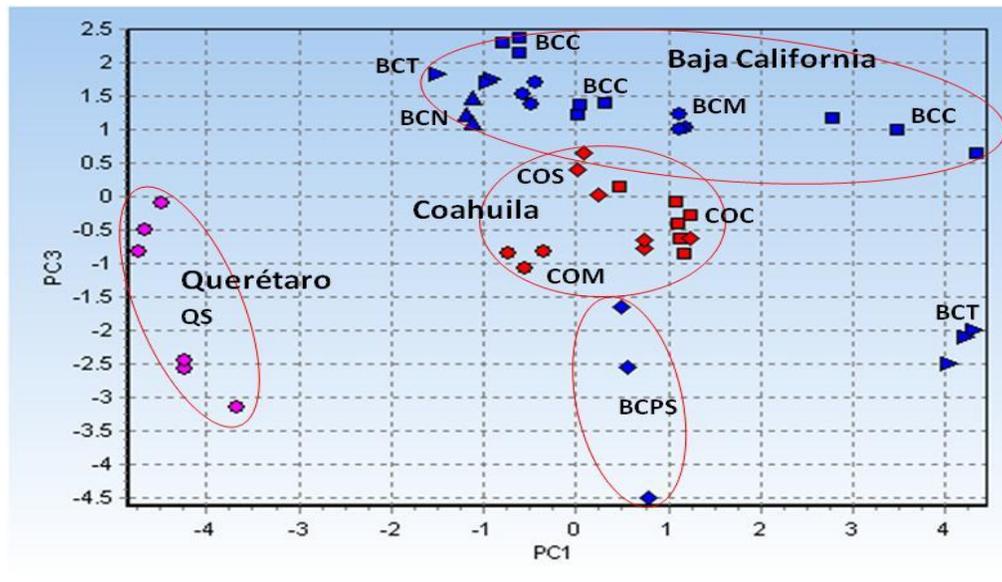


Figura 47. Gráfico de scores para vinos tintos, autoescalado Subespacio PC1-PC3

Por otra parte, con respecto al tipo de uva usado, se observan dos conjuntos de vinos más o menos separados producidos con uva Tempranillo, a lo largo de PC1, lo que pudiera estar en función de la Casa Vitivinícola que elabora estos vinos. Asimismo, el eje PC3 permite diferenciar claramente el tipo de uva usado entre el vino de Baja California hecho con uva Petite Sirah y los elaborados con otros tipos de uva.

Otro factor que puede estar indirectamente involucrado en la composición de los vinos y por tanto en su discriminación, es el tiempo de añejamiento. A valores mayores de PC3, los vinos suelen tener mayor tiempo de añejamiento. Así, los vinos de Baja California, ubicados a PC3 positivos, suelen tener tiempos de añejamiento de 18 a 36 meses; los vinos de Coahuila, que aparecen a PC3 medios, sus tiempos de añejamiento van de 12 a 24 meses y finalmente el vino de Baja California hecho con la uva Petite Sirah, ubicado a un valor de PC3 más negativo, En el caso de los vinos de y Coahuila se constató que a medida que el valor de PC3 es más negativo tiene un tiempo de añejamiento es de 12 meses.

CONCLUSIONES

Durante la realización de este trabajo de tesis se determinaron exitosamente los parámetros químicos: Fenoles Totales y Capacidad Antioxidante de las diferentes muestras de vinos tintos mexicanos monovarietales por Espectrofotometría UV/Visible, utilizando los métodos de Folin-Ciocalteu y DMPD, respectivamente. Para el caso del contenido de fenoles totales se pudo ver claramente que los vinos tintos del Estado de Coahuila contienen una concentración mayor de Fenoles Totales que los de Baja California y Querétaro, cuyo contenido se puede considerar igual. Con respecto al tipo de uva la Petite Sirah contiene una mayor concentración de fenoles totales (>2.5 veces) que los demás tipos de uva y el mismo comportamiento se observa para este tipo de uva. Por estados, los vinos de Coahuila y Querétaro contienen una capacidad antioxidante mayor que los de Baja California, así como poseen el mismo comportamiento las casas productoras de estas localidades Delice Catembe y Casa Madero.

Se llevaron a cabo exitosamente los estudios correspondientes para establecer las condiciones óptimas de trabajo para llevar a cabo la separación, identificación y cuantificación de los diferentes compuestos fenólicos presentes en las muestras de vino tinto, mediante la técnica de Electroforesis Capilar (CE). Los parámetros estudiados fueron la concentración del electrolito soporte (amortiguador) y el pH. De los resultados obtenidos se concluyó que las mejores condiciones de separación es utilizando un Buffer de Boratos 50 mM, pH 9.4, inyección hidrodinámica 0.5 psi, 5s, 30 kV, 25 °C, detección a 214 nm. Bajo estas condiciones de separación se identificaron y cuantificaron 7 polifenoles, siendo estos: Tirosol, Resveratrol, Ácido Cinámico, Ácido Gentísico, Ácido Vanílico, Ácido Caféico y Ácido Gálico.

Se lograron identificar y cuantificar los elementos metálicos presentes en las muestras de estudio mediante las Espectroscopias de Emisión Atómica con plasma acoplado inductivamente (ICP-EAA) y de Absorción Atómica (EAA). Se observó que los vinos del estado de Querétaro con la Uva Salvador típica de este estado y con su casa productora Delice Catembe, presentaron un menor contenido de Fósforo, Azufre, Manganeso y Potasio, así como los más altos niveles de Cobre encontrados, por lo que estos elementos son buenos marcador del origen del vino (terruño).

Los resultados obtenidos por las técnicas de Espectrofotometría UV-Vis, Electroforesis Capilar y las Espectroscopias de Emisión Atómica con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES) y de Absorción Atómica (EAA), fueron analizados mediante la realización de análisis de conglomerados, donde en el dendograma obtenido, se puede diferenciar claramente a los vinos por su Estado de procedencia. En el caso de Querétaro, de la uva Salvador y de la marca Delice Catembe, forman un solo grupo, ya que su comportamiento químico varía significativamente del resto de los vinos tintos mexicanos. Con respecto a los vinos de Baja California y Coahuila, los marcadores químicos utilizados no resultan suficientes para diferenciar claramente entre el “terruño” del que provienen.

Con respecto al análisis de componentes principales (PCA), el mejor modelo se obtuvo con autoescalado en el subespacio PC1–PC3, ya que en este subespacio es donde mejor se observa la discriminación de vinos por estado y tipo de uva, haciendo posible una mejor diferenciación del “terruño” del que provienen. Sin embargo, si se observa una clara diferenciación entre los diferentes tipos de uva. Los análisis realizados pueden aportar información valiosa sobre su autenticidad.

BIBLIOGRAFÍA

- Aceto, M. (2002). Determination of metals in wine by atomic epectroscopy (flame-AAS, GF-AAS AND ICP-AES). *fOOD aDDITIVIES AND cONTAMINANTS*, 19(2), 126-133.
- Agudo García, L. (2014). *La Vid. Organografía y Fisiología*. IES CENCIBEL Villarobledo.
- Alva, H. (Agosto de 2009). Recuperado el Septiembre de 2015, de <http://absorcion-atmica.blogspot.mx/2009/08/funcion-y-condiciones-de-las-llamas.html>
- Barbarán , T. (2003). Los polifenoles de los alimentos y la salud. *Alimentación, Nutrición y Salud*, 10(2), 41-53.
- Casares, F. A. (2010). *Ánalysis de Polifenoles en los vinos mediante técnicas de separación*. Proyecto Final de Carrera, Universidad Politécnica de Catalunya (UPC), Departamento e Química .
- Cedrón Fernández , M. T. (01 de 08 de 2014). Obtenido de Vinos del mundo: Las regiones vitivinícolas de México. Cata del Vino: <http://www.catadelvino.com/blog-cata-vino/vinos-del-mundo-las-regiones-vitivinicolos-de-mexico>
- Cedrón Fernández , M. T. (09 de 09 de 2014). *La historia del vino jamás contada* . Obtenido de Cata del VIno.
- Consejo Mexicano de Vitivinicola , A. (Septiembre de 2015). *Consejo Mexicano Vitivinicola A.C.* . Obtenido de <http://www.uvayvino.org/>
- D'Acosta, H. (1987). *Enciclopedia del vino Enología, viticultura y cata. "Los vinos de México"* (Vol. XL). Barcelona: Ediciones Orbis S.A. .
- Diéz, J. (2013). LA CETTO. *El Conocedor*. Recuperado el 2015, de <http://revistaelconocedor.com/l-a-cetto/>
- Du, Y. Y. (2007). Classification of Wines Based on Combination of 1H NMR Spectroscopy and Principal Component Analysis. *Chinese Journal Chemistry*, 930-936 (25).
- El Vino (Jugo Divino). (s.f.). En *La Vitivinicultura hace Escuela - La cultura de la Vid y el Vino*.
- Fabani, M. P., Vázquez, M. E., Díaz, M. P., & Wunderlin , D. A. (2009). Differential Absorption of Metal from Soil to Diverse Vine varietes from the Vallery of Tulum (Argentina): Consequence to evaluate wine provenance. *Food Chemistry*, 7409-7416.

- Fabani, M., Arrua, R. C., Vázquez, F., Díaz, M. P., Baroni, M. V., & Wunderlin, D. A. (2010). Evaluation of elemental profile coupled to chemometrics to assess the geographical origin of Argentinean wines. *Food Chemistry*, 119(1), 119-372-379.
- Fernández, J. M. (2006). *Estudios de cuantificación de metales en el proceso fermentativo de un vino y de su complejación con ligandos naturales*. Avances de Química, Universidad de Navarra, Departamento de Química y Edafología.
- Fogliano, V. (1999). Method for measuring antioxidant activity and its application to monitoring the antioxidant capacity of wines. *J. Agric. Food Chem*, 3(47), 1035-1040.
- Fondo Vitivinícola, M. (2014). La cultura de la vid y el vino. En *La Vitivinicultura hace escuela*. Obtenido de <http://www.fondovitivinicola.com.ar/>
- Garriz, A. (2011). Divulgación: La Química del vino. *Educación Química*, 22(4), 282-287.
- González, F. E. (2010). Tesis de maestría, Posgrado en Ciencias Químicas. (UNAM, Ed.)
- Hernández, H., & González, P. (2002). *Introducción al análisis instrumental* (Primera ed.). España: Ariel.
- Hernández Vega, C., Mendoza Tolentino, T. D., & Conde Pérez, E. M. (Diciembre de 2011). La cultura de los vinos en el Turismo. *Revista de Investigación en turismo y desarrollo local*, 4(11).
- Hernández, L., & Paredes, J. L. (2007). *Sistema Automatizado para el Reconocimiento de Patrones y Análisis Masivo de Datos Provenientes de*. Escuela de Ing. Eléctrica, Facultad de Ingeniería, Universidad de los Andes. labIDAI. Obtenido de <http://www.ing.ula.ve/patrones.electroforesis/Electroforis%20Capilar/SISTEMA%20DE%20ELECTROFORESIS%20CAPILAR.htm>
- Kuskoski, E. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutas. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 25(4), 726-732.
- Lagalante, A. (1999). Atomic Absorption Spectroscopy. *Applied Spectroscopy Reviews*. 173-189.
- Massart, D. (1998). *Handbook of Chemometrics and Qualimetrics*. ELSEVIER.
- Matev, P. (noviembre de 1994). La OMS y los cardiólogos debaten sobre los beneficios atribuidos al vino. 127. Madrid, España.
- México campo adentro*. (Septiembre de 2015). Obtenido de Biodiversidad y denominación de origen: http://www.mexicocampo dentro.org/vino_parras.php

- Moreno, I. M., & González-Weller, D. (2008). Determination of Al, Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Na, Sr and Zn in red wine samples by inductively coupled plasma optical emission spectroscopy: Evaluation of preliminary sample treatments. *Microchemical Journal*(88), 56-61.
- Pérez Leonard, H. (Septiembre-diciembre de 2006). Nutraceuticos, componente emergente para el beneficio de la salud. *ICIDCA Sobre derivados de la Caña de Azúcar*, XL(3), 20-28.
- Ramírez Guerrero , H. G. (2012). Análisis de elementos en petróleo usando Técnicas Espectrométricas de aAbsorción y Emisicon Atómica. México : UNAM.
- Rebolo López, S. (2007). *Estudio de la composición polifenolica de vinos tintos gallegos con D.O. Ribeiro, Valdeoras y Ribeira Sacra*. Universidad de Santiago Compostela , Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología.
- Robinson J.W. (1996). *Atomic spectroscopy* (Segunda ed.). E.U.A.: Marcel Dekker Inc.
- Rocha, S. M. (Agosto de 2007). Comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-offlight mass spectrometry of monoterpenoids as a powerful tool for grape origin traceability. *Journal of Chromatography A*, 1161(1 y 2), 292-299.
- Ruta del Vino*. (2015). Recuperado el 2015, de Turiguide Mexico: <http://www.turiguide.com/estados-mexicanos/oeste/baja-california/355-ruta-del-vino.html>
- Salazar, V. (2015). *Vinos de México*. Obtenido de <http://vinomex.homestead.com/cepasBaja.html>
- Salomón, A. (Septiembre de 2004). La producción del Vino en México. *Horizonte Sectorial*, 54(9), 838-843.
- Sánchez, V. (2013). *Cátalo*. Obtenido de <http://www.catalo.mx/vinos-mexicanos-premiados-en-decanter/#more-159>
- Skoog, D., West, D., & Holler, F. (1995). *Química Analítica*. México: Mc-Graw Hill.
- Son, H. S. (2009). Metabolomic Studies on Geographical Grapes and Their Wines Using 1H NMR Analysis Coupled with Multivariate Statistics. *J. Agric. Food Chemistry* , 1481-1490 (57).
- Tecniagrícola. (09 de Diciembre de 2013). Morfología de la vid . *Viña/Vid/Uva* . Obtenido de www.tecnicoagricola.es
- Tomás, B. S. (2015). Historia. Recuperado el 2015, de <http://www.santo-tomas.com/>

Tsao, R. (diciembre de 2010). Chemistry and Biochemistry of Dietary. *Nutrients*, 1231-1246.

UPM. (Septiembre de 2015). Morfología de la Vid (*Vitis Vinifera* L.).

Vicente Villardón, J. L. (2014). Universidad de Salamanca , Departamento de Estadística .

Obtenido de <http://www.kunobook.com/pdf/introduccion-al-analisis-de-cluster-pagina-nueva-1-53725/>

Vinos, U. (17 de Agosto de 2010). *Vitis vinifera* . Recuperado el 2015, de

<http://urbinavinos.blogspot.mx/2010/08/fruto-o-baya.html>

Zona Norte. (31 de Julio de 2015). Excusas para beber Vino Mexicano. *ZONA NORTE*.

ANEXOS

ANEXO A Validación del Modelo Lineal para la Curva de Fenoles Totales

Como se puede observar en la Figura 48 los residuales obtenidos para la Curva de Calibración de Fenoles Totales de la Figura 23 son homocedásticos, es decir los datos están distribuidos al azar, por lo que las varianzas pueden considerarse iguales.

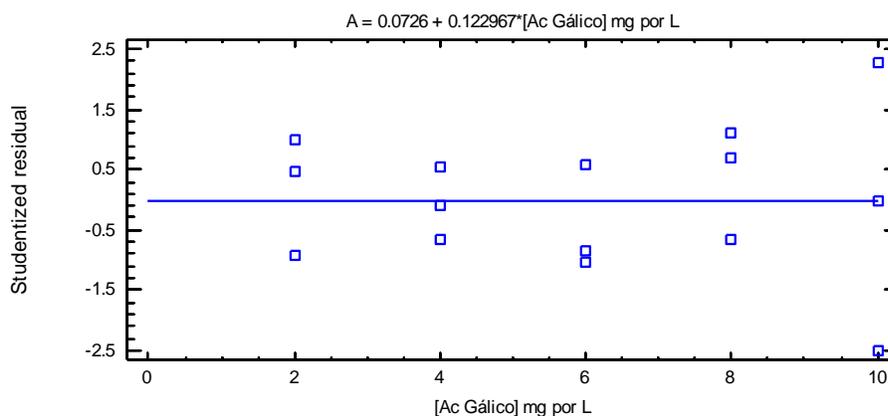


Figura 48. Análisis de Residuales para la curva de calibración de Ácido Gálico mg / L

Esto se confirma al realizar la prueba de ANOVA con falta de ajuste, donde se propuso la siguiente prueba de hipótesis:

H_0 : Hay ajuste al modelo

H_1 : No hay ajuste al modelo

Donde se acepta H_0 si $F_{exp} < F_{tab}$ ó $P > 0.05$

Tabla 17. Análisis de Varianza con falta de ajuste.

<i>Origen</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Df</i>	<i>Media cuadrática</i>	<i>F-razón</i>	<i>P-Valor</i>
Modelo	1.8145	1	1.8145	1889.27	0.0000
Residual	0.0125	13	0.00097		
Falta de ajuste	0.00097	3	0.00032	0.28	0.8384
Error Puro	0.01152	10	0.0012		
Total (Corr.)	1.8270	14			

Como la P de probabilidad es mayor al nivel de significancia que es 0.05 (fue de 0.8384), entonces se acepta H_0 , por lo que se confirma que si existe ajuste al modelo y por lo tanto es válido.

Análisis de Varianza (ANOVA*) de los Fenoles Totales obtenidos para los Vinos tintos mexicanos descritos por el factor del Estado

La prueba de hipótesis planteada es la siguiente:

$$H_0: \bar{X}_{Baja\ California} = \bar{X}_{Coahuila} = \bar{X}_{Querétaro}$$

$$H_1: \bar{X}_{Baja\ California} \neq \bar{X}_{Coahuila} \neq \bar{X}_{Querétaro}$$

Donde el criterio de aceptación es: H_0 si $F_{exp} < F_{tab}$ ó $P > 0.05$

Tabla 18. ANOVA Fenoles Totales para mg ácido gálico en 100 mL de vino por factor de Estado

<i>Origen</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Df</i>	<i>Media cuadrática</i>	<i>F-razón</i>	<i>P-Valor</i>
Entre grupos	83.543	2	41.7715	3.89	0.0276
Dentro de grupos	482.883	45	10.7307		
Total (Corr.)	566.426	47			

Como la P de probabilidad es menor a 0.05, se acepta H_1 , por lo que las medias en la concentración de fenoles totales son diferentes, ya que poseen diferencias significativas. Para encontrar específicamente que medias tienen esas diferencias significativas, se realizó la prueba de rangos múltiples que se presenta enseguida:

Tabla 19. Prueba de Rangos múltiples para mg Ac Gálico en 100 mL de vino por el factor de Estado

<i>Comparación</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Limites</i>
Baja California - Coahuila	*	-2.6181	2.1247
Baja California - Querétaro		0.8878	2.9778
Coahuila - Querétaro	*	3.5060	3.1870

* denota una diferencia estadística significativa

En la Tabla 20, se observa que existen diferencias entre las medias de las concentraciones de los Fenoles Totales de Baja California y Coahuila y entre Coahuila y Querétaro. Mientras que las medias de las concentraciones de los Fenoles totales entre Baja California y Querétaro pueden considerarse iguales.

*Cabe hacer mención que se realizó la prueba de Levene para asegurarse de que las varianzas de los datos se pueden considerar iguales, para lo cual se realizó la siguiente prueba de hipótesis:

$$H_0: S^2_{Baja California} = S^2_{Coahuila} = S^2_{Querétaro}$$

$$H_1: S^2_{Baja California} \neq S^2_{Coahuila} \neq S^2_{Querétaro}$$

Tabla 20. Verificación de varianzas

	<i>Prueba</i>	<i>P-Valor</i>
Levene's	0.9492	0.3947

Como el P de probabilidad obtenido es mayor a 0.05, entonces se puede aceptar H_0 , por lo que las varianzas del contenido de fenoles totales vs el factor Estado, se pueden considerar iguales.

Análisis de Varianza (ANOVA*) de los Fenoles Totales obtenidos para los Vinos tintos mexicanos descritos por el factor Tipo de Uva

La prueba de hipótesis planteada es la siguiente:

$$H_0: \bar{X}_{Cabernet Sauvignon} = \bar{X}_{Merlot} = \bar{X}_{Tempranillo} = \bar{X}_{Shiraz} = \bar{X}_{Petite Sirah} = \bar{X}_{Nebbiolo} = \bar{X}_{Salvador}$$

$$H_1: \bar{X}_{Cabernet Sauvignon} \neq \bar{X}_{Merlot} \neq \bar{X}_{Tempranillo} \neq \bar{X}_{Shiraz} \neq \bar{X}_{Petite Sirah} \neq \bar{X}_{Nebbiolo} \neq \bar{X}_{Salvador}$$

Donde el criterio de aceptación es: H_0 si $F_{exp} < F_{tab}$ ó $P > 0.05$

Tabla 21. ANOVA Fenoles Totales para mg Ácido gálico en 100 mL de vino por el factor de tipo de uva

<i>Origen</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Df</i>	<i>Media cuadrática</i>	<i>F-razón</i>	<i>P-Valor</i>
Entre grupos	283.453	6	47.2422	6.84	0.0000
Dentro de grupos	282.973	41	6.9018		
Total (Corr.)	566.426	47			

Como la P de probabilidad tiene un valor de 0.0000 (< a 0.05), se acepta H_1 , por lo que las medias en la concentración de fenoles totales con respecto al factor “Tipos de Uva” son diferentes, por presentar diferencias significativas. Para encontrar específicamente que medias tienen esas diferencias significativas, se realizó el Test de rangos múltiples que se presenta enseguida:

Tabla 22. Prueba de rangos múltiples para mg Ac gálico en 100 mL de vino por el factor de tipo de uva

<i>Tipo de Uva</i>	<i>Numeración</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Tempranillo	6	3.38808	X Grupo 1
Salvador	6	3.90434	XX Grupo 2
Merlot	9	4.09359	XX
Shiraz	6	5.67263	XX
Nebbiolo	3	5.73496	XX
Cabernet	15	5.99783	X Grupo 3
Petite Sirah	3	14.0547	X Grupo 4

En la Tabla de rangos múltiples Tabla 23 se pueden ver 4 grupos homogéneos, es decir 4 grupos que presentan un comportamiento común. En general existen diferencias significativas entre las medias de la concentración de Fenoles totales de la uva Petite Sirah vs todas los demás variedades de uva y adicionalmente de la uva Cabernet vs Tempranillo

Tabla 23. Prueba de rangos múltiples para mg Ac gálico en 100 mL de vino por el factor de tipo de uva

<i>Diferencia</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Limites</i>
Cabernet - Merlot		1.90425	2.23703
Cabernet - Nebbiolo		0.262873	3.35555
Cabernet - Petite Sirah	*	-8.05691	3.35555
Cabernet - Salvador		2.0935	2.56284
Cabernet - Shiraz		0.325203	2.56284
Cabernet - Tempranillo	*	2.60976	2.56284
Merlot - Nebbiolo		-1.64137	3.53706
Merlot - Petite Sirah	*	-9.96116	3.53706
Merlot - Salvador		0.18925	2.79629
Merlot - Shiraz		-1.57904	2.79629
Merlot - Tempranillo		0.70551	2.79629
Nebbiolo - Petite Sirah	*	-8.31978	4.332
Nebbiolo - Salvador		1.83062	3.75162
Nebbiolo - Shiraz		0.0623306	3.75162
Nebbiolo - Tempranillo		2.34688	3.75162
Petite Sirah - Salvador	*	10.1504	3.75162
Petite Sirah - Shiraz	*	8.38211	3.75162
Petite Sirah - Tempranillo	*	10.6667	3.75162
Salvador - Shiraz		-1.76829	3.06318
Salvador - Tempranillo		0.51626	3.06318
Shiraz - Tempranillo		2.28455	3.06318

* denota una diferencia estadística significativa

Cabe hacer mención que se realizó la prueba de Levene para asegurarse de que las varianzas de los datos se pueden considerar iguales, para lo cual se realizó la siguiente prueba de hipótesis:

$$H_0: S^2_{Cabernet Sauvignon} = S^2_{Merlot} = S^2_{Tempranillo} = S^2_{Shiraz} = S^2_{Petite Sirah} = S^2_{Nebbiolo} = S^2_{Salvador}$$

$$H_1: S^2_{Cabernet Sauvignon} \neq S^2_{Merlot} \neq S^2_{Tempranillo} \neq S^2_{Shiraz} \neq S^2_{Petite Sirah} \neq S^2_{Nebbiolo} \neq S^2_{Salvador}$$

Tabla 24. Verificación de varianzas

	Prueba	P-Valor
Levene's	1.5380	0.1902

La realización de la prueba de Levene se utiliza para verificar de forma correcta la igualdad de medias asumida en el ANOVA por tipo de uva, el cual arroja que como el P de probabilidad obtenido es mayor a 0.05, entonces se puede aceptar H_0 , por lo que las varianzas de los diversos tipos de uva se pueden considerar iguales.

:

Análisis de Varianza (ANOVA*) de los Fenoles Totales obtenidos para los Vinos tintos mexicanos descritos por la Casa Productora

La prueba de hipótesis planteada es la siguiente:

$$H_0: \bar{X}_{Casa Madero} = \bar{X}_{L.A. Cetto} = \bar{X}_{XA Domeq} = \bar{X}_{Santo Tomás} = \bar{X}_{Delice Catembe}$$

$$H_1: \bar{X}_{Casa Madero} \neq \bar{X}_{L.A. Cetto} \neq \bar{X}_{XA Domeq} \neq \bar{X}_{Santo Tomás} \neq \bar{X}_{Delice Catembe}$$

Donde el criterio de aceptación es: H_0 si $F_{exp} < F_{tab}$ ó $P > 0.05$

Tabla 25. ANOVA Fenoles Totales para mg de Ácido gálico en 100 mL de vino por el factor de tipo de uva.

Origen	Suma de cuadrados	Df	Media cuadrática	F-razón	P-Valor
Entre grupos	117.713	4	29.4283	2.82	0.0365
Dentro de grupos	448.712	43	10.4352		
Total (Corr.)	566.426	47			

Como la P de probabilidad tiene un valor de 0.0365 ($< \alpha$ 0.05), se acepta H_1 , por lo que las medias en la concentración de fenoles totales con respecto al factor “Casa Productora” no son iguales, por presentar diferencias significativas. Para encontrar específicamente que medias tienen esas diferencias significativas, se realizó el Test de rangos múltiples que se presenta enseguida:

Tabla 26. Prueba de rangos múltiples para mg de Ácido gálico en 100 mL de vino por el factor Casa productora

<i>Casa Productora</i>	<i>Numeración</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
XA Domeq	3	2.84878	X Grupo 1
Santo Tomas	9	3.81536	X
Delice Catembe	6	3.90434	X
L.A. Cetto	15	5.76694	XX Grupo 2
Casa Madero	15	7.4103	X Grupo 3

En la evaluación de rangos múltiples (Tabla 27) se pueden ver 3 grupos homogéneos, es decir 3 grupos que presentan un comportamiento común. En general existen diferencias significativas entre las medias de la concentración de Fenoles Totales de las casas productoras Casa Madero con Santo Tomas, Delice Catembe y XA Domeq, con excepción de que entre estas casas productoras sus medias se les pueden considerar iguales.

Tabla 27. Prueba de rangos múltiples para mg de Ácido gálico en 100 mL de vino por el factor Casa productora

<i>Casa Productora</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Casa Madero - Delice Catembe	*	3.50596	3.14687
Casa Madero - L.A. Cetto		1.64336	2.37881
Casa Madero - Santo Tomas	*	3.59494	2.74681
Casa Madero - XA Domeq	*	4.56152	4.12022
Delice Catembe - L.A. Cetto		-1.8626	3.14687
Delice Catembe - Santo Tomas		0.0889792	3.43352
Delice Catembe - XA Domeq		1.05556	4.60654
L.A. Cetto - Santo Tomas		1.95158	2.74681
L.A. Cetto - XA Domeq		2.91816	4.12022
Santo Tomas - XA Domeq		0.966576	4.34309

** El test de Levene verifica de forma correcta la igualdad de medias para la realización del ANOVA por casa productora arrojo:

$$H_0: S^2_{Casa Madero} = S^2_{L.A.Cetto} = S^2_{XA Domeq} = S^2_{Santo Tomas} = S^2_{Delice Catembe}$$

$$H_1: S^2_{Casa Madero} \neq S^2_{L.A.Cetto} \neq S^2_{XA Domeq} \neq S^2_{Santo Tomas} \neq S^2_{Delice Catembe}$$

Tabla 28. Verificación de Varianzas

	<i>Test</i>		<i>P-Value</i>
Levene's	1.64312		0.180893

Como el P de probabilidad obtenido es mayor a 0.05, entonces se puede aceptar H_0 , por lo que las varianzas de los diversas casa productoras se pueden considerar iguales, lo cual cumple con la condición de homocedasticidad de la prueba ANOVA, y al utilizar estadística no-paramétrica (medianas) para realizar verificación, se obtuvieron resultados exitosos por lo que el test ANOVA de éste apartado debe tomarse con confianza.

ANEXO B Validación del Modelo Lineal para la Curva de Capacidad Antioxidante

Como se puede observar en la Figura 49 los residuales obtenidos para la Curva de Calibración de Fenoles Totales son homocedásticos, es decir los datos están distribuidos al azar, por lo que las varianzas pueden considerarse iguales

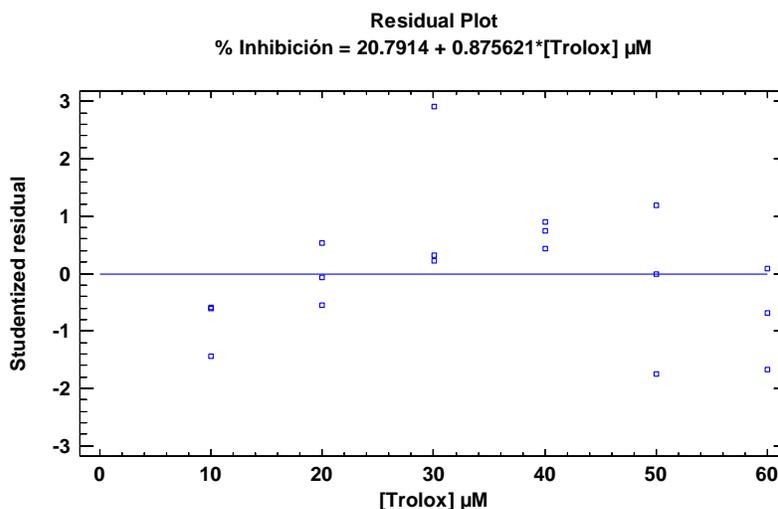


Figura 49. Análisis de Residuales para la curva de calibración de Capacidad Antioxidante

Esto se confirma al realizar la prueba de ANOVA con falta de ajuste, donde se propuso la siguiente prueba de hipótesis:

H_0 : Hay ajuste al modelo

H_1 : No hay ajuste al modelo

Donde se acepta H_0 si $F_{exp} < F_{tab}$ ó $P > 0.05$

Tabla 29. Análisis de varianza con falta de ajuste

Origen	Suma de cuadrados	Df	Media cuadrática	F-Razón	P-Valor
Modelo	4025.24	1	4025.24	645.40	0.0000
Residual	99.7885	16	6.23678		
Con falta de ajuste	45.9922	4	11.4981	2.56	0.0924
Error puro	53.7963	12	4.48302		
Total (Corr.)	4125.03	17			

Como la P de probabilidad es mayor al nivel de significancia que es 0.05 (fue de 0.0924), entonces se acepta H_0 , por lo que se confirma que si existe ajuste al modelo y por lo tanto es válido.

Análisis de Varianza (ANOVA*) de Capacidad Antioxidante obtenidos para los Vinos tintos mexicanos descritos por el factor Estado

La prueba de hipótesis planteada es la siguiente:

$$H_0: \bar{X}_{Baja\ California} = \bar{X}_{Coahuila} = \bar{X}_{Querétaro}$$

$$H_1: \bar{X}_{Baja\ California} \neq \bar{X}_{Coahuila} \neq \bar{X}_{Querétaro}$$

Donde el criterio de aceptación es: H_0 si $F_{exp} < F_{tab}$ ó $P > 0.05$

Tabla 30. ANOVA Capacidad Antioxidante por mg Equivalente de Trolox en 100 mL de Vino por el factor Estado.

<i>Origen</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Df</i>	<i>Media cuadrática</i>	<i>F-Razón</i>	<i>P-Valor</i>
Entre grupos	131.392	2	65.6959	6.67	0.0029
Dentro de grupos	443.368	45	9.85261		
Total (Corr.)	574.759	47			

Como la P de probabilidad es menor a 0.05, se acepta H_1 , por lo que las medias en la concentración de mg ET/100 mL de Vino son diferentes, ya que poseen diferencias significativas. Para encontrar específicamente que medias tienen esas diferencias significativas, se realizó la prueba de rangos múltiples que se presenta enseguida:

Tabla 31. Prueba de rangos múltiples para mg equivalentes de Trolox en 100 mL de vino por el factor Estado

<i>Diferencia</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Baja California - Coahuila	*	-3.4811	2.0359
Baja California - Querétaro	*	-2.9074	2.85337
Coahuila - Querétaro		0.573693	3.05384

* denota estadísticamente diferencia significativa .

En la tabla anterior, se observa que existen diferencias entre las medias de las concentraciones de Capacidad Antioxidante de Baja California y Coahuila y entre Coahuila y Querétaro. Mientras que las medias de las concentraciones de los Fenoles totales entre Coahuila y Querétaro pueden considerarse iguales.

Cabe hacer mención que se realizó la prueba de Levene para asegurarse de que las varianzas de los datos se pueden considerar iguales, para lo cual se realizó la siguiente prueba de hipótesis:

$$H_0: S^2_{Baja California} = S^2_{Coahuila} = S^2_{Querétaro}$$

$$H_1: S^2_{Baja California} \neq S^2_{Coahuila} \neq S^2_{Querétaro}$$

Tabla 32. Verificación de Varianzas

	<i>Prueba</i>	<i>P-Valor</i>
Levene's	0.60962	0.54798

Como el P de probabilidad obtenido es mayor a 0.05, entonces se puede aceptar H_0 , por lo que las varianzas del contenido de capacidad antioxidante vs el factor Estado, se pueden considerar iguales.

Análisis de Varianza (ANOVA*) de Capacidad Antioxidante obtenidos para los Vinos tintos mexicanos descritos por el factor Tipo de Uva

La prueba de hipótesis planteada es la siguiente:

$$H_0: \bar{X}_{Cabernet Sauvignon} = \bar{X}_{Merlot} = \bar{X}_{Tempranillo} = \bar{X}_{Shiraz} = \bar{X}_{Petite Sirah} = \bar{X}_{Nebbiolo} = \bar{X}_{Salvador}$$

$H_1:$

$$\bar{X}_{Cabernet Sauvignon} \neq \bar{X}_{Merlot} \neq \bar{X}_{Tempranillo} \neq \bar{X}_{Shiraz} \neq \bar{X}_{Petite Sirah} \neq \bar{X}_{Nebbiolo} \neq \bar{X}_{Salvador}$$

Donde el criterio de aceptación es: H_0 si $F_{exp} < F_{tab}$ ó $P > 0.05$

Tabla 33. ANOVA Capacidad Antioxidante para mg equivalentes de Trolox en 100 mL de vino por el facto tipo de uva.

<i>Origen</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Df</i>	<i>Media cuadrática</i>	<i>F-Razón</i>	<i>P-Valor</i>
Entre grupos	216.197	6	36.0329	4.12	0.0025
Dentro de grupos	358.562	41	8.74542		
Total (Corr.)	574.759	47			

Como la P de probabilidad tiene un valor de 0.0025 ($<$ a 0.05), se acepta H_1 , por lo que las medias en la concentración de capacidad antioxidante con respecto al factor “Tipos de Uva” son diferentes, por presentar diferencias significativas. Para encontrar específicamente que medias tienen esas diferencias significativas, se realizó el Test de rangos múltiples que se presenta enseguida:

Tabla 34. Prueba de rangos múltiples para mg ET en 100 mL de vino por el factor tipo de uva.

<i>Tipo de Uva</i>	<i>Numeración</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Merlot	9	13.9114	X Grupo 1
Tempranillo	6	13.9936	X
Nebbiolo	3	15.6665	XX Grupo 2
Cabernet	15	16.2847	XX
Shiraz	6	17.0274	XX
Salvador	6	17.6256	X Grupo 3
Petite Sirah	3	22.5936	X Grupo 4

En el Test de rangos múltiples (Tabla 32) se pueden ver 4 grupos homogéneos, es decir 4 grupos que presentan un comportamiento común. En general existen diferencias significativas entre las medias de la concentración de Capacidad antioxidante de la uva Petite Sirah vs todas los demás variedades de uva y adicionalmente de la uva Salvador vs Tempranillo.

Tabla 35. Prueba de rangos múltiples para mg ET en 100 mL de vino por el factor tipo de uva.

<i>Diferencia</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Cabernet - Merlot		2.3733	2.51816
Cabernet - Nebbiolo		0.618214	3.77723
Cabernet - Petite Sirah	*	-6.30885	3.77723
Cabernet - Salvador		-1.34086	2.88491
Cabernet - Shiraz		-0.742657	2.88491
Cabernet - Tempranillo		2.29107	2.88491
Merlot - Nebbiolo		-1.75508	3.98155
Merlot - Petite Sirah	*	-8.68215	3.98155
Merlot - Salvador	*	-3.71416	3.14769
Merlot - Shiraz		-3.11595	3.14769
Merlot - Tempranillo		-0.0822235	3.14769
Nebbiolo - Petite Sirah	*	-6.92707	4.87639
Nebbiolo - Salvador		-1.95908	4.22308
Nebbiolo - Shiraz		-1.36087	4.22308
Nebbiolo - Tempranillo		1.67286	4.22308
Petite Sirah - Salvador	*	4.96799	4.22308
Petite Sirah - Shiraz	*	5.56619	4.22308
Petite Sirah - Tempranillo	*	8.59992	4.22308
Salvador - Shiraz		0.598206	3.44813
Salvador - Tempranillo	*	3.63194	3.44813
Shiraz - Tempranillo		3.03373	3.44813

• Denota diferencia estadística significativa

Cabe hacer mención que se realizó la prueba de Levene para asegurarse de que las varianzas de los datos se pueden considerar iguales, para lo cual se realizó la siguiente prueba de hipótesis:

$$H_0: S^2_{Casa\ Madero} = S^2_{L.A.Cetto} = S^2_{XA\ Domeq} = S^2_{Santo\ Tomas} = S^2_{Delice\ Catembe}$$

$$H_1: S^2_{Casa\ Madero} \neq S^2_{L.A.Cetto} \neq S^2_{XA\ Domeq} \neq S^2_{Santo\ Tomas} \neq S^2_{Delice\ Catembe}$$

Tabla 36. Verificación de varianzas

	<i>Prueba</i>	<i>P-Valor</i>
Levene's	0.866511	0.527556

Como el P de probabilidad obtenido es mayor a 0.05, entonces se puede aceptar Ho, por lo que las varianzas de los diversos tipos de uva se pueden considerar iguales.

Análisis de Varianza (ANOVA*) de Capacidad Antioxidante obtenidos para los Vinos tintos mexicanos descritos por la Casa Productora**

La prueba de hipótesis planteada es la siguiente:

$$H_0: \bar{X}_{Baja\ California} = \bar{X}_{Coahuila} = \bar{X}_{Querétaro}$$

$$H_1: \bar{X}_{Baja\ California} \neq \bar{X}_{Coahuila} \neq \bar{X}_{Querétaro}$$

Donde el criterio de aceptación es: Ho si $F_{exp} < F_{tab}$ ó $P > 0.05$

Tabla 37. ANOVA Capacidad Antioxidante para mg ET en 100 mL de vino por el factor Casa Productora

<i>Origen</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Df</i>	<i>Media cuadrática</i>	<i>F-Razón</i>	<i>P-Valor</i>
Entre grupos	217.894	4	54.4735	6.56	0.0003
Dentro de grupos	356.866	43	8.2992		
Total (Corr.)	574.759	47			

Como la P de probabilidad tiene un valor de 0.0003 (< a 0.05), se acepta H₁, por lo que las medias en la concentración de mg ET/100 mL de Vino con respecto al factor “Casa Productora” no son iguales, por presentar diferencias significativas. Para encontrar específicamente que medias tienen esas diferencias significativas, se realizó el Test de rangos múltiples que se presenta enseguida:

Tabla 38. Prueba de rangos múltiples para mg Et en 100 mL de vino por el factor Casa Productora.

<i>Casa Productora</i>	<i>Numeración</i>	<i>Media</i>	<i>Grupo Homogéneo</i>
Santo Tomas	9	12.2675	X Grupo 1
XA Domeq	3	14.7158	XX Grupo 2
L.A. Cetto	15	16.189	X Grupo 3
Delice Catembe	6	17.6256	X
Casa Madero	15	18.1993	X

En el Test de rangos múltiples (Tabla 39) se pueden ver 3 grupos homogéneos, es decir 3 grupos que presentan un comportamiento común. En general existen diferencias significativas entre las medias de la concentración de Capacidad Antioxidante de la Casa Santo Tomas con Casa Madero, L.A. Cetto y Delice Catembe, con excepción de que entre estas casa productoras sus medias se pueden considerar iguales.

Tabla 39. Prueba de rangos múltiples para mg Et en 100 mL de vino por el factor Casa Productora

<i>Diferencia</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Casa Madero - Delice Catembe		0.573693	2.80638
Casa Madero - L.A. Cetto		2.01024	2.12143
Casa Madero - Santo Tomas	*	5.93174	2.44961
Casa Madero - XA Domeq		3.48344	3.67442
Delice Catembe - L.A. Cetto		1.43655	2.80638
Delice Catembe - Santo Tomas	*	5.35804	3.06202
Delice Catembe - XA Domeq		2.90975	4.10812
L.A. Cetto - Santo Tomas	*	3.92149	2.44961
L.A. Cetto - XA Domeq		1.4732	3.67442
Santo Tomas - XA Domeq		-2.44829	3.87318

* denotes a statistically significant difference.

Cabe hacer mención que se realizó la prueba de Levene para asegurarse de que las varianzas de los datos se pueden considerar iguales, para lo cual se realizó la siguiente prueba de hipótesis:

Tabla 40. Verificación de varianzas

	<i>Prueba</i>	<i>P-Valor</i>
Levene's	0.673341	0.6141

Como el P de probabilidad obtenido es mayor a 0.05, entonces se puede aceptar H_0 , por lo que las varianzas de las diversas casas productoras se pueden considerar iguales.

ANEXO C Validación Del Modelo Lineal Para Curvas De Calibración De Los Compuestos Fenólicos

Validación del Modelo Lineal para la Curva de Gálico por Área

Los residuales obtenidos para la Curva de Calibración de Ácido Gálico (Figura 50) muestran cierta tendencia, pero no es muy marcada por lo que se las varianzas pueden considerarse iguales.

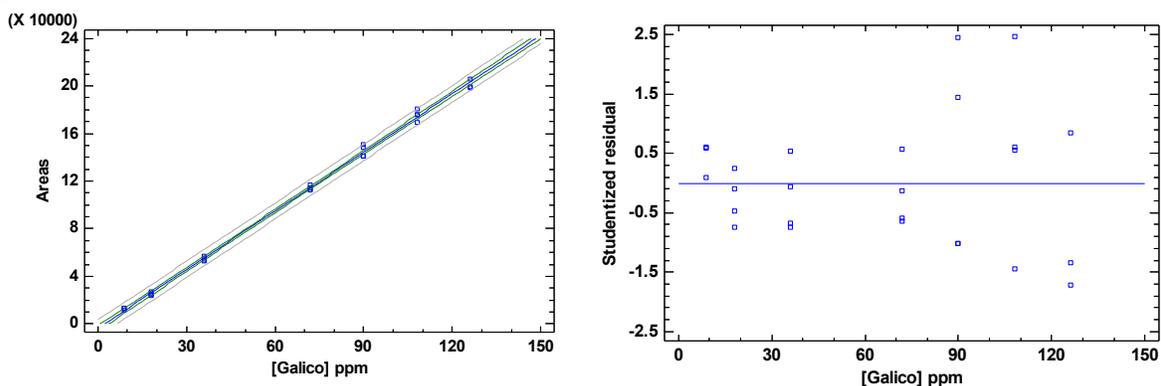


Figura 50. Análisis de Residuales para la curva de calibración de Ácido Gálico en ppm

Esto se confirma al realizar la prueba ANOVA con falta de ajuste, donde se propuso la siguiente prueba de hipótesis:

H_0 : Hay ajuste al modelo

H_1 : No hay ajuste al modelo

Donde se acepta H_0 si $F_{exp} < F_{tab}$ ó $P > 0.05$

Tabla 41. Análisis de varianza con falta de ajuste.

Origen	Suma de cuadrados	Df	Media cuadrática	F-Razón	P-Valor
Modelo	1.15535E11	1	1.15535E11	11085.95	0.0000
Residual	2.50123E8	24	1.04218E7		
Con falta de ajuste	4.13029E7	5	8.26057E6	0.75	0.5951
Error puro	2.0882E8	19	1.09905E7		
Total (Corr.)	1.15786E11	25			

Como la probabilidad es mayor al nivel de significancia que es de 0.05 (0.5951) entonces se acepta H_0 , por lo que se confirma que si existe ajuste al modelo y por lo tanto es válido.

Validación del Modelo Lineal para la Curva de Ácido Caféico por Altura

Los residuales obtenidos para la Curva de Calibración de Ácido Caféico (Figura 51) son:

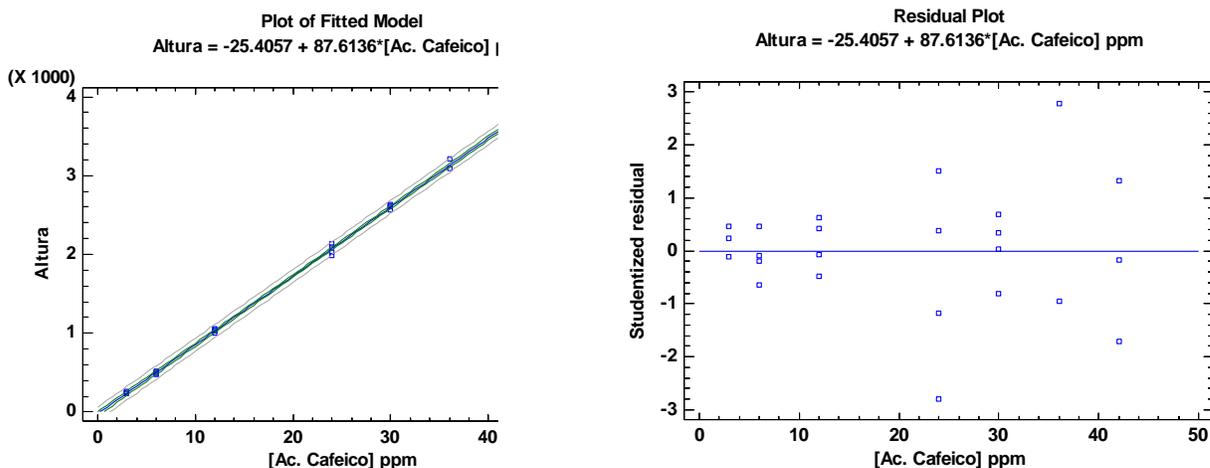


Figura 51. Análisis de Residuales para la curva de calibración de Ácido Caféico en ppm

Esto se confirma al realizar la prueba ANOVA con falta de ajuste, donde se propuso la siguiente prueba de hipótesis:

H_0 : Hay ajuste al modelo

H_1 : No hay ajuste al modelo

Donde se acepta H_0 si $F_{exp} < F_{tab}$ ó $P > 0.05$

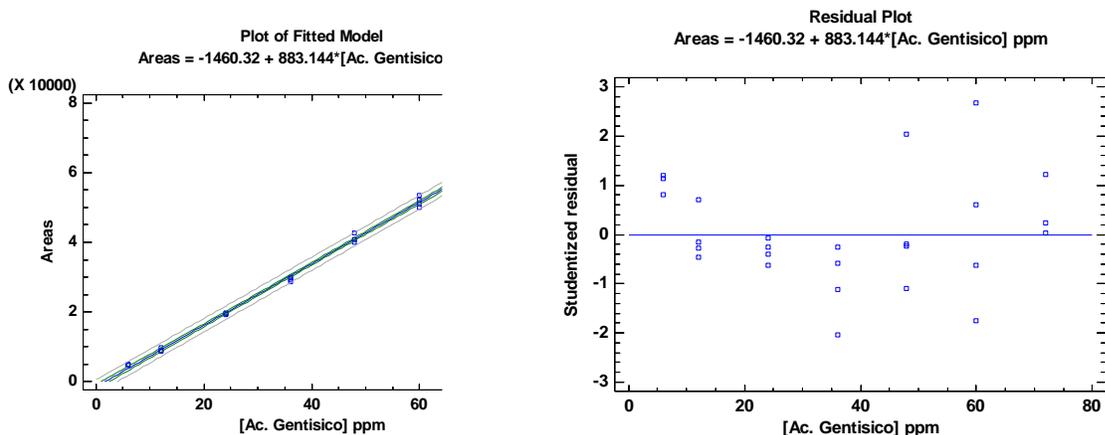
Tabla 42. Análisis de varianza con falta de ajuste.

Origen	Suma de cuadrados	Df	Media cuadrática	F-Razón	P-Valor
Modelo	3.32041E7	1	3.32041E7	21781.10	0.0000
Residual	33537.8	22	1524.45		
Con falta de ajuste	3078.41	5	615.681	0.34	0.8793
Error erros	30459.4	17	1791.73		
Total (Corr.)	3.32377E7	23			

Como la probabilidad es mayor al nivel de significancia que es de 0.05 (0.8793) entonces se acepta H_0 , por lo que se confirma que si existe ajuste al modelo y por lo tanto es válido.

Validación del Modelo Lineal para la Curva de Ácido Gentísico por Altura

Los residuales obtenidos para la Curva de Calibración de Ácido Gentísico (Figura 52) son homocedásticos por lo que se las



Esto se confirma al realizar la prueba ANOVA con falta de ajuste, donde se propuso la siguiente prueba de hipótesis:

H_0 : Hay ajuste al modelo

H_1 : No hay ajuste al modelo

Donde se acepta H_0 si $F_{exp} < F_{tab}$ ó $P > 0.05$

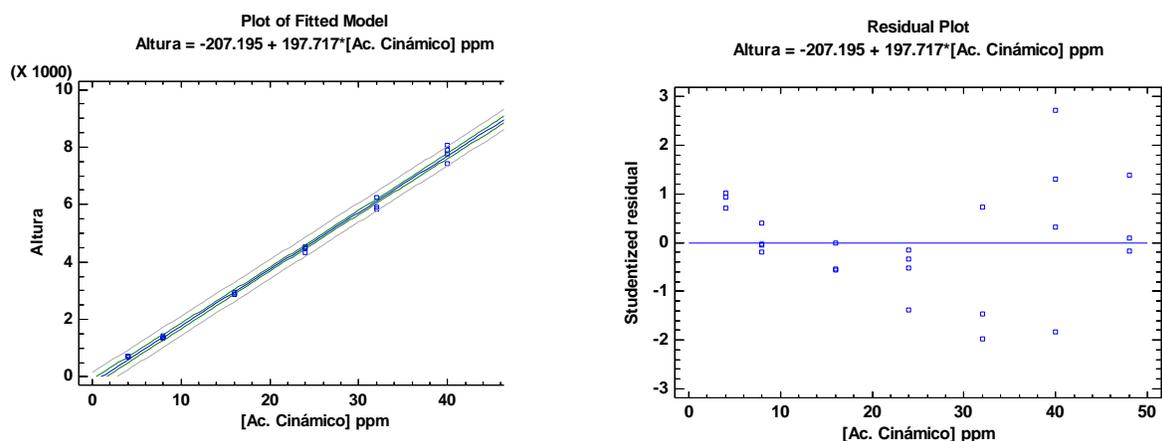
Tabla 43. Análisis de varianza con falta de ajuste

<i>Origen</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Df</i>	<i>Media cuadrática</i>	<i>F-Razón</i>	<i>P-Valor</i>
Modelo	9.62102E9	1	9.62102E9	11536.30	0.0000
Residual	2.00155E7	24	833978.		
Con falta de ajuste	6.44174E6	5	1.28835E6	1.80	0.1604
Error puro	1.35737E7	19	714407.		
Total (Corr.)	9.64104E9	25			

Como la probabilidad es mayor al nivel de significancia que es de 0.05 (0.1604) entonces se acepta H_0 , por lo que se confirma que si existe ajuste al modelo y por lo tanto es válido

Validación del Modelo Lineal para la Curva de Ácido Cinámico por Altura

Los residuales obtenidos para la Curva de Calibración de Ácido Cinámico (Figura 53) son homocedásticos por lo que se las varianzas pueden considerarse iguales.



Esto se confirma al realizar la prueba ANOVA con falta de ajuste, donde se propuso la siguiente prueba de hipótesis:

H_0 : Hay ajuste al modelo

H_1 : No hay ajuste al modelo

Donde se acepta H_0 si $F_{exp} < F_{tab}$ ó $P > 0.05$

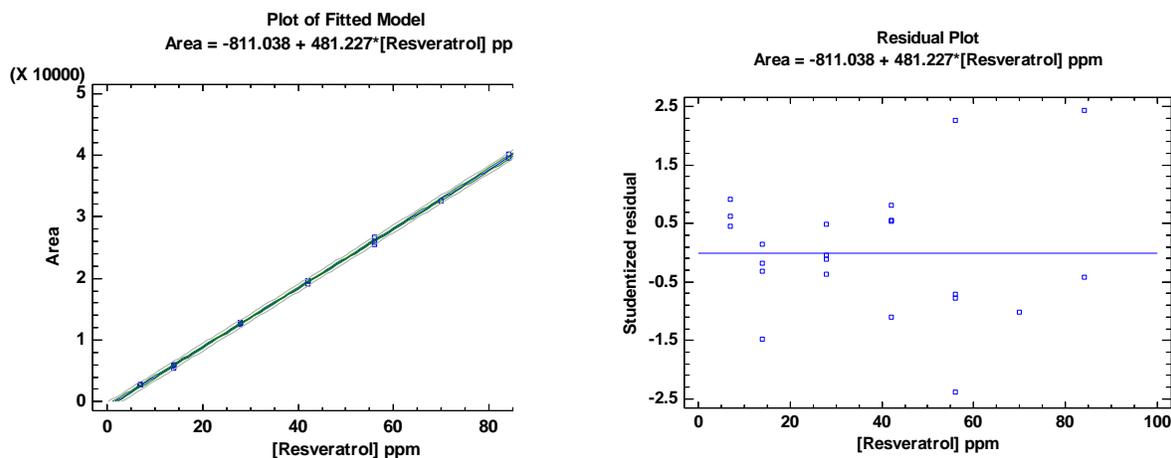
Tabla 44. Análisis de varianza con falta de ajuste

Origen	Suma de cuadrados	Df	Media cuadrática	F-Razón	P-Valor
Modelo	2.09299E8	1	2.09299E8	8381.03	0.0000
Residual	549404.	22	24972.9		
Con falta de ajuste	188187.	5	37637.3	1.77	0.1726
Error puro	361217.	17	21248.1		
Total (Corr.)	2.09848E8	23			

Como la probabilidad es mayor al nivel de significancia que es de 0.05 (0.1726) entonces se acepta H_0 , por lo que se confirma que si existe ajuste al modelo y por lo tanto es válido.

Validación del Modelo Lineal para la Curva de Resveratrol por Área

Los residuales obtenidos para la Curva de Calibración de Resveratrol (Figura 54) son homocedásticos por lo que se las varianzas pueden considerarse iguales.



Esto se confirma al realizar la prueba ANOVA con falta de ajuste, donde se propuso la siguiente prueba de hipótesis:

H_0 : Hay ajuste al modelo

H_1 : No hay ajuste al modelo

Donde se acepta H_0 si $F_{exp} < F_{tab}$ ó $P > 0.05$

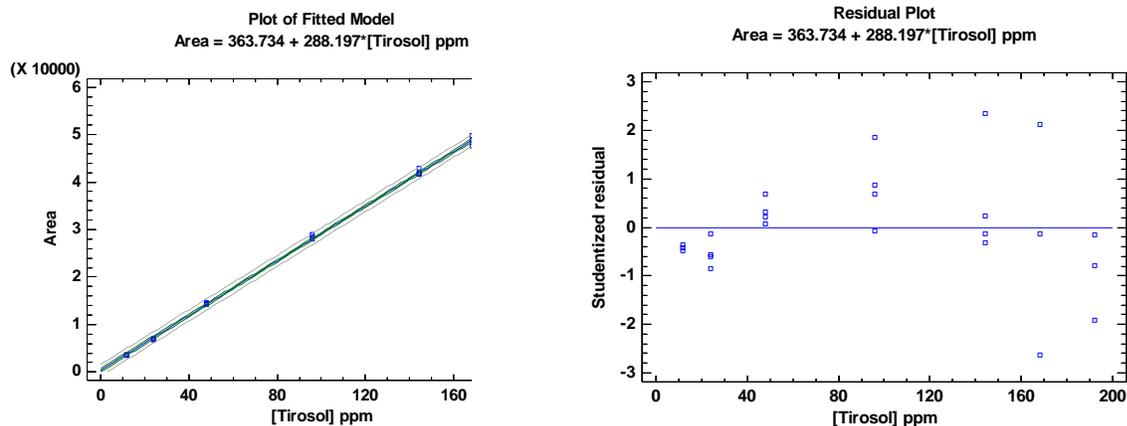
Tabla 45. Análisis de varianza con falta de ajuste.

Origen	Suma de cuadrados	Df	Media cuadrática	F-Razó	P-Valor
Modelo	2.82292E9	1	2.82292E9	33623.53	0.0000
Residual	1.67913E6	20	83956.7		
Con falta de ajuste	400337.	5	80067.4	0.94	0.4839
Error puro	1.2788E6	15	85253.1		
Total (Corr.)	2.8246E9	21			

Como la probabilidad es mayor al nivel de significancia que es de 0.05 (0.4839) entonces se acepta H_0 , por lo que se confirma que si existe ajuste al modelo y por lo tanto es válido.

Validación del Modelo Lineal para la Curva de Tirosol por Área

Los residuales obtenidos para la Curva de Calibración de Tirosol (Figura 55) son



Esto se confirma al realizar la prueba ANOVA con falta de ajuste, donde se propuso la siguiente prueba de hipótesis:

H_0 : Hay ajuste al modelo

H_1 : No hay ajuste al modelo

Donde se acepta H_0 si $F_{exp} < F_{tab}$ ó $P > 0.05$

Tabla 46. Análisis de varianza con falta de ajuste

Origen	Suma de caudrados	Df	Media cuadrática	F-Razón	P-Valor
Modelo	8.59511E9	1	8.59511E9	27739.38	0.0000
Residual	7.1266E6	23	309852.		
Con falta de ajuste	2.37211E6	5	474422.	1.80	0.1645
Error puro	4.75449E6	18	264138.		
Total (Corr.)	8.60224E9	24			

Como la probabilidad es mayor al nivel de significancia que es de 0.05 (0.1645) entonces se acepta H_0 , por lo que se confirma que si existe ajuste al modelo y por lo tanto es válido.

Validación del Modelo Lineal para la Curva de Ácido Vanílico por Área

Los residuales obtenidos para la Curva de Ácido Vanílico por Área se muestran en la siguiente figura:

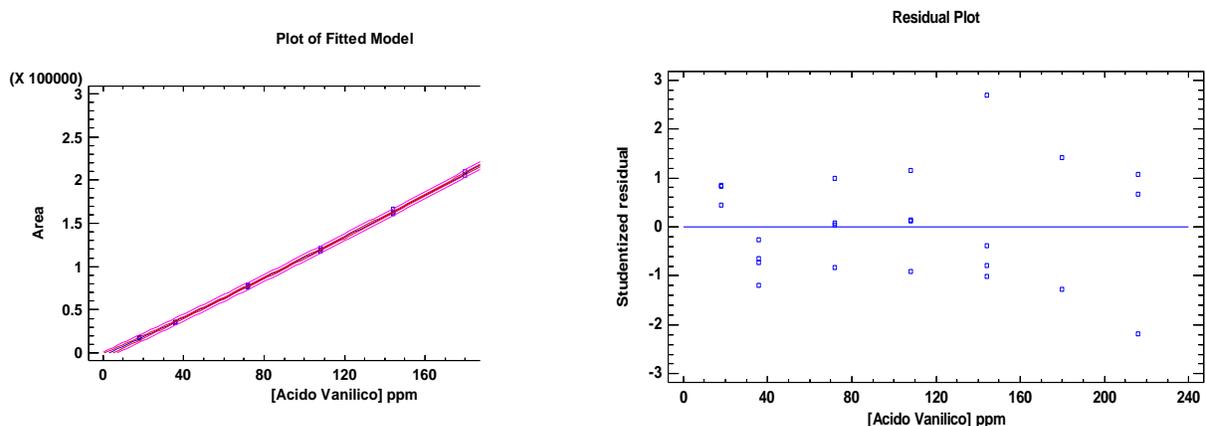


Figura 50. Análisis de Residuales

Esto se confirma al realizar la prueba ANOVA con falta de ajuste, donde se propuso la siguiente prueba de hipótesis:

H_0 : Hay ajuste al modelo

H_1 : No hay ajuste al modelo

Donde se acepta H_0 si $F_{exp} < F_{tab}$ ó $P > 0.05$

Tabla 47. Análisis de varianza con falta de ajuste

Origen	Suma de caudrados	Df	Media cuadrática	F-Razón	P-Valor
Modelo	1.43139E11	2	7.15695E10	20306.66	0.0000
Residual	7.40131E7	21	3.52443E6		
Con falta de ajuste	1.11539E7	4	2.78848E6	0.75	0.5690
Error puro	6.28592E7	17	3.6976E6		
Total (Corr.)	1.43213E11	23			

Como la probabilidad es mayor al nivel de significancia que es de 0.05 (0.5690) entonces se acepta H_0 , por lo que se confirma que si existe ajuste al modelo y por lo tanto es válido.

ANEXO D Electroferogramas de las muestras de Vino Tinto para su Cuantificación por Electroforesis Capilar.

A continuación se presentan los electroferogramas resultantes de las mediciones de muestras de Vino. Los electroferogramas obtenidos difieren con los obtenidos en la mezcla de estándares, debido a la ausencia de algún polifenol o a la presencia de otras sustancias para las que no se disponía de estándares.

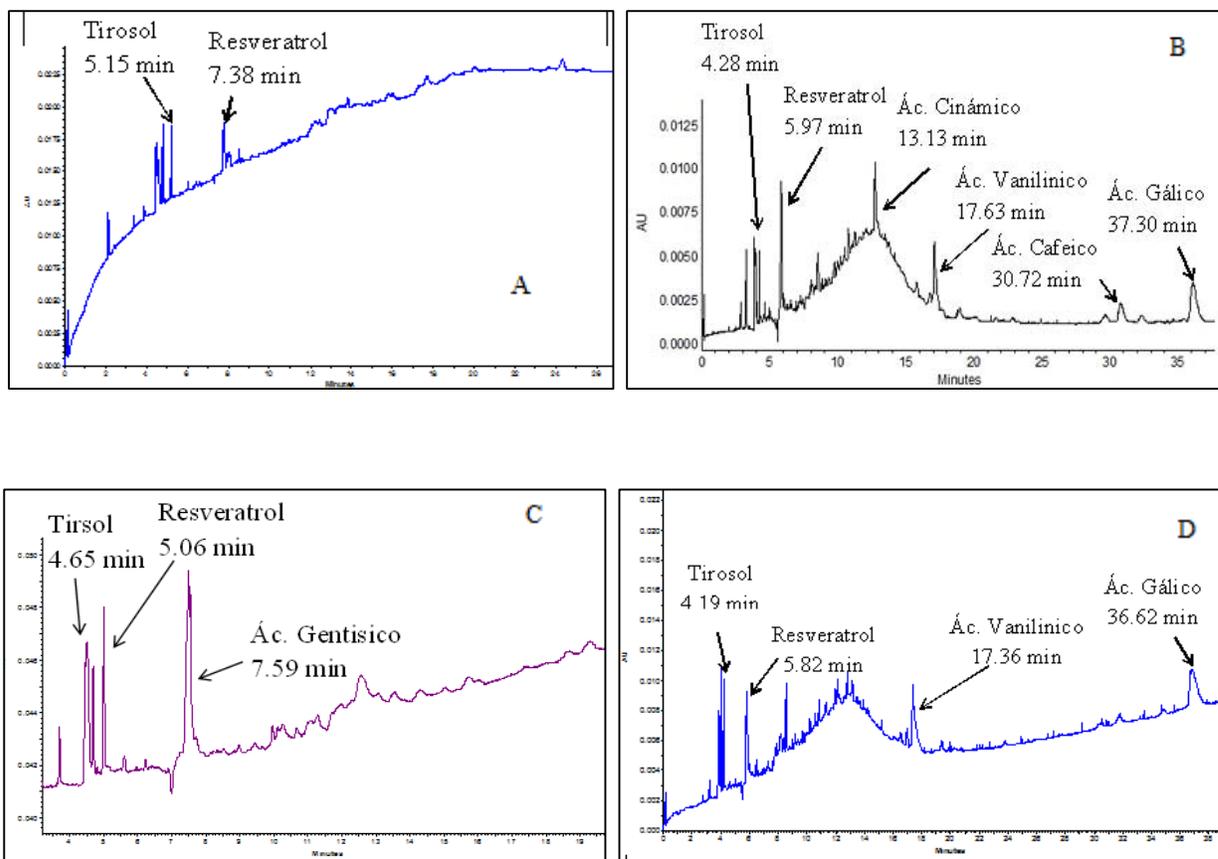


Figura 57. Electroferograma de las muestras de vinos tintos (A) XA Pedro Domeq Cabernet Sauvignon (B) L.A. Cetto Petite Sirah (C) L.A. Cetto Sierra Blanca Tempranillo (D) L.A. Cetto Don Luis Merlot

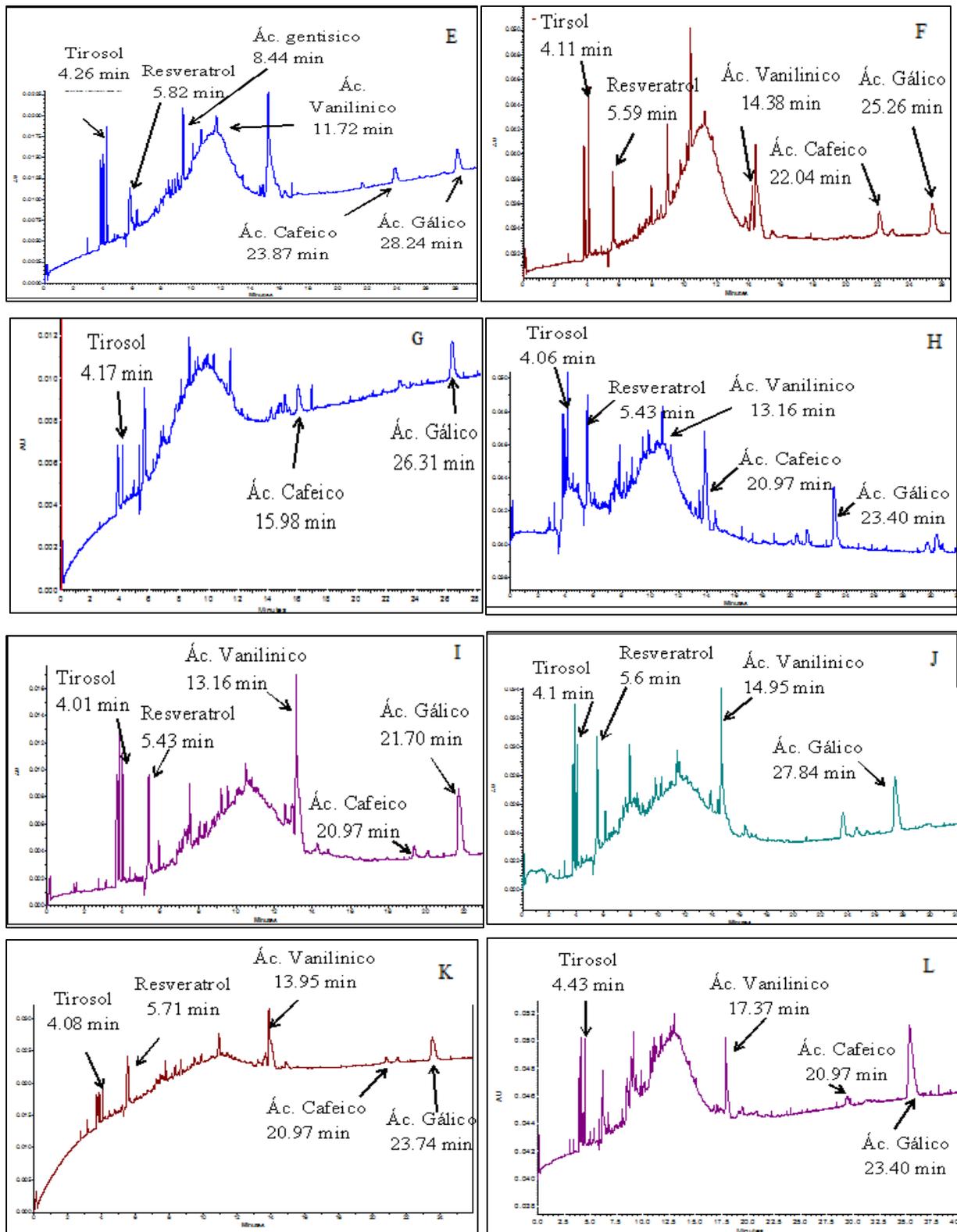


Figura 58. Electroferogramas de las muestra de vinos tintos (E) Santo Tomás Cabernet Sauvignon. (F) Santo Tomás Tempranillo (G) Delicé Catembe Salvador Seco (H) Casa Madero Shiraz (I) Casa Grande Cabernet Sauvignon (J) Casa Madero Cabernet Sauvignon (K) Casa Grande Shiraz (L) Casa Madero Merlot

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Zonas geográficas vitivinícolas de la República Mexicana	10
Figura 2. Morfología de la Vid (Tecniagrícola, 2013)	16
Figura 3. Partes del fruto de la Vid (Vinos, 2010)	17
Figura 4. Proceso de elaboración del vino tinto (Fondo Vitivinicola, 2014)	26
Figura 5. Estructura química del Fenol	27
Figura 6. Estructura química de los ácidos benzoicos de mayor importancia enológica.	28
Figura 7. Estructura química de los ácidos cinámicos de mayor importancia enológica	29
Figura 8. Ésteres hidrocínámicos de la uva	29
Figura 9. Estructura química del Resveratrol	30
Figura 10. 2-fenil.benzopirona	30
Figura 11. Estructuras química de pirano (izquierda) y pirilo (derecha).....	31
Figura 12. Cation flavilio	31
Figura 13. Fórmula estructural de las antocianidinas comunes.....	32
Figura 14. Estructura del ácido gálico	33
Figura 15. Estructura de los flavonoles monómeros de la uva.....	33
Figura 16. Sistema electroforético general (Hernández & Paredes, 2007)	39
Figura 17. Esquema de un equipo de Espectroscopia de Absorción Atómica	41
Figura 18. Constitución típica de una flama (Alva, 2009)	42
Figura 19. Espectrómetro de emisión Atómica con plasma acoplado inductivamente (Ramírez Guerrero , 2012).....	44
Figura 20. Muestras de vinos tintos analizados.....	50
Figura 21. Ácido-2-carboxico (\pm)-6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano (análogo de la vitamina E)	54
Figura 22. Curva de Calibración de Ácido Gálico para la cuantificación de Fenoles Totales .	59
Figura 23. Influencia del Estado de origen en la concentración de Fenoles Totales.....	60
Figura 24. Influencia del Tipo de Uva en la concentración de Fenoles Totales.....	61
Figura 25. Influencia del Estado de origen en la concentración de Fenoles Totales.....	62
Figura 26. N,N-dimetil-p-fenilendiamina (DMPD)	65

Figura 27. Comportamiento de la Absorbancia con respecto a la concentración de Trolox ...	66
Figura 28. Curva de Calibración en Equivalentes de Trolox para determinar la Capacidad Antioxidante	66
Figura 29. Influencia del Estado de origen en la concentración de Capacidad Antioxidante ..	68
Figura 30. Influencia del Tipo de uva en la concentración de Capacidad Antioxidante	69
Figura 31. Influencia del Estado de origen en la concentración de Capacidad Antioxidante. .	70
Figura 32. Electroferogramas de la separación de una mezcla de estándares de polifenoles utilizando diferentes concentraciones de buffer. Condiciones: búfer de boratos pH 9.25, inyección hidrodinámica 0.5psi, 5s, 30kV, 25°C, detección a 214 nm	72
Figura 33. Electroferogramas de la separación de una mezcla de estándares de polifenoles utilizando diferentes pH's. Condiciones: como en la Fig. 32 excepto que se variaron los pH's del buffer siendo estos pH: 9.25, 9.40 y 9.50.	73
Figura 34. Electroferogramas de la separación de una mezcla de estándares de polifenoles con buffer de boratos [50 mM] pH: 9.4 y adición de MeOH al 5% (A) y 10% (B).	73
Figura 35. Electroferograma obtenido de la separación de una mezcla de 14 compuestos fenólicos estándares a condiciones de separación: Buffer de Boratos 50 mM, pH 9.4, inyección hidrodinámica 0.5psi, 5s, 30 kV, 25 oC, detección a 214 nm.....	74
Figura 36. Electroferograma obtenido de la mezcla de 8 estándares a condiciones de separación de Buffer de Boratos 50 mM y pH 9.4, inyección 0.5 psi, 5s, 30 kV, 25oC, detección a 214 nm.	76
Figura 37. Conjunto de electroferogramas correspondientes a la curva de calibración de la separación de compuestos fenólicos. Condiciones Buffer de Boratos 50 mM, pH 9.4.....	77
Figura 38. Influencia del Estado en la concentración de Polifenoles Totales en los vinos	79
Figura 39. Influencia de las concentraciones de los polifenoles en las muestra de vinos	80
Figura 40. Identificación de elementos metálicos presentes en las muestras de vino.	81
Figura 41. Influencia de la concentración de fósforo en las muestras de vinos mexicanos	83
Figura 42. Influencia de la concentración de azufre en las muestras de vinos mexicanos.....	84
Figura 43. Influencia de la concentración de cobre en las muestras de vinos mexicanos en función del estado.	85
Figura 44. Curva de Calibración para la determinación de la concentración de Potasio, presente en los vinos tintos.	88

Figura 45. Influencia de la concentración de potasio en las muestras de vinos mexicanos en función del estado.....	88
Figura 46. Dendograma, para el conjunto de los vinos mexicanos, con el método Ward y la distancia Euclídea.....	92
Figura 47. Gráfico de scores para vinos tintos, autoescalado Subespacio PC1-PC3	94
Figura 48. Análisis de Residuales para la curva de calibración de Ácido Gálico mg / L	101
Figura 49. Análisis de Residuales para la curva de calibración de Capacidad Antioxidante.	109
Figura 50. Análisis de Residuales para la curva de calibración de Ácido Gálico en ppm	117
Figura 51. Análisis de Residuales para la curva de calibración de Ácido Caféico en ppm ..	118
Figura 52. Análisis de Residuales para la curva de calibración de Ácido Gentísico en ppm	119
Figura 53. Análisis de Residuales para la curva de calibración de Ácido Cinámico en ppm	120
Figura 54. Análisis de Residuales para la curva de calibración de Resveratrol en ppm	121
Figura 55. Análisis de Residuales para la curva de calibración de Tirosol en ppm	122
Figura 56. Análisis de Residuales para la curva de calibración de Ácido Vanílico en ppm .	123
Figura 57. Electroferograma de las muestras de vinos tintos (A) XA Pedro Domeq Cabernet Sauvignon (B) L.A. Cetto Petite Sirah (C) L.A. Cetto Sierra Blanca Tempranillo (D) L.A. Cetto Don Luis Merlot	124
Figura 58. Electroferogramas de las muestra de vinos tintos (E) Santo Tomás Cabernet Sauvignon. (F) Santo Tomás Tempranillo (G) Delicé Catembe Salvador Seco (H) Casa Madero Shiraz (I) Casa Grande Cabernet Sauvignon (J) Casa Madero Cabernet Sauvignon (K) Casa Grande Shiraz (L) Casa Madero Merlot.....	125

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Vinos Tintos Mexicanos de estudio	50
Tabla 2. Información de los reactivos utilizados para realizar la experimentación.	51
Tabla 3. Información de los estándares empleados para la cuantificación de fenoles en vinos.	51
Tabla 4. Descripción de la Preparación de la Curva de Calibración de Fenoles Totales	53
Tabla 5. Descripción de la Preparación de la Curva de Calibración de Capacidad Antioxidante	54
Tabla 6. Rampa utilizada para la digestión de las muestra en el horno de microondas	56
Tabla 7. Preparación de Sistemas para Curva de Calibración de Potasio	57
Tabla 8. Contenido de Fenoles Totales en vino tintos mexicanos	59
Tabla 9. Resumen de parámetros de validación evaluados para Fenoles Totales	64
Tabla 10. Resultados de la determinación de capacidad antioxidante de los Vinos Tintos Mexicanos.....	67
Tabla 11. Resumen de parámetros de validación evaluados para Capacidad Antioxidante.....	71
Tabla 12. Tiempos de retención de los Estándares de Polifenoles Puros a 1000 mg/L.	75
Tabla 13. Ecuaciones obtenidas de la curva de calibración para cada Fenol de estudio.....	77
Tabla 14. Contenido de compuestos fenólicos en mg/100mL las muestras de vinos tintos.....	78
Tabla 15. Cuantificación de 8 elementos Metálicos presentes en las muestras de Vino.....	82
Tabla 16. Contenido de Potasio mg/L ó mg/100 mL en la muestras de Vino.....	89
Tabla 18. Análisis de Varianza con falta de ajuste.....	101
Tabla 19. ANOVA Fenoles Totales para mg ácido gálico en 100 mL de vino por factor de Estado	102
Tabla 20. Prueba de Rangos múltiples para mg Ac Gálico en 100 mL de vino por el factor de Estado	102
Tabla 21. Verificación de varianzas	103
Tabla 22. ANOVA Fenoles Totales para mg Ácido gálico en 100 mL de vino por el factor de tipo de uva	104
Tabla 23. Prueba de rangos múltiples para mg Ac gálico en 100 mL de vino por el factor de tipo de uva	104

Tabla 24. Prueba de rangos múltiples para mg Ac gálico en 100 mL de vino por el factor de tipo de uva	105
Tabla 25. Verificación de varianzas	106
Tabla 26. ANOVA Fenoles Totales para mg de Ácido gálico en 100 mL de vino por el factor de tipo de uva.....	106
Tabla 27. Prueba de rangos múltiples para mg de Ácido gálico en 100 mL de vino por el factor Casa productora	107
Tabla 28. Prueba de rangos múltiples para mg de Ácido gálico en 100 mL de vino por el factor Casa productora	107
Tabla 29. Verificación de Varianzas	108
Tabla 30. Análisis de varianza con falta de ajuste.....	109
Tabla 31. ANOVA Capacidad Antioxidante por mg Equivalente de Trolox en 100 mL de Vino por el factor Estado.....	110
Tabla 32. Prueba de rangos múltiples para mg equivalentes de Trolox en 100 mL de vino por el factor Estado	110
Tabla 33. Verificación de Varianzas	111
Tabla 34. ANOVA Capacidad Antioxidante para mg equivalentes de Trolox en 100 mL de vino por el facto tipo de uva.	112
Tabla 35. Prueba de rangos múltiples para mg ET en 100 mL de vino por el factor tipo de uva.	112
Tabla 36. Prueba de rangos múltiples para mg ET en 100 mL de vino por el factor tipo de uva.	113
Tabla 37. Verificación de varianzas	114
Tabla 38. ANOVA Capacidad Antioxidante para mg ET en 100 mL de vino por el factor Casa Productora.....	114
Tabla 39. Prueba de rangos múltiples para mg Et en 100 mL de vino por el factor Casa Productora.....	115
Tabla 40. Prueba de rangos múltiples para mg Et en 100 mL de vino por el factor Casa Productora.....	115
Tabla 41. Verificación de varianzas	116
Tabla 42. Análisis de varianza con falta de ajuste.....	117

Tabla 43. Análisis de varianza con falta de ajuste.....	118
Tabla 44. Análisis de varianza con falta de ajuste.....	119
Tabla 45. Análisis de varianza con falta de ajuste.....	120
Tabla 46. Análisis de varianza con falta de ajuste.....	121
Tabla 47. Análisis de varianza con falta de ajuste.....	122
Tabla 48. Análisis de varianza con falta de ajuste.....	123