



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

**EFFECTO DE LA CRIANZA DE VINOS TINTOS
MEXICANOS SOBRE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS,
CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y PROPIEDADES
SENSORIALES**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
INGENIERO EN ALIMENTOS

P R E S E N T A:

DAVID RODRIGO LÓPEZ SOTO

ASESORA:

DRA. MARÍA ANDREA TREJO MÁRQUEZ

COASESORA:

DRA. MARÍA GABRIELA VARGAS MARTÍNEZ

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. DE MÉXICO

2014



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

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO



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

ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ
Jefa 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 a comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Efecto de la crianza de vinos tintos mexicanos sobre los compuestos fenólicos, capacidad antioxidante y propiedades sensoriales

Que prescinda el pasante: David Rodrigo López Soto

Con número de cuenta: 409020050 para obtener el Título de: Ingeniero en Alimentos

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 29 de Enero de 2014.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	M. en C. Tais Nopal Guerrero	
VOCAL	M. en C. Ignacio Martínez Trejo	
SECRETARIO	Dra. María Andrea Trejo Márquez	
1er. SUPLENTE	I.A. Miriam Álvarez Velasco	
2do. SUPLENTE	I.A. Zaira Berenice Guadarrama Álvarez	

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

HHA/rmgm

*A Daniel,
Leticia y David.
Pilares de mi vida.*

AGRADECIMIENTOS

Porque somos partícula viva de la unión de la raza cósmica y cada universitario es el futuro idealizado de Justo Sierra Méndez y José Vasconcelos en la creación de un proyecto educativo progresivo y universal, con sentido evolutivo y voluntarioso, forjado en la Universidad Nacional De México. Para muchos la UNAM es un baluarte de la insurrección, doy **gracias** por su grandeza inmensurable en cada trazo de los pinceles de Rivera, Siqueiros, Eppens y la precisión de O´Gorman que te propone amarla. **Gracias** al arte barroco del Antiguo Colegio de San Ildefonso y el neoclasicismo del Palacio de Minería que contemplan los siglos avanzar con su inmaculada belleza monumental. **Gracias** a la perfección acústica de la Sala Nezahualcoyolt donde se hacen vibrar almas con las notas de Händel y la crítica subversiva de Noam Chomsky. **Gracias** a las jacarandas y magnolias primaverales que florecen un nuevo comienzo en el paisaje de nuestras mentes creadoras. Porque su grandeza inspira reflexión, al renombrar a nuestros premios nobel universitarios Octavio Paz (1990), Alfonso García Robles (1982) y Mario Molina (1995). Por el puño al cielo y el sol en su cenit, los domingos se goza con ardor de la entonación al unísono del Goya por cada triunfo azul y oro. **Gracias** a los intelectuales y las voces estudiantiles inocentes de 1968 que su eco se inmortaliza en la historia mundial. **Gracias** al movimiento de 1999 que puso una barrera al neoliberalismo educativo mundial, porque una universidad pública y gratuita es un factor de desarrollo social. **Gracias** a los docentes de azul y oro que alimentan la sed del saber y ponen su fe en cada aula, su papel educativo, la autonomía, la libertad de cátedra, el carácter laico de la enseñanza que han sido sustantivos en los momentos más complejos de la historia universitaria. **Gracias** a cada mexicano que sin saberlo con sus impuestos apoya a la UNAM y la debilita apoyando cada día más a una tecnocracia que reduce el financiamiento público a la educación. Porque soy resultado de la consecución de una obra: la educativa.

Gracias.

“La mujer y el vino sacan al hombre de tino”

Proverbio popular.



Índice de contenido

	Página
Índice de figuras	I
Índice de tablas	IV
Resumen.....	VI
Introducción	1
1. Antecedentes	3
1.1 Historia del vino en el mundo y México.....	3
1.2 Producción de vino.....	6
1.2.1 Principales productores de vino en el mundo	7
1.2.2 Regiones vitivinícolas en México.....	9
1.2.3 Consumo de vino en México	10
1.3 Cualidades de la uva para vinificación.	11
1.3.1 Composición del racimo de uva	11
1.3.2 Variedades de uva para vinificación.....	13
1.3.3 Clasificación del vino	13
1.4 Proceso de transformación de la uva en vino tinto	14
1.4.1 Vendimia	15
1.4.2 Despalillado y Estrujado	16
1.4.3 Fermentación	16
1.4.4 Maceración.....	18
1.4.5 Prensado.....	19
1.4.6 Fermentación maloláctica	19
1.4.7 Crianza de vinos	20
1.5 Factores que influyen en la calidad del vino	26
1.5.1 Factores naturales	26
1.5.2 Factores tecnológicos.....	27
1.6 Composición química del vino	28
1.6.1 Compuestos fenólicos del vino	29
1.7 El vino y la salud	35
1.7.1. Compuestos fenólicos	36

1.8 Defectos del vino y daños a la salud por su consumo.....	37
1.9 Métodos analíticos para la identificación y separación de analitos	37
1.9.1 Cromatografía de líquidos de alta eficacia.....	39
2. Objetivos	42
3. Materiales y Métodos	44
3.1 Cuadro Metodológico.....	44
3.2 Material de estudio	45
3.3 Evaluación de los parámetros físicos, químicos y fisicoquímicos en vinos variedad Syrah y Tempranillo	45
3.4. Evaluación de los parámetros sensoriales en vinos tintos de variedad Syrah y Tempranillo.....	46
3.4.1 Reclutamiento de jueces.....	46
3.4.2 Selección de jueces	46
3.4.3 Entrenamiento de jueces y análisis secuencial	48
3.4.4 Técnica de cata.....	49
3.4.5 Análisis descriptivo cuantitativo (QDA).....	52
3.5 Identificación de marcadores fenólicos del envejecimiento por HPLC en vinos tintos de variedades Syrah y Tempranillo	54
3.5.1 Condiciones del método cromatográfico para la identificación de los marcadores del envejecimiento en vinos tintos	54
3.5.2 Estándares de compuestos fenólicos.....	55
3.5.3 Preparación de las curvas de calibración para la cuantificación de fenoles	56
3.6 Técnicas analíticas.....	56
3.6.1 Parámetros físicos	56
3.6.2 Parámetros químicos	57
3.6.3 Parámetros fisicoquímicos	57
3.7 Tratamiento estadístico	58
4.- Resultados y Discusión.....	60
4.1 Evaluación de los parámetros físicos en vinos tintos con diferente tiempo de crianza	60
4.1.1 Intensidad colorante	60
4.1.2 Tonalidad.....	61
4.2 Evaluación de parámetros químicos en vinos tintos con diferente tiempo de crianza	63
4.2.1 Azúcares Reductores.....	63

4.2.2 Taninos	65
4.2.3 Antocianos.....	67
4.2.4 Fenoles	69
4.2.5 Capacidad Antioxidante	71
4.3 Evaluación de los parámetros fisicoquímicos en vinos tintos con diferente tiempo de crianza	72
4.3.1 Sólidos solubles	72
4.3.2 pH	74
4.3.3 Acidez Total	76
4.3.4 Acidez fija	78
4.3.5 Acidez volátil	79
4.3.6 Dióxido de azufre total	81
4.3.7 Dióxido de azufre libre	83
4.4 Análisis sensorial en vinos tintos con diferente tiempo de crianza	85
4.5 Análisis de los marcadores fenólicos en los vinos de crianza por medio de HPLC.....	95
4.6 Relación de la capacidad antioxidante y los compuestos fenólicos.....	102
5.- Conclusiones	106
6.-Recomendaciones	109
ANEXO A.....	111
Referencias.....	115

Índice de figuras

	Página
Figura 1. Ánfora griega para vino del año 520 -500 a.C.....	3
Figura 2. Agricultores mexicanos labrando la viña.....	5
Figura 3. Producción mundial de vino.....	7
Figura 4. Principales países productores de vino.....	7
Figura 5. Consumo mundial de vino.....	10
Figura 6. Esquema de la composición de la baya (A) y racimo (B).....	12
Figura 7. Diagrama de bloques para la elaboración de vino tinto.....	15
Figura 8. Ruta metabólica de la fermentación alcohólica.....	17
Figura 9. Ruta metabólica de la fermentación maloláctica.....	19
Figura 10. Fenómenos de crianza en barrica.....	22
Figura 11. Ecuación de reacción de esterificación.....	23
Figura 12. Polimerización antociano-tanino.....	24
Figura 13. Estructuras hipotéticas de los productos A-T.....	25
Figura 14. Estructuras hipotéticas de los productos T-A.....	25
Figura 15. Estructura hipotética del producto vía etanal.....	26
Figura 16. Estructura orgánica de los ácidos fenólicos en el vino.....	31
Figura 17. Estructura orgánica del resveratrol.....	32
Figura 18. Estructura orgánica y en tercera dimensión del flavonoide básico.....	32
Figura 19. Estructura orgánica de las antocianidinas en el vino.....	33
Figura 20. Estructuras orgánicas de los flavan-3-ol precursores de taninos.....	34
Figura 21. Reacción de óxido-reducción entre el radical libre y el compuestos fenólico.....	36
Figura 22. Esquema de un equipo de HPLC.....	40
Figura 23. Cuestionario para el reclutamiento de candidatos.....	47
Figura 24. Copa para cata de vino tinto.....	50
Figura 25. Referencia para el análisis QDA.....	53
Figura 26. Intensidad colorante en vinos con diferentes tiempos de crianza de la variedad Syrah(A): 0, 12, 15 meses y de la variedad Tempranillo (B): 0, 8, 13 meses.	60

Figura 27. Tonalidad en vinos con diferentes tiempos de crianza en la variedad Syrah (A): 0, 12, 15 meses y de la variedad Tempranillo (B): 0, 8, 13 meses.62

Figura 28. Contenido de azúcares reductores en vinos con diferentes tiempos de crianza de la variedad Syrah (A): 0, 12, 15 meses y de la variedad Tempranillo (B): 0, 8, 13 meses.64

Figura 29. Contenido de taninos en vinos con diferentes tiempos de crianza de la variedad Syrah (A): 0, 12, 15 meses y de la variedad Tempranillo (B): 0, 8, 13 meses.66

Figura 30. Contenido de antocianos totales en vinos tintos con diferentes tiempos de crianza de la variedad Syrah (A): 0, 12, 15 meses y de la variedad Tempranillo (B): 0, 8, 13 meses.67

Figura 31. Contenido de fenoles totales en vinos con diferentes tiempos de crianza de la variedad Syrah (A): 0, 12, 15 meses y de la variedad Tempranillo (B): 0, 8, 13 meses.70

Figura 32. Capacidad antioxidante en vinos de diferentes tiempos de crianza de la variedad Syrah (A): 0, 12, 15 meses y de la variedad Tempranillo (B): 0, 8, 13 meses.71

Figura 33. Contenido de sólidos solubles en vinos de diferentes tiempos de crianza de la variedad Syrah (A): 0, 12, 15 meses y de la variedad Tempranillo (B): 0, 8, 13 meses.73

Figura 34. Evaluación del pH en vinos de diferentes tiempos de crianza de la variedad Syrah (A): 0, 12, 15 meses y de la variedad Tempranillo (B): 0, 8, 13 meses.75

Figura 35. Contenido de acidez total en vinos de diferentes tiempos de crianza de la variedad Syrah (A): 0, 12, 15 meses y de la variedad Tempranillo (B): 0, 8, 13 meses.77

Figura 36. Contenido de la acidez fija en vinos de diferentes tiempos de crianza de la variedad Syrah (A): 0, 12, 15 meses y de la variedad Tempranillo (B): 0, 8, 13 meses.79

Figura 37. Contenido de la acidez volátil en vinos de diferentes tiempos de crianza de la variedad Syrah (A): 0, 12, 15 meses y de la variedad Tempranillo (B): 0, 8, 13 meses.	80
Figura 38. Contenido de dióxido de azufre total en vinos de diferentes tiempos de crianza de la variedad Syrah (A): 0, 12, 15 meses y de la variedad Tempranillo (B): 0, 8, 13 meses.	83
Figura 39. Contenido de dióxido de azufre libre en vinos de diferentes tiempos de crianza de la variedad Syrah (A): 0, 12, 15 meses y de la variedad Tempranillo (B): 0, 8, 13 meses.	84
Figura 40. Análisis secuencial aplicado a los panelistas.....	86
Figura 41. Análisis descriptivo cuantitativo de los vinos de variedad Syrah con diferentes tiempos de crianza con diferentes tiempos de crianza: 0,12 y 15 meses.....	86
Figura 42. Análisis descriptivo cuantitativo de los vinos de variedad Tempranillo con diferentes tiempos de crianza: 0, 8 y 13 meses.....	87
Figura 43. Comparación de la evolución de cada marcador fenólico durante los diferentes tiempos de envejecimiento en vinos de variedad Syrah: (A) Ácido gálico, (B) (+)- Catequina, (C) Ácido p-cumárico, (D) Ácido elágico y (E) Galangina.....	97
Figura 44. Comparación de la evolución de cada marcador fenólico durante los diferentes tiempos de envejecimiento en vinos de variedad Tempranillo: (A) Ácido gálico, (B) (+)-Catequina, (C) Ácido p-cumárico y (D) Ácido elágico.....	100
Figura 45. Capacidad antioxidante vs concentración de galangina.....	103
Figura 46. Espectros de absorción del ácido gálico (derecha) y de la (+)-catequina (izquierda).....	111
Figura 47. Espectro de absorción del ácido p-cumárico (derecha), ácido elágico (medio) y galangina (izquierda).....	111
Figura 48. Cromatogramas de los vinos de variedad Syrah con diferentes tiempos de crianza: (A) 0 meses, (B) 12 meses y (C) 15 meses.....	112
Figura 49. Cromatogramas de los vinos de variedad Syrah con diferentes tiempos de crianza: (A) 0 meses, (B) 8 meses y (C) 13 meses.....	113



Índice de tablas

	Página
Tabla 1. Principales regiones vitivinícolas de México.....	9
Tabla 2. Consumo per cápita de vino por países.....	11
Tabla 3. Variedades tintas cultivadas en territorio mexicano.....	13
Tabla 4. Factores naturales que influyen en la calidad del vino	27
Tabla 5. Factores tecnológicos que influyen en la calidad del vino.....	28
Tabla 6. Composición química del vino.....	28
Tabla 7. Composición fenólica en el vino tinto.....	30
Tabla 8. Localización de los compuestos fenólicos en la uva.....	30
Tabla 9. Efecto del vino en el organismo humano.....	35
Tabla 10. Toxicidad del vino.....	37
Tabla 11. Clasificación de los métodos cromatográficos.....	38
Tabla 12. Componentes de un equipo de HPLC.....	40
Tabla 13. Códigos para la identificación de las muestras.....	45
Tabla 14. Concentración de reactivos para la prueba de umbral gustativo.....	48
Tabla 15. Concentraciones empleadas para las pruebas discriminativas.....	49
Tabla 16. Concentraciones de referencia para el análisis QDA.....	52
Tabla 17. Componentes del cromatografo.....	54
Tabla 18. Condiciones del método cromatográfico.....	54
Tabla 19. Concentraciones del gradiente de elución.....	55
Tabla 20. Información de los estándares empleados para la identificación de fenoles en vinos tintos.....	55
Tabla 21. Curva de calibración para la cuantificación de los marcadores fenólicos.....	56
Tabla 22. Características cromáticas de los diferentes tiempos de crianza de la variedad Syrah.....	62
Tabla 23. Características cromáticas de los diferentes tiempos de crianza de la variedad Tempranillo.....	63
Tabla 24. Parámetros de los modelos lineales obtenidos para las curvas de calibración de Área o Altura vs Concentración del fenol.....	96
Tabla 25. Concentración de los marcadores fenólicos en los vinos de variedad Syrah.....	98



Tabla 26. Concentración de los marcadores fenólicos en los vinos de variedad Tempranillo.....101

Tabla 27. Correlación de Pearson entre los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante en vinos tintos Syrah y Tempranillo.....103

Tabla 28. Tiempo de retención de los marcadores fenólicos del envejecimiento.....113

Resumen

El vino es la bebida resultante de la fermentación alcohólica del mosto de uva, en el cual los compuestos fenólicos representan un papel importante en la calidad final del vino, en el perfil de color, sabor, aroma y entre otros atributos que estos presenten. La estructura de los compuestos fenólicos del vino se basa en un núcleo bencénico con varios grupos hidroxilos, los cuales son responsables de las propiedades antioxidantes que se le atribuyen en especial al vino. El objetivo del presente trabajo es determinar el efecto de diferentes tiempos de crianza en barrica sobre los parámetros físicos, químicos, fisicoquímicos, evaluación sensorial, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de los vinos tintos monovarietales Syrah (0, 12, 15 meses) y Tempranillo (0, 8, 13 meses) de la región de Valle de Guadalupe. La capacidad antioxidante se evaluó empleando el radical ABTS⁺, el contenido de fenoles totales se determinó por el método de Folin-Ciocalteu y la cuantificación de los marcadores fenólicos del envejecimiento se realizó por medio de una cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC). De acuerdo con los resultados obtenidos se observó que la variedad de uva es un factor importante para la vinificación, siendo la variedad Tempranillo la de mayor concentración de fenoles con 3174.46 mg GAE/L, mientras que la variedad Syrah presentó 2993.51 mg GAE/L. Este contenido se refleja en la capacidad antioxidante que presentaron, al ser los vinos Tempranillo los de mayor respuesta con 33.56 mM Trolox y en Syrah de 33.13 mM Trolox. Los catadores semientrenados calificaron a los vinos de crianza media-alta de ambas variedades con mayor equilibrio al presentar menor umbral de astringencia, amargor y acidez con un aumento en las notas de crianza. El compuesto fenólico identificado por HPLC que presentó una correlación con la capacidad antioxidante fue la galangina, al ser este compuesto proveniente de la madera y ser extraído por el vino durante el proceso de añejamiento. Ambas variedades de uva, Syrah y Tempranillo, demostraron ser aptas para el proceso de añejamiento al presentar una carga importante de compuestos fenólicos que contribuye a la estabilidad de los parámetros de calidad de los vinos conforme aumenta el tiempo de crianza.

Introducción

A ninguna otra bebida se le dedica tanto tiempo para ser comentada, adorada y criticada como al vino. Para algunos es algo que ha de ser elegido con el mayor de los cuidados, ha de dejarse en reposo hasta que haya llegado a su óptima maduración, cuidadosamente servido y catado como si fuera un ritual (Pérez, 2001). El origen del vino en la Tierra se puede rastrear en restos históricos o manuscritos de civilizaciones antiguas y es por tal conocimiento que su origen data en regiones de Asia Menor cercanas al mar Caspio y el mar Negro hace aproximadamente unos 12,000 años a.C. En México antiguo ya se cultivaba una variedad de vid silvestre y del fruto de esta planta los mexicanos prehispánicos preparaban una bebida dulce llamada “*acachul*”, pero fue hasta la conquista española que propició la llegada de la industria vitivinícola (Pérez, 2001).

Actualmente la producción mundial del vino está liderada por países como Francia, Italia y España con una producción mayor a los 33,000 miles de hectolitros (mHL) al año, en cambio México es un productor rezagado con un decremento del 10.36 % de su producción en la temporada 1998-2008 (OIV, 2013). Le corresponde al viticultor y al enólogo ser los responsables de controlar los factores de cada cosecha y producción de vino que influyen en la calidad final del producto, en su composición y variación de compuestos químicos presentes en la botella (Grainger y Tattersall, 2005). El análisis del perfil del vino se realiza bajo una serie de técnicas analíticas y sensoriales y será la cata del vino la que nos emita un juicio sobre la calidad final del producto analizado (Aleixandre y Aleixandre, 2011).

Por otra parte, la dieta moderna y el incremento de la polución de los asentamientos urbanos ha provocado un aumento en las especies reactivas de oxígeno dentro del organismo del hombre, incrementando así el estrés oxidativo, teniendo como resultado una mayor tasa de enfermedades coronarias y tipos de cáncer. Acrecentando la búsqueda de fuentes naturales de antioxidantes se ha encontrado que el vino es una bebida con una carga importante de compuestos químicos que disminuyen la formación de radicales libres en el organismo (Fernández-Pachón *et al.*, 2006; Fernández *et al.*, 2007). El vino contiene una carga polifenólica importante que brinda una respuesta antioxidante frente al fenómeno de estrés dentro del organismo. La estructura de los compuestos fenólicos se basa en un núcleo bencénico con varios grupos hidroxilos, los cuales brindan la cualidad de antioxidante, teniendo la facilidad por su estructura, de ceder el átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo al radical libre (Fernández-Pachón *et al.*, 2006).

El presente trabajo, propone evaluar el efecto del tiempo de crianza sobre el contenido de compuestos fenólicos y su capacidad antioxidante en vinos tintos mexicanos de la región del Valle de Guadalupe del estado de Baja California, con el propósito de acrecentar los datos científicos referentes a estos productos mexicanos, buscando así conseguir un aumento del consumo per cápita de los vinos tintos nacionales.

1. Antecedentes

1.1 Historia del vino en el mundo y México



Figura 1.- Ánfora griega para vino, del año 520 a.C.-500 a.C.
Fuente: The British Museum, 2014

La tradición del consumo de uvas como fruto o como vino es tan antigua como la historia de la humanidad, teniendo el vino un valor simbólico al igual que el de la comida, siendo asociado a un tipo de comportamiento y a una forma de vida social durante el transcurso de los tiempos. Debido a ello el vino ha imprimido un marcado carácter en las civilizaciones y pueblos que han sabido elaborarlo y apreciarlo (Figura 1). La vid ya existía en el mundo cuando el ser humano hace su aparición. En su evolución, el hombre debió de aprovechar sin duda los frutos de las *Vitis silvestris* que espontáneamente aparecían en su entorno.

Cuando en sus territorios, empezó a escasear la caza, entonces se hizo agricultor y sedentario, domesticando y cultivando las plantas que crecían a su alrededor y entre ellas también lo hizo con la vid, surgiendo entonces la *Vitis vinifera* por un proceso de selección, hasta que por accidente o el azar descubre la euforia del vino (Hidalgo, 2003).

La más antigua manifestación de la existencia del género *Vitis*, data hace más de 63 millones de años, en el Pleistoceno con el descubrimiento de una hoja fósil de una ampelidácea en la localidad de Sézanne en el Marne, Francia. Las *Vitis* aparecen en Europa hacia finales del Mioceno; hace unos 26 millones de años, ocupando unas posiciones moderadamente cálidas en el Macizo Central. Más adelante al final del Plioceno hace dos millones de años, aparece la *Vitis viniferae silvestris*, quedando después de las glaciaciones en el Cuaternario, refugiada en la cuenca del Mar Mediterráneo y sur del Mar Caspio, aunque para los arqueólogos les presenta problema el diferenciar los yacimientos de restos de la espontánea *Vitis silvestris*, de la cultivada por el hombre *Vitis vinifera*; debido a que los restos de pólenes son morfológicamente muy similares (Hidalgo, 2003).

La teoría que actualmente describe mejor el origen de la cultura del vino es la *indigenista*, esta hipótesis se basa en que si bien los pueblos indioeuropeos datan de los 6500 años a.C, las lenguas de los cretenses, etruscos, ibéricos, tartésicos y vascones entre otros, no derivaron de los primeros pero sin embargo entre ellos ya existía el viñedo antes de su colonización. Y es en la cuenca del

Mar Egeo, donde también se conocía el vino, como *woinos* palabra derivada del Dios del vino: *Wono* o *Dionisio*, que luego fue evolucionando en el griego hasta *ôinos*, *oini* en armenio, *vere* en albanés, *gvino* en georgiano, *jajin* en hebreo, *wain* en abisino o sabeo, luego al latín como *vinum* o *vinun* y de aquí por fin a las actuales lenguas europeas: *vino*, *vin*, *vinho*, *wein*, *wine*, etc. (Hidalgo, 2003).

Aunque la teoría *indigenista* sobre el cultivo de la vid nos presenta su origen compartido en toda la cuenca del mar Mediterráneo y sur de los mares Negro y Caspio, es en la zona del Cáucaso y Asia Menor donde se inicia la civilización del viñedo y de la producción de vino, tal y como la conocemos hoy en día (Hidalgo, 2003).

Son los fenicios y algo más tarde los pueblos del Egeo, quienes con su actividad comercial y cultural, extendieron el cultivo de la viña y el vino por todo el Mediterráneo, isla por isla hasta llegar a Grecia. Durante la época de la Grecia Clásica el consumo de vino se hacía de forma civilizada en el marco de los *simposios*, en los cuales se trataba de diversos temas de carácter general, político o filosófico (Hidalgo, 2003). Los griegos fueron en cierto modo los primeros innovadores en el arte de conservar el vino, al que añadían brea, resina y especias para prolongar el tiempo de conservación (Aleixandre & Aleixandre, 2011). De acuerdo con los documentos escritos que han llegado hasta la actualidad fue el médico Dioscórides quien identificó y clasificó el nombre botánico de la vid cultivada llamandola *Oenophoros ampelos* (Hidalgo, 2003).

Durante el imperio greco-romano, la viticultura y enología romana perfeccionó las técnicas aprendidas por los griegos, siendo esta la primera civilización en introducir la fermentación del mosto en envases de gran capacidad, llamados *dolium*, construidos con madera o barro (Hidalgo, 2003); otro avance tecnológico que se le atribuye a los romanos es el uso del vidrio y el corcho para la conservación del vino al final del siglo XVII (Reyes *et al.*, 1992).

Las conquistas del imperio romano fueron la palanca impulsora del cultivo de la vid en Europa extendiéndose desde las zonas vitivinícolas, generalmente costeras, fundadas anteriormente por griegos y fenicios (Hidalgo, 2003). Y es durante la caída del imperio romano cuando la viticultura europea se ve grandemente afectada, pues el vino pierde su carácter festivo personificado por el Dios Baco, asimilación del Dios Dionisio de los griegos. Pero el vino logra permanecer durante la Edad Media gracias a la iglesia cristiana quien lo enaltece como un símbolo cristiano, significando la más alta dignidad como la sangre de Cristo, y es en la Biblia donde se menciona el vino más de 200 veces entre sus libros (Aleixandre & Aleixandre, 2011). La relación de las órdenes monásticas con los actuales vinos es muy estrecha y de especial interés tienen los benedictinos, cistercienses,

cartujos, templarios, carmelitas, agustinos, caballeros de Malta, caballeros de Santiago, franciscanos y más tarde jesuitas; quienes rodeaban sus conventos de buenos viñedos, donde se aplicaban técnicas cada vez mejores para la obtención de excelentes viños que poco a poco irían tomando fama (Aleixandre & Aleixandre, 2011).

Se le acusa a España ser cuna y origen de la vitivinicultura americana, con dos focos principales de penetración, el primero por Nueva España (México) en el año de 1522, donde se cree que el primer vino llegó con la expedición de Juan de Grijalva en mayo de 1518 (Reyes *et al.*, 1992); y el segundo a mediados del siglo XVI cuando Francisco Carbantes, uno de los conquistadores del Perú, introdujo el cultivo de la vid en este país pasando después a toda sudamérica (Hidalgo, 2003).

Es en 1531 cuando Carlos V ordena que todo navío con destino a la Nueva España lleve plantas de vid y olivos para su cultivo. Se estima que la tradición de las casas vitivinícolas empezó en el año 1574, cuando sacerdotes y conquistadores españoles salieron de Zacatecas a lo que hoy es Coahuila y parte de Durango en busca de oro. Donde decidieron entonces establecerse en ese valle que hoy conocemos como Valle de Parras (CMV, 2013).

En 1595 la corona española se percató que la producción de vino en Nueva España empieza a ser mayor que la producción española tomando la acción, a través del Rey Felipe II, que se destruyeran los viñedos existentes, excepto aquellos de la Iglesia o dedicados a su servicio, por el temor que hubiera mayor competencia con el vino de España (CMV, 2013).

Fue entonces el cura Miguel Hidalgo, la persona

que promueve el incremento de los viñedos en los alrededores del pueblo de Dolores aumentando así la plantación de parras y la producción del vino, enseñándoles a los agricultores mexicanos el oficio de la vitivinicultura (*Figura 2*) (CMV, 2013). Con el principio de la independencia de México se inicia la decadencia del cultivo como consecuencia de las condiciones políticas (Reyes *et al.*, 1992). Y fue hasta en el México independiente, 1822, cuando Agustín de Iturbide después de ser proclamado emperador de México protegió la producción de los viñedos e impuso un impuesto de 20% a los vinos extranjeros, en tanto que el nacional sólo pagaría el 10% (CMV, 2013).

En 1890 con la llegada del ferrocarril a México, la transportación de los vinos ya no se hizo por carretera, lo cual daba además otra ventaja, pues se podía transportar el vino y uvas frescas en



Figura 2.- Agricultores mexicanos labrando la viña.
Fuente: CMV 2013

vagones refrigerados a otras regiones; fue en ese año cuando Francisco Andonegui y Miguel Ortmart plantaron las vides en los terrenos de la antigua misión dominica de Santo Tomás, en los fértiles valles del norte de la península de Baja California. Hacia 1939, Santo Tomás ya producía vino que se comercializaba a nivel internacional, llegando a producir hasta 600,000 cajas de vino por cosecha. En ese año es cuando se hace el primer embotellado de vino en México, en las bodegas Santo Tomás (CMV, 2013).

En 1973 se crea el programa nacional vitivinícola y empieza el verdadero auge del vino mexicano, donde se incorporan cepas europeas y se plantan viñedos nuevos en el territorio nacional. En el 2010 los vinos mexicanos son bien representados en el concurso 2010 de Bruselas, al conseguir un reconocimiento en sus vinos de Domecq, L.A Cetto, Madero y Monte Xanic (CMV, 2013).

A lo largo de la historia han sido vanos los esfuerzos por impedir el cultivo de la vid, pues arrancar viñas, que de siempre han sido símbolo de la fertilidad de la tierra y de la riqueza de los pueblos, y renunciar al consumo del vino, es uno de los más graves errores que pueda cometer el hombre, desde un triple punto de vista, histórico, fisiológico y económico (Aleixandre & Aleixandre, 2011).

1.2 Producción de vino

De acuerdo con los datos estadísticos publicados en el 2012 por la Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV), la producción mundial de vino en 2012 (sin contar zumo y mosto) puede situarse en 251 millones de hectolitros (MhL), 15.8 MhL menos que en 2011 como se muestra en la *Figura 3*. La causa de este déficit de producción se debe a que la superficie vitícola mundial de ese mismo año disminuyó en 17,000 hectáreas respecto a 2011, estimándose el total mundial en 7, 575,000 hectáreas cultivadas hasta el 2012; además de un alza de precios en las categorías de vino menos caros así como la reducción de exportaciones de vino a granel (OIV, 2013).

De acuerdo a las estimaciones de los 15.8 MhL que se dejaron de producir en 2012 a nivel mundial, 15 millones se pierden en los tres primeros productores mundiales: Francia, España e Italia, mientras que fuera del viejo continente, destaca la caída de Argentina (OIV, 2013).

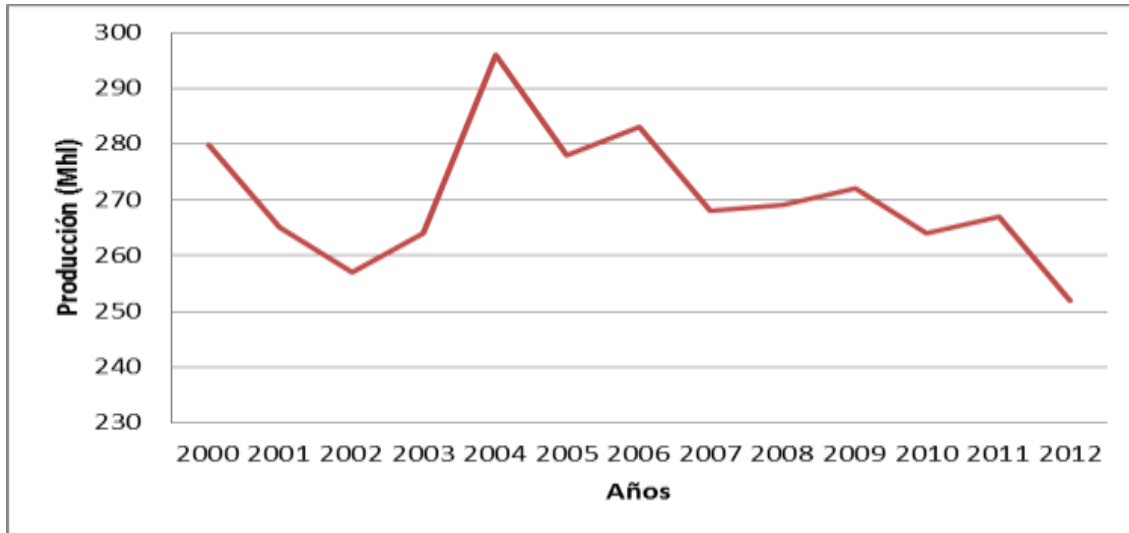


Figura 3. Producción mundial de vino
Fuente: OIV (2013).

1.2.1 Principales productores de vino en el mundo

La variedad *Vitis vinifera* se cultiva en casi todos los tipos de terrenos estando limitada por las posiciones climáticas frías, lo que le da la capacidad únicamente de vivir en las regiones situadas entre los paralelos 50° de latitud norte y 40° latitud sur (Hidalgo, 2003). En la *Figura 4* se muestra la producción de los principales países vitivinícolas.

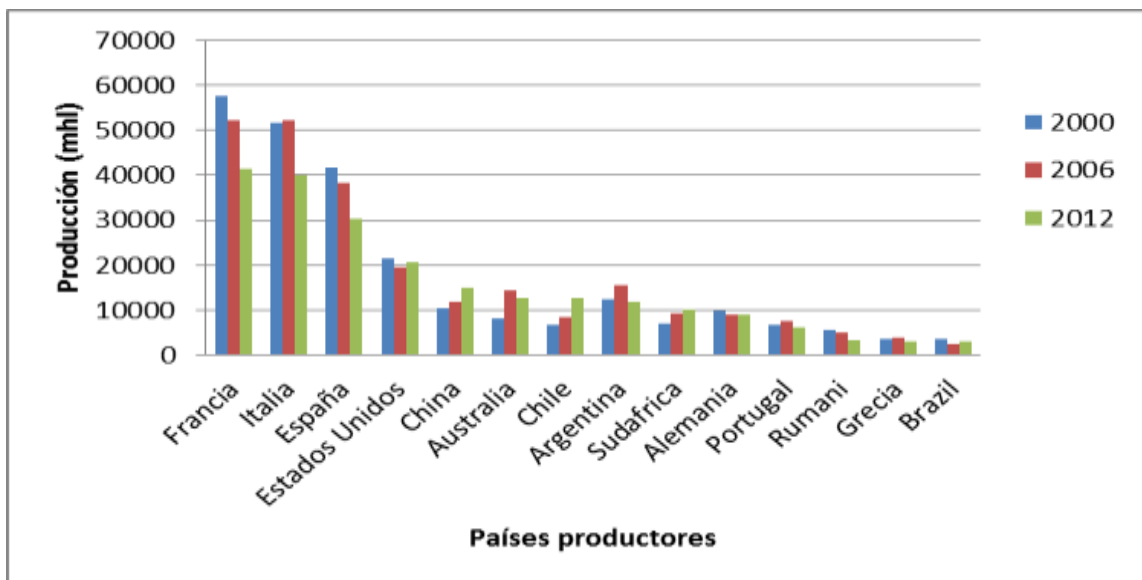


Figura 4. Principales países productores de vino
Fuente: OIV (2013).

En el año 2012 el primer país productor de vino fue Francia, con 42.2 millones de hL (16.85% mundial), seguido por Italia con 40.1 millones de hL (16% mundial) y España con 29.7 millones de hL (11.8% mundial), México se posiciona en el trigésimo tercer lugar a nivel mundial con 369 miles de hL (OIV, 2013). A continuación se describen las características de los principales países productores.

Francia

Los productores franceses fueron los primeros en acuñar el término *terroir* y por consecuencia atribuir la garantía de origen en sus vinos con la legislación de la Denominación de Origen (DO). El secreto de Francia son sus suelos, los cuales son tan diversos que permiten cultivar casi cualquier tipo de variedad de uva entre tintas y blancas. Entre sus denominaciones de origen más sobresalientes a nivel mundial se encuentra Alascia, Burdeos, Borgoña, Beaujolais, y el área meridional de Borgoña donde se producen los vinos más frescos, jugosos y afrutados del mundo (Simon, 2004).

Italia

La fortuna de Italia para ser uno de los principales productores a nivel mundial, es que la vid se puede cultivar de un extremo del país hasta el otro incluyendo las islas, esto da lugar a unas 450 denominaciones vitícolas y alrededor de un millón de productores (Strang, 2011). Los vinos italianos más populares son los preparados con la variedad *Lambrusca*, en su forma nativa es de un color rojo profundo, refrescantemente seco y jugoso (Simon, 2004)

España

Este país es considerado el primer viñedo del mundo en cuanto a superficie con 1.2 millones de hectáreas cultivadas (OIV, 2013). España está formada por una gran meseta central, ubicada a 650 msnm donde los mejores vinos se elaboran con cepas adaptadas a la altitud de 500msnm para la Rioja Alta y Rioja Alavesa; entre 700 y 800msnm para Alt-Penedés y Ribera del Duero (Strang, 2011). Existen 55 regiones, repartidas por todo el país, que están clasificadas actualmente como *Denominaciones de Origen (DO)* y cuenta con diferentes uvas autóctonas siendo la variedad Tempranillo la uva más noble del país (Simon, 2004).

Chile

El país de Chile siembra las variedades francesas más respetadas (Cabernet Sauvignon, Cabernet Franc, Merlot, Sémillon y Sauvignon Blanc) desde las décadas de 1850 y 1860. Cuando los viñedos del resto del mundo fueron arrasados por la filoxera, a finales del siglo XIX, los sembradíos

chilenos se mantuvieron a salvo. De norte a sur, las cuatro subregiones del Valle Central son Maipo, Rapel, Curicó y Maule (Simon, 2004).

Argentina

Argentina es el mayor productor vitícola de Sudamérica, aunque en la actualidad vive una crisis en su producción nacional (OIV, 2013). Desde 1990 la región de Mendoza es la responsable de tres cuartas partes de la producción. Argentina es afortunada por tener la uva Malbec como tarjeta de presentación en el mundo (Simon, 2004).

1.2.2 Regiones vitivinícolas en México

En México existen aproximadamente 3,600 hectáreas de cultivo de uva para vino, 110 productores y alrededor de 400 etiquetas diferentes. Siendo los estados de Baja California, Coahuila y Querétaro las regiones vitivinícolas más importantes en la siembra y producción de vino como se muestra en la *Tabla 1* (CMV, 2013).

Tabla 1. Principales regiones vitivinícolas de México

Región	Condiciones geográficas	Características
Baja California	Ubicada entre los paralelos 32°35' y 31°15' latitud norte. Temperaturas de 36 a 14°C y una altitud de 140 msnm.	Es la región más productora del país. Le favorece los vientos producidos por la corriente marina "California". Cultivo de variedades tintas como: Cabernet Sauvignon, Tempranillo, Pinot Noir, Syrah.
Coahuila	La región está focalizada en el Valle de Parras. Con un clima semidesértico y una altitud de 1500 msnm.	La cercanía con la Sierra Madre Oriental le proporciona suelos pedregosos y arcillosos que benefician el cultivo de diferentes variedades de uvas tintas y blancas.
Querétaro	Ubicado en la zona centro-norte del país con una altitud de 2000 msnm y temperaturas que oscilan entre 25 a 0°C.	La zona de San Juan del Río es una de las más prósperas del país donde se logra la producción del vino espumoso del país.
Guanajuato	Situada en el paralelo 22° latitud norte con una altitud de 1960 msnm con temperaturas que oscilan entre 25 a 18°C	La zona vitivinícola más importante de esta región está en Dolores Hidalgo, donde el clima semidesértico favorece el cultivo de variedades tintas, las que aprovechan las 2000 horas de sol durante la etapa de maduración.
Zacatecas	Ubicada entre los paralelos 22° y 23° latitud norte. Con una altitud de 2000 msnm	Zona vitivinícola fuera de la franja del vino pero gracias a sus suelos arcillosos de poca profundidad es posible el cultivo de variedades tintas.

Fuente: CMV (2013).

1.2.3 Consumo de vino en México

Como se muestra en la *Figura 5* el consumo mundial de vino en el 2012 experimentó un ligero incremento del 0.6% con respecto al 2011, según datos de la Organización Internacional de la Viña y el Vino. De esta forma el ranking de países por consumo interno de vino en 2012 sigue estando liderado por Francia, seguido de Estados Unidos, Italia, Alemania, China, Reino Unido, Argentina, España, Australia y Portugal (OIV, 2013).

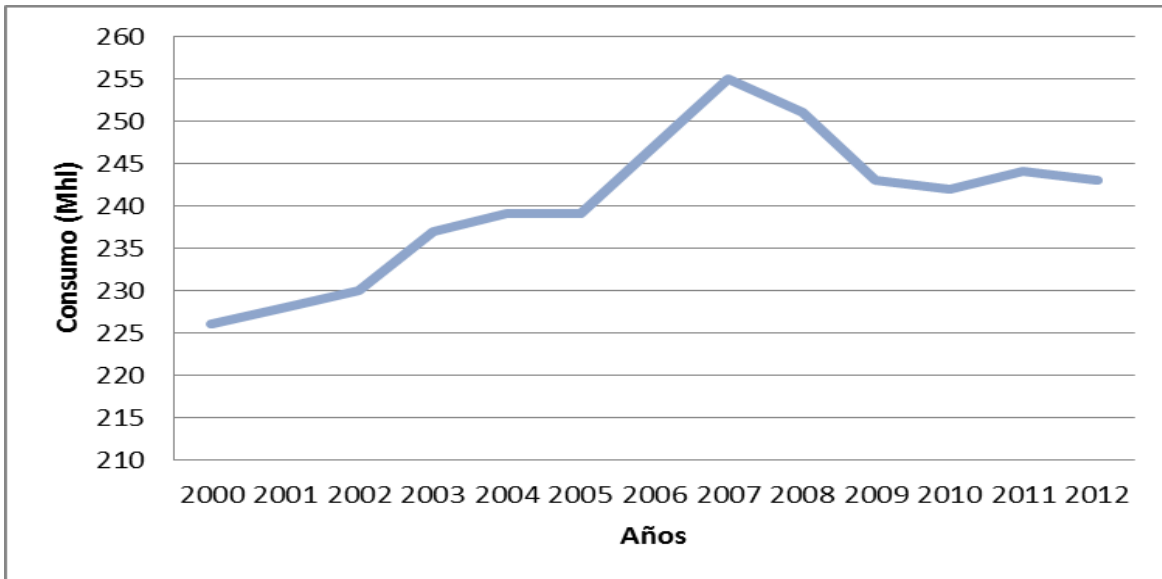


Figura 5. Consumo mundial de vino
Fuente: OIV (2013).

El mercado mundial del vino, es considerado como la suma de las exportaciones de todos los países y alcanzó en 2012 los 101.4 MhL, un -0.2% con respecto a 2011, marcando así una pausa en la tendencia al alza del comercio internacional observada en los últimos años. En el análisis del consumo por países, Italia sigue estando a la cabeza de las exportaciones en volumen, con un total de vino exportado en 2012 de 21.5 MhL (cae un 7% con respecto a 2011), seguido de España, con unas cifras de 19.1 MhL de vino comercializado en el exterior. Las siguientes naciones por volumen de exportación en 2012 fueron Chile (7.5 MhL), Australia (7.2 MhL), Sudáfrica (4.2 MhL) y Argentina (3.7 MhL) (OIV, 2013).

Mientras que en México el consumo entre los años 2000 y 2010 se duplicó de 27 millones de litros a 55 millones de litros de vino y se estima que en el año 2020 se va a triplicar el consumo nacional. De este pronóstico se espera que la mitad del consumo sea de vinos mexicanos, es decir, la

industria vitivinícola espera crecer en participación en el mercado del 30 a 50 por ciento (CMV, 2013). En la *Tabla 2* se muestra el consumo per cápita de varios países:

Tabla 2. Consumo per cápita de vino por países.

Países	Consumo (L)
Francia	45
Italia	45
España	23
Argentina	25
México	0.65

Fuente: CMV (2013).

Alrededor del 80 por ciento del vino que se consume en el país es importado, mientras que sólo el 20 por ciento es de productores nacionales (CMV, 2013).

1.3 Cualidades de la uva para vinificación.

Las uvas del género *Vitis*, es uno de los 11 géneros de la familia *Vitacea*. Las familias *Vitacea*, *Leaceae* y *Ramnaceae* forman parte del orden *Ramnales*. La *Vitis* se subdivide en dos subgéneros: *Euvitis* y *Muscadinea*. La industria vinícola mundial se basa en la especie de *Vitis vinifera* que procede de las regiones cercanas al Mar Negro y Mar Caspio (Boulton *et al.*, 2002).

El enólogo debe considerar los siguientes factores para seleccionar la variedad de vid a cultivar: utilidad, aroma y gusto propio, otras características especiales y económicas en cuanto a las ventas no son mutuamente excluyentes y se puede llegar a un equilibrio. Tanto el viticultor como el elaborador, deben tener en cuenta el mercado, su tamaño, la accesibilidad, y los precios. Otras características a tener en cuenta en la selección de las variedades a plantar son, cuánto tardará en madurar la uva y la fecha de la vendimia, la acidez que presentan al vendimiarse o la tendencia a dar problemas en la elaboración (Boulton *et al.*, 2002).

1.3.1 Composición del racimo de uva

Para seleccionar una variedad de uva se debe estudiar primeramente la fisiología que comprende este fruto. En la *Figura 6* se expone las partes del racimo de uva que se comprende del raspón o escobajo y de los granos de uva. La proporción de cada racimo varía según el tipo de viñedo, y para una misma variedad de uva, según el terreno, las modalidades de cultivo y sobre todo la climatología (Aleixandre & Aleixandre, 2011).

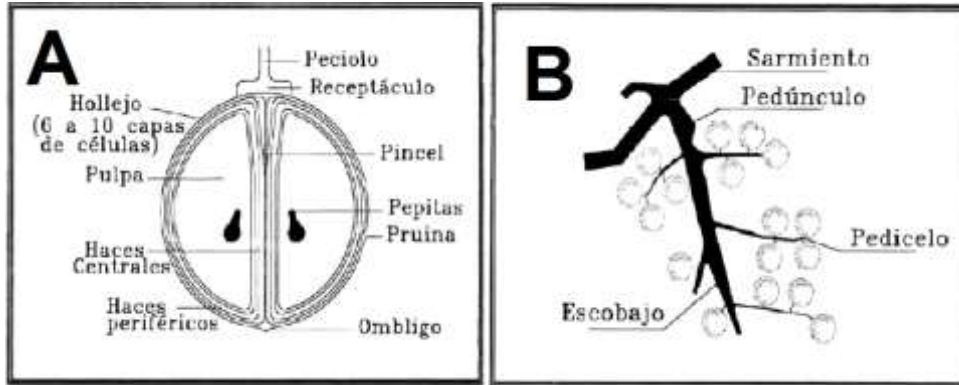


Figura 6. Esquema de la composición de la baya (A) y racimo (B)
Fuente: Aleixandre & Aleixandre (2011).




A continuación se describen las cualidades más importantes de la composición del racimo (Aleixandre & Aleixandre, 2011):

- ❖ **Escobajo o Raspón:** Es el miembro leñoso del racimo de uva. El raspón verde tiene del 70 al 80% de agua, clorofila, taninos del 1.3 al 4%, ácido tartárico del 0.5 al 1.3% y málico, bitartrato potásico, sustancias nitrogenadas y sales minerales.
- ❖ **El grano de uva o baya:** El grano de uva consta de hollejo, pulpa y pepitas, en proporciones muy variables según la cepa y las condiciones de clima y cultivo. Un grano de uva tiene por término medio el 89% de pulpa, el 7% de hollejo y el 4% de pepitas.
- ❖ **Hollejos:** La piel u hollejos de los granos de uva maduros contienen agua del 40 al 80%, pruina, sustancia cerosa a la que se adhieren los microorganismos nativos de la baya, materia colorante, taninos, ácido tartárico, ácido málico, sales de potasio y compuestos aromáticos.
- ❖ **La pulpa:** Constituye prácticamente la totalidad de la diferencia entre el peso del grano, los hollejos y pepitas. Contiene agua, azúcares (glucosa y fructosa), ácidos orgánicos, compuestos nitrogenados (aminoácidos y nitrógeno amoniacal) materias pécticas, enzimas y vitaminas.
- ❖ **Las pepitas:** Están formadas por dos capas envolventes, a modo de corteza, la testa y el tegmen, que son muy duras y leñosas y ricas en taninos. En la vinificación sólo se extraen de las pepitas los taninos de las cortezas o capas externas.

1.3.2 Variedades de uva para vinificación

Para la elaboración de vino tinto se requiere únicamente el uso de uvas tintas, sin embargo para la elaboración de vino blanco se puede utilizar tanto uvas tintas como blancas. En la *Tabla 3* se describen las cualidades de las variedades tintas que más se cultivan en México.

Tabla 3. Variedades tintas cultivadas en territorio mexicano

Variedad	Características
Tempranillo 	Produce vinos de calidad, que envejecen muy bien por el nivel de oxidación que tienen. El sabor es muy afrutado, de carácter neutro y rasgos de mora. El color es rojo violáceo cuando es joven y rojo rubí en la madurez. Son vinos de una gran finura y aunque no de gran carácter, tienen un gran equilibrio entre cuerpo y acidez. Se consideran variedades con brotación temprana aquellas con un umbral de crecimiento a baja temperatura.
Cabernet Sauvignon 	Variedad originaria de la zona bordelesa muy bien adaptada al territorio mexicano. Se trata de una planta con racimos pequeños y apretados, produciendo unos potentes vinos con aromas a frambuesa y pimienta verde. Cuenta con una estructura fenólica elevada, posiblemente una de las mayores.
Syrah 	Es la gran cepa de la AOC francesa Côtes-du-Rhône, donde está adaptada a los suelos graníticos dando vinos con mucho color, aromáticos y con tonalidades que evolucionan con el tiempo. Los vinos jóvenes tienen aromas florales y frutales, los de crianza notas de pimienta y cuero. El vino es de buena estructura y tánico, es muy resistente a la oxidación.
Pinot Noir 	Se le conoce también con los nombres de Pynoz, Pinot fin, Franc pinot. Su nombre deriva de la forma de sus racimos semejando a una piña. Produce vinos tintos con colores tenues pero con una mezcla de sutiles aromas a frambuesa, violeta, y caza.
Gamay 	Vocacionalmente produce vinos jóvenes con intensos aromas primarios a frambuesa y plátano y tonos rojos muy débiles. Vinos muy oxidables y difícilmente pueden mandarse a crianza.

Fuente: Hidalgo (2003); Boulton *et al.* (2002); Aleixandre & Aleixandre (2011).

1.3.3 Clasificación del vino

Hay tantos estilos de vino como interpretaciones diferentes de música. La clasificación de los vinos es bastante difícil de formular y son muchas las que se conocen y aconsejan. Es casi imposible

establecer una nomenclatura porque a cada momento, se presentan nuevas variedades al consumo, por consecuencia debe limitarse a establecer divisiones generales (Rodríguez, 1998).

Dentro de la amplia variedad de vinos existentes podemos establecer de forma inicial y orientadora diversas clasificaciones básicas como las siguientes (Rodríguez, 1998):

- ❖ Por su color: Vinos blancos, rosados y tintos.
- ❖ Por su carácter: Se considera a los vinos espumosos que son aquellos que presentan gas carbónico y los vinos tranquilos. Dentro de ambos grupos se observa de base en su contenido azúcar los vinos secos como aquellos que no contienen azúcar, los semidulces o abocados y los dulces, con contenido de azúcar ya de forma natural o por adición.
- ❖ Por su contenido en alcohol: Son vinos de mesa refiriéndose a aquellos de graduación no superior a 14.5°. Cuando se refiere a generosos o fortalecidos su porcentaje de alcohol en volumen es aproximadamente desde 15° a los 23°.
- ❖ Por sus características de envejecimiento: En virtud de la ley de la Viña y el Vino de 2003 se puede utilizar las siguientes indicaciones comunes relativas a las categorías de envejecimiento. Vino noble con un envejecimiento de 18 meses en barrica de roble, vino añejo con un envejecimiento de 24 meses en barrica y vino viejo con un período mínimo de envejecimiento de 36 meses.

1.4 Proceso de transformación de la uva en vino tinto

El dominio vitivinícola lo comprende el cultivo de la vid y la elaboración del vino, y es en ese momento donde se mezclan las dos ciencias: la viticultura y la vinicultura. Tener una materia prima perfecta es una parte del éxito pero no es suficiente para asegurar un producto terminado con gran calidad (Girard, 2004). Antes del proceso de vinificación se debe considerar que la uva, como todo fruto lleva un proceso de crecimiento, y es el estado de maduración el que condiciona en gran manera la calidad e incluso el tipo de vino. La maduración del grano de uva comprende básicamente cuatro periodos (Aleixandre & Aleixandre, 2011):

- ❖ **Periodo herbáceo:** Va desde el momento en que se forma el grano, hasta el envero, momento en que la uva cambia de color. Durante este periodo los azúcares empiezan a aparecer en el grano en concentraciones de 10 a 20 g/L y los ácidos se van acumulando en el grano.
- ❖ **Envero:** Corresponde a la etapa final fisiológica de la coloración de la uva. Un grano de uva envera en un solo día. El azúcar de las uvas aumenta de modo repentino y brusco, debido a una intensa migración del azúcar de las partes vegetativas de la planta hacia el grano.

- ❖ **La maduración:** Comprende desde el envero hasta el estado de madurez fisiológica, que corresponde a la parada de migración de azúcares hacia el grano; la uva continúa aumentando de tamaño, donde acumula azúcares y pierde acidez.
- ❖ **La sobremaduración:** Sigue del periodo de maduración cuando la uva permanece mucho tiempo en el racimo. El fruto vive de sus reservas, pierde agua y el contenido del grano se concentra.

El proceso de vinificación, que se considera como la transformación de la uva en vino, comienza con la operación de la vendimia de la uva. En la *Figura 7* se muestran las etapas para la elaboración de vino tinto.

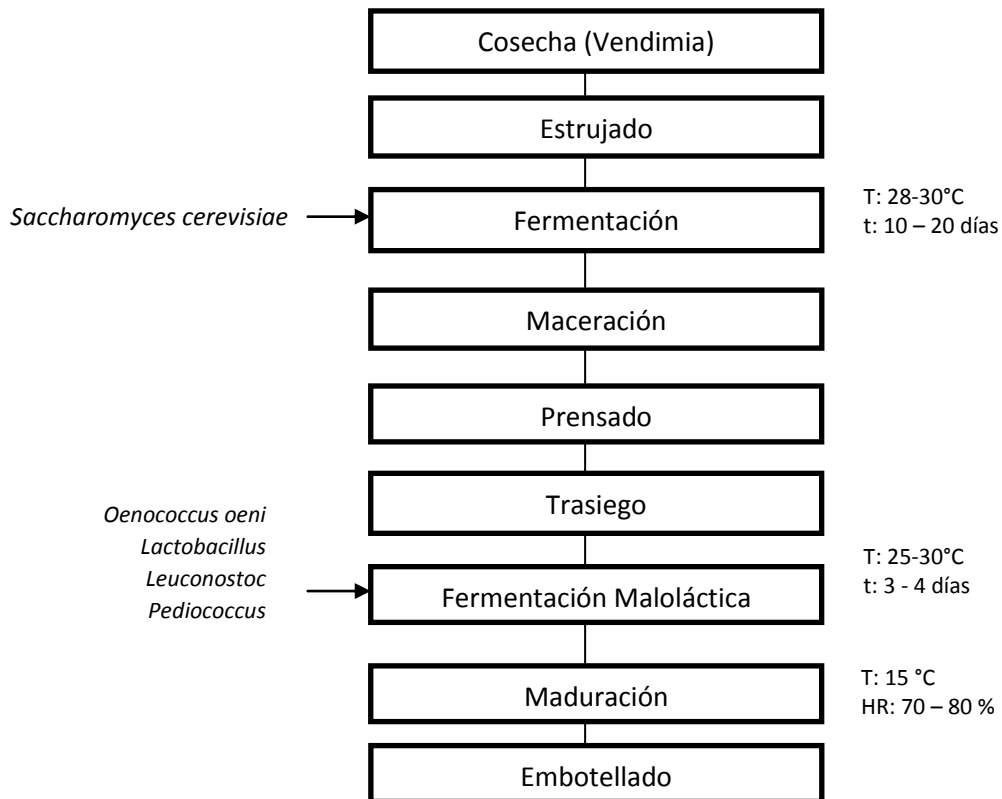


Figura 7. Diagrama de bloques para la elaboración de vino tinto
Fuente: Grainger & Tattersall (2005).

1.4.1 Vendimia

La etapa de la vendimia es el momento en el que el viticultor selecciona los mejores racimos de la planta para empezar la vinificación. El conocimiento de las fechas de floración permite evaluar aproximadamente la fecha de vendimia; cada variedad necesita un número de días concreto para madurar, alrededor de 100 días después de la floración (Girard, 2004).

Hoy en día interesa más la extracción de los pigmentos de las variedades tintas mediante la medida de las concentraciones globales de polifenoles, apreciaciones del color o medidas de la cantidad de antocianos. Estos son datos muy útiles, y cada vez más difundidos para apreciar la madurez de las uvas tintas (Girard, 2004).

Actualmente con la introducción de nuevas tecnologías la vendimia mecánica es la más útil para vendimiar rápidamente una parcela amenazada por la podredumbre gris, cuando las máquinas están bien regadas y la calidad de la vendimia es muy satisfactoria (Girard, 2004).

1.4.2 Despalillado y Estrujado

Después de la vendimia las uvas se dirigen a una tolva que alimentara a una despalilladora-estrujadora donde el raspón es retirado para evitar un aporte excesivo de amargor al mosto (Grainger & Tattersall, 2005). El despalillado total de la vendimia es una práctica habitual en combinación con el estrujado que sigue contribuye a favorecer la disolución de los compuestos fenólicos por su acción mecánica sobre los hollejos. La ausencia de despalillado de los racimos conduce a vinos ricos en polifenoles sin tener un impacto significativo sobre el color. Por el contrario la presencia de racimos no estrujados en el mosto puede aportar taninos herbáceos y sus aromas asociados, sobre todo al final de la fermentación alcohólica cuando la disolución de los compuestos se favorece por la presencia de alcohol (Girard, 2004).

1.4.3 Fermentación

La fermentación alcohólica es considerada el corazón de la vinificación y es la transformación de los azúcares, principalmente glucosa y fructosa en etanol y dióxido de carbono. Al comienzo de la vinificación existen varias especies de levaduras naturales (*Kloeckera*, *Hanseniaspora*, *Candida*) en el zumo de uva y esta biodiversidad de microorganismos depende de varios factores como: la variedad de uva, el estado de madurez en el momento de la cosecha, tratamiento antifúngico durante el cultivo y factores climáticos. Aunque al final de este proceso es llevado a cabo por la acción de la *Saccharomyces cerevisiae*, por su tolerancia a concentraciones altas de etanol, y algunas bacterias como la *Zymomonas mobilis* (Moreno & Polo, 2009).

Sin embargo, la fermentación alcohólica es un proceso mucho más complejo. Al mismo tiempo que esta reacción procede en general, una gran cantidad de otros procesos bioquímicos y químicos tienen lugar, por lo que es posible transformar el zumo de uva en vino. La característica más importante y favorable que posee la *Saccharomyces* para la fermentación alcohólica es que está catalogada como anaerobia facultativa, porque posee la capacidad de metabolizar los azúcares por vías anaerobias y aerobias o dicho de otra manera por respiración y fermentación

(Moreno & Polo, 2009). En la *Figura 8* se muestra un esquema de la ruta bioquímica de la fermentación por la levadura *Saccharomyces*.

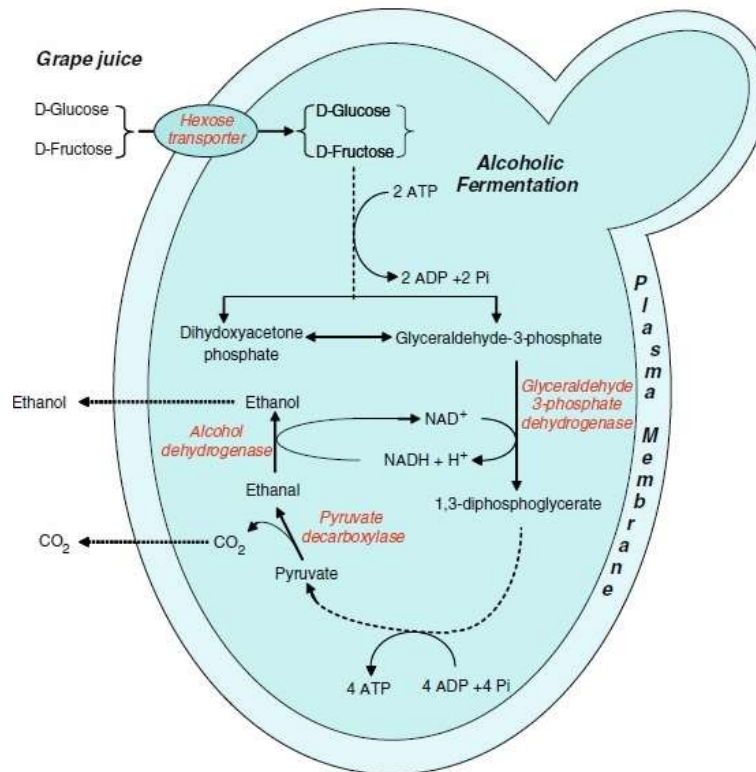


Figura 8. Ruta metabólica de la fermentación alcohólica
Fuente: Moreno & Polo (2009).

La levadura ocupa la glucólisis como la vía principal para el catabolismo de las hexosas y es el paso inicial de la fermentación alcohólica al obtener piruvato como producto, donde por la acción de 11 reacciones químicas se libera energía en la forma química de ATP, la cual ocupa para su crecimiento. Durante la fase de crecimiento exponencial de la levadura, el enólogo logra obtener una concentración de $10^7 - 10^8$ células/ml en el mosto (Moreno & Polo, 2009).

Durante la fermentación alcohólica la levadura transforma el piruvato en etanal y dióxido de carbono por medio de la enzima piruvato descarboxilasa a partir de ese momento la enzima alcohol deshidrogenasa reduce el etanal en etanol y sucede el reciclaje de NADH a NAD⁺. La fermentación alcohólica regenera el NAD⁺ consumida durante la glucólisis y la ruta brinda una ganancia de energía de solamente dos moléculas de ATP por hexosa metabolizado a comparación de 32 ATP en la respiración por la vía de los ácidos tricarbónicos (Moreno & Polo, 2009). Sin embargo, incluso en la presencia de oxígeno la *Saccharomyces cerevisiae* no fermenta si la

concentración de azúcar es superior a 9g/L. La transformación del piruvato en etanal o acetyl-coA es un punto clave para regular el metabolismo de la levadura (Moreno & Polo, 2009).

Para que suceda la descarboxilación del piruvato a etanal, la enzima piruvato descarboxilasa necesita magnesio y pirofosfato de tiamina como cofactores. Existen tres isoenzimas de alcohol deshidrogenasa en la *Saccharomyces cerevisiae* pero la isoenzima I es la principal responsable de la conversión de etanal en etanol, la cual utiliza zinc como cofactor (Moreno & Polo, 2009).

Suele suceder que durante la fermentación alcohólica las etapas finales del proceso se vuelvan lentas. Esto se debe, a que drásticamente la levadura reduce su consumo de azúcares y la fermentación puede incluso pararse antes de que se metabolicen todos los azúcares fermentables. Cuando esto sucede los enólogos enfrentan dos problemas serios, primero, el vino no es terminado y, segundo el riesgo de una posible contaminación bacteriana y por consecuencia la producción de ácido acético. Por tal motivo los enólogos deben procurar estas posibles causas de un retraso de la fermentación (Moreno & Polo, 2009):

- ❖ Altas concentraciones de azúcares
- ❖ Extremas temperaturas
- ❖ Deficiencia de nutrientes
- ❖ Presencia de trazas de pesticidas

Para evitar los efectos de las paradas de fermentación el enólogo debe procurar las condiciones óptimas del proceso. Para la vinificación de vinos tintos la temperatura más habitual se encuentra entre 28-30 °C y se conoce que la extracción de compuestos fenólicos aumenta con la temperatura y por otro lado la preservación de aromas está garantizada a bajas temperaturas. Además, las altas temperaturas (>34°C) provocan la pérdida de aromas de fruta roja a favor de aromas especiados y confitados más marcados con la aparición de contenidos elevados de acidez volátil. Mientras que el empleo de bajas temperaturas (<25°C) se tienen el riesgo de dar lugar a fermentaciones alcohólicas lentas, sí la población de levaduras no está bien adaptada (Girard, 2004).

1.4.4 Maceración

La duración de la maceración es un parámetro determinante de la calidad de los vinos tintos, el momento óptimo para detener esta etapa sólo puede determinarse mediante degustaciones regulares del vino obtenido, una opción es cuando se detecten taninos demasiado agresivos. Las maceraciones largas se reservan para vinos que van a ser sometidos a crianzas también largas por obtener altas concentraciones de taninos en el caldo fermentativo. Las maceraciones cortas permiten obtener sin dificultad productos equilibrados a la vez aromáticos y ricos en polifenoles

(Girard, 2004). Dependiendo del tipo de vino que se quiera elaborar, se pueden dejar empapados los hollejos después de que la fermentación alcohólica haya terminado, hasta que se haya extraído suficiente color, aromas, sabores y taninos (Grainger & Tattersall, 2005).

1.4.5 Prensado

Es la etapa donde se separa la materia sólida del mosto fermentado a base de filtros y presiones. El prensado de los orujos de vino tintos no requiere de condiciones particulares en lo que se refiere a la calidad de los caldos. Lo normal es agrupar los caldos de prensa de diferentes depósitos por niveles de presión. Por el contrario el prensado de los orujos da lugar a una oxigenación importante de los caldos de prensa que pueden ser ligeramente azucarados, aunque están protegidos por una cierta carga de polifenoles, y son denominados caldos frágiles (Girard, 2004).

1.4.6 Fermentación maloláctica

La fermentación maloláctica está prácticamente generalizada en vinos tintos pero también es aplicable a vinos blancos y rosados. Normalmente sigue después de la fermentación alcohólica y debido a esto algunas veces se le denomina segunda fermentación, pero las levaduras no están implicadas (Grainger & Tattersall, 2005). La fermentación maloláctica en el vino es por definición una conversión enzimática del ácido L-málico al ácido L-láctico, un proceso secundario a la fermentación alcohólica que también puede ocurrir simultáneamente. La reducción del ácido málico no es verdaderamente una fermentación más bien es una reacción enzimática realizada por bacterias ácido lácticas después de su fase exponencial (Moreno & Polo, 2009) como se muestra en la *Figura 9*.

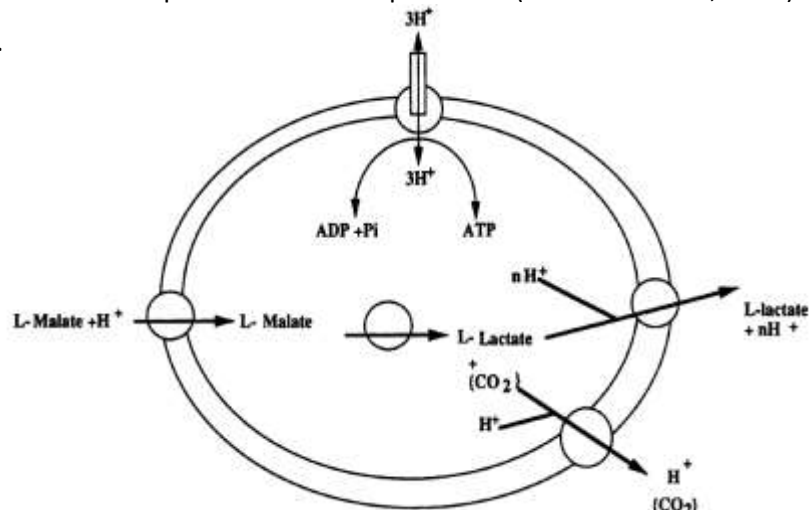


Figura 9. Ruta metabólica de la fermentación maloláctica.

Fuente: Cox & Henick (1989).

Químicamente la fermentación maloláctica se compone de una descarboxilación del ácido L-málico en el vino a ácido L-láctico, y bioquímicamente es el resultado de la enzima maloláctica presente en las bacterias que usa como cofactores al NAD^+ y los iones Mn^{2+} . Esta transformación tiene un doble efecto en la vinificación, por una parte se desacidifica el vino, elevando el pH, y por otro lado le brinda al vino un sabor más suave y menos astringente (Moreno & Polo, 2009).

Este proceso es principalmente llevado a cabo por bacterias ácido lácticas que pertenecen a dos familias, la primera es la *Lactobacillaceae* representada por el género *Lactobacillus* y la segunda familia es la *Streptococcaceae* representada por *Oenococcus* y *Pediococcus*. Pueden resistir pH bajos (<3.5), concentración alta de etanol (>10%) y niveles elevados de dióxido de azufre (50mg/L) y la característica más importante es que son heterofermentativas y homofermentativas lo que provoca la transformación de azúcar en ácido láctico (Moreno & Polo, 2009). Estos microorganismos se desarrollan más fácilmente en torno a los 25°C pero el vino está sujeto también a las variaciones de poblaciones de microorganismos. Un parámetro que se debe vigilar durante esta etapa es la acidez volátil, que sirve como indicador de las desviaciones microbiológicas (Girard, 2004).

Mientras avanza la fermentación alcohólica y la concentración de alcohol aumenta, empieza a decrecer la concentración de las bacterias lácticas y hasta después de la fermentación aumenta la biomasa nuevamente, siendo la especie *Oenococcus oeni* la que presenta inicialmente mayor actividad en la fermentación maloláctica. Aún durante la crianza de los vinos dichas bacterias presentan bajo metabolismo, lo cual puede ser un riesgo para la vinificación (Moreno & Polo, 2009).

1.4.7 Crianza de vinos

Se considera como crianza del vino todas las reacciones y cambios que suceden después del primer trasiego, que mejore o no deterioren el vino; el envejecimiento del vino no debe ser tomado como un sólo proceso ni un resultado único (Boulton *et al.*, 2002). Una característica que obtienen los vinos inmediatamente después de la fermentación es que pueden ser astringentes y muy desagradables en boca, por lo tanto es necesario este periodo en la vinificación, en el que los taninos se suavizan y los niveles de acidez caen (Grainger & Tattersall, 2005). La riqueza en compuestos fenólicos, especialmente en taninos, es la que asegura la longevidad de los vinos tintos. No todos los vinos evolucionan de la igual manera. Hay los que envejecen rápidamente y otros que se conservan en el mismo estado en que fueron embotellados (Aleixandre & Aleixandre, 2011).

Los objetivos generales de la crianza se reúnen en cuatro grupos que pueden denominarse (Boulton *et al.*, 2002):

- ❖ **Sustracción:** Las características de un vino recién trasegado deben eliminarse o disminuir, así también el dióxido de carbono de la fermentación, el efecto sobre las cualidades olfato-gustativas de las levaduras, y el aspecto del producto. Gustos a “verde” pueden estar presentes y deben eliminarse.
- ❖ **Adición:** Se pretende una extracción de aroma y gustos a madera, el desarrollo del color y cualidades olfato-gustativas por oxidación, y el desarrollo en la botella de *bouquets*, aunque algunas veces una excesiva influencia de la madera se considera como una mala crianza.
- ❖ **Conservación:** Tanto sea posible, hay que mantener y retener lo sabores y aromas atractivos a uva, los afrutados y especialmente los debidos a la variedad durante la conservación y la crianza.
- ❖ **Complejidad:** Los cambios deben ser pequeños y sutiles si se desea favorecer a la complejidad del vino final. La complejidad es máxima en una fase intermedia que acompaña al mayor número de compuestos con caracteres olfato-gustativos, y disminuye antes y después de esta fase.

Es admitido en la actualidad que la barrica de roble (de la especie *Quercus Petrea*, *Quercus Robur* y *Quercus Albar*) es el “reactor” fundamental de la crianza de los vinos, además se estima que por la microoxigenación sucedida favorece a la polimerización de los compuestos fenólicos. Bajo el punto de vista de la enología actual que pretende en el vino su conservación sin pérdida de color, la vida útil de la barrica viene limitada por el agotamiento de esta facultad de 2 a 3 años (Ruiz, 1994).

El envejecimiento de los vinos se divide en dos periodos (Boulton *et al.*, 2002):

1°. Periodo de maduración o crianza, corresponde a la conservación en toneles o en barrica:

- ❖ El vino empieza a desarrollar sus cualidades gustativas
- ❖ Adquiere limpidez y la estabilidad
- ❖ El vino permanece en contacto, más o menos limitado con el aire, puesto que la madera no aísla completamente al vino del oxígeno, estando éste presente durante su estancia en la barrica. En esta fase, merecen especial atención los fenómenos de oxidación.

2°. Periodo de envejecimiento propiamente dicho, el cual:

- ❖ Sucede en botella, donde la penetración del aire es prácticamente nula y el vino envejece en un medio completamente reductor. No hay intervención del oxígeno y sólo tenemos un conjunto de compuestos que reaccionan entre sí, en un proceso bioquímico que puede considerarse irreversible.
- ❖ El vino envejece completamente protegido del aire
- ❖ Proporciona la calidad óptima.

A pesar de algunas hipótesis contrarias, las reacciones enzimáticas no parecen tener una parte notable en la crianza tradicional del vino. Las enzimas presentes tienden a ser eliminadas por taninos o por los clarificantes (Boulton *et al.*, 2002). Los fenómenos más importantes durante la maduración en barrica se ejemplifican en el diagrama de la *Figura 10* que se comentaran a continuación:



Figura 10: Fenómenos de crianza en barrica
Fuente.Hidalgo (2003).

Cesión de oxígeno del ambiente al vino (Boulton *et al.*, 2002):

No es posible todavía definir por rutina o fórmula cuanto oxígeno ha consumido un vino determinado o cuánto debería exponerse para alcanzar la calidad óptima. Sin embargo, se conocen la naturaleza fundamental de esas reacciones y los parámetros principales. Un gran número de componentes de los vinos se pueden oxidar, algunos más fácilmente que otros, pero son los fenoles de la uva para vinificación en particular aquellos con una unidad *orto*-quinona los más importantes. La relación existente del vino para consumir oxígeno durante la crianza está

relacionada con el contenido total de fenoles y son los vinos tintos con más cuerpo y mayor contenido en taninos los más oxidables. Mientras que el etanol no se autooxida fácilmente por sí solo, pero tanto él como otros constituyentes incluyendo SO_2 se oxidan junto con los fenoles.

Se necesitan explicarse dos observaciones de importancia con respecto a la oxidación: la capacidad total muy alta respecto al oxígeno, y el por qué es la oxidación más rápida en medio alcalino. Los cambios que produce una oxidación intensa incluyen pardeamiento, que es deseable en algunos vinos, y dependiendo del estilo de cada bodega el color más dorado para los blancos y más oscuro para los vinos tintos es el deseable.

Formación de ésteres (Usseglio, 1998):

Un fenómeno unido indudablemente al envejecimiento es la formación de ésteres entre los ácidos y los alcoholes presentes en el vino, esencialmente el alcohol etílico. Hay que señalar que la mayor parte de los ésteres neutros del vino (acetato de etilo, lactato de etilo) son de origen biológico por el metabolismo de levaduras y bacterias. Después se produce lentamente la formación de ésteres ácidos (tartrato de etilo, succinato de etilo, etc.) cuya presencia se demuestra después de una crianza.

En lo que respecta a la formación de los ésteres en el vino, hay que tener presente el fenómeno y las leyes de la esterificación, es decir, de la reacción entre un ácido orgánico y un alcohol. La reacción de esterificación es muy lenta y su velocidad va disminuyendo con el tiempo hasta anularse cuando se alcanza un estado de equilibrio en el que están presentes en proporciones definidas las cuatro sustancias en juego como se ejemplifica en la *Figura 11*:

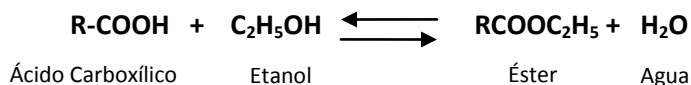


Figura 11. Ecuación de reacción de esterificación

Fuente: Usseglio (1998).

Aunque los ésteres son compuestos que ejercen una acción positiva en la calidad del vino, no hay una relación directa entre la esterificación química, que es muy importante durante el envejecimiento y la calidad del vino (Aleixandre & Aleixandre, 2011).

Polimerización de taninos (Hidalgo, 2003):

Las soluciones ácidas de los taninos no son estables y con el tiempo su color envejece hacia tonalidades marrones e incluso pueden llegar a precipitar, en el vino se pueden producir dos tipos de reacciones:

- ❖ Ausencia de oxígeno: Con altas temperaturas los taninos se hidrolizan formando un carbocatión, que reacciona con la carga negativa de otra proantocianidina formando un polímero de mayor peso molecular. Se dice entonces que la polimerización es homogénea u ordenada o también llamada “polimerización lineal”.
- ❖ Presencia de oxígeno: Se produce una “polimerización cruzada” donde la oxidación del alcohol a forma etanal es capaz de unir moléculas de prociandinas formando un polímero de elevado peso molecular.

Polimerización entre antocianos y taninos

La polimerización fenólica del vino es por condensación y bajo el punto de vista enológico los polímeros tienen una gran importancia ya que denotan la vida del vino como producto natural. La armonía en la polimerización antociano-taninos con intervención de oxígeno da la reciprocidad de color estable y suavidad en boca (Ruiz, 1994). Es innegable la contribución de los taninos en el aumento de la tonalidad amarilla del color así como la modificación e incluso la desaparición de los antocianos inicialmente presentes; sin embargo la tonalidad roja residual de los vinos viejos es atribuible a los antocianos, con estructura modificada a través de reacciones de oxidación o de condensación (Usseglio, 1998). El color de un vino tinto se modifica durante su envejecimiento y la destrucción oxidativa de los antocianos se ve favorecida por el contenido en taninos y la proporción relativa de antocianos depende a su vez de cada variedad vinífera (Aleixandre & Aleixandre, 2011). En la *Figura 12* se muestra un diagrama con todas las posibles condensaciones entre antocianos y taninos.

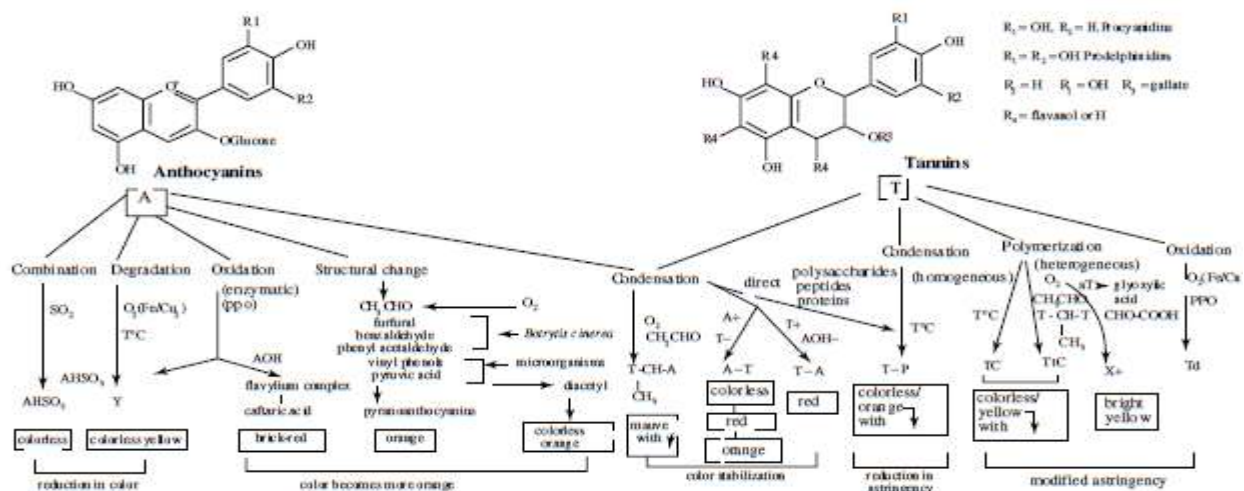


Figura 12. Polimerización antociano-tanino

Fuente: Ribéreau-Gayon *et al.* (2006a)

Las condensaciones más frecuentes durante la maduración de los vinos son las siguientes:

- ❖ Condensación antociano-tanino (A-T): Sucede cuando los antocianos bajo su forma catiónica reaccionan con las valencias negativas de los carbonos 4 ó 8 de los taninos formando un flaveno incoloro que puede colorear a rojo en presencia de oxígeno, como se ejemplifica en la *Figura 13*.

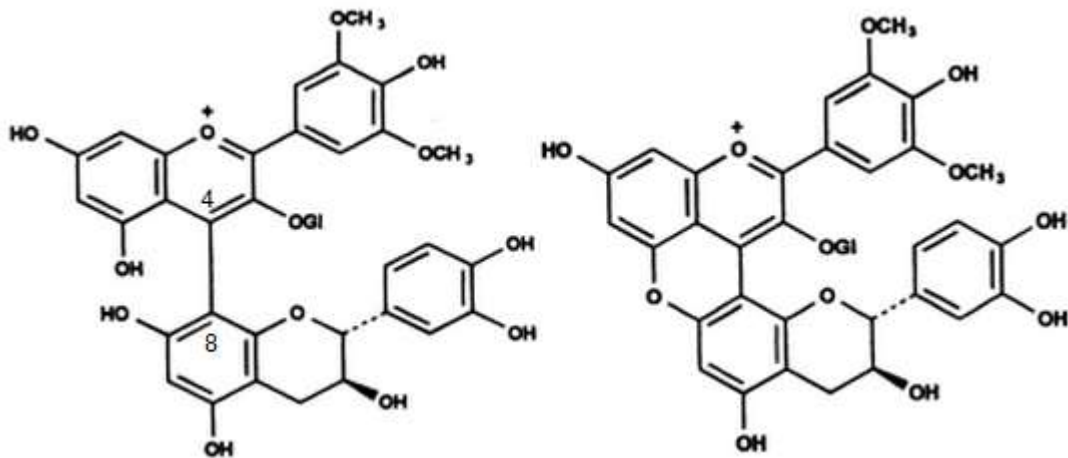


Figura 13. Estructuras hipotéticas de los productos A-T

Fuente: Flanzky (2003).

- ❖ Condensación tanino-antocianos (T-A): Las procianidinas en medio ácido se hidrolizan formando un carbocatión que reacciona con los antocianos bajo la forma carbinol formando un complejo color anaranjado, como se ejemplifica en la *Figura 14*.

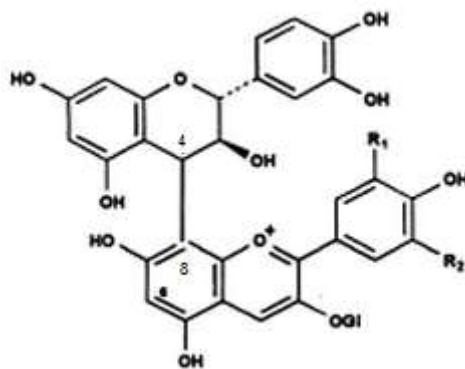


Figura 14. Estructuras hipotéticas de los productos T-A

Fuente: Flanzky (2003).

- ❖ Condensación antocianos-taninos con un puente etilado: El etanal reacciona con las valencias negativas de los taninos, el polímero formado es de color rojo malva muy estable que puede mudar a un rojo picota, como se demuestra en la *Figura 15*.

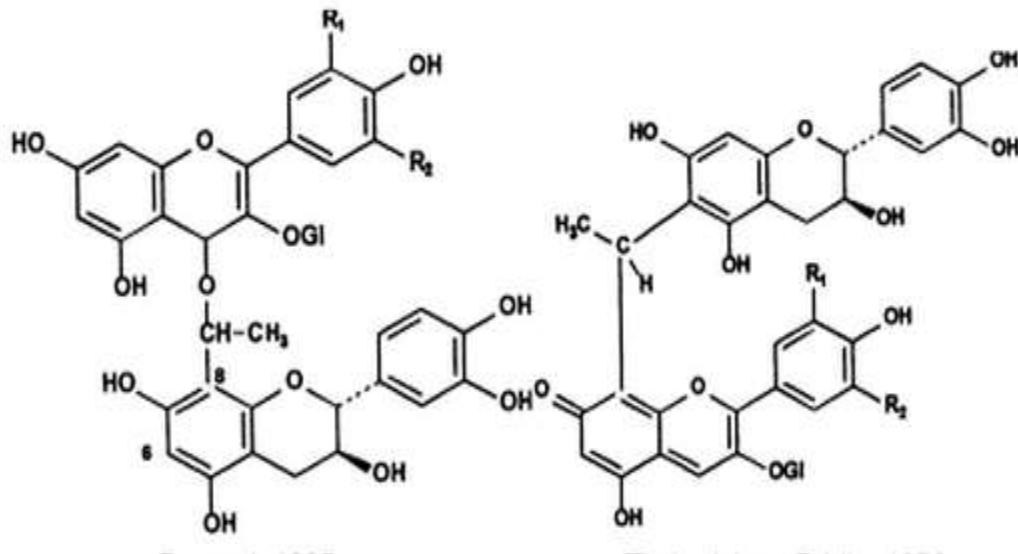


Figura 15. Estructura hipotética del producto vía etanal
Fuente: Flanzky (2003).

1.5 Factores que influyen en la calidad del vino

Si bien la diferencia entre un vino y otro depende de la combinación de tres factores: el lugar de origen (clima y otros factores naturales), la cepa (variedad de la vid) y los métodos de producción (Strang, 2011).

1.5.1 Factores naturales

El clima está íntimamente unido al lugar donde se sitúa el viñedo, así como la topografía y la naturaleza físico-química del suelo. La influencia del tiempo puede ser grande en relación a las diferencias entre vendimias y del clima (Boulton *et al.*, 2002). A continuación en la *Tabla 4* se describen los factores naturales que logran que se produzcan vinos diferentes con respecto a las regiones.

Tabla 4: Factores naturales que influyen en la calidad del vino.

Factor	Descripción
Suelo	<p>El tipo de suelo que se utiliza para la plantación de un viñedo puede elegirse por las siguientes características:</p> <ul style="list-style-type: none"> ❖ Factores de calidad: Son los que determinan la capacidad del suelo para producir uvas sanas, bien constituidas químicamente para dar vinos de calidad y rendimientos medios. Esto sólo se produce cuando el suelo asegura una alimentación regular de agua a la planta. ❖ Factores de originalidad: Están ligados a la composición mineral y química del origen geológico de la roca madre de donde proceden. El suelo ideal sería el formado por un 10% hierro (transmite al vino color oscuro), 10% de sílice (transmite finura y ligereza), 30% de arcilla (proporciona suavidad y consistencia) y 50% caliza (proporciona aroma).
Clima	<p>La influencia del clima sobre los principales componentes de la uva se manifiesta de la siguiente forma:</p> <ul style="list-style-type: none"> ❖ Azúcares: La radiación solar es un factor limitante de la fotosíntesis, en general, cuanto más cálida sea la climatología durante el periodo de maduración, más ricas serán las uvas en azúcares, y viceversa. ❖ Ácidos: La cantidad de ácido tartárico en la uva es relativamente estable respecto a las condiciones climáticas. Sin embargo, la cantidad de ácido málico en la uva estará condicionada por la temperatura durante el periodo de maduración. ❖ Polifenoles: Su síntesis está en relación directa con las condiciones climáticas del medio a lo largo del periodo de maduración. Entre más cálidas sean las condiciones climáticas durante la maduración, más ricas serán las uvas en polifenoles.
Variedad de uva	<p>Cada variedad viene definida por un cierto número de caracteres particulares que influyen sobre el tipo de vino elaborado. Estos caracteres son:</p> <ul style="list-style-type: none"> ❖ El color: Cada variedad tiene su color particular, existiendo variedades blancas, tintas y rosadas. ❖ Tamaño de los granos: La variedad de granos muy gruesos son destinadas al consumo de uva de mesa, las de grano mediano a uva de mesa y vinificación y las de grano pequeño para vinificación. Esto se debe a que los componentes esenciales de la uva, que son los que aportan los caracteres al vino, se encuentran en el hollejo.

Fuente: Aleixandre & Aleixandre (2011); Boulton *et al.* (2002).

1.5.2 Factores tecnológicos

El papel del hombre en la elaboración de vinos, a través de la experiencia y la investigación, juega un papel importante en la originalidad del producto final vinculada con la región y tradición. El hombre deberá utilizar una tecnología razonable e intentar que el vino obtenido tenga la mínima cantidad de productos enológicos añadidos o adulterados. A continuación en la *Tabla 5* se describen los factores tecnológicos que influyen en la calidad del vino.

Tabla 5. Factores tecnológicos que influyen en la calidad del vino

Factor	Descripción
Técnicas de cultivo	Los siguientes factores en las técnicas de cultivo influirán en la calidad del vino: <ul style="list-style-type: none"> ❖ Preparación del suelo antes de la plantación. ❖ Cuidados culturales durante la vida del viñedo ❖ El abonado ❖ Tratamiento fitosanitarios ❖ La poda ❖ Sobrecarga. ❖ El porta injerto.
Estrujado	La aireación que se produce en el estrujado es perjudicial para la calidad final del vino, las enzimas oxidantes de la uva (polifenoloxidasas) son la <i>tirosinasa</i> y <i>lacasa</i> que pueden llevar al vino a la “quebra oxidásica”. La tendencia será hacer un estrujado suave cuando se quieran obtener vinos de calidad.
Despalillado	Las ventajas del despalillado en la calidad de los vinos es la mejora gustativa, los elementos disueltos de los raspones tienen sabores astringentes y herbáceos, el aumento del color y grado alcohólico, por una parte evita la fijación de la materia colorante en los raspones y por otra parte el raspón contiene agua y no contiene azúcares, por lo tanto absorbe alcohol.
Maceración	Durante el proceso de maceración la extracción de la materia colorante es bastante rápida durante los primeros días de encubado, dependiendo fundamentalmente de la temperatura, cuando más elevada sea (hasta 32°C que es la temperatura crítica) más color tendrá el vino. En condiciones normales solo se extrae de la uva el 30 y 40% de la materia colorante de la uva.

Fuente: Aleixandre & Aleixandre (2011); Boulton *et al.* (2002).

1.6 Composición química del vino

Al productor de vinos le afecta la composición de las uvas en el momento de la vendimia y las variaciones que se produzcan cerca de esas fechas porque influyen en la composición del vino, y por ende, en la calidad final del vino (Boulton *et al.*, 2002). En la *Tabla 6* se muestra la composición química del vino.

Tabla 6. Composición química del vino (100g de porción comestible)

Componente	Concentración
Agua	88-9 g
Proteína	0.2 g
Carbohidratos	0.3g
Ácidos orgánicos	0.3g
Etanol	10.0g
Sales minerales	0.3g

Fuente: Senser & Scherz (1991).

Se siguen encontrando nuevos componentes de las uvas, que se añaden a los varios centenares que ya se conocen. Es importante recalcar que existen diferencias entre variedades y origen, por lo tanto no es correcto detallar todos los componentes conocidos de cada uva o vino (Boulton *et al.*, 2002).

1.6.1 Compuestos fenólicos del vino

Los constituyentes fenólicos revisten una gran importancia en enología debido a su función directa o indirecta sobre la calidad de los vinos. Desde el punto de vista químico, los compuestos fenólicos son caracterizados por un núcleo bencénico que lleva uno o varios grupos hidroxilos. La reactividad de este tipo de molécula es debida tanto a la presencia del grupo funcional hidroxilo que por la movilidad de su átomo de hidrógeno, presenta un carácter ácido, puede sufrir sustituciones electrofílicas (Flanzy, 2003). Su estructura varía mucho cuando el vino envejece en bodega o en el tanque y en la botella de acuerdo con las condiciones (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006b). Algunos de ellos se oxidan con mucha facilidad y participan en reacciones posteriores de la fermentación (Boulton *et al.*, 2002).

De acuerdo a diferentes investigaciones, a los compuestos fenólicos se les atribuyen propiedades saludables responsables de la “*paradoja francesa*”, los cuales también fungen como bactericidas, antioxidantes que aparentemente protegen a los consumidores de enfermedades cardiovasculares (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006a).

El contenido de compuestos fenólicos en el vino depende tanto de la variedad vinífera y el rendimiento de la cosecha como de las condiciones edafoclimáticas y técnicas culturales aplicadas al viñedo (Valls *et al.*, 2000). Los compuestos fenólicos de la uva pueden dividirse en dos grandes grupos: los flavonoides y los no flavonoides, estos últimos incluyen a los ácidos fenólicos y los estilbenos (Girard, 2004). Entre ellos son especialmente relevantes en la calidad de los vinos tintos de crianza los compuestos flavonoides, básicamente los flavanoles y las antocianidinas (Valls *et al.*, 2000). Estos compuestos son los responsables de todas las diferencias entre vinos blancos y tintos, especialmente en el color y aroma de los vinos tintos (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006a). Además constituyen una reserva para la reducción del oxígeno ya que ellos se oxidan (Bordeu & Scarpa, 1998). En la *Tabla 7* se muestra la concentración teórica de los compuestos fenólicos en el vino tinto.

Tabla 7. Composición fenólica en el vino tinto

Polifenol	Vino tinto (mg/L)
Ácidos Benzoicos	50-100
Ácidos Cinámicos	50-200
Flavonoles	15
Antocianos	20 – 500
Flavonoles monómero	150 – 200
Procianidoles	1500- 5000

Fuente: Flanzky (2003).

La uva contiene esencialmente compuestos no flavonoides en la pulpa y flavonoides en los hollejos, semillas y raspones como se muestra en la *Tabla 8*. De esta manera, la transformación tecnológica adoptada condiciona la extracción de los polifenoles a partir de las diferentes partes del racimo y de las reacciones posteriores de estas moléculas, contribuyendo así de manera esencial a la composición polifenólica de los vinos (Flanzky, 2003).

Tabla 8. Localización de los compuestos fenólicos en la uva

	Localización en la baya				Principales propiedades
	Piel	Pulpa	Semillas	Raspón	
Ácidos fenoles	Si	Si	Si	Si	Poca influencia directa en el bouquet
Flavonoles	Si	No	No	No	Color amarillo
Antocianos	Si	No	No	No	Color rojo
Taninos condensados	Si	No	Si	Si	Sabor amargo, astringencia, cuerpo, estructura, capacidad para la crianza

Fuente: Zamora (2003).

1.6.1.2 Compuestos No Flavonoides

Esta denominación abarca a los ácidos fenoles, 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 (Flanzky, 2003).

- **Ácidos Fenólicos**

En la uva, los ácidos fenoles se encuentran en las vacuolas de las células del hollejo y de la pulpa (Flanzky, 2003). Son incoloros en una solución de alcohol diluido, pero pueden llegar a ser de color amarillo debido a la oxidación presente durante su elaboración y crianza del vino. En la uva y el

vino contienen ácidos benzoicos y ácidos cinámicos, las concentraciones son del orden de 100 – 200 mg/L en el vino tinto y 10 – 20 mg/L en el vino blanco

Los dos subgrupos mayores de ácidos fenólicos son los hidroxicinámicos y los hidroxibenzoicos. Los hidroxicinámicos más importantes de la uva, son derivados de los ácidos cafeico, *p*-cumárico y ferúlico. La hidrólisis tras la cosecha, especialmente por la pectinesterasa, libera al menos parte de los hidroxicinámicos de las uvas de su unión con el tartárico (Boulton *et al.*, 2002).

Siete ácidos benzoicos (C₆-C₁) han sido identificados los cuales se diferencian en las sustituciones que presentan en el anillo de benceno (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006a). De los ácidos hidroxibenzoicos el más importante es el ácido gálico, que está normalmente en pequeñas cantidades en el mosto recién obtenido y aumenta con el contacto con las lías (Boulton *et al.*, 2002). Mientras que se han identificados pequeñas cantidades de ácidos cinámicos en la uva y en los vinos en forma libre siendo la forma esterificada en particular con ácido tartárico la de mayor presencia en los vinos (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006a). En la *Figura 16* se muestra la estructura orgánica de los ácidos fenólicos en el vino.

Las cumarinas se pueden considerar derivados de los ácidos cinámicos, formados por la esterificación intramolecular de un OH del fenol en el carbono alpha de la cadena. Estas moléculas son componentes de roble, ya sea en forma glucosada de la madera o en forma aglicona naturalmente (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006a).

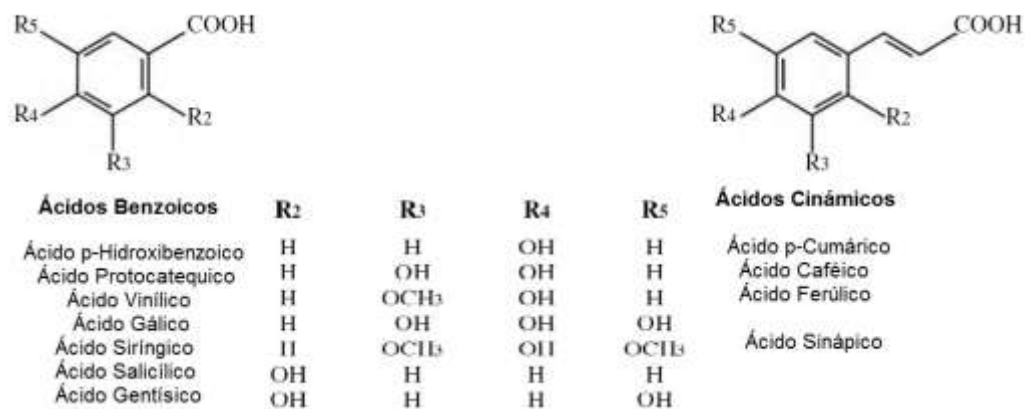


Figura 16. Estructura orgánica de los ácidos fenólicos en el vino

Fuente: Ribéreau-Gayon *et al.* (2006a).

- **Estilbenos**

En la *Vitis vinifera* y *Vitis lambrusca*, el estilbeno más importante es el resveratrol que se observa con mayor presencia en el hollejo mientras que no se encuentra en las semillas. El contenido de

este compuesto juega un cierto papel en la resistencia de ciertas bayas de uva a los ataques fúngicos (Flanzy, 2003). En la *Figura 17* se muestra la estructura del resveratrol.

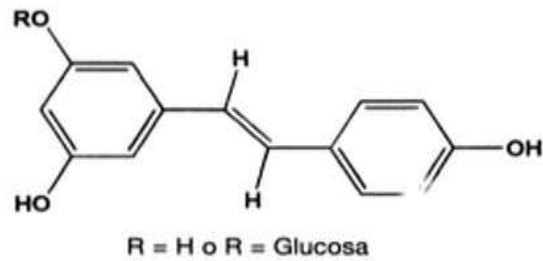


Figura 17. Estructura orgánica del resveratrol
Fuente: Flanzy (2003).

- **Compuestos Flavonoides**

Los compuestos flavonoides constituyen una gran parte de los fenoles totales (85% aproximadamente) en las uvas que habitualmente poseen semillas (Boulton *et al.*, 2002). Los flavonoides están caracterizados por un esqueleto de base de 15 átomos de carbono (C6-C3-C6) de tipo 2-fenil benzopirona, entre los que se encuentran los antocianos, flavonoles, flavanonoles y flavonas (Flanzy, 2003). En la *Figura 18* se muestra la estructura base de los flavonoides

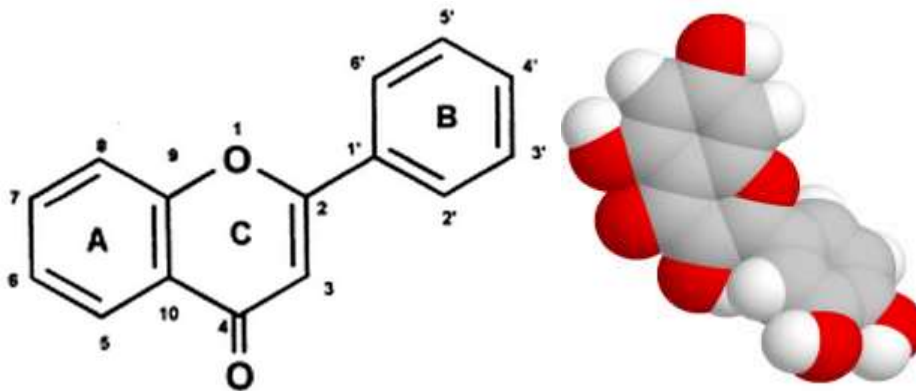


Figura 18. Estructura orgánica y en tercera dimensión del flavonoide básico
Fuente: Flanzy (2003); Martínez (2006).

Al comienzo de la maduración los flavonoides están concentrados en las semillas y enseguida llegan a valores muy altos, y generalmente no cambian mucho en la cantidad total después del invierno (Boulton *et al.*, 2002).

- **Antocianos**

Los antocianos (del griego “*anthos*” flor y “*kyanos*” azul) representan una parte importante tanto a nivel cualitativo como cuantitativo de los flavonoides de la baya de uva tinta. Localizados en el

hollejo y en las 3 ó 4 primeras capas celulares del hipodermo y a nivel subcelular, su presencia está en la vacuola, donde pueden estar incluidas en los organelos especializados definidos como antocianoplastos (Flanzy, 2003).

En la uva tinta se encuentran cinco tipos de antocianos los cuales son, a la vez, sales flavilio y glucósidos porque están unidos por enlace glucosídico a una molécula de azúcar, se llaman también antocianinas y sus derivados privados del azúcar se denominan antocianidinas (Usseglio, 1998). Las diferencias entre los antocianos individuales se encuentran en el número de grupos hidroxilo presentes en la molécula y el grado de metilación de estos grupos hidroxilo (que son los factores que caracterizan a las diferentes antocianidinas), y el número de azúcares ligados a la molécula y de su posición de unión (Valls *et al.*, 2000). Las antocianidinas más comunes en la naturaleza son la cianidina, peonidina, delphinidina, petunidina y malvidina (Boulton *et al.*, 2002). En la *Figura 19* se muestra la estructura orgánica de las antocianidinas en el vino.

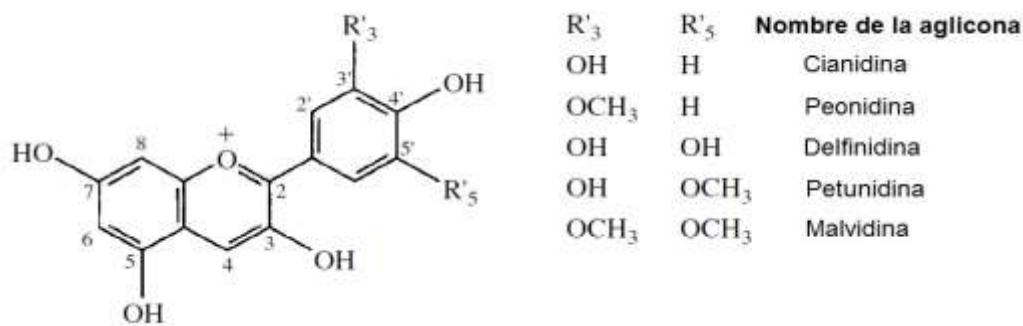


Figura 19. Estructura orgánica de las antocianidinas en el vino

Fuente: Ribéreau-Gayon *et al.* (2006a).

La malvidin-3-glucósido, al menos en muchas de las variedades tintas con más color, es la antocianina más abundante, representando normalmente el 40% o más y aparentemente constituye la mayoría de todos los pigmentos rojos (Boulton *et al.*, 2002).

Las variedades de uva tinta en general, se distinguen una de otra, o al menos se dividen en grupos, por sus proporciones específicas de diferentes antocianinas (Boulton *et al.*, 2002); por ejemplo en especies de *Vitis vinifera* se encuentran sólo como glucósidos y como diglucósidos para *Vitis vinifera* o híbridos entre *Vitis vinifera* y otras especies (Bordeu & Scarpa, 1998).

- **Taninos**

Son una serie de sustancias fenólicas que pueden contener los vinos clasificándose según su procedencia en dos grandes grupos: taninos *condensados*, los procedentes de la uva, y los taninos

hidrolizables procedentes de la madera de roble, en el caso de que el vino permaneciese en contacto con este material (Hidalgo, 2003). En este grupo se encuentran las catequinas, que es aquel compuesto que presenta dos centros de asimetría, y pueden dar lugar a cuatro formas isoméricas: se tiene la serie de las catequinas y de las epicatequinas. En los vinos jóvenes los taninos presentan pesos moleculares medios en torno a 500 – 700 Da mientras en los vinos viejos se tienen condensaciones con pesos moleculares medios en torno a 2000 – 3000 Da (Usseglio, 1998).

Los taninos son particularmente caracterizados por su capacidad para combinarse con las proteínas y polisacáridos, lo cual explica también su perfil astringente causado por las precipitaciones de las proteínas y de las glucoproteínas de la saliva. También son denominados procianidinas porque al ser calentados en presencia de ácidos minerales se transforman en cianidinas y catequinas o epicatequinas (Figura 20). La deshidrogenación puede implicar a más de dos moléculas con formación de deshidrocatequinas trímeras y oligómeras: es lo que ocurre en el curso del envejecimiento de los vinos tintos (Usseglio, 1998).

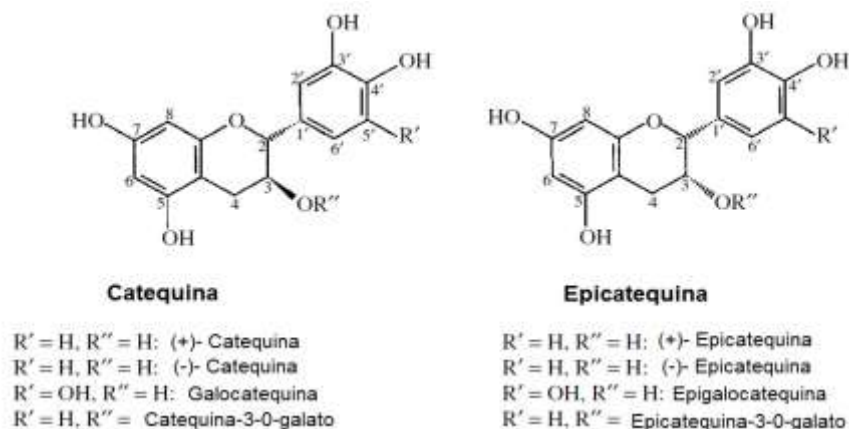


Figura 20. Estructuras orgánicas de los flavan-3-ol precursores de taninos

Fuente: Ribéreau-Gayon *et al.* (2006a).

A lo largo del envejecimiento del vino en la bodega se lleva a cabo la polimerización de los taninos, disminuyendo su efecto de astringencia, estos productos se forman lentamente en función del pH y de la temperatura. Esta polimerización se produce gracias a muchos fenómenos complejos y se debe principalmente a la presencia del etanal. El etanal procede de la oxidación moderada del etanol, el oxígeno favorece por tanto la polimerización de estos (Girard, 2004).

1.7 El vino y la salud

El historiador de la medicina Salvatore P. Lucia, de la Escuela de Medicina de la Universidad de California en San Francisco en su *A History of Wine as Therapy* afirma que el vino es “el más antiguo de los medicamentos” (Rodríguez, 1998). En la antigüedad el vino tenía un prestigio casi sobrenatural y era considerado además de bebida como medicamento por sus virtudes de sedante, tranquilizante, anestésico, vasodilatador, diurético, analgésico, acrecienta la absorción intestinal de lípidos, disuelve cálculos, activo para los huesos, etc. En todas las épocas y en todos los pueblos, el vino ha desempeñado un importante papel como medio curativo y como producto estimulante. En medicina reviste gran importancia como producto que eleva el ánimo y da sensación de bienestar. Obviamente el abuso del consumo de vino es nocivo (Aleixandre & Aleixandre, 2011). En la *Tabla 9* se describe el efecto de diferentes componentes del vino sobre el funcionamiento del organismo humano son:

Tabla 9. Efecto del vino en el organismo humano

Compuesto	Efecto sobre la salud
Alcohol	<p>Posee efectos en diferentes sistemas del organismo humano:</p> <ul style="list-style-type: none"> ❖ Sistema digestivo : Activa la secreción salivar, gástrica y pancreática, por tal razón el vino es considerado un aperitivo en la gastronomía ❖ Sistema circulatorio: Promueve la vasodilatación superficial ❖ Sistema nervioso: Estimula el cerebro, su acción principal se ejerce sobre los centros inhibidores
Ácidos y sales minerales	<p>Sus efectos en el organismo son:</p> <ul style="list-style-type: none"> ❖ Diurética: Las sales de potasio son las responsables de este efecto (el vino tiene una concentración de 0.5 a 1g/L de potasio) ❖ Efecto en el jugo gástrico: Con el pH del vino contribuye a facilitar la acción de la pepsina del jugo gástrico
Vitaminas	<p>El vino contiene las siguientes vitaminas hidrosolubles:</p> <ul style="list-style-type: none"> ❖ Vitamina C: Brinda un efecto antioxidante ❖ Vitamina B1: Interviene en la transmisión de impulsos nerviosos ❖ Vitamina B2: Es cofactor de diversas enzimas ❖ Vitamina B6: Participa en reacciones metabólicas ❖ Vitamina B12: Factor anti-anémico ❖ Vitamina H: Su carencia produce alteraciones cutáneas
Compuestos fenólicos	<p>El vino nos permite absorber cantidades importantes de polifenoles de forma directa, a los cuales se les atribuye las propiedades protectoras de vasos sanguíneos, antioxidantes, anticancerígenas y antiinflamatorias.</p>

Fuente: Aleixandre & Aleixandre (2011).

1.7.1. Compuestos fenólicos

Los primeros trabajos modernos sobre el efecto beneficioso del vino en la prevención de las enfermedades cardiovasculares fueron publicados en 1957. Las propiedades reductoras que se le atribuyen a los compuestos fenólicos le permiten actuar como antioxidantes energéticos, incluso a dosis bajas. En el organismo, el contenido y la actividad de los antioxidantes en los tejidos, están entre los factores endógenos más importantes en la regulación del metabolismo y vitalidad de las células, especialmente en los que se refiere a degeneración maligna de las células, lo que ha conducido a utilizar ciertos productos fenólicos como antitumorales (Aleixandre & Aleixandre, 2011).

La oxidación o estrés oxidativo comienza en el metabolismo de los seres vivos cuando el equilibrio se rompe debido al exceso de contaminación a la que está expuesto el sujeto y la eficiencia de los sistemas amortiguadores antioxidantes no es suficiente. En forma general, un radical libre es un átomo o molécula que tiene uno o más electrones desapareados en sus orbitales externos y es capaz de tener una existencia independiente sin embargo es muy reactivo ya que tiende a reducirse, es decir, sustrae un electrón de átomos o moléculas estables, a las cuales oxida, con el fin de alcanzar su propia estabilidad. Los radicales libres de importancia biológica pueden clasificarse como (Quintanar & Calderón, 2009):

- ❖ Especies reactivas de oxígeno (ERO)
- ❖ Metales de transición
- ❖ Radicales libres de nitrógeno (NO*)

La actividad antioxidante de los polifenoles depende del número y la localización de los grupos hidroxilo que contiene en su estructura. Su estructura química es propicia para secuestrar radicales libres, debido a la facilidad con la que el átomo de hidrógeno desde el grupo hidroxilo aromático puede ser donado a la especie radical y a la estabilidad de la estructura quinona resultante que soporta un electrón desapareado, como se puede observar en la *Figura 21* (Fernández-Pachón. 2006).



Figura 21. Reacción de óxido-reducción entre el radical libre y el compuesto fenólico

Fuente: Fernández-Pachón (2006).

1.8 Defectos del vino y daños a la salud por su consumo.

Todos los remedios que son potencialmente buenos para la salud pueden ser desaconsejables si se abusa de ellos, un ejemplo son los alcoholes producto de la fermentación como el alcohol metílico, que está en cantidades muy pequeñas y procede de las materias pecticas y es muy tóxico (Aleixandre & Aleixandre, 2011). A continuación en la *Tabla 10* se expone efectos de toxicidad por el consumo de vino.

Tabla 10: Toxicidad del vino

Compuesto	Toxicidad
Aminas biógenas	Las bacterias lácticas involucradas en la fermentación maloláctica son capaces de descarboxilar aminoácidos libres, originando la formación de aminas biógenas (AB), compuestos básicos orgánicos heterocíclicos bajo peso molecular y biológicamente activas. Las AB son indeseables en todos los alimentos y bebidas, porque si se ingiere una concentración demasiado alta, pueden inducir dolores de cabeza, dificultad respiratoria, palpitaciones cardíacas, hiper o hipotensión y desórdenes alérgicos. Las AB encontradas comúnmente en vinos son histamina, tiramina, cadaverina, putrescina y feniletilamina.
Alcohol	El inicio de la oxidación del alcohol en el organismo tiene lugar en el hígado y se lleva a cabo por una enzima, la alcohol deshidrogenasa (NAD). El segundo paso es la degradación del acetaldehído a ácido acético, siendo éste catalizado por la acetaldehído deshidrogenasa (AHD), reacción virtualmente irreversible. Ahora bien si las dos fases metabólicas necesitan la misma NAD, y existe un consumo excesivo de alcohol todo el NAD hepático se utiliza para degradar el etanol a acetaldehído, quedando productos de la degradación en forma de ácidos grasos, colesterol y lípidos, lo que contribuye un primer paso para la cirrosis .
Ocratoxina A	La ocratoxina A (OTA) es una micotoxina producida por hongos filamentosos superiores de los géneros <i>Aspergillus</i> y <i>Penicillium</i> . Esta micotoxina se absorbe casi por completo en el tracto gastrointestinal y alcanza rápidamente la circulación general. Aunque la ingesta de OTA a través del consumo de alimentos contaminados no es elevada, en 1991 la JECFA (Comisión mixta FAO/WHO de expertos sobre aditivos alimentarios) estableció una ingesta diaria admisible de 16 ng/kg, que corresponde a un consumo semanal admisible de 112 ng/kg. La Agencia Internacional de Investigación contra el cáncer (IARC) la clasifica como posible carcinógeno humano clase 2B. Su actividad genotóxica estaría más relacionada con procesos de citotoxicidad y peroxidación lipídica, los cuales podrían dar lugar a moléculas reactivas con los ácidos nucleicos.

Fuente: Izquierdo *et al.* (2008); Lonvaud (2001); Aleixandre & Aleixandre (2011); Arbillaga *et al.* (2004).

1.9 Métodos analíticos para la identificación y separación de analitos

La química analítica se ocupa de los métodos de estudio y determinación de la composición química de la materia. En esta rama de la química existen dos variedades de métodos, el cualitativo que informa sobre la identidad de las especies atómicas o moleculares de la muestra, o

de los grupos funcionales que existen en ella; por otra parte, los métodos cuantitativos que aportan información numérica de la cantidad relativa que hay de uno o varios de estos componentes (Skoog *et al.*, 2001).

Estos métodos analíticos se suelen clasificar en “clásicos” e “instrumentales”, siendo los métodos instrumentales los ocupados para el análisis cuantitativo de la materia donde para medir los analitos inorgánicos, orgánicos y bioquímicos se empezaron a utilizar las medidas de sus propiedades físicas tales como la conductividad, el potencial de electrodo, la absorción o emisión de luz, la relación masa/carga y la fluorescencia. Existe un grupo de procedimientos instrumentales que se utilizan para separar compuestos en mezclas, siendo estos los métodos cromatográficos y de electroforesis (Skoog *et al.*, 2001).

La cromatografía agrupa un conjunto importante y diverso de métodos, que permite a los científicos separar componentes estrechamente relacionados en mezclas complejas, lo que resulta imposible realizar por otros medios (Skoog *et al.*, 2001). En cromatografía la fase móvil utilizada comúnmente es un líquido o un gas, mientras que la fase estacionaria es un líquido que recubre la superficie de partículas sólidas. En cualquier caso, la distribución diferencial de los solutos entre la fase móvil y estacionaria es la causa de la separación de los analitos (Harris, 1992)

En la *Tabla 11* se muestra la relación de las tres clases generales de cromatografía: líquidos, de gases y de fluidos supercríticos.

Tabla 11. Clasificación de los métodos cromatográficos.

Clasificación	Método	Fase estacionaria	Tipo de equilibrio
Cromatografía de líquidos	Líquido-Líquido	Líquido adsorbido sobre un sólido	Distribución entre líquidos inmiscibles
	Líquido-fase unida químicamente	Especies orgánicas enlazadas a una superficie sólida	Distribución entre el líquido y la superficie enlazada
	Líquido-sólido	Sólido	Adsorción
	Intercambio iónico	Resina de intercambio iónico	Intercambio iónico
	Exclusión por tamaño	Líquido en los intersticios de un sólido polimérico	Distribución/exclusión
Cromatografía de gases	Gas-líquido	Líquido adsorbido sobre un sólido	Distribución entre un gas y un líquido
	Gas-fase unida químicamente	Especies orgánicas enlazadas a una superficie sólida	Distribución entre el líquido y superficie enlazada
Cromatografía de fluidos supercríticos		Especies orgánicas enlazadas a una superficie sólida	Distribución entre el fluido supercrítico y la superficie enlazada.

Fuente: Skoog *et al.* (2001).

La cromatografía debe su crecimiento durante las pasadas cuatro décadas en parte a su rapidez, sencillez, relativamente bajo coste, y a su gran aplicabilidad como herramienta de separación (Skoog *et al.*, 2001).

1.9.1 Cromatografía de líquidos de alta eficacia

La cromatografía de líquidos de alta eficacia (HPLC) es en la actualidad la herramienta más versátil en química analítica. La separación es generalmente mediada por dos fases, una sólida por parte de la columna y una móvil que se filtra a través de esta columna. Las sustancias se separan debido a las diferencias en distribución de los analitos hacia las dos fases. Hoy en día diferentes tipos de fases estacionarias están disponibles para una amplia gama de problemas analíticos, incluyendo fase reversa y de intercambio iónico (Freitag, 2002). La razones de la popularidad de esta técnica son debido a su sensibilidad, fácil adaptación a las determinaciones cuantitativas exactas y la idoneidad que presentan para la separación de especies no volátiles o termolábiles y, sobre todo, su gran aplicabilidad a sustancias que son de primordial interés en la industria (Skoog *et al.*, 2001). Los cuatro tipos básicos de cromatografía en los que la fase móvil es un líquido son (Skoog *et al.*, 2001):

- ❖ Cromatografía de reparto
- ❖ Cromatografía de adsorción
- ❖ Cromatografía iónica
- ❖ Cromatografía de exclusión por tamaño

Para todos los tipos de cromatografía se puede emplear el modo de alta eficacia por lo que se dispone de fases estacionarias para todo mecanismo de separación común (Harris, 1992). En el presente trabajo se ocupó una elución en fase reversa donde el mecanismo predominante es el de reparto, utilizando una fase estacionaria de octadecilsilano que presenta un comportamiento no polar y una fase móvil polar compuesta de ácido acético al 0.4%. El tiempo de retención de cada analito será consecuencia de la interacción que presente éste debido a su estructura con la fase estacionaria, siendo los compuestos polares los de más rápida elución.

Con objetivo de lograr la eficiencia de trabajo del HPLC, el equipo necesario tiende a ser más sofisticado que otros tipos de cromatografía. A continuación en la *Figura 22* muestra un esquema de los componentes fundamentales de un cromatógrafo de alta eficacia, que son descritos en la *Tabla 12*.

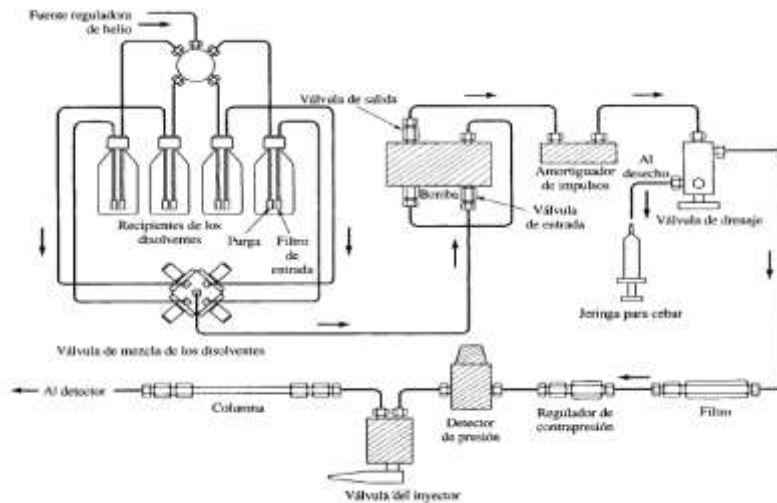


Figura 22. Esquema de un equipo de HPLC.

Fuente: Skoog *et al.* (2001).

En la *Tabla 12* se describen las características que debe poseer cada componente del equipo

Tabla 12. Componentes de un equipo de HPLC

Componente	Características
Recipiente para fase móvil	Debe poseer un desgasificador para eliminar gases disueltos en la fase. Con frecuencia contienen un dispositivo para la filtración del polvo y de partículas sólidas que dañen la bomba. Deben estar equipados con una cámara de mezcla para crear gradientes de elución
Sistema de bombeo	Debe de ser capaz de generar presiones por encima de 6,000 psi, un flujo libre de pulsaciones, un intervalo de caudales de 0.1 a 10 mL/min, el control y la reproducibilidad del caudal mejor del 0.5 por 100 relativo y debe estar armado con piezas resistentes a la corrosión.
Sistemas de inyección de muestra	En cromatografía de líquidos el método más ampliamente utilizado para la introducción de la muestra se utiliza por medio de bucles. Estos dispositivos son normalmente una parte integrada del equipo y permiten la elección de tamaños de muestra desde 5 a 500 μ L.
Columnas	La mayoría de las columnas tienen una longitud entre 10 y 30 cm. Son rectas y se pueden alargar si es necesario. El diámetro interno de las columnas es de 4 a 10 mm y los tamaños de partícula de los rellenos son de 5 a 10 μ m.
Detectores	Los detectores en cromatografía de líquidos son de dos tipos básicos. Los detectores que se basan en la medida de una propiedad de la disolución y los detectores basados en una propiedad del soluto.

Fuente: Skoog *et al.* (2001); Harris (1992).

“Con pan y vino se anda el camino.”

Proverbio popular.

2. Objetivos

Objetivo General: Determinar el efecto de diferentes tiempos de crianza sobre los parámetros de calidad, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de los vinos tintos de las variedades Syrah (0, 12, 15 meses) y Tempranillo (0, 8, 13 meses) de la región de Valle de Guadalupe, Baja California, producidos por la casa vitivinícola Santo Tomás, que contribuya a incrementar el conocimiento e información científica sobre las propiedades de estos productos.

Objetivo particular 1: Evaluar el efecto del tiempo de crianza en barrica de roble en la calidad del vino tinto de la casa vitivinícola de Santo Tomás de las variedades Syrah (0, 12, 15 meses) y Tempranillo (0, 8, 13 meses) evaluando las propiedades sensoriales mediante el uso de un panel de catadores semientrenados, así como del análisis de sus parámetros físicos, químicos y fisicoquímicos.

Objetivo particular 2: Identificar los principales compuestos fenólicos como marcadores del envejecimiento de los vinos tintos mexicanos por cromatografía líquida de alta resolución.

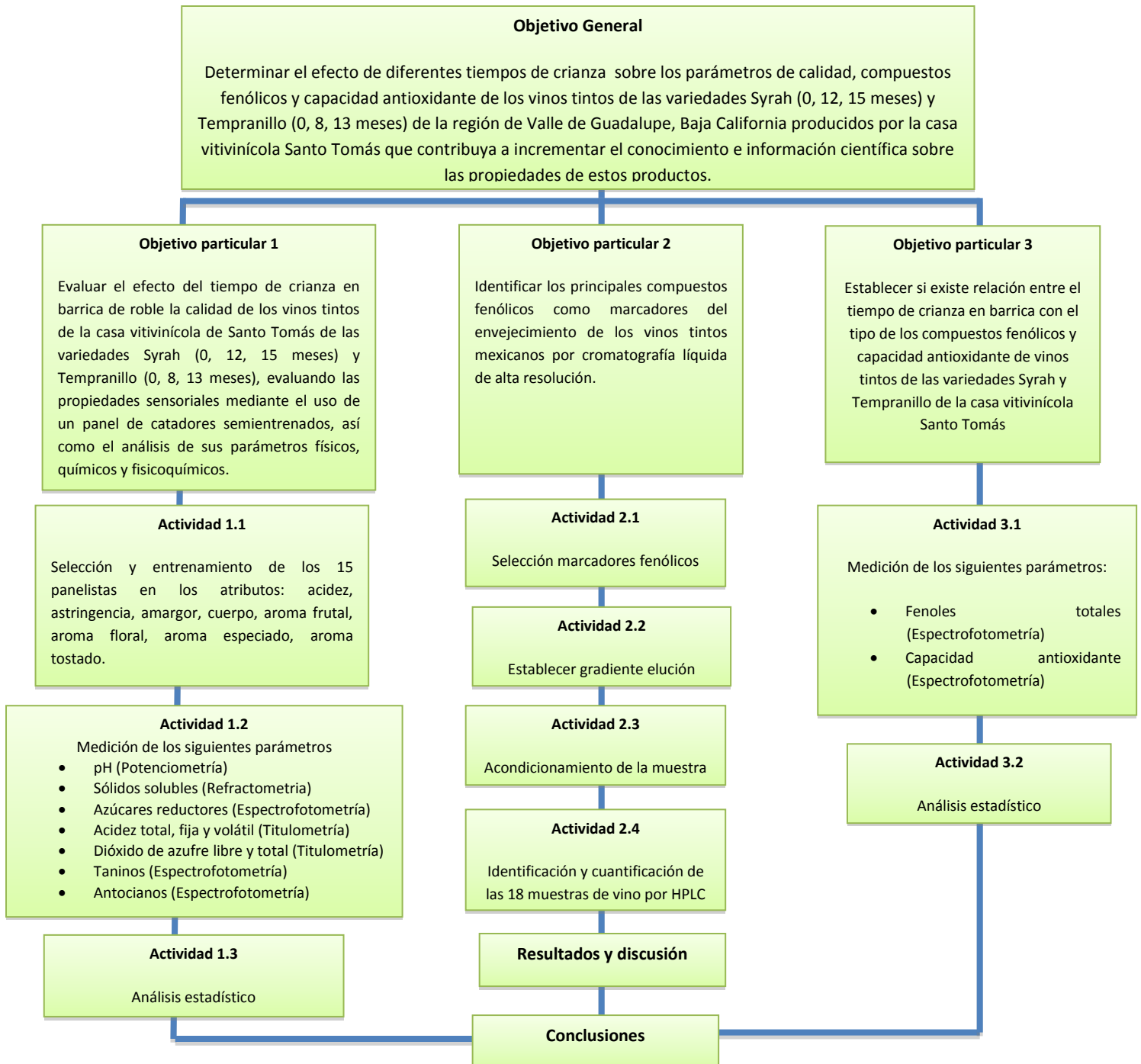
Objetivo particular 3: Establecer si existe relación entre el tiempo de crianza en barrica con el tipo de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de vinos tintos de las variedades Syrah y Tempranillo de la casa vitivinícola Santo Tomás.

“Cuando el vino entra, el secreto sale.”

Proverbio popular.

3. Materiales y Métodos

3.1 Cuadro Metodológico



3.2 Material de estudio

El material de estudio estuvo compuesto por 18 vinos tintos mexicanos monovarietales de variedad de uva Syrah y Tempranillo como muestras de estudio con diferentes tiempos de crianza y año de cosecha, procedentes de la región de Baja California producidos por la casa vitivinícola de Santo Tomás.

Las botellas con vino fueron almacenadas a temperatura ambiente antes de ser descorchadas, posterior de su apertura las botellas se sellaron con sus respectivos corchos, cinta *parafilm* y una atmósfera de nitrógeno para así evitar la posible filtración de oxígeno al vino y se conservaron en refrigeración a una temperatura de 12°C. Para cada botella se realizaron las técnicas analíticas propuestas en la metodología en un lapso de tiempo máximo de tres días después de abrirlas.

Para la identificación de las 18 muestras de estudio durante la experimentación y análisis de resultados se le asignó un código a cada vino compuesto por 6 caracteres, los primeros dos provenientes de la variedad de uva, los siguientes dos por el año de cosecha y los últimos dos por el tiempo en meses de crianza que se sometió cada vino. En la *Tabla 13* se muestra la identificación de las muestras.

Tabla 13. Códigos para la identificación de las muestras

Variedad de uva	Año de cosecha	Meses de crianza	Código
Syrah	2008	0	Sy-08-0
Syrah	2009	12	Sy-09-12
Syrah	2005	15	Sy-05-15
Tempranillo	2008	0	Tm-08-0
Tempranillo	2010	8	Tm-10-8
Tempranillo	2005	13	Tm-05-13

3.3 Evaluación de los parámetros físicos, químicos y fisicoquímicos en vinos variedad Syrah y Tempranillo

Los vinos fueron evaluados por triplicado para determinar los parámetros físicos (intensidad colorante y tonalidad), químicos (azúcares reductores, antocianos, taninos, capacidad antioxidante y fenoles totales) y fisicoquímicos (pH, sólidos solubles, acidez total, acidez fija, acidez volátil,

dióxido de azufre libre y dióxido de azufre total) de acuerdo a las técnicas descritas en el apartado 3.6.

3.4. Evaluación de los parámetros sensoriales en vinos tintos de variedad Syrah y Tempranillo.

Los vinos fueron evaluados sensorialmente a partir de un análisis descriptivo cuantitativo (QDA, por sus siglas en inglés) con 15 panelistas semientrenados, quienes evaluaron los siguientes atributos: la acidez, astringencia, amargor, cuerpo, aroma frutal, aroma floral, aroma especiado, aroma tostado y armonía del vino.

3.4.1 Reclutamiento de jueces

El panel de jueces para realizar el análisis descriptivo cuantitativo (QDA) de las muestras se conformó por 15 personas seleccionadas a partir de un grupo inicial de 50 individuos, quienes fueron reclutados a través de publicaciones en un área geográfica delimitada (Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Cuautitlán Izcalli, Estado de México).

A los 50 individuos interesados inicialmente se les entrevistó y se les aplicó un cuestionario que se muestra en la *Figura 23*. El estado fisiológico del catador influye considerablemente en el nivel de percepción de los estímulos sensoriales, por tal motivo el cuestionario que se les aplicó fue para descartar a la población que tuviera alguna limitante física para percibir olores y colores, también con el motivo de conocer si tenían hábitos que pudieran desviar su juicio en el momento de contestar las pruebas sensoriales, como fumar frecuentemente o tomar durante el día varias tazas de café.

3.4.2 Selección de jueces

La población inicial después del reclutamiento consistió de 30 personas con las que se trabajó en una sesión de introducción donde se les capacitó en los temas de: “Los 5 sentidos”, “La historia del vino” y “El rol del catador en la calidad del vino”. Al término de la presentación se les sometió a una prueba de sabores básicos para conocer sus facultades gustativas con un examen de umbral gustativo. En la *Tabla 14* se expresan las concentraciones ocupadas para esta prueba.

Nombre:	Edad:	Sexo:		
Lugar de residencia:	Correo electrónico:			
Instrucciones: Lea las siguientes preguntas y elija solamente una respuesta.				
1.- ¿Cuál es su ocupación?				
a) Estudiar	b) Trabajar	C) Estudiar y Trabajar		
2.- ¿Qué días tienes tiempo libre?				
a) Lunes	b) Martes	c) Miércoles	d) Jueves	e) Viernes
3.- ¿Cuál es el horario de su tiempo libre?				
a) 8-10am	b) 10-12 am	c) 12-2pm	d) 2-4pm	
4.- Tiene usted el hábito de fumar				
a) No fumo	b) Si fumo			
5.- Si fumas, ¿Cuántos cigarros fuma al día?				
a) 1 cigarro	b) 3 cigarros	c) una cajetilla completa		
6.- ¿Cuántas tazas de café toma al día?				
a) No tomo café	b) 1 taza	c) 2 tazas		
d) Más de 2 tazas al día				
7.- ¿Con qué frecuencia consume cualquier tipo de alimento picante?				
a) No consumo picante	b) Diario	c) Cada tercer día		
8.- ¿Con qué frecuencia consume alcohol?				
a) No tomo alcohol	b) Diario	c) Cada tercer día	d) Solo los fines de semana	
9.- Padece alguna de las siguientes enfermedades:				
a) Anosmia	b) Diabetes	c) Alguna enfermedad bucal	d) Daltonismo	
10.- Le gustaría formar parte de un panel de jueces sensoriales de vino tinto				
a) Si	b) No			

Figura 23. Cuestionario para el reclutamiento de candidatos

Tabla 14. Concentraciones de reactivos para la prueba de umbral gustativo

Sabor	Reactivo	Concentración (g/L)
Salado	Sal de mesa	1
Dulce	Sacarosa	5
Ácido	Ácido cítrico	0.25
Amargo	Cafeína cristalizada	2

Fuente: Ratti (2000).

Con esta prueba se descartaron a los panelistas que no identificaron los diferentes sabores evaluados, quedando únicamente 19 panelistas, quienes mostraron las mejores cualidades sensoriales con los que se trabajó en su entrenamiento para llevar a cabo el QDA de los 18 vinos tintos.

3.4.3 Entrenamiento de jueces y análisis secuencial

Es importante hacer énfasis que el panel de catadores estuvo constituido por personas con aptitudes homogéneas de percepción, experiencia, capacidad de descripción, que sólo surgen por haber hecho juntos una serie de pruebas. El objetivo de formar un panel de catadores semientrenados es lograr estadísticamente alejar la subjetividad en la respuesta, donde la objetividad nace de un juicio dado por un número significativo de catadores experimentados que se portan de una manera codificada en la degustación y en la atribución de una puntuación que esté matemáticamente definida (Ratti, 2000). Por tal motivo el entrenamiento y análisis secuencial se basó en 8 sesiones donde a los 19 panelistas se les sometió a un total de 20 pruebas discriminativas con el objetivo de reforzar su percepción en las cualidades sensoriales que produce el vino tinto.

- **Pruebas discriminativas**

Los sentidos implicados en la cata pueden afinarse hasta lograr un alto nivel de perfección, sin embargo este resultado sólo se alcanza con un ejercicio continuado, práctica constante y rigurosa. Se ocuparon únicamente dos tipos de pruebas discriminativas (Reyes *et al.*, 2000):

1. Prueba Triángulo: La prueba triángulo consiste en proporcionar al juez tres muestras, dos de ellas iguales. Se le pide seleccionar la muestra impar. Se ha detectado que hay cierta

predisposición de preferencia hacia una muestra en pruebas que se realizan con dos muestras del mismo vino y una tercera de otro.

2. Prueba Dúo-Trío: Esta prueba es una modificación a la de prueba de paridad, donde la muestra de referencia se identifica presentándose en primer lugar, seguida por dos muestras codificadas, una de ellas idéntica a la muestra de referencia o patrón.

Las concentraciones empleadas en las pruebas discriminativas fueron las propuestas por Reyes (2000) que se muestran en la *Tabla 15*, como en el caso de México no existe una tradición enológica muy arraigada en la población. La práctica se realizó primeramente con jugo de uva y después con vino tinto como base para las pruebas discriminativas para acostumbrar al paladar de los panelistas al vino tinto.

Tabla 15. Concentraciones empleadas para las pruebas discriminativas

Parámetro	Reactivo	Concentración
Dulzor	Sacarosa	20 g/L
Acidez	Ácido tartárico	1 g/L
Amargor	Cafeína cristalizada	2 mg /L
Astringencia	Ácido tánico	1 g/L
Cuerpo	Glicerol	20 mL /L
Aroma frutal	B-damascenona	3 mL/L
Aroma floral	Linalol	2 mL/L
Aroma especiado	Rotundona	3 mL/L
Aroma tostado	Guaiacol	2.5 mL/L

Fuente: Reyes (2000).

3.4.4 Técnica de cata

El vino a diferencia de otras bebidas o alimentos necesita un protocolo para su cata, por esta razón, previo a las sesiones de QDA los 19 panelistas fueron capacitados en la técnica de cata para lograr que el vino expresara mejor sus atributos durante su degustación.

- **La copa**

El vino necesita de un instrumento especial para lograr percibir mejor sus atributos que éste presenta. Para favorecer la degustación la copa debe satisfacer las exigencias del ojo, la nariz y la boca. Los elementos que deben considerarse a elegir una copa son (Strang, 2011):

1. Forma : El cáliz de la copa debe ser convexo profundo para captar los aromas del vino y canalizarlos. Con un tallo largo para no calentar el vino
2. Tamaño: Debe ser bastante grande para que el vino pueda servirse en cantidad suficiente sin llenarla mas de una tercera parte de la copa. Si el volumen ocupado es mucho y no queda cuerpo de copa no se podra airear.
3. Material: Debe ser transparente, liso, sin facetas. Las copas con adornos son bonitas a la vista pero pésimas para la apreciación del vino.

En la cata realizada en el laboratorio de postcosecha se utilizó una copa como lo muestra la *Figura 24*.

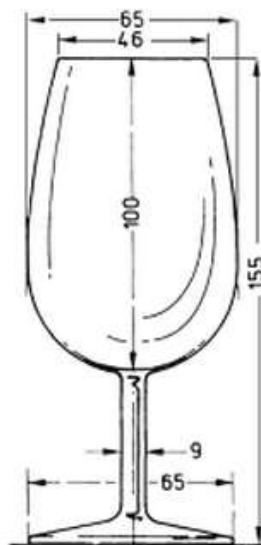


Figura 24. Copa para cata de vino

Fuente: Ratti (2000).

- **Apariencia del vino**

El primer contacto con el vino es visual. Apenas se sirve, el ojo ya capta su color y su brillo. Por esta razón el examen visual condiciona el acercamiento olfativo y gustativo. Se evaluó su color (tonalidad del vino ya sea rubí o rojo-teja) y su intensidad (intenso, pálido, flojo). Estas dos evaluaciones se realizaron inclinando 45° la copa frente a una hoja blanca de papel y observando el borde del vino. La evaluación de limpieza se realizó con la copa colocada enfrente de una fuente luminosa. Otro factor que demuestra la limpieza del vino, es el “disco del vino” que es la superficie plana del vino, un vino que tenga problemas de limpieza presentará un disco con los mismos defectos. Las lágrimas o piernas es la última etapa del examen visual y se efectuó haciendo girar la

copa de manera que el vino se deslice suavemente sobre sus paredes internas. Son las lágrimas o piernas del vino que resultan de un doble fenómeno debido a las tensiones superficiales entre el agua y el alcohol, y a la conjugación del alcohol, los azúcares y gliceroles que contiene el vino (Strang, 2011).

- **Nariz del vino**

El sentido olfativo es tan fino que la sensibilidad del olor es 10000 veces más grande que la del gusto. Oler una copa con vino e identificar los diferentes aromas que la distinguen, captar su complejidad y su sutileza constituyen uno de los grandes placeres de la degustación. Sin embargo este ejercicio a menudo desconcierta al catador neófito, quien no consigue describir este o aquel olor. Por ello es útil una pequeña fase de aprendizaje que “despierte” la memoria olfativa que todos poseemos. Es importante remarcar que la temperatura de servicio del vino tinto es entre 8 y 18°C porque el calor permite que los compuestos aromáticos se volatilicen y se exprese el agradable *bouquet*, por otra parte el bulbo olfativo se satura pronto y se aconseja oler el vino varias veces para evitar la anestesia. El análisis se divide en tres etapas (Strang, 2011):

1. La primera nariz: El catador se inclina sobre la copa e inhala los primeros olores. Permite percibir los olores volátiles del vino que no tardan en desaparecer al servirlo.
2. La segunda nariz: Amplía la personalidad aromática y para ello el catador toma la copa por el pie y le imprime un movimiento de rotación para oxigenar el vino y acelerar la volatilización de sus diferentes componentes aromáticos.
3. La tercera nariz: es la expresión del vino tras una larga oxigenación en la copa.

- **La boca del vino**

En la tercera y última etapa revelará el vino toda su personalidad gustativa con sus sabores, su textura, su estructura y su equilibrio. Confirmará la idea previa conseguida con la apariencia y nariz del vino. La lengua detecta los cuatro sabores, registra sensaciones de orden térmico, orden táctil, de orden químico. La degustación es un lapso muy breve y el acto demanda mucha atención y concentración. Si bien la práctica de la degustación se desarrolla en una sola fase el análisis se lleva a cabo en tres etapas sucesivas:

1. Ataque: Corresponde a la primera impresión que el vino hace surgir en la lengua y es cuando se toma un pequeño trago. Si este primer paso no detecta nada se califica de débil.

2. Evolución: Esta etapa corresponde al florecimiento del vino en la boca. El catador “mastica” el vino y luego inhala un poco de aire por la boca para acelerar el viaje de moléculas aromáticas hacia el bulbo olfativo por la ruta retranasal.
3. Final: Esta etapa corresponde a la persistencia aromática del vino en la boca, “duración en boca”, una vez que éste ha sido tragado. Da una idea de grandeza del vino. Entre más largo sea el vino mayor será su calidad y se mide en segundos o caudalias.

3.4.5 Análisis descriptivo cuantitativo (QDA)

Un procedimiento aceptado para establecer diferencias entre dos o más vinos es por medio de un análisis descriptivo cuantitativo, porque mide la magnitud de las diferencias entre las muestras, siempre que la cata sea realizada por jueces experimentados (Reyes *et al.*, 2000). Las sesiones se llevaron a cabo en las instalaciones del laboratorio postcosecha en un área con luz blanca y buena ventilación exenta de olores extraños, citando a los panelistas a realizar la actividad en un horario matutino, para evitar que los catadores tuvieran los sentidos saturados por su uso durante el transcurso del día. La presentación de los vinos a los jueces fue a una temperatura de 18°C y por sesión se evaluaron máximo 3 vinos diferentes, se programó un intervalo de 7 días entre cada sesión de cata. Previo al QDA los candidatos reconocieron los parámetros a calificar con ayuda de una clasificación de escalas mediante el empleo de concentraciones de referencia que se muestran en la *Tabla 16*, ordenando la intensidad de cada propiedad en una recta como se muestra en la *Figura 25*. Para el análisis descriptivo cuantitativo final se les pidió a los jueces que comparan cada propiedad de las muestras presentadas en la cata con los intervalos establecidos.

Tabla 16. Concentraciones de referencia para el análisis QDA

Parámetro	Reactivo	Concentración
Acidez	Ácido tartárico	1.5 g/L
Amargor	Cafeína cristalizada	2 mg /L
Astringencia	Ácido tánico	1.5 g/L
Cuerpo	Glicerol	13 mL /L
Aroma frutal	<i>B</i> -damascenona	3 mL/L
Aroma floral	Linalol	2 mL/L
Aroma especiado	Guaiacol/Rotundona	3 mL/L
Aroma tostado	Guaiacol	2.5 mL/L

Nombre del catador: _____ Código: _____

INSTRUCCIONES Enfrente de ti se encuentra un set de que representa a cada parámetro a evaluar. Prueba cada muestra y marca la intensidad de cada característica colocando una marca en la línea. Cuando este seguro de su respuesta continúe con la siguiente muestra y repita la misma acción hasta completar todas las características señaladas.

Acidez

_____ ☆ _____
Débil Fuerte

Astringencia

_____ ☆ _____
Débil Fuerte

Amargor

_____ ☆ _____
Débil Fuerte

Cuerpo

_____ ☆ _____
Débil Fuerte

Aroma Frutal

_____ ☆ _____
Débil Fuerte

Aroma Floral

_____ ☆ _____
Débil Fuerte

Aroma Especiado

_____ ☆ _____
Débil Fuerte

Aroma Tostado

_____ ☆ _____
Débil Fuerte

Figura 25. Referencia para el análisis QDA.

3.5 Identificación de marcadores fenólicos del envejecimiento por HPLC en vinos tintos de variedades Syrah y Tempranillo

Para la identificación de marcadores del envejecimiento en los vinos se empleó el método propuesto por *Aguilar y Gris (2012)* modificado. El equipo empleado para la identificación es el siguiente:

- Equipo.

En la *Tabla 17* se describen los componentes del cromatógrafo de líquidos de alta eficacia (HPLC):

Tabla 17. Componentes del cromatógrafo

Componente	Especificación
Bomba mecánica	Marca Shimadzu modelo LC-10AT
Desgasificador	Marca Shimadzu modelo DGU-14A FCV-10AL
Mezclador	Marca Shimadzu
Auto Inyector	Marca Shimadzu modelo SIL-10A
Horno de la columna	Marca Shimadzu modelo CTO-10A
Detector de arreglo de diodos	Marca Shimadzu modelo SPD-M20A
Controlador	Marca Shimadzu modelo CBM-20A
Equipo de cómputo	Marca DELL serie X1060264 software LC Solution

- Especificaciones de la columna.
- ❖ Fase estacionaria: Luna 5 μm C18 (Octadecilsilano ODS, no polar)
- ❖ Tamaño: 150 x 4.60 mm.
- ❖ Tamaño de partícula: 5 μm

3.5.1 Condiciones del método cromatográfico para la identificación de los marcadores del envejecimiento en vinos tintos

En la *Tabla 18* se describen las condiciones fijadas para el método cromatográfico:

Tabla 18. Condiciones del método cromatográfico

Factor	Características	
Fase móvil	A	Metanol 100% grado HPLC
	B	Ácido acético 0.4%
Flujo	1 mL/min	
Inyección	40 μL	

Las fases móviles A y B, fueron previamente filtradas y desgasificadas antes de emplearlas en la técnica. Los tiempos del gradiente de elución que se utilizaron en el método cromatográfico están descritos en la *Tabla 19* siendo cada corrida experimental de 60 minutos.

Tabla 19. Concentraciones del gradiente de elución

Tiempo (min)	Fase móvil A (%)	Fase móvil B (%)
0-15	5	95
15-16	5	95
16-45	40	60
45-46	40	60
46-55	80	20
55-58	80	20
58-60	5	95
60	0	0

❖ Preparación de la muestra

De cada una de las 18 muestras de vinos tintos después de ser descorchados, se tomó una alícuota de 5 mL y fue filtrada en acrodiscos (marca Millipore) de 0.45 μm . La muestra filtrada se colocó en viales de 1.5 mL para su inyección en el cromatógrafo. El vino restante se almacenó en viales individuales con una atmósfera de nitrógeno gaseoso y una temperatura de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

3.5.2 Estándares de compuestos fenólicos

En la *Tabla 20* se muestran los datos de los estándares fenólicos empleados para la identificación

Tabla 20. Información de los estándares empleados para la identificación de fenoles en vinos tintos

Estándar	Pureza	Proveedor
Ácido Gálico	97.5-102.5%	Sigma Aldrich
(+)-Catequina	$\geq 98.0\%$	Sigma Aldrich
Ácido <i>p</i> -cumárico	$\geq 98.0\%$	Sigma Aldrich
Ácido elágico	$\geq 95.0\%$	Sigma Aldrich
Galangina	$\geq 98.0\%$	Sigma Aldrich
Etilparabeno	$\geq 96.0\%$	Sigma Aldrich

Fuente: Sigma Aldrich (2013).

3.5.3 Preparación de las curvas de calibración para la cuantificación de fenoles .

La identificación de los marcadores fenólicos en los vinos tintos de variedad Syrah y Tempranillo la cual está descrita en el *Anexo A*, se realizó por la técnica de adición de estándar y comparación de espectros de absorción. El perfil cromatográfico se monitoreo a 270, 300 y 360 nm obteniéndose espectros de absorción durante todas las repeticiones en un rango de 190-800 nm utilizando el detector de arreglo de diodos. La cuantificación de la concentración de los marcadores en las muestras se realizó mediante curvas de calibración utilizando el reactivo de etilparabeno como estándar interno. Para la realización de la curva de calibración se prepararon las siguientes soluciones stocks: 200 ppm de ácido gálico, 260 ppm de catequina, 100 ppm de ácido *p*-cumárico, 402 ppm de ácido elágico, 43.2 ppm para la galangina y por último el estándar interno que se ocupó en la identificación y en la cuantificación fue el etilparabeno el cual se preparó un stock inicial de 306 ppm. En la *Tabla 21* se presentan los puntos fijados para la curva de calibración.

Tabla 21: Curva de calibración para la cuantificación de los marcadores fenólicos

Punto	Ácido Gálico (ppm)	Catequina (ppm)	Ácido <i>p</i> -cumárico (ppm)	Ácido elágico (ppm)	Galangina (ppm)	Etilparabeno (ppm)
1	10	6.5	5	0.10	0.11	15.3
2	20	13	15	2.01	0.22	15.3
3	30	26	25	4.02	0.43	15.3
4	40	39	35	6.03	0.65	15.3
5	50	52	45	8.04	0.86	15.3
6		65		10.05	1.08	15.3

3.6 Técnicas analíticas

3.6.1 Parámetros físicos

- ❖ **Intensidad Colorante.** La intensidad colorante representa la importancia del color y varía según lo vinos y las variedades. Representa la totalidad del color del vino a longitudes de onda de 420, 520 y 620 nm (Durán & Trujillo, 2008).

$$I.C=d420+2520+d620$$

- ❖ **Tonalidad.** La tonalidad representa la proporción del color amarillo con relación al color rojo en el vino tinto. Se determina con la relación de absorbancias 420 y 520 nm (Durán & Trujillo, 2008).

$$T= d420/d520$$

3.6.2 Parámetros químicos

- ❖ **Azúcares reductores.** Se realizó la técnica propuesta por Miller (1959), utilizando el reactivo de ácido 3,5-dinitrosalisílico (DNS). Se basa en la rotación óptica de las moléculas de azúcares reductores por medio de una hidrólisis ácida y una coloración con el reactivo DNS. Los resultados se expresan en g/L.
- ❖ **Taninos.** El método propuesto para su determinación se basa en una hidrólisis ácida de los compuestos flavano-3-ol, que al ser proantocianidinas forman compuestos con una lectura de absorbancia a 550 nm. Los resultados se expresan en g/L de taninos (Hidalgo, 2010).
- ❖ **Antocianos.** Para la determinación de antocianos presentes es necesario bajar el pH de la muestra agregando HCl y con adiciones de SO₂ provocar cambios en la absorbancia de los pigmentos no polimerizados. El contenido de antocianos totales se expresa mg/L (Bordeu & Scapa, 1998).
- ❖ **Fenoles.** El método se basa en la oxido-reducción de la muestra empleando el reactivo de Folin-Ciocalteu y un medio alcalino conseguido con una solución de carbonato de sodio. La intensidad de la coloración azul de la reacción es determinada a una absorbancia de 765 nm. Los resultados se expresan en g/L de ácido gálico (Fogliano *et al.*, 1999).
- ❖ **Capacidad Antioxidante.** La determinación de la capacidad antioxidante se basa en la decoloración el reactivo 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) (ABTS), empleado como agente oxidante, provocado por una solución madre de TROLOX o los antioxidantes del vino, la lectura de absorbancias es a 734 nm (Fogliano *et al.*, 1999). Los resultados se expresan en mM Trolox.

3.6.3 Parámetros fisicoquímicos

- ❖ **pH.** Se realizó una lectura directa en la muestra empleando un potenciómetro manual, introduciendo el electrodo del equipo en el vino tinto. Se ocupó 10 mL de muestra en cada replica.
- ❖ **Sólidos solubles.** Los sólidos solubles totales fueron determinados empleando un refractómetro manual, se añade una gota de vino tinto en el prisma del equipo y se procede a su lectura. Los resultados se expresaron en °Brix
- ❖ **Acidez Total.** El método propuesto se basa en la acción mutua entre ácidos y bases con reacciones de neutralización. La acidez de titulable es determinada mediante una titulación con 0.1N NaOH y el apoyo de un potenciómetro para detener la titulación a un

pH de 8.2. Los resultados se expresan en g/L de ácido tartárico (NMX-V-015-NORMEX-2006).

- ❖ **Acidez Fija.** La acidez fija se obtiene restando la acidez volátil de la acidez total, el método se basa en la presencia de los ácidos fijos los cuales son separados por evaporación de los ácidos volátiles y posteriormente titulados con una solución valorada de 0.1 N NaOH. Los resultados se expresan en g/L de ácido tartárico (NMX-V-015-NORMEX-2006).
- ❖ **Acidez Volátil.** Es la que contiene el vino como consecuencia de sus ácidos volátiles. Se obtiene de la diferencia de la acidez total y la acidez fija. Los resultados se expresan en g/L de ácido acético (NMX-V-015-S-1980).
- ❖ **Dióxido de azufre libre.** El método propuesto se basa en la reacción de óxido-reducción del dióxido de azufre libre. Para efectuar la determinación se acidula la muestra con un ácido fuerte y se titula con una solución de yodo en presencia de almidón como indicador del punto final de la titulación. Los resultados se expresan en mg/L de dióxido de azufre libre (NMX-V-027-NORMEX-2009).
- ❖ **Dióxido de azufre total.** Para su determinación es necesario hidrolizar los complejos sulfonatos y bisulfitos de la muestra adicionando una base fuerte al vino. Enseguida se acidula la muestra hidrolizada y se titula con una solución de yodo en presencia de almidón como indicador del punto final de la titulación. Los resultados se expresan en mg/L de dióxido de azufre total (NMX-V-027-NORMEX-2009).

3.7 Tratamiento estadístico

Para todos los tratamientos estadísticos propuestos para los parámetros de calidad y sensorial se empleó el paquete informático IBM SPSS Statistics versión 20. Se realizó un análisis ANOVA para determinar si existía diferencia entre variedades de uva y tiempo de crianza con un nivel de confianza del 95%. En el caso de las curvas de calibración se ocupó el software Statgraphics empleando un ANOVA con lack-of-fit.

Para establecer posibles relaciones entre la capacidad antioxidante y los compuestos fenólicos en las muestras analizadas, se les aplicó un análisis estadístico de significancia empleando la prueba t para el coeficiente de correlación r de Pearson, utilizando la siguiente ecuación:

$$tr = r \left(\sqrt{\frac{n-2}{1-r^2}} \right)$$

*“El vino debe tener las tres cualidades de una mujer hermosa:
buen color, buena nariz y buena boca.”*
Proverbio Popular

4.- Resultados y Discusión

4.1 Evaluación de los parámetros físicos en vinos tintos con diferente tiempo de crianza

4.1.1 Intensidad colorante

El color del vino es un parámetro determinante en la percepción que posean los consumidores sobre su calidad antes de degustarlo. Esto se debe a la cromaticidad que presenta el vino y que influirá en las demás propiedades sensoriales responsables de su calidad, tales como el aroma y el sabor (Pérez-Lamela *et al.*, 2007). Se ha demostrado que las características cromáticas de los vinos tintos, como la intensidad colorante, pueden ser modificadas durante el tiempo de añejamiento en barrica (Heredia *et al.*, 1997).

El efecto de la variedad sobre la intensidad colorante presente en los vinos, no presentó diferencia significativa ($p \geq 0.05$) obteniendo resultados para Syrah de 7.16 y en Tempranillo de 7.93. Varios factores como la variedad de uva, región de cultivo, la madurez de la uva durante su cosecha, concentración de fenoles, concentración de oxígeno en la barrica, pH, temperatura de fermentación (Heredia *et al.*, 1997; Puertas *et al.*, 2003; Zoecklein *et al.* 2001) pueden influenciar en el comportamiento entre ambas variedades durante su vinificación.

En la *Figura 26* se muestran los resultados obtenidos en la evaluación del efecto de la crianza de los vinos de las dos variedades sobre la intensidad colorante.

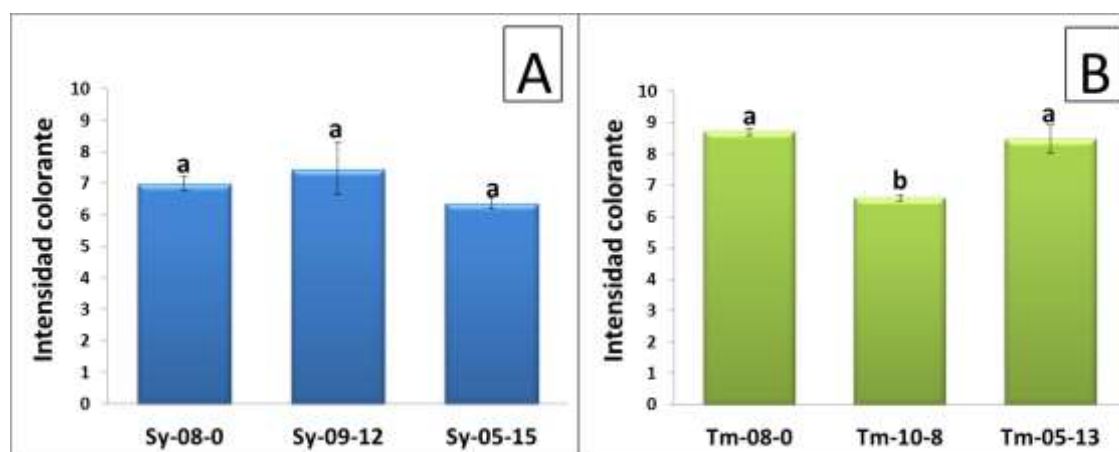


Figura 26. Intensidad colorante en vinos con diferentes tiempos de crianza de la variedad Syrah (A): 0, 12, 15 meses y de la variedad Tempranillo (B): 0, 8, 13 meses. Las letras diferentes en cada barra indican la diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

En la *Figura 26A* se muestran los resultados obtenidos donde se evaluó el efecto de crianza de los vinos de variedad Syrah sobre la intensidad colorante, donde el comportamiento de este parámetro es semejante en distintas crianzas sin que exista una diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre los tres tiempos de añejamiento. El comportamiento de este parámetro entre los diferentes tiempos de añejamiento podría estar influenciado por la presencia de compuestos fenólicos incoloros (ácido fenólicos, taninos, flavanoles, flavonoles) que acompañan a los antocianos durante el envejecimiento que logran polimerizarse y estabilizar el color del vino tinto durante su estancia en barrica (Brouillard & Dangles, 1994; Pérez-Lamela *et al.*, 2007).

En el caso de los vinos de la variedad Tempranillo (*Figura 26B*) con diferentes tiempos de crianza se observó que la intensidad colorante es menor a los 8 meses presentando diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con respecto a los otros dos tiempos con un valor de 6.60 siendo 15% menor con respecto a los vinos tintos con 0 y 13 meses de añejamiento en barrica. Esto puede deberse a que la intensidad colorante que presenta un vino de 9 a 15 meses de edad es directamente proporcional al tiempo de contacto con los hollejos previo a la fermentación y después de esta la disminución del color rojo puede ser hasta del 33% a causa de la elevación del pH (Zoecklein *et al.*, 2001).

En diferentes investigaciones se reporta un rango de respuesta para la intensidad colorante de los vinos tintos de 4.5 a 11.47 (Salaha *et al.*, 2008; Cabanillas *et al.*, 2001; Pérez-Lamela *et al.*, 2007; Durán *et al.*, 2008; Ceppi de Lecco & Castillo, 2008) siendo comparable los resultados obtenidos en el presente estudio consiguiendo un intervalo de 6.6 a 8.7.

4.1.2 Tonalidad

La tonalidad del vino es la respuesta al aumento del color amarillo con relación al color rojo que presentan los vinos tintos durante su añejamiento. Los cambios más rápidos de la composición del color ocurren durante el primer año del envejecimiento, cuando el color púrpura-rojo, que es típico de vinos tintos jóvenes, cambia a naranja-rojo (Durán *et al.*, 2008; Zoecklein *et al.* 2001; Valls *et al.*, 2000; Cabanillas *et al.*, 2001).

Por lo que se evaluó en este estudio el efecto de la variedad de uva en vinos tintos Syrah y Tempranillo, donde no se presentó una diferencia significativa ($p \geq 0.05$) por variedad de uva obteniendo un valor de 0.99 para Syrah y Tempranillo de 1.00, el comportamiento semejante que presentan ambas variedades tintas puede ser causada principalmente por la polimerización de los pigmentos monoméricos de las antocianidinas por formas oligoméricas más estables (Durán & Trujillo, 2008; Zoecklein *et al.* 2001; Valls *et al.*, 2000; Cabanillas *et al.*, 2001).

En la *Figura 27* se muestran los resultados obtenidos de la evaluación del efecto de crianza de los vinos de las dos variedades sobre el comportamiento de la tonalidad.

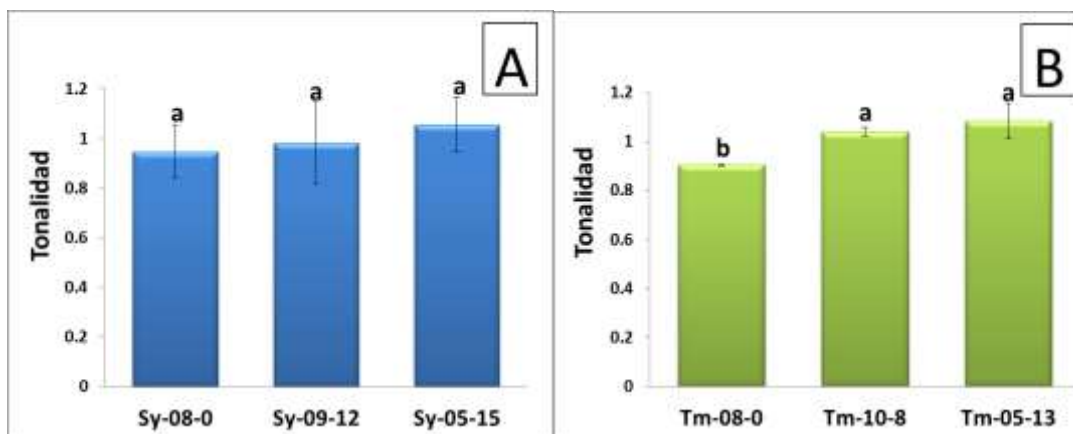


Figura 27. Tonalidad en vinos con diferentes tiempos de crianza de la variedad Syrah (A): 0, 12, 15 meses y de la variedad Tempranillo (B): 0, 8, 13 meses. Las letras diferentes en cada barra indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

Como se muestra en la *Figura 27A* con respecto a los tres tiempos de crianza de vinos de variedad Syrah no se muestra diferencia significativa ($p \geq 0.05$), pero si se observó una tendencia hacia el matiz amarillo, correspondiente a la medición de 420 nm, conforme avanzan los tiempos de añejamiento como se muestra en la *Tabla 22* debido posiblemente a una oxidación de las procianidinas formando compuestos que favorecen el matiz amarillo en los vinos tintos de crianza (Durán & Trujillo, 2008; Zoecklein *et al.* 2001; Valls *et al.*, 2000; Cabanillas *et al.*, 2001).

Tabla 22. Características cromáticas de los diferentes tiempos de crianza de la variedad Syrah.

Vino	Tonalidad	Composición de Color (%)		
		420nm	520nm	620nm
Sy-08-0	1.04±0.01 (a)	47.99±0.74	46.07±0.60	5.94±0.37
Sy-09-12	0.95±0.01 (a)	44.77±0.39	46.89±0.34	8.34±0.26
Sy-05-15	1.16±0.01 (a)	50.39±0.24	43.38±0.09	6.23±0.27

Nota: El signo (\pm) indica la desviación estándar de las tres réplicas. Las letras diferentes en la columna indican la diferencia significativa ($p \leq 0.05$)

En el caso de los vinos de la variedad Tempranillo *Figura 27B* los resultados expresan diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en los vinos con 0 meses con un valor de 0.90 siendo este 17% menor con

respecto de los vinos de 13 meses de crianza, tal comportamiento puede estar influenciado por diversos factores enológicos como la temperatura de fermentación, tiempo de maceración, concentración de dióxido de azufre que condicionan la extracción de los compuestos fenólicos durante la vinificación y la prevalencia del matiz amarillo conforme aumenta el tiempo de añejamiento (Zoecklein *et al.* 2001). En la *Tabla 23* se visualiza mejor el comportamiento de la tonalidad en el añejamiento de los vinos Tempranillo dando lugar a matices amarillos con un aumento de la densidad óptica a los 420 nm con respecto de la medición de 520 nm correspondiente del matiz rojo en los vinos.

Tabla 23. Características cromáticas de los diferentes tiempos de crianza de la variedad Tempranillo

Vino	Tonalidad	Composición de Color (%)		
		420nm	520nm	620nm
Tm-08-0	0.90±0.01 (a)	43.32±0.36	47.85±0.35	8.83±0.23
Tm-10-8	1.04±0.01 (b)	45.53±0.09	42.81±0.01	11.65±0.09
Tm-05-13	1.14±0.01 (b)	48.80±0.07	42.50±0.07	8.71±0.12

Nota: El signo (\pm) indica la desviación estándar de las tres réplicas. Las letras diferentes en la columna indican la diferencia significativa ($p \leq 0.05$)

De acuerdo con algunas investigaciones se reportan valores de tonalidad para vinos jóvenes de 0.3 a 0.7 y para vinos de crianza un rango de 1.2 a 1.8 (Durán *et al.*, 2008; Salaha *et al.*, 2008; Puertas *et al.*, 2003; Cadahía *et al.*, 2009; Cliff *et al.*, 2007; Cabanillas *et al.*, 2001; Pérez-Lamela *et al.*, 2007). Los resultados del presente estudio reportan un aumento similar en la tonalidad en los vinos tintos conforme aumenta el tiempo de crianza en ambas variedades de uva.

4.2 Evaluación de parámetros químicos en vinos tintos con diferente tiempo de crianza

4.2.1 Azúcares Reductores

Tanto el mosto de uva como el vino contienen hexosas (glucosa y fructosa) y pentosas (arabinosa, xilosa, etc.) que en su conjunto constituyen en términos de análisis químico del vino el nombre de azúcares reductores. El control de los niveles de los azúcares reductores durante la vinificación es esencial para evitar una posible refermentación del vino provocado por las levaduras del avinagramiento como *Brettanomyces/Dekkera* que pueden crecer en cantidades de azúcar <2g/L

y producir una picada acética a la bebida resultante (Durán & Trujillo, 2008; Fernández-Novales *et al.*, 2008; Zoecklein *et al.* 2001).

Por lo que se evaluó en este estudio el efecto de la variedad de uva en vinos tintos Syrah y Tempranillo, donde se observó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) por variedad con concentraciones para Syrah de 2.85 g/L y para Tempranillo de 2.45 g/L. La diferencia entre ambas variedades puede atribuirse a las prácticas enológicas empleadas por la casa vitivinícola, quienes deciden por medio de la determinación de azúcares reductores el momento ideal para detener la fermentación alcohólica, considerándose vinos secos cuando al final de la fermentación se tienen un rango de azúcares reductores de 2-3g/L (Amerine & Oughi, 1974; Ceppi de Lecco & Castillo, 2008).

En la *Figura 28* se muestran los resultados obtenidos, donde se evaluó el efecto de la crianza de los vinos de las dos variedades sobre el contenido de azúcares reductores.

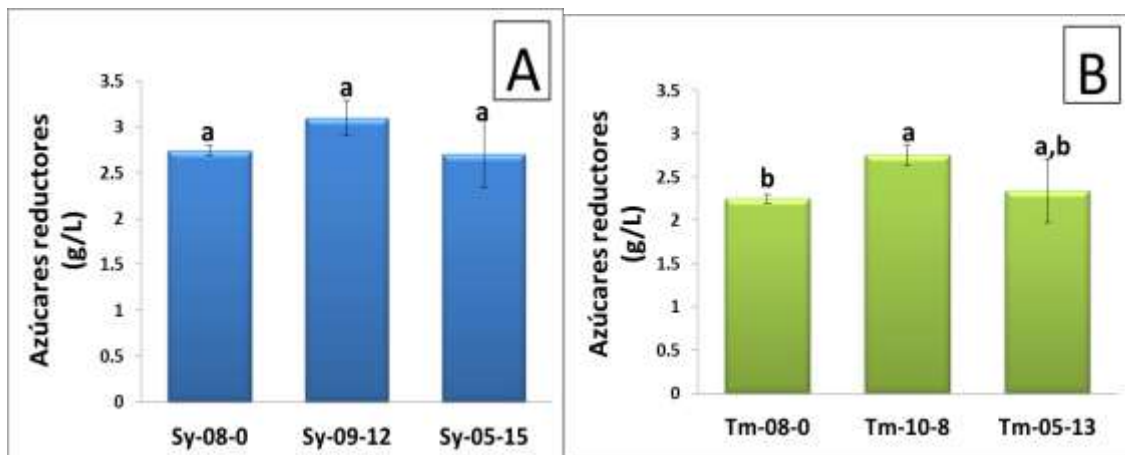


Figura 28. Contenido de azúcares en vinos reductores con diferentes tiempos de crianza de la variedad Syrah (A): 0, 12, 15 meses y de la variedad Tempranillo (B): 0, 8, 13 meses. Las letras diferentes en cada barra indican la diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

Como se muestra en la *Figura 28A* con respecto a los diferentes tiempos de crianza de vinos de variedad Syrah no se encontró diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre los tres tiempos de crianza, obteniendo concentraciones para los vinos de 0 meses de 2.74 g/L, a los 12 meses de 3.10 g/L y para los vinos de 15 meses una concentración de 2.70 g/L. Una posible razón de este comportamiento similar entre crianzas se le puede atribuir al estado de maduración que presentaron las uvas durante cada cosecha, la cual garantizará el contenido de azúcares que posea

el mosto previo a la fermentación (Durán & Trujillo, 2008; Fernández-Navales *et al.*, 2008; Zoecklein *et al.* 2001).

En el caso de los vinos Tempranillo (*Figura 28B*) se observó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los vinos con 0 y 8 meses presentando valores de 2.25 y 2.75 g/L respectivamente, siendo 19% mayor el añejamiento de 8 meses. El aumento de la concentración de azúcares reductores en el vino de 8 meses puede deberse a una mayor concentración de pentosas en el mosto, ya que algunas pentosas que forman parte de los azúcares reductores no son fermentables por las levaduras utilizadas durante la vinificación y pueden representar aproximadamente el 28% del contenido de azúcares reductores de un vino (Zoecklein *et al.* 2001).

Los resultados obtenidos son comparables con diversas investigaciones en las cuales se expone un rango de valores de azúcares reductores presentes en vinos tintos de 1.5 a 3.8 g/L (Ceppi de Lecco & Castillo, 2008; Viguera *et al.*, 1995; Santamaría *et al.*, 1995).

4.2.2 Taninos

Los taninos son los responsables de la estabilidad del color, astringencia, amargor y estructura de los vinos; porque tienen una considerable incidencia en sus características organolépticas por consecuencia en la calidad del vino tinto percibida por los consumidores (Durán & Trujillo., 2008). Hay dos grupos mayoritarios de taninos en la uva: las procianidinas o taninos condensados, derivadas de catequina y epicatequina; y los prodelphinoides o taninos hidrolizables derivados de galocatequina y epigalocatequina (Valls *et al.*, 2000; Zoecklein *et al.* 2001; Chira *et al.*, 2011).

En el efecto de la variedad de uva en vinos tintos Syrah y Tempranillo no se observó diferencia significativa ($p \geq 0.05$) por variedad, obteniéndose valores para los vinos Syrah de 2.52 g/L y para Tempranillo de 2.96 g/L. La semejanza entre ambas variedades puede atribuirse a factores naturales que poseen influencia en la maduración de la uva y factores tecnológicos que tienen un rol sobre la extracción y captación de compuestos fenólicos provenientes de la uva (Zoecklein *et al.*, 2001).

En la *Figura 29* se muestran los resultados obtenidos en los cuales se evaluó el efecto de la crianza de los vinos de las dos variedades sobre la concentración de taninos.

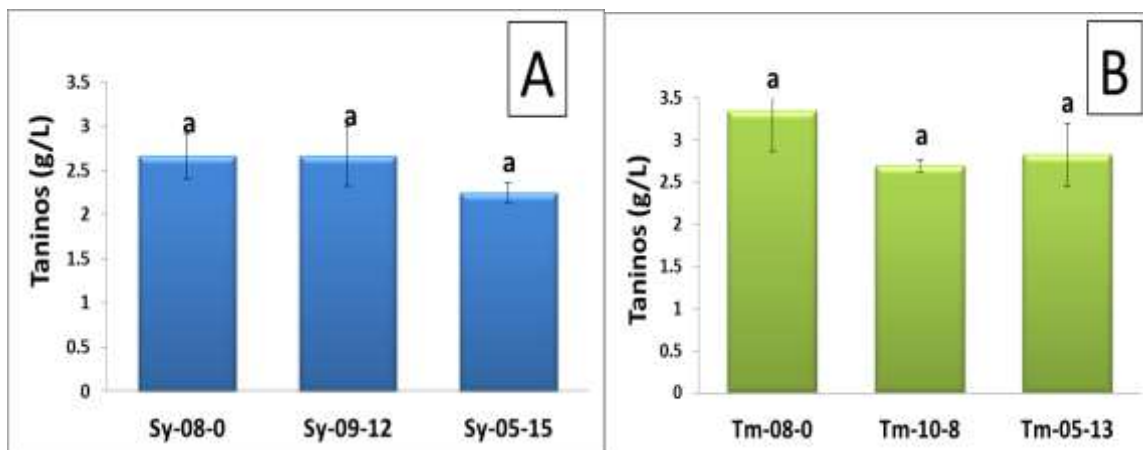


Figura 29. Contenido de taninos en vinos con diferentes tiempos de crianza de la variedad Syrah (A): 0, 12,15 meses y de la variedad Tempranillo (B): 0, 8, 13 meses. Las letras diferentes en cada barra indican la diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

Como se muestra en la *Figura 29A* con respecto a los diferentes tiempos de crianza de vinos de variedad Syrah no presentó diferencia significativa ($p > 0.05$) entre los tres tiempos de añejamiento, pero si se puede apreciar una posible tendencia a disminuir la concentración entre mayor es el tiempo de añejamiento, esto puede estar sujeto a la destrucción por oxidación-condensación-precipitación de los taninos durante la crianza disminuyendo así su concentración. Este fenómeno es bastante lento en situaciones normales, por lo que no se pudo apreciar diferencia significativa entre las diferentes crianzas (Usseglio, 1998; Zoecklein *et al.* 2001; Vila *et al.*, 2003; Chira *et al.*, 2011).

En el caso de los vinos de variedad Tempranillo (*Figura 29B*) no presentó diferencia significativa ($p > 0.05$) entre los tres tiempos de crianza, obteniéndose valores para los vinos de 0 meses de 3.35 g/L, a los 8 meses de 2.70 g/L y para los vinos de 13 meses de 2.83 g/L reflejando igualmente una tendencia a disminuir la concentración de estos compuestos conforme avanza el tiempo de crianza. Varias investigaciones han observado que después de cuatro meses de añejamiento en los vinos se observa una reducción de las procianidinas, por lo tanto, un vino tinto destinado a la crianza en barrica debe poseer una concentración elevada de taninos, ya que así se favorecerá la combinación entre las antocianinas y procianidinas que permitirá una estabilización del color y concentración de taninos (Valls *et al.*, 2000; Durán & Trujillo, 2008; Vila *et al.*, 2003).

En algunas investigaciones se han expuesto valores de taninos para vinos tintos de 1.0 a 3.5 g/L teniendo para la variedad Syrah valores de 2.0 a 2.5 g/L y para Tempranillo de 3.0 a 3.5 g/L (Pérez-

Lamela *et al.*, 2007; Durán & Trujillo 2008; Puertas *et al.*, 2003; Díaz *et al.*, 2003; Cosme *et al.*, 2009) presentando estas dos variedades de uva óptimas condiciones para la crianza prolongada en barrica debido a una alta concentración de taninos provenientes de la uva.

4.2.3 Antocianos

El color rojo de los vinos tintos es una de las primeras características percibidas por los consumidores y puede influenciar en su aceptación comercial. Los componentes del color en este caso los antocianos son los responsables de esta respuesta sensorial y de la participación en las propiedades antioxidantes de los vinos (Zoecklein *et al.* 2001; Versari *et al.*, 2007; Brouillard & Dangles, 1994; He *et al.*, 2012; Rivero-Pérez *et al.*, 2008; Monagas *et al.*, 2006).

Por lo que se evaluó en este estudio el efecto de la variedad de uva en vinos tintos Syrah y Tempranillo donde se observó que no existió diferencia significativa ($p \geq 0.05$) por variedad, obteniéndose valores para los vinos Syrah de 102.01 mg/L y Tempranillo con 136.58 mg/L. Este comportamiento puede deberse a la región de cultivo, ya que es importante señalar que el contenido de antocianinas de una determinada variedad será mayor si se cultiva en un clima frío que en una región más cálida, también su concentración se verá influenciada por el tiempo de cosecha ya que puede existir un aumento de la cantidad de antocianos y taninos de una variedad a otra debido a la maduración que presente cada uva (Bindon *et al.*, 2013; Zoecklein *et al.* 2001).

En la *Figura 30* se muestran los resultados obtenidos donde se evaluó el efecto de la crianza de los vinos de las dos variedades sobre el contenido de antocianinas.

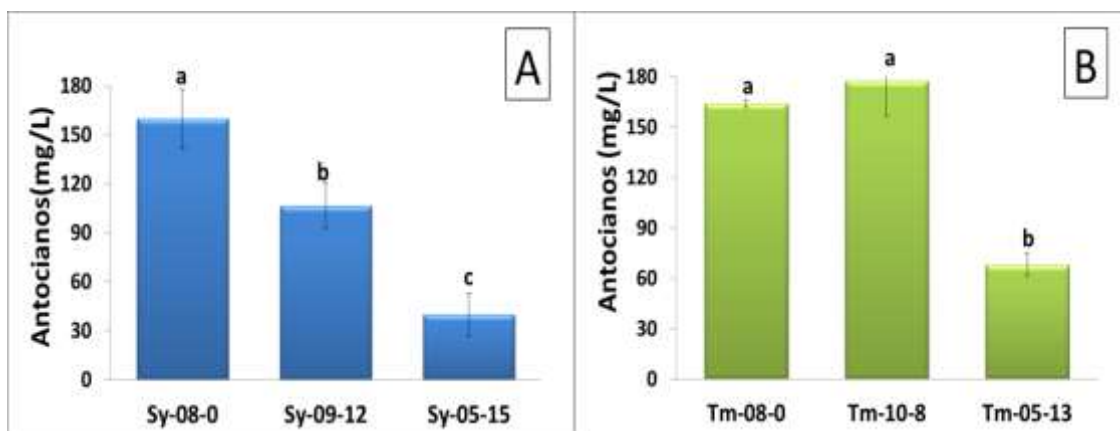


Figura 30.Contenido de antocianos totales en vinos tintos con diferentes tiempos de crianza de la variedad Syrah (A): 0, 12,15 meses y de la variedad Tempranillo (B): 0, 8, 13 meses. Las letras diferentes en cada barra indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

Como se muestra en la *Figura 30A* con respecto a los diferentes tiempos de crianza de vinos de variedad Syrah se encontró diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los tres tiempos de añejamiento presentando concentraciones de 159.64 mg/L a los 0 meses, 106.55 mg/L a los 12 meses y 39.86 mg/L a los 15 meses siendo este 4 veces menor con respecto del primer tiempo. Las principales antocianinas presentes en las uvas tintas son : 3-D-glucósido de malvidina, delphinidina, peonidina, cianidina y petunidina, (Zoecklein *et al.* 2001; Versari *et al.*, 2007; Brouillard & Dangles, 1994; He *et al.*, 2012; Rivero-Pérez *et al.*, 2008; Monagas *et al.*, 2006) dentro de ellas hay compuestos denominados visitinas, que son formadas tempranamente durante la fermentación por la polimerización de los compuestos antocianos con el ácido pirúvico, este grupo de compuestos reacciona con los taninos presentes en los vinos ayudando a la estabilización del color durante el añejamiento (He *et al.*, 2012), por lo que se podría decir que la disminución en la concentración de los antocianos en los vinos estudiados está relacionada con las reacciones de las visitinas y los taninos durante el añejamiento.

En el caso de los vino Tempranillo (*Figura 30B*) se observó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los vinos de 13 meses de añejamiento con un valor de 68.05 mg/L con respecto a los vinos de 0 y 8 meses teniendo una diferencia de alrededor de 2.5 veces menor a los 13 meses de añejamiento con respecto a los 8 meses de crianza. La razón de este comportamiento podría deberse a que durante el añejamiento del vino, la concentración de antocianos monoméricos desciende significativamente casi a la mitad de la concentración inicial de antocianos de los vinos jóvenes, mientras que sucede esta etapa existe una polimerización del 25% de los antocianos con los flavan-3-oles o aldehídos después de la fermentación y después de un año de guarda en bodega puede llegar al 40%. Otro factor angular en la evolución de los antocianos durante la crianza es el oxígeno, cuando sucede el añejamiento en un medio de gran oxigenación en bodega puede provocar una pérdida irreversible del contenido de antocianos y por consecuencia del color (He *et al.*, 2012; Brouillard & Dangles, 1994; Aguirre *et al.*, 2011; Cliff *et al.*, 2007; Cabanillas *et al.*, 2001; Gutiérrez *et al.*, 2005; Rivero-Pérez *et al.*, 2008).

En algunas investigaciones reportan concentraciones de antocianos en vinos tintos de 50-800 mg/L siendo para la variedad Syrah una concentración promedio de 115 mg/L y para Tempranillo de 291 mg/L (Durán *et al.*, 2008; Camussoni & Carnevali, 2004; Díaz *et al.*, 2003; Salazar *et al.*, 2011; Muñoz *et al.*, 2007; Cliff *et al.*, 2007). Una de las razones por las cuales los valores de antocianos resultantes en la investigación son inferiores se debe a que las antocianinas presentan

un perfil anfótero de manera que su color depende en primer lugar del pH del vino (Zoecklein *et al.*, 2001).

4.2.4 Fenoles

Una de las principales fuentes de fenoles en la dieta mundial es el vino (Kondrashov *et al.*, 2009). Las diferencias entre los tipos y estilos de los vinos se deben, en gran parte, a la concentración y composición de fenoles, llegando a ser los compuestos fenólicos los componentes más importantes del vino y están directamente relacionados no solamente con el color, astringencia, amargor y aroma, sino también con el ya conocido efecto benéfico para la salud, por sus propiedades antioxidantes (Castillo-Sánchez *et al.*, 2008; Monagas *et al.*, 2006; Minussi *et al.*, 2003; Ginjom *et al.*, 2011; Kennedy, 2008). El grupo de los flavonoides suelen representar del 80 a 90% del contenido fenólico total de los vinos tintos elaborados convencionalmente (Zoecklein *et al.*, 2001).

En el presente trabajo se estudió el efecto de la variedad de uva en vinos tintos de variedad Syrah y Tempranillo, donde se observó que existe una diferencia significativa ($p \leq 0.05$) por variedad, con valores de 2993.51 mg GAE/L para Syrah y 3174.46 mgGAE/L para Tempranillo. El contenido fenólico que presenta cada vino estará relacionado principalmente con la variedad, el clima, la topografía, la estación del año y el estado de madurez del fruto, siendo esta última la que determina los cambios cualitativos en los fenoles de la uva produciendo un aumento neto de los taninos y antocianos en la etapa previa a la vendimia, por lo que la diferencia entre ambos se puede deber a una posible mayor maduración de la uva Tempranillo durante su cosecha (Zoecklein *et al.*, 2001; Kennedy, 2008; Bindon *et al.*, 2013).

Como se muestra en la *Figura 31A* con respecto a los diferentes tiempos de crianza de vinos de variedad Syrah no se encontró diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre los tres tiempos de añejamiento. La concentración constante entre los tres tiempos puede deberse al contacto del vino con la madera durante el tiempo de crianza, lo cual implica una interacción con la composición de la madera y de acuerdo con varias investigaciones se ha comprobado que se logra un aumento de la composición fenólica total cuando el vino está en contacto con la bodega (Rodríguez, 2003; Zoecklein *et al.* 2001 Cadahía *et al.*, 2009; Ginjom *et al.*, 2011).

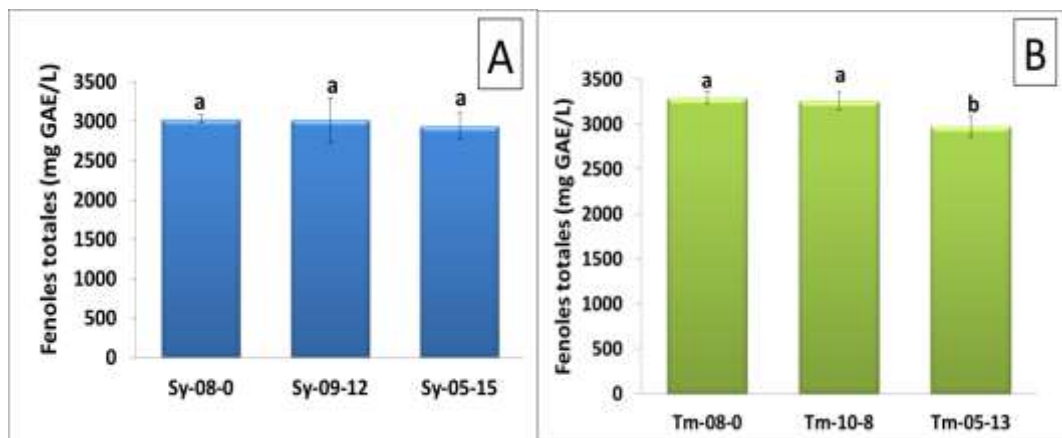


Figura 31. Contenido de fenoles totales en vinos con diferentes tiempos de crianza de la variedad Syrah (A): 0, 12,15 meses y de la variedad Tempranillo (B): 0, 8, 13 meses. Las letras diferentes en cada barra indican la diferencia significativa ($p\leq 0.05$).

En el caso de los vinos de variedad Tempranillo (*Figura 31B*) se encontró diferencia significativa ($p\leq 0.05$) entre los vinos de 8 meses y 13 meses con un valor de 3259.7 mg GAE/L y de 2970.73 mgGAE/L respectivamente, mostrando una disminución del 10% en los vinos de 13 meses con respecto a los de 8 meses. La disminución de la concentración final en los vinos de mayor crianza puede deberse a dos razones, una a la polimerización de los compuestos fenólicos durante el tiempo de añejamiento y su posible precipitación en la bodega, y la segunda es a una posible transformación de los compuestos fenólicos en sus formas condensadas durante el tiempo que pasa en botella que ocasiona una precipitación de éstos (Monagas *et al.*, 2006).

La bibliografía consultada se reportan un rango de valores para la concentración de fenoles totales en vinos tintos de 1000-4000 mg GAE/L con un promedio para vinos de variedad Syrah de 2990 mgGAE/L y para Tempranillo de 1984 mg GAE/L (Camussoni & Carnevali, 2004; Fernández *et al.*, 2007; Gortzi *et al.*, 2013; Villaño *et al.*, 2004; Salazar *et al.*, 2011; Muñoz *et al.*, 2007; Minussi *et al.*, 2003; Ginjom *et al.*, 2011; Zoecklein *et al.* 2001; Kondrashov *et al.*,2009) obteniéndose en los vinos evaluados concentraciones mayores a las concentraciones medias reportadas, puede deberse al protocolo de elaboración, como el aumento del tiempo de contacto con los hollejos, el desgaste de la madera de la bodega y así también el grado de tostado de ésta que afectara de forma significativa la composición fenólica del vino (Zoecklein *et al.* 2001).

4.2.5 Capacidad Antioxidante

Es ampliamente aceptado en la comunidad científica que el vino es una bebida con una importante respuesta antioxidante que se atribuye a sus compuestos bioactivos, especialmente fenoles (Rivero-Pérez *et al.*, 2008; Alén *et al.*, 2009). La acción antioxidante de cada fenol dependerá de la cantidad de grupos hidroxilos que presente en su estructura (Rastija & Medic, 2009).

Desde 1972 hasta la fecha, estudios epidemiológicos muestran una reducción en la mortalidad por enfermedades coronarias en personas que consumen vino en forma moderada comparada con personas abstemias (Fernández *et al.*, 2007). Uno de los primeros estudios sobre el análisis de la capacidad antioxidante del vino fue el realizado por Renaud y De Lorgeril (1992) quienes propusieron el término de “*paradoja francesa*”, al concluir en su investigación que la tasa de mortalidad por enfermedades cardiovasculares es menor en Francia que en otros países industrializados como Estados Unidos y Gran Bretaña debido a su ingesta diaria de vino tinto en la población.

Por lo que se evaluó el efecto de la variedad de uva en vinos tintos Syrah y Tempranillo donde se observó que no existió diferencia significativa ($p \geq 0.05$) por variedad, obteniendo valores aproximados a 33 mMTrolox para ambas variedades. Esta semejanza en la respuesta antioxidante puede deberse a la similitud que presentan las dos variedades tintas en su concentración fenólica total.

En la *Figura 32* se muestran los resultados obtenidos de la evaluación del efecto del añejamiento en los vinos de las dos variedades sobre la capacidad antioxidante.

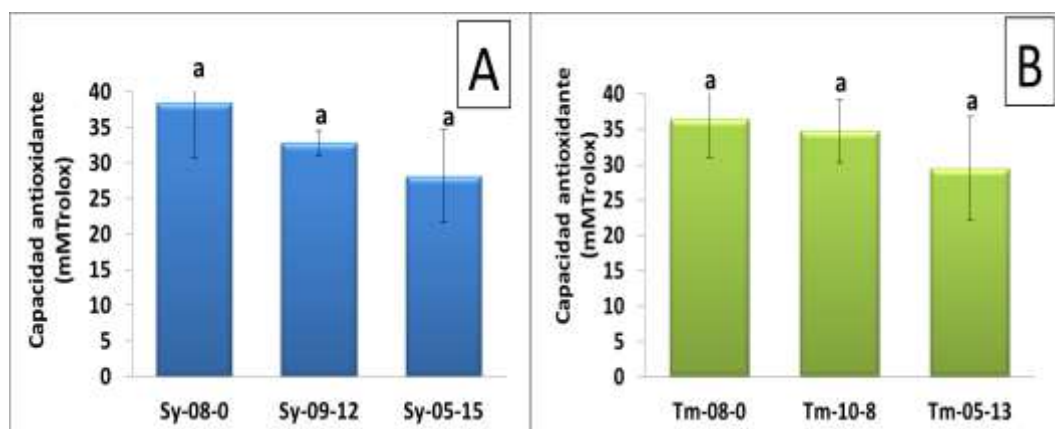


Figura 32. Capacidad antioxidante en vinos de diferentes tiempos de crianza de la variedad Syrah(A): 0, 12, 15 meses y de la variedad Tempranillo (B): 0, 8, 13 meses. Las letras diferentes en cada barra indican la diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

Como se muestra en la *Figura 32A* el efecto de los diferentes tiempos de crianza de los vinos de variedad Syrah sobre la capacidad antioxidante no presentó diferencia significativa ($p \geq 0.05$) obteniendo valores en los vinos de 0 meses de 38.46 mM Trolox, los de 12 meses de 32.83 mM Trolox y en los vinos de 15 meses de 28.1 mM Trolox, pero si se puede observar una posible tendencia a disminuir la respuesta antioxidante mientras más prolongado sea el tiempo de añejamiento del vino. En el caso de los vinos de variedad Tempranillo (*Figura 32B*) se observa una tendencia similar entre los tres tiempos de añejamiento donde no se presentó diferencia significativa ($p \geq 0.05$), obteniendo valores en los vinos de 0 meses de 36.41 mM Trolox, a los 8 meses de 34.74 mM Trolox y en los vinos de 13 meses de 29.52 mM Trolox. La tendencia a disminuir la respuesta antioxidante presentada en el añejamiento de las dos variedades, puede deberse a que no todos los compuestos fenólicos poseen la misma actividad biológica y esto dependerá del origen del fenol. Aunque la concentración de los compuestos fenólicos totales sea similar entre los tiempos de añejamiento por la transferencia que existe de compuestos fenólicos de la madera al vino, posiblemente la estructura orgánica del fenol originario de la madera, al ser más compleja, le dificultara brindar una respuesta antioxidante en el vino (Camussoni & Carnevali, 2004; Alañón *et al.*, 2011; Alén *et al.*, 2009).

Existe una gran variedad de métodos analíticos disponibles para evaluar la capacidad antioxidante *in vitro* del vino, por tal razón de esta diversidad de metodologías se ha dado lugar a resultados ampliamente contradictorios (Alañón *et al.*, 2011). Por lo que en este proyecto se utilizó el método de ABTS, que es ampliamente empleado en la gran mayoría de las investigaciones realizadas en vinos, las cuales expresan un rango de comportamiento para vinos tintos de 16.6 a 41.0 mM Trolox (Fernández-Pachón *et al.*, 2006; Pellegrini *et al.*, 2003; De Beer *et al.*, 2003; Pellegrini *et al.*, 2000; Fogliano *et al.*, 1999; Alonso *et al.*, 2002; Rivero-Pérez *et al.*, 2008; Campos & Lissi, 1996; Muñoz *et al.*, 2007) estando los valores obtenidos en el presente estudio dentro del rango reportado por los diferentes autores.

4.3 Evaluación de los parámetros fisicoquímicos en vinos tintos con diferente tiempo de crianza

4.3.1 Sólidos solubles

Los sólidos solubles, la acidez y el pH suelen ser los parámetros de referencia para la toma de decisiones operacionales dentro de la bodega y el viñedo, siendo éstos una repuesta de la

concentración de azúcares y ácidos orgánicos en el mosto. El conocimiento del contenido de sólidos solubles totales del mosto proporciona una medida de la madurez de las uvas, dando una indicación del tiempo adecuado para vendimiar y detener la fermentación alcohólica. Cuanto más alto es el contenido inicial de azúcar en el mosto, tanto mayor es el residuo no alcohólico del vino resultante (Amerine & Oughi, 1974).

Por lo que en el presente estudio se evaluó el estudio del efecto de la variedad de uva en vinos tintos Syrah y Tempranillo donde se observó que no existió diferencia significativa ($p \geq 0.05$) por variedad. El comportamiento presentado en ambas variedades puede atribuirse al control de calidad que emplea la casa productora al vendimiar sus uvas para la vinificación y detener la fermentación, siendo la concentración inicial de 22-24 °Brix presente en la uva la recomendada para comenzar la vendimia de variedades tintas (Zoecklein, 2011).

En la *Figura 33* se muestran los resultados obtenidos del estudio del efecto del tiempo de crianza en los vinos de ambas variedades sobre la concentración de sólidos solubles.

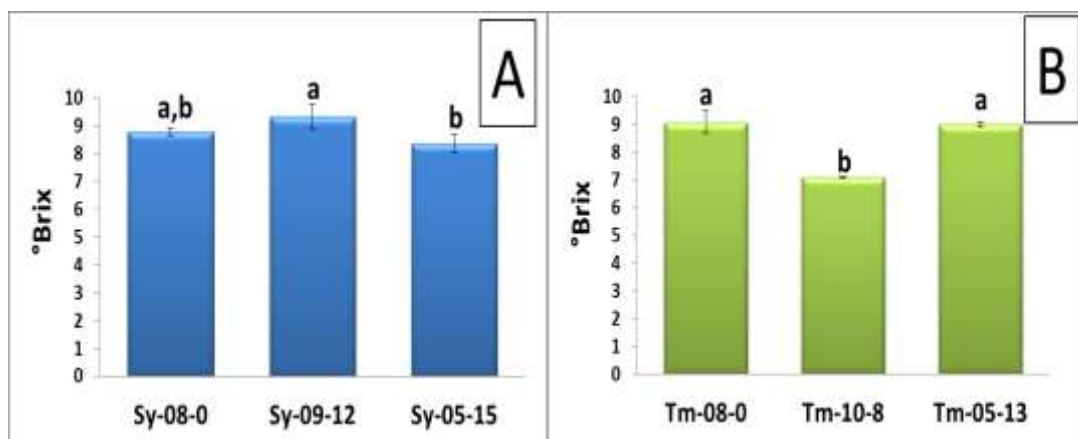


Figura 33. Contenido de sólidos solubles en vinos de diferentes tiempos de crianza de la variedad Syrah (A): 0, 12, 15 meses y de la variedad Tempranillo (B): 0, 8, 13 meses. Las letras diferentes en cada barra indican la diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

Como se puede observar en la *Figura 33A* el efecto del tiempo de añejamiento de vinos tintos de la variedad Syrah sobre el contenido de sólidos solubles, donde se presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los vinos de 15 meses con una concentración de 8.38 °Brix con respecto a los vinos de 12 meses que presentaron una concentración de 9.33°Brix, siendo estos 11% mayores a los vinos de 15 meses. La disminución de la concentración de sólidos solubles en los vinos de mayor añejamiento puede estar relacionado con las precipitaciones presentes entre las polimerizaciones

de flavonoides con azúcares reductores sucedidas durante el añejamiento en barrica siendo la medición de °Brix la relación % p/p de la muestra obtenida (Zoecklein *et al.*, 2001). De igual forma entre los diferentes tiempos de crianza de los vinos Tempranillo (*Figura 33B*) existió diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en los vinos de 8 meses con una concentración de 7.09°Brix donde se observó una disminución del 22% frente a los vinos de 0 meses que obtuvieron una concentración de 9.07°Brix. La disminución de la concentración de sólidos solubles puede ser atribuida a una falta de maduración de la uva en ese año de cosecha, a medida que son los sólidos solubles una indicación aproximada del contenido de azúcares que presenta la uva representando estos carbohidratos del 90 al 94% de los sólidos solubles totales de la uva madura (Amerine & Oughi, 1974; Zoecklein, 2001; Rankine, 1989).

4.3.2 pH

La acidez de un mosto o vino, en particular el pH, desempeña un papel importante en muchos aspectos de la elaboración del vino y la estabilidad del mismo. En los análisis dentro de la bodega el pH tiene a menudo mayor significado que la acidez total. Es particularmente por su efecto sobre los microorganismos, el color, sabor, la estabilidad de los compuestos antocianos, el potencial redox durante la elaboración y la proporción entre el dióxido de azufre libre y el combinado (Amerine & Oughi, 1974; Boulton *et al.*, 2002; Zoecklein *et al.*, 2001; Boulton *et al.*, 2002; Bordeu & Scarpa, 1998;).

Se le denomina *tampón de mezcla o buffer* en un vino a la capacidad del mosto o del vino de resistir a los cambios en el pH por la diferencia en concentraciones de los ácidos orgánicos y sales minerales. El comportamiento del pH en el vino está en función del grado de intercambio y la proporción de los principales ácidos en el tampón: ya que los ácidos málico y tartárico tienen diferente fuerza iónica y esto afectará al pH en un grado mayor de intercambio (Boulton *et al.*, 2002). Entonces en general a un pH bajo, cercano a 3, se refuerza la estabilidad de los mostos y vinos en los aspectos biológicos, ataques de bacterias, y químicos. Mientras que los vinos que tienen un pH elevado, superior a 3.4, corresponde frecuentemente a una acidez total débil que puede dar inicio a contaminaciones bacterianas en los vinos durante su añejamiento. Aunque existe la posibilidad que para vinos tintos con un pH bajo se puede perjudicar al crecimiento de las bacterias responsables de la fermentación maloláctica y este fenómeno se ve acentuado por el hecho de que cuando el pH disminuye aumenta la proporción de dióxido de azufre libre, que es la forma activa contra los microorganismo (Delanoë *et al.*, 2003).

Por lo que se evaluó en el presente trabajo el efecto de la variedad de uva en vinos tintos Syrah y Tempranillo sobre la variación del pH, donde se observó que no presentó diferencia significativa ($p \geq 0.05$) por variedad obteniendo valores cercanos a 3. La posible razón por la cual el efecto es similar en ambas variedades es porque el pH depende principalmente del grado de neutralización del ácido tartárico y su valor se verá influenciado por muchos factores incluyendo el grado de madurez de la uva durante la vendimia, la variedad de uva, el rendimiento por cosecha, la estación del año de la vendimia, la humedad del suelo durante la maduración y la composición mineral utilizable por la vid (Amerine & Ough, 1974; Boulton *et al.*, 2002; Zoecklein *et al.*, 2001; Boulton *et al.*, 2002; Bordeu & Scarpa, 1998;).

En la *Figura 34* se muestran los resultados obtenidos por la evaluación del efecto de crianza de los vinos de las dos variedades de uva sobre el pH.

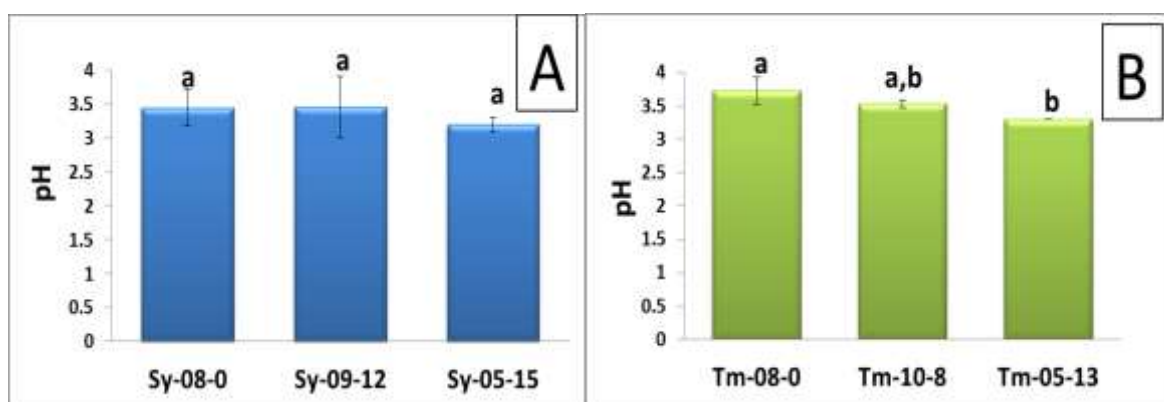


Figura 34: Evaluación del pH en vinos de diferentes tiempos de crianza con variedades de uva Syrah(A): 0, 12, 15 meses, y de la variedad Tempranillo (B): 0, 8, 13 meses. Las letras diferentes en cada barra indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

Como se muestra en la *Figura 34A* con respecto a los diferentes tiempos de crianza de los vinos de variedad Syrah no se presentó diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre los tres tiempos de crianza. El comportamiento constante del pH entre los vinos Syrah estudiados puede atribuirse a la formación de sales tartáricas, a partir del ácido tartárico, las cuales pueden precipitar durante la estancia del vino en bodega provocando un aumento del pH en algunos añejamientos de los vinos tintos (Delanoë *et al.*, 2003; Fernández *et al.*, 2009; Castillo-Sánchez *et al.*, 2008).

En el caso de los vinos tintos de variedad Tempranillo (*Figura 34B*) se observó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los vinos de 13 meses de crianza con un valor de 3.3 con respecto de los vinos de 0 meses que presentaron un valor de 3.73, siendo éstos 12% mayores con respecto de los 13 meses. La variable que más afecta en el comportamiento de la concentración de

hidrogeniones en el vino es el potasio, que es el principal catión en términos de cantidad presente en el vino, y su concentración está influenciada por la disponibilidad de este mineral en el suelo de cultivo, la humedad presente en este y el tamaño de las raíces de la vid, todos estos factores contribuirán a la absorción del potasio durante la maduración de la uva, por tal motivo se podría decir que la cosecha perteneciente a los vinos de 0 meses presentó mayores concentraciones de potasio, siendo que un aumento del 10% en la concentración de este mineral en las uvas puede determinar un cambio aproximadamente de 0.1 unidades de pH en el vino (Zoecklein *et al.*, 2001; Amerine & Oughi, 1974).

Algunas investigaciones han reportado valores de pH en vinos tintos de alrededor de 2.27 a 3.9 sugiriendo un pH óptimo de 3.3 a 3.6 para vinos de crianza teniendo la precaución de una posible contaminación por bacterias acéticas (Almanza *et al.*, 2012; Amerine & Oughi 1974; Bordeu & Scarpa, 1998; Ceppi de Lecco & Castillo, 2008; Cliff *et al.*, 2007; Cosme *et al.*, 2009; De la Cruz *et al.*, 2012; Díaz *et al.*, 2003; Fernández *et al.*, 2009; Gutiérrez *et al.*, 2005; Izquierdo *et al.*, 2008; Viguera *et al.*, 1995; Santamaría *et al.*, 1995; ; Salazar *et al.*, 2011; Tao *et al.*, 2009; Valls *et al.*, 2000).

4.3.3 Acidez Total

El contenido ácido del vino es importante desde el punto de vista del sabor e indirectamente por sus efectos sobre el pH, el color, la estabilidad y la vida media del producto. Aunque el carácter ácido de un vino se debe a la concentración de iones de hidrógeno, tanto el pH como la acidez desempeñan papeles importantes en la percepción sensorial total de este estímulo sin estos el vino tendría un sabor insípido y se estropearía fácilmente, la fermentación daría productos poco satisfactorios y los vinos tendrían un color pobre. En los vinos la acidez está dada por un conjunto de ácidos fijos y volátiles; así, por ejemplo, tenemos los ácidos tartárico, málico y cítrico provenientes de la uva y los ácidos lácticos, acéticos y succínicos entre otros provenientes de la fermentación alcohólica (Zoecklein *et al.* 2001,; Amerine & Oughi 1974; Boulton *et al.*, 2002 ; Bordeu & Scarpa, 1998).

Por lo que se evaluó el efecto de la crianza en vinos tintos Syrah y Tempranillo, donde no existió diferencia significativa ($p \geq 0.05$) por variedad obteniendo concentraciones de acidez total cercanos a 4.5 g ácido tartárico/L. El ácido tartárico está en las uvas en cantidades entre 5 y 10 g/L y es habitualmente el ácido más abundante en vinos y su concentración en el mosto de uva está ligado a los factores de región como el clima, suelo, variedad y la mano del hombre a los cuales se incorpora un nuevo parámetro que es la altura, y que es favorable para el cultivo de la vid ya que

hay mayor luminosidad y un incremento de la amplitud térmica entre el día y la noche, que son variables que favorecen notablemente al desarrollo y maduración de los ácidos orgánicos presentes en el vino (Ceppi de Lecco & Castillo, 2008; Boulton *et al.*, 2002) por lo cual se podría decir que al ser variedades tintas de la misma región tienden a expresar el mismo comportamiento en sus ácidos orgánicos.

En la *Figura 35* se muestran los resultados obtenidos del estudio del tiempo de crianza en ambas variedades tintas sobre el efecto de la acidez total.

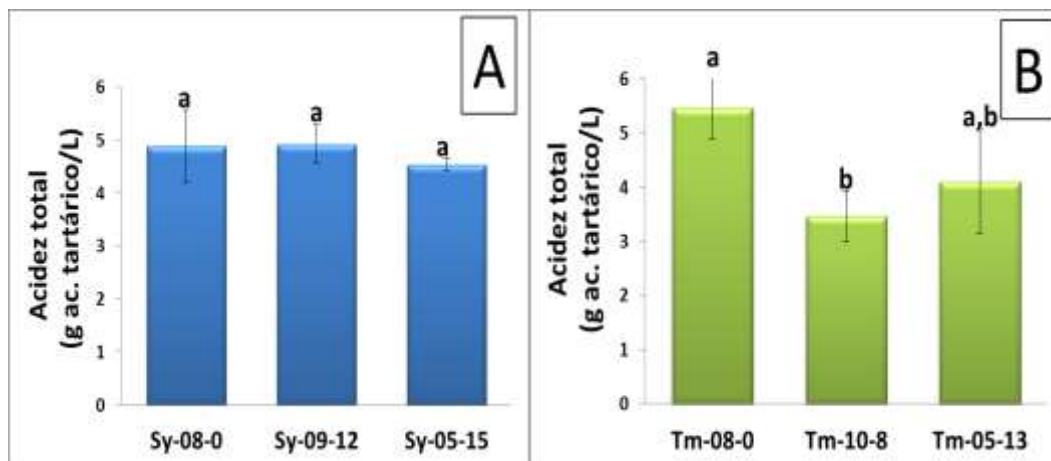


Figura 35: Contenido de acidez total en vinos de diferentes tiempos de crianza de las variedades Syrah(A): 0, 12,15 meses y de la variedad Tempranillo (B): 0, 8, 13 meses. Las letras diferentes en cada barra indican la diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

Como se muestra en la *Figura 35A* el efecto de los diferentes tiempos de añejamiento en los vinos de variedad de uva Syrah no se presentó diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre los tres tiempos de crianza obteniéndose valores entre 4.5-4.9 g ácido tartárico/L. El comportamiento similar entre los tres tiempos puede atribuirse al control que posee la casa productora sobre éste parámetro, siendo la medición de la acidez total utilizada durante las operaciones de elaboración para normalizar los vinos con el fin de tomar la decisión de la cantidad adecuada de dióxido de azufre que ha de añadirse para el control de alteraciones por bacterias (Amerine & Oughi, 1974).

En el caso de los vinos Tempranillo (*Figura 35B*) se observó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los vinos de 8 meses con un valor de 3.46 g ácido tartárico/L con respecto de los vinos de 0 meses mostrando estos un aumento del 37% frente a los vinos de 8 meses. La disminución de la acidez del vino durante su crianza puede deberse a la interacción entre factores naturales y técnicos, con respecto a los factores correspondientes a la región de cultivo, está la luz solar que pueda recibir el viñedo donde favorecerá a la síntesis de ácido tartárico a partir de glucosa por intermedio de los

ácidos galacturónico, glucurónico y ascórbico, mientras que la humedad del suelo contribuirá a la mayor absorción de potasio durante el crecimiento de la uva (Boulton *et al.*, 2002). La suma de estos factores con la estancia del vino en la bodega se pueden formar sales tartáricas favoreciendo a la disminución de la acidez total en añejamientos largos (Zoecklein *et al.* 2001).

Los resultados obtenidos se pueden comparar con diversas investigaciones, en las cuales marcan valores de acidez total para vinos tintos exponiendo un rango de respuesta de 5.3 a 8.5 g ácido tartárico/L con un promedio de valores para la variedad Syrah de 5.48-6.0 g ácido tartárico/L y para Tempranillo de 4.8 - 5.04 g ácido tartárico/L (Almanza *et al.*, 2012; Cabanillas *et al.*, 2001; Ceppi de Lecco & Castillo, 2008; Izquierdo *et al.*, 2008; Cadahía *et al.*, 2009; Fernández *et al.*, 2009; Díaz *et al.*, 2003; Monagas *et al.*, 2006; Gutiérrez *et al.*, 2005; Santamaría *et al.*, 1995; Cliff *et al.*, 2007).

4.3.4 Acidez fija

La acidez fija está formada por los ácidos no volátiles del vino siendo el ácido tartárico el más fuerte y característico de la uva, no encontrándose naturalmente en otros frutos. El conjunto de ácidos que contribuyen a la concentración de la acidez fija en los vinos son: el ácido málico, el ácido tartárico, el ácido cítrico, el ácido láctico, el ácido succínico y los ácidos inorgánicos. Las ventajas del conocimiento de la acidez fija en el caso de ciertas fórmulas enológicas utilizadas en Francia y en otros países de Europa es con el fin de detectar la adición de agua al vino (Amerine & Ough 1974; Usseglio, 1998).

El efecto de la variedad en vinos tintos Syrah y Tempranillos sobre la acidez fija no presentó diferencia significativa ($p \geq 0.05$) obteniendo concentraciones aproximadas a los 3 g ácido tartárico/L, haciendo reflejo nuevamente la influencia que tiene la región donde se cultivan estas dos variedades de uva sobre la concentración de los ácidos orgánicos que llegarán a sintetizar las uvas durante su crecimiento y maduración (Zoecklein *et al.*, 2001).

Como se muestra *Figura 36A*, en el estudio de los diferentes tiempos de crianza de los vinos de variedad Syrah no se presentó diferencia significativa ($p \geq 0.05$), con concentraciones de 2.7-3.2 g ácido tartárico/L, una posible razón que puede explicar el comportamiento de la acidez fija entre los diferentes tiempos de crianza, es el estado de madurez que presentó la uva en cada vendimia, el cual se verá reflejado en el comportamiento de los ácidos fijos del vino (ácido tartárico, ácido málico y ácido ascórbico) ya que a diferencia de la acidez volátil éstos se obtienen de forma directa a través de la maduración del fruto (Zoecklein *et al.* 2001).

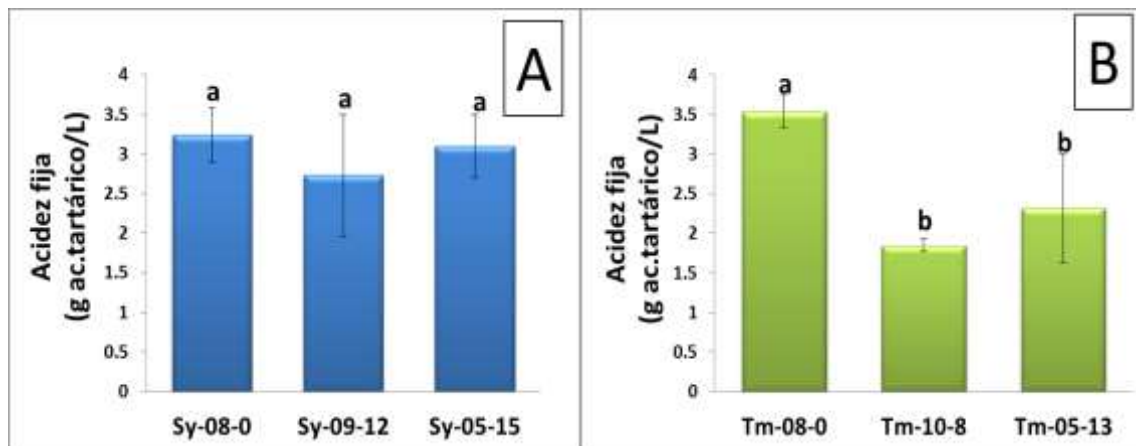


Figura 36. Contenido de la acidez fija en vinos de diferentes tiempos de crianza de las variedades Syrah(A): 0, 12,15 meses y de la variedad Tempranillo (B): 0, 8, 13 meses. Las letras diferentes en cada barra indican la diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

En el caso de los vinos de variedad Tempranillo (Figura 36B) se presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los vinos de 0 meses, mostrando un valor de 3.54 g ácido tartárico, con respecto a los vinos de 8 y 13 meses de añejamiento, siendo el vino de 0 meses 49% mayor con respecto de la concentración más baja que presentaron los vinos de 8 meses con 1.84 g ácido tartárico/L. La disminución presentada de la acidez fija puede ser causada por el proceso de fermentación maloláctica (De la Cruz *et al.*, 2012) donde al ácido málico, por consecuencia del metabolismo de las bacterias lácticas, puede disminuir su concentración en los vinos un 10-25% (Amerine & Oughi 1974; Usseglio, 1998).

Algunas investigaciones expresan resultados para vinos tintos de 2.66-4.15 g ácido tartárico/L (Santamaría *et al.*, 1995; Díaz *et al.*, 2003) estando los valores de acidez fija de ambas variedades dentro de las concentraciones reportadas.

4.3.5 Acidez volátil

La acidez volátil o *volatilidad del vino* es un término dentro de la bodega que indica la contaminación del vino por bacterias ácido acéticas de las especies *Acetobacter* o posiblemente bacterias ácido lácticas o ciertas levaduras, que oxidan el alcohol a ácido acético y éste a su éster de acetato de etilo (Rankine, 1989; Bordeu & Scarpa, 1998; Amerine & Oughi 1974; Usseglio, 1998). Durante la evaluación sensorial del vino el ácido acético actúa como un saborizante deseable a bajas concentraciones, el cual añade una complejidad al olor y sabor del vino, por lo

tanto debe existir un equilibrio en el nivel de acidez volátil de un vino porque cuando es muy alto puede llegar a conferir un sabor a vinagre muy desagradable en el vino (Almanza *et al.*, 2012).

Por lo que se estudió el efecto de la variedad de uva en vinos Syrah y Tempranillo sobre la concentración de la acidez volátil, donde no se presentó diferencia significativa ($p \geq 0.05$) por variedad obteniendo concentraciones cercanas a 1.76 g ácido acético/L. Probablemente la causa por la que se reportan dichas concentraciones de ácido acético en ambas variedades es porque algunas especies de *Saccharomyces* producen niveles significativos de ácido acético durante la fermentación alcohólica, por lo tanto el vino puede presentar analíticamente un alto nivel de acidez volátil pero puede no ser perceptible al paladar (Almanza *et al.*, 2012; Rankine, 1989).

En la *Figura 37* se muestran los resultados obtenidos del estudio de los diferentes tiempos de crianza de los vinos de ambas variedades sobre la acidez volátil.

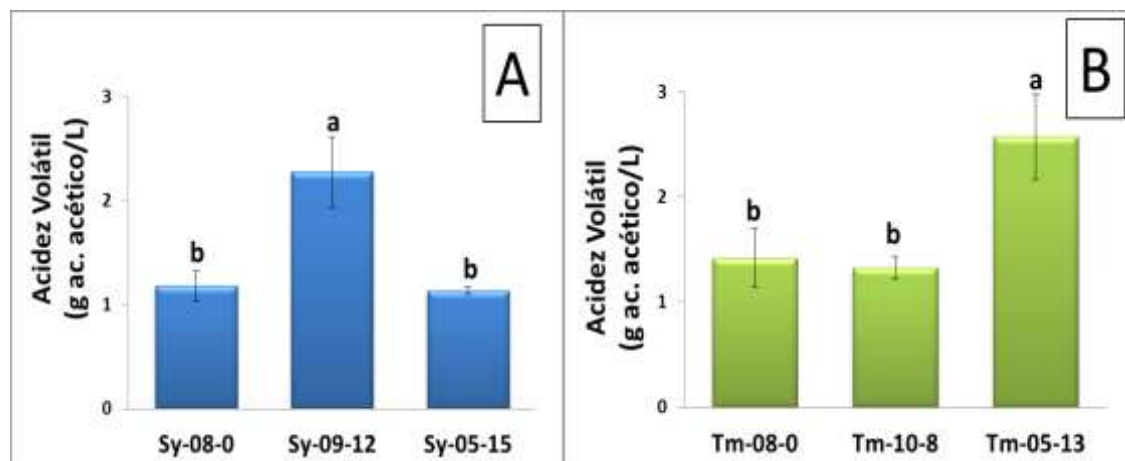


Figura 37: Contenido de acidez volátil en vinos de diferentes tiempos de crianza de la variedad Syrah (A): 0, 12, 15 meses y de la variedad Tempranillo (B): 0, 8, 13 meses. Las letras diferentes en cada barra indican la diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

Como se muestra en la *Figura 37A* el estudio de los diferentes tiempos de crianza en los vinos de variedad Syrah se presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los vinos de 12 meses de crianza con un valor de 2.27 g ácido acético/L siendo dos veces mayor con respecto a los vinos de 15 meses que presentaron un valor de 1.13 g ácido acético/L. Una posible causa a este aumento de la acidez volátil puede ser atribuida a la barrica ocupada en la crianza de estos vinos, por el hecho de que la hemicelulosa de la madera contiene grupos acetilados que son liberados durante el proceso de tostado de las duelas, lo que implica que las barricas de roble nuevas siempre

incrementen ligeramente la acidez volátil en su primer contacto con el vino y no por una contaminación bacteriana durante el añejamiento (Cabanillas *et al.*, 2001).

En el caso de los vinos Tempranillo (*Figura 37B*) se observó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los vinos de 13 meses con un valor de 2.57 g ácido acético/L con respecto a los vinos de 0 y 8 meses que presentaron valores de 1.42 g ácido acético/L y 1.32 g ácido acético/L respectivamente, siendo la concentración reportada en los vinos de 13 meses 2 veces mayor a los vinos de 0 meses. Este hecho puede deberse a varios factores, una de ellos es que el ácido cítrico puede transformarse en ácido acético por medio de la ruta metabólica de la fermentación maloláctica (Rankine, 1989), otros factores son el pH, azúcar, nitrógeno disponible y temperatura de fermentación que favorecerán a la concentración de ácido acético en el vino (Zoecklein *et al.* 2001; Bartowsky & Henschke, 2008) y por último la más común es la contaminación microbiológica durante el añejamiento por bacterias del ácido acético que su crecimiento se verá favorecido por la permeabilidad del oxígeno a través de la bodega, siendo estas bacterias organismos aerobios (Zoecklein *et al.* 2001; Bartowsky & Henschke, 2008).

De acuerdo con algunas investigaciones realizadas por diversos autores el rango óptimo de la concentración de acidez volátil de los vinos tintos debe ser de 0.25 a 0.71 g ácido acético/L (Gutiérrez *et al.*, 2005; Santamaría *et al.*, 1995; OIV, 2012; Cabanillas *et al.*, 2001; Tao *et al.*, 2009). Mientras que los límites para este parámetro en Estados Unidos es de 1.4 g ácido acético/L, en el comercio chileno es de 1.5 g ácido acético/L y para la Organización Internacional de la Viña y el Vino el valor óptimo es de 0.98 g ácido acético/L (Bartowsky & Henschke, 2008), los resultados obtenidos son mayores y se puede atribuir tal efecto a que el vino no siempre es filtrado y pasteurizado antes de embotellarse en especial el vino tinto, lo cual provoca que existan poblaciones de bacterias de la familia *Acetobacteraceae* ($< 10^3$ ufc/mL) que pueden contribuir a un posible avinagramiento en botella (Rankine, 1989; Bordeu & Scarpa, 1998).

4.3.6 Dióxido de azufre total

La utilización de dióxido de azufre, como agente antiséptico en vinos, es de un origen muy remoto en la viticultura. El SO_2 se utiliza ampliamente en el vino y en industrias alimenticias como antioxidante químico y como inhibidor del crecimiento de bacterias y levaduras indeseables durante la vinificación y la acción de la enzima polifenoloxidasas que puedan oscurecer el producto. El papel antioxidante del SO_2 que ejerce en el mosto y en el vino radica en su competencia con el oxígeno por los grupos químicos susceptibles, inhibiendo algunas reacciones de oxidación

causadas por el oxígeno molecular (Fernández *et al.*, 2009; Zoecklein *et al.*, 2001; Amerine & Oughi 1974; Rankine, 1989).

Actualmente la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) de Estados Unidos determinó que la presencia de sulfitos en los alimentos podrían representar un problema para la salud de determinados individuos asmáticos, por lo que la Oficina de Alcohol, Tabaco, Armas de Fuego y Explosivos (BATF) de Estados Unidos estableció en 1987 regulaciones que obligan a indicar en las etiquetas de los alimentos la presencia de sulfitos en las bebidas alcohólicas a concentraciones superiores a 10mg/L. Hasta la fecha, sólo se pueden utilizar en la elaboración de vinos el dióxido de azufre o las sales que lo producen en disolución ácido el ácido sórbico o los sorbatos y sus cantidades están controladas directamente (Amerine & Oughi, 1974; Zoecklein *et al.*, 2001). La cantidad de dióxido de azufre que se añada al mosto dependerá de la variedad de uva, cantidad de compuestos azufrados provenientes de las uvas, la cepa de la levadura, el estado de oxidación-reducción del vino y la temperatura de fermentación (Zoecklein *et al.* 2001).

Por lo que se evaluó el efecto de la variedad de uva en vinos tintos Syrah y Tempranillo, en los cuales no se presentó diferencia significativa ($p \geq 0.05$) por variedad obteniendo valores para los vinos Syrah de 79.86 mg/L y para Tempranillo de 83.12 mg/L. Probablemente la razón por la cual sean bajas las concentraciones de dióxido de azufre en los vinos de ambas variedades, es por el metabolismo de la cisteína y metionina por acción de la levadura que puede liberar sulfitos que contribuyan a la concentración de SO_2 total, provocando que no se tenga que añadirse altas concentraciones de dióxido de azufre a los vinos (Zoecklein *et al.* 2001).

Como se muestra en la *Figura 38A* el efecto de diferentes tiempos de añejamiento de los vinos tintos de variedad Syrah donde no presentó diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre los tres diferentes tiempos de crianza, una probable razón por la cual sean tan similares ambas concentraciones es porque a la fecha estos vinos son exportados y la concentración máxima de dióxido de azufre total permitida por la Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV) es de 150 mg/L y para la Oficina de Alcohol, Tabaco, Armas de Fuego y Explosivos (BATF) de Estados Unidos es de 350 mg/L (Amerine & Oughi, 1974).

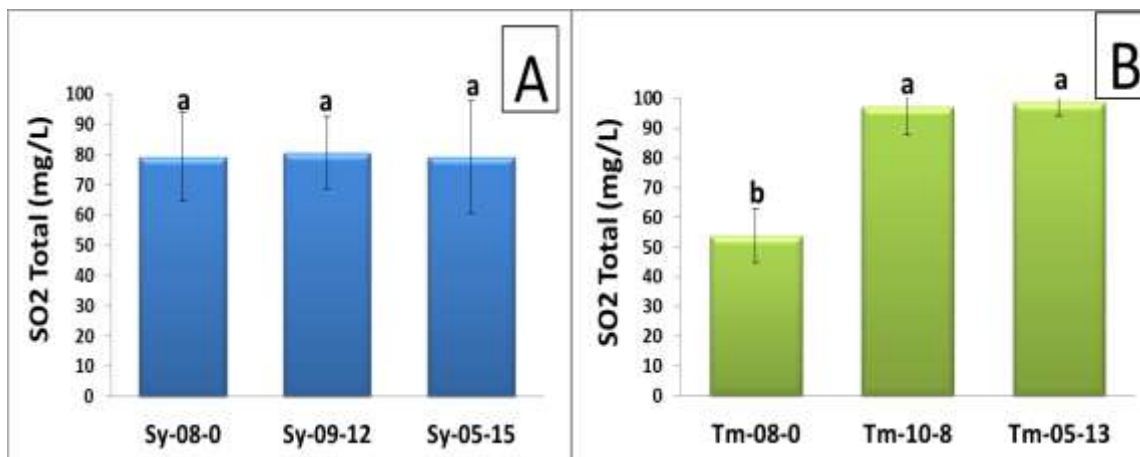


Figura 38: Contenido de dióxido de azufre total en vinos de diferentes tiempos de la variedad Syrah(A): 0, 12,15 meses y de la variedad Tempranillo (B): 0, 8, 13 meses. Las letras diferentes en cada barra indican la diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

En el caso de los vinos de variedad Tempranillo (*Figura 38B*) se presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los vinos de 0 meses con un valor de 53.76 mg/L siendo éste 46% menor con respecto de los vinos de 8 y 13 meses de crianza. Probablemente la razón de obtener una concentración baja de dióxido de azufre total en los vinos de 0 meses, es por ser vinos que no se llevaron a un proceso de añejamiento en barrica y por lo cual no se tuvo que aumentar la concentración de este compuesto químico, ya que el dióxido de azufre tiene un efecto antifúngico que puede inhibir el crecimiento de bacterias durante el añejamiento (Zoecklein *et al.*, 2001).

De acuerdo a la bibliografía consultada los resultados obtenidos en los vinos evaluados son aceptables dentro del margen que establece la Organización Internacional del Vino y la Viña con un máximo permitido de 150mg/L y la Regulación de la Unión Europea dicta que los vinos deben ser etiquetados si presentan concentraciones mayores a 10mg/L (Amerine & Oughi 1974; OIV, 2012; Tao *et al.*, 2009; European Union Regulation 1991/2004; Salaha *et al.*, 2008).

4.3.7 Dióxido de azufre libre

Cuando el dióxido de azufre se adiciona a un vino tiene lugar un equilibrio entre sus formas moleculares de bisulfito y sulfito. El SO_2 ligado en el vino se le conoce al dióxido de azufre que se polimeriza con compuestos orgánicos presentes en el vino y tiene este poco efecto inhibitor sobre la mayoría de las levaduras y bacterias, mientras que la forma molecular del dióxido de azufre libre es el agente microbiano más importante, porque inhibe el crecimiento de levaduras perjudiciales como la especie *Brettanomyces* (Rankine, 1989).

Por lo cual se evaluó el efecto de la variedad de uva en vinos tintos Syrah y Tempranillo donde no se presentó diferencia significativa ($p \geq 0.05$) por tipo de uva, obteniendo concentraciones cercanas a 49 mg/L. La similitud entre las concentraciones de dióxido de azufre libre entre ambas variedades puede deberse porque en la industria vitivinícola existe una tendencia a reducir las concentraciones del uso de dióxido azufre hasta después de la fermentación alcohólica y maloláctica, no sólo por consideraciones sanitarias sino también estilísticas siendo en algunas ocasiones perjudicial la presencia de estos compuestos durante la degustación del vino (Zoecklein *et al.*, 2001) En la *Figura 39* se muestran los resultados obtenidos del estudio del efecto de los diferentes tiempos de crianza en los vinos de ambas variedades sobre el dióxido de azufre libre.

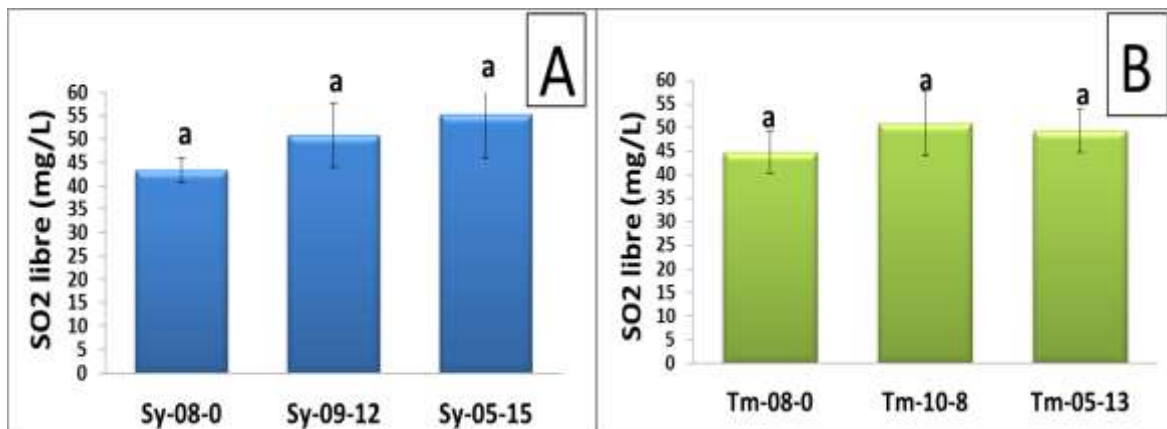


Figura 39. Contenido de dióxido de azufre libre en vinos de diferentes tiempos de crianza de la variedad Syrah (A): 0, 12,15 meses y de la variedad Tempranillo (B): 0, 8, 13 meses. Las letras diferentes en cada barra indican la diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

Como se muestra en la *Figura 39A* y *39B* se observa que entre los tres tiempos de añejamiento de los vinos tintos Syrah y Tempranillo no presentaron diferencia significativa ($p \geq 0.05$), pero sí se puede observar una tendencia a aumentar la concentración de dióxido de azufre libre en ambos casos conforme aumenta el tiempo de añejamiento de los vinos. Una posible causa de este comportamiento es la interacción que sucede entre el dióxido de azufre total y el pH de los vinos, ya que a un mayor valor del pH en los vinos mayor será la concentración de dióxido de azufre que se tenga que añadir para que la protección contra contaminaciones bacterianas sea más efectiva (Rankine, 1989).

De acuerdo a diferentes investigaciones consultadas se expone un margen óptimo de concentración de dióxido de azufre libre en los vinos tintos para evitar la contaminación

microbiana y un posible blanqueamiento de antocianos por bisulfito es de 22-30 mg/L, mientras que los valores obtenidos en el estudio son mayores posiblemente debido a la interacción entre el SO₂ total y el pH del vino, la cual puede producir que aumente la concentración de dióxido de azufre libre (Cabanillas *et al.*, 2001).

4.4 Análisis sensorial en vinos tintos con diferente tiempo de crianza

La cata se asienta como la ciencia más amplia en la interpretación y medida de las sensaciones que se producen al degustar con atención un producto cuya calidad queremos apreciar y lo sometemos a nuestros sentidos del gusto (sabores y sensaciones táctiles) y del olfato (olor y aroma); buscando sus defectos y cualidades (Peynaud & Blouin, 2002; Etaio *et al.*, 2007).

En las empresas vitivinícolas donde comienza a desarrollarse los “paneles” de control de calidad, éstos ejercen principalmente una misión gustativa de los aspectos cualitativos de la calidad final del vino (Peynaud & Blouin, 2002; Etaio *et al.*, 2007).

Aunque se ha demostrado que la evaluación sensorial presenta una dificultad asociada a la variabilidad en las respuestas del instrumento de medida utilizado, esto es, los órganos de los sentidos del catador. La percepción de un mismo estímulo no es igual para todas las personas. Es más, un mismo estímulo presentado en diferentes momentos puede ser percibido con diferente intensidad por un mismo individuo, debido a múltiples factores fisiológicos y psicológicos. Para evitar resultados empíricos en la evaluación sensorial se debe formar un grupo de catadores por medio de diferentes criterios y metodologías (Etaio *et al.*, 2007).

En la *Figura 40* se presenta el análisis secuencial realizado a los 19 panelistas mediante un entrenamiento con 20 pruebas discriminativas que permitió la selección de 15 catadores que se comportaron de una manera codificada en la degustación propia, para la realización del análisis descriptivo cuantitativo.

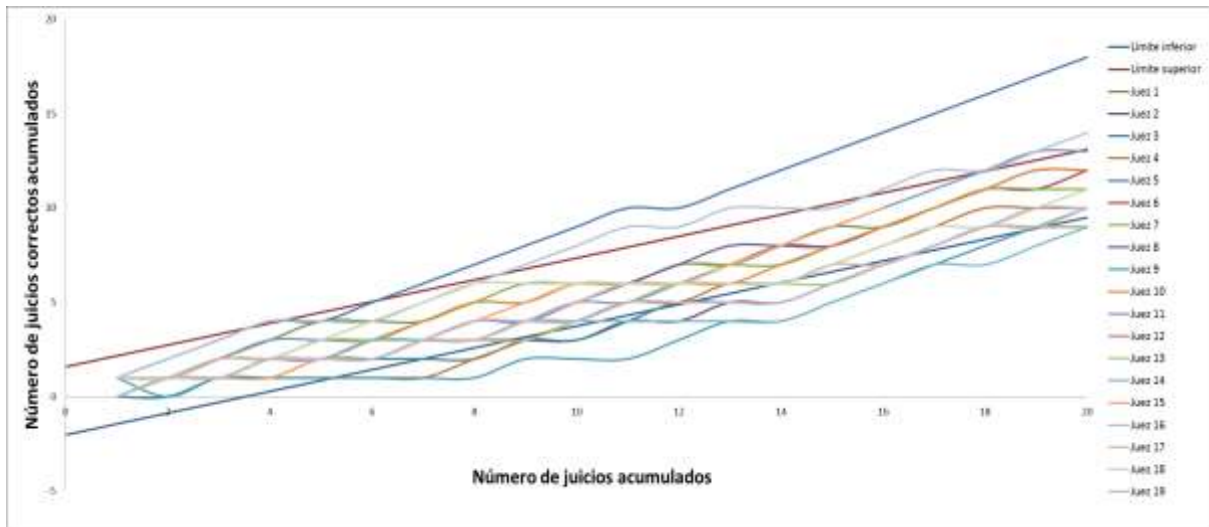


Figura 40. Análisis secuencial aplicado a los panelistas.

Dentro de la evaluación sensorial existen multitud de pruebas, diferentes entre sí en función del objetivo buscado, las cuales presentan tres aspectos relevantes: armonización *de criterios*, objetivación *de la evaluación y especificidad*. Siendo el análisis sensorial descriptivo cuantitativo el que tiene especial relevancia en el momento de cuantificar los estímulos que se perciben en los alimentos (Etaio *et al.*, 2007). A continuación en la *Figura 41 y 42* se muestra el análisis descriptivo cuantitativo realizado por el panel de jueces semientrenados a los vinos tintos Syrah y Tempranillo con diferentes tiempos de crianza.

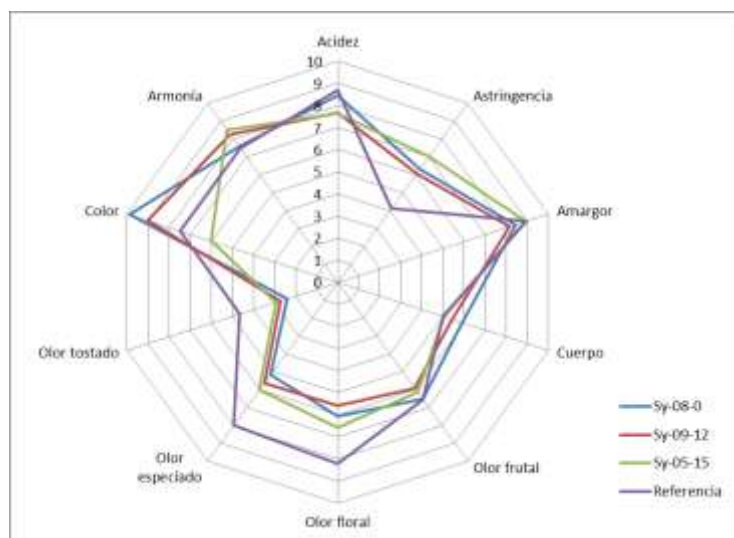


Figura 41. Análisis descriptivo cuantitativo de los vinos de variedad Syrah con diferentes tiempos de crianza: 0, 12 y 15 meses.

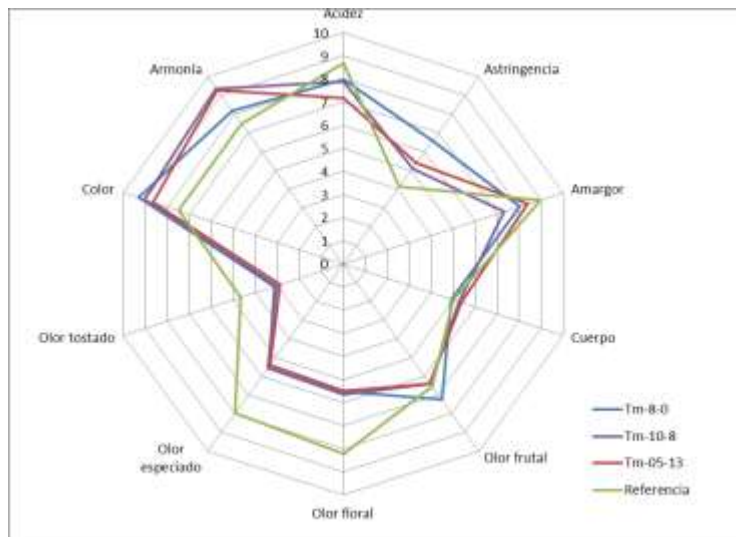


Figura 42. Análisis descriptivo cuantitativo de los vinos de variedad Tempranillo con diferentes tiempos de crianza: 0, 8 y 13 meses.

- **Color**

El color del vino puede ser indicador útil de calidad, estilo y variedad de uva, pero desafortunadamente también puede proporcionar falsas pistas y malos prejuicios sobre el vino. Por ejemplo, de un vino con matices muy violáceos podemos esperar que predominen olores y aromas frutales, mientras que un vino con una gran intensidad de color es bastante probable que presente mucho o bastante cuerpo y posea una notable astringencia; mientras que un vino con poca intensidad de color y tonalidades anaranjados llevará a pensar que se trata de un vino bastante viejo del que se puede esperar incluso olores a oxidación (Etaio *et al.*, 2007; Jackson, 2009).

Como se muestra en la *Figura 41* de acuerdo con la calificación que le asignaron los jueces a la cualidad del color, en los vinos tintos Syrah todos los tiempos de añejamiento presentaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con respecto a la referencia marcada, siendo los vinos de 0 meses los que presentaron un mayor calificación mientras que los vinos de 15 meses fueron los de menor puntaje en la cata. Esto puede deberse a que los vinos de 15 meses en comparación con los vinos de 0 y 12 meses, fueron los que presentaron menor intensidad colorante y mayor tonalidad presentando mayor avance del matiz amarillo frente al rojo en los vinos. Las causas que provocan el cambio de la intensidad del color en un vino son diversas, siendo las reacciones de oxidación, condensación y polimerización en las cuales los fenoles se involucran y son las responsables de la

continua evolución de la cromaticidad del vino formando polímeros de colores pardos. Por tal motivo en vinos de mayor crianza el nivel de pigmentos amarillentos aumenta y el impacto de las antocianos monoméricos de color rojo disminuyen (González, 2002; Jackson, 2009).

En la evaluación sensorial del color en los vinos Tempranillo (*Figura 42*) los tres tiempos de crianza presentaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con la referencia, siendo los vinos de 0 meses los que obtuvieron mayor calificación y los vinos de 13 meses los de menor puntaje. Una posible razón por la que los vinos de 0 meses son los de mayor calificación es que fueron los que presentaron mayor concentración de antocianos y mayor intensidad colorante en comparación con los vinos de 8 y 13 meses. El color del vino está en función de la concentración de antocianos, los cuales vendrán determinados por diversos factores como la materia prima, factores de elaboración y el envejecimiento del vino. En la mayoría de las uvas tintas, la malvidina es el antociano predominante y debido a que es la más roja de las antocianinas, el tono rojo de la mayoría de los vinos tintos jóvenes proviene de este compuesto (González, 2002; Etaio *et al.*, 2007; Jackson, 2009).

- **Acidez**

El gusto ácido también se conoce como gusto electrolítico, donde los componentes activos son los cationes solubles o los H^+ libres para el caso de la acidez, que cambian la polaridad de la membrana de la célula receptora de las papilas gustativas, disparando la señal que viaja a través de las neuronas hasta el cerebro, donde se traduce la señal en sensaciones gustativas (Palacios, 2005).

Por lo que se evaluó el efecto de los diferentes tiempos de crianza en la percepción de la acidez del vino en los vinos tintos Syrah (*Figura 41*) donde no se observó diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en la evaluación de los vinos de 0, 12 y 15 meses con respecto de la referencia. Una posible causa de obtener la misma percepción de acidez entre los tres tiempos de crianza es que los vinos no presentaron diferencia significativa en la evaluación de los parámetros de acidez total y pH. La concentración de los ácidos orgánicos, importantes en la percepción de la acidez, se ve relacionada con factores naturales y tecnológicos que lograrán que se exprese mejor el sabor ácido del vino (Jackson, 2009; Palacios, 2005).

En el caso de los vinos Tempranillo (*Figura 42*) se presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) solamente entre los vinos de 13 meses con respecto a la referencia, siendo estos vinos los de menor calificación asignada por los jueces durante la cata. Una posible razón de obtener el menor puntaje se puede atribuir a que los vinos de 13 meses fueron los que mostraron menor valor de

pH, valores altos de azúcares reductores y una baja concentración de acidez fija en comparación con los vinos de 0 y 8 meses. Las dos causas probables que provocan el cambio en la percepción de acidez en un vino son: la disminución de la concentración del ácido málico en el vino siendo este ácido el que presenta mayor sabor (Jackson, 2009; Palacios, 2005) y la interferencia provocada por la percepción del dulzor en el vino que viene determinado principalmente por el etanol y los azúcares reductores (Etaio *et al.*, 2007).

- **Astringencia**

La astringencia se refiere al conjunto de sensaciones táctiles producidas por los polifenoles del vino descritas como sequedad, rigidez y aspereza en boca. A diferencia del dulzor, acidez y amargor, la astringencia no es un sabor, es una sensación trigeminal ya que está mediada por el nervio trigémino y se percibe en el epitelio bucal principalmente en la lengua, en la parte interior de las mejillas y parte interna de los labios. Esta sensación es de aparición algo más tardía que el dulzor y la acidez, y se puede mantener durante largo tiempo y puede durar hasta 15 segundos antes de alcanzar la intensidad máxima (Etaio *et al.*, 2007; Jackson, 2009).

El efecto de los diferentes tiempos de crianza de vinos tintos Syrah (*Figura 41*) en la percepción de la astringencia presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los tres tiempos de crianza con respecto a la referencia marcada. Siendo los vinos de 15 meses los que presentaron mayor calificación asignada por los jueces y los vinos de 12 meses los de menor puntaje durante la cata. Una posible razón por la que los vinos de 15 meses presentaron mayor calificación puede ser debido a que fueron los que presentaron una concentración media de taninos. Conforme aumenta la polimerización de los compuestos durante el envejecimiento de los vinos, la complejidad de las interacciones se incrementa y se ha encontrado que diversamente pueden aumentar o disminuir la percepción de la astringencia, mientras que otros estudios indican que el cambio de viscosidad inducido por la presencia de azúcares es lo que modifica la sensación de astringencia más que el aumento del dulzor (González, 2002; Etaio *et al.*, 2007; Palacios, 2005; Jackson, 2009).

En el caso de los vinos Tempranillo (*Figura 42*) se presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los tres tiempos de crianza con respecto a la referencia, siendo los vinos de 0 meses los que presentaron mayor calificación por los jueces durante la cata. Los vinos de 0 meses fueron los que durante el estudio presentaron mayor valor de pH y una concentración mayor de taninos totales en comparación con los vinos de 8 y 13 meses. Diversos estudios ponen de manifiesto que la astringencia de los vinos está relacionada con la presencia de sustancias fenólicas, entre las que destacan los flavonoides y especialmente los derivados de flavan-3-ol o taninos condensados que

proviene de semillas y la piel de la uva los que presentan mayor astringencia (González, 2002), otro efecto importante que influye en la astringencia es el pH, donde la concentración de los iones de hidrógeno afectan la hidratación de proteínas y la ionización tanto del fenol y proteína reduciendo las propiedades lubricantes de la saliva potenciando la astringencia en boca (Jackson, 2009; Palacios, 2005).

- **Amargor**

El sabor amargo que presenta un alimento y en este caso el vino, se debe a la formación de fuerzas de Van der Waals o puentes de hidrógeno con las proteínas de la membrana de las células sensoriales, que actúan como receptores de las papilas gustativas. La mayoría de los compuestos fenólicos de sabor amargo se detectan en la parte posterior del centro de la lengua y la mayoría de estos compuestos provocan simultáneamente una sensación de astringencia (Etaio *et al.*, 2007; Palacios, 2005; Jackson, 2009).

Como se muestra en la *Figura 41* el efecto de los diferentes tiempos de crianza de vinos tintos Syrah en la percepción de amargor atribuida por los jueces va disminuyendo conforme avanza el tiempo de añejamiento, siendo el vino de 12 meses el único que presentó diferencia ($p \leq 0.05$) significativa con respecto de la referencia marcada por los jueces. La calificación de amargor asignada por los jueces a los vinos de 12 meses fue la menor durante la cata, razón que puede ser atribuida a que estos vinos reportaron una disminución en la concentración de antocianos y taninos totales durante su estudio. Conforme aumenta el tiempo del vino en la bodega se incrementan las polimerizaciones entre compuestos fenólicos simples, siendo la combinación entre los compuestos de antocianos y taninos la que presenta una marcada amargura sobre todo en los vinos de crianza media, cuando todavía se está modificándose su estructura (Clarke & Bakker, 2004).

El comportamiento en los vinos de variedad Tempranillo (*Figura 42*) fue similar a los vinos Syrah, siendo los vinos de crianza media en este caso los de 8 meses los que presentaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con respecto de la referencia. Los vinos de 8 meses fueron los que mostraron en el estudio mayor concentración de antocianos y una concentración media de taninos con respecto de los vinos de 0 y 13 meses. Al ser los vinos de mayor concentración de antocianos totales indica que se llevó posiblemente una mayor extracción de compuestos fenólicos durante su elaboración, siendo la amargura de los vinos una característica relacionada con un exceso en la extracción de compuestos provenientes de la piel de uva, junto con un sabor herbáceo si se cosechan uvas no tan maduras (Clarke & Bakker, 2004)

- **Cuerpo**

El cuerpo hace referencia a la intensidad de las sensaciones sápidas y táctiles del vino, debidas al etanol, taninos, extracto seco y otros elementos sápidos. A pesar de la importancia del cuerpo en la calidad del vino su origen preciso sigue sin estar claro (Jackson, 2009; Etaio *et al.*, 2007).

Como se muestra en las *Figuras 41 y 42* el efecto de los diferentes tiempos de crianza en los vinos tintos Syrah y Tempranillo sobre la percepción del cuerpo del vino, no presentó diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre los tres tiempos de crianza con respecto a la referencia, lográndose percibir que el cuerpo aumenta ligeramente conforme mayor es el tiempo de crianza en ambas variedades. Tal comportamiento puede deberse a la concentración de azúcares que contienen los vinos, obteniendo en la evaluación de los vinos Syrah una concentración de azúcares reductores similar entre los tres tiempo de añejamiento no presentando diferencia significativa ($p \geq 0.05$) mientras que en los vinos Tempranillo si existió diferencia significativa entre las concentraciones de azúcares reductores de los tres tiempos de crianza. En los vinos, el cuerpo se ve principalmente correlacionado con la cantidad de azúcar, concentración de alcohol y la sinergia que pueda existir entre ambos. Aunque también el glicerol puede aumentar la percepción del cuerpo, su concentración normal suele ser demasiado baja para tener un efecto apreciable (Jackson, 2009; Etaio *et al.*, 2007).

- **Olor Frutal y Floral**

El olor y aroma son las sensaciones percibidas por los receptores olfativos cuando las sustancias volátiles (ésteres, aldehídos, cetonas) llegan a los receptores olfativos por vía directa o retronasal, es decir, por detrás del paladar. Allí interaccionan con sus receptores específicos enviando a través de un sistema neuronal una señal al cerebro, donde es decodificada, de forma que somos conscientes de esa sensación. No existe una definición precisa de lo que está constituido un compuesto olfativo y pueden ser generados por compuestos individuales o ser la reacción global a muchos compuestos químicos (Jackson, 2009; Etaio *et al.*, 2007).

Las variedades Syrah y Tempranillo son uvas que producen vinos con expresiones florales y frutales. Entre los compuestos químicos responsables de estos aromas destacan diversos aldehídos (aldehído feniletílico, aldehído fenilpropiónico), alcoholes (2-fenil-etanol), terpenos (geraniol y linalol) y cetonas (β -ionona y β -damascenona) (Etaio *et al.*, 2007).

Por lo cual se evaluó el efecto del tiempo de crianza en vinos tintos Syrah sobre la percepción de aromas frutales como se muestra en la *Figura 41*, donde no se presentó diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre los tres tiempos de crianza con respecto a la referencia marcada, siendo los vinos

de 0 meses los que obtuvieron mayor calificación atribuida por los jueces durante la cata. De igual forma en el caso de los vinos Tempranillo (*Figura 42*) el efecto de la crianza presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) únicamente en los vinos de 0 meses con respecto a la referencia. En ambas variedades los vinos jóvenes (0 meses) presentaron mayor concentración de fenoles totales, acidez total y una concentración media de azúcares reductores durante el estudio. Una posible respuesta para este comportamiento, es que la relación de la intensidad de olor en vinos jóvenes está determinada por la variedad de uva, calidad de uva, grado de maduración, temperaturas de fermentación, levaduras utilizadas y evolución del vino (Etaio *et al.*, 2007) y otra razón puede atribuirse al grupo de azúcares presentes en los vinos, que son de vital importancia para las propiedades sensoriales, ya que están implicadas en los componentes conjugados del aroma del vino; por ejemplo, los monoterpenos pueden estar unidos a glucósidos de disacáridos o como α -L-arabinofuranosil- β -D-glicopiranosidos o α -L-ramnofuranosil- β -D-glicopiranosidos responsables de las notas frutales en los vinos tintos (Zoecklein *et al.* 2001).

En el estudio de la percepción de las notas florales en vinos tintos Syrah (*Figura 41*) con diferentes tiempos de crianza, se presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los tres tiempos de crianza (0, 12 y 15 meses) con respecto de la referencia, siendo los vinos de 15 meses los que presentaron mayores notas florales de acuerdo a la calificación atribuida por los catadores. Una posible respuesta a este efecto es que la evolución del contenido de linalol (nota a violeta) del vino aumenta durante los primeros 6 meses, mientras que la β -damascenona y la β -ionona aumentan su contenido en el vino en función del tiempo tanto en depósito de acero inoxidable como en bodega alcanzando un máximo a los 12 meses de crianza (Palacios, 2005).

En el caso de los vinos Tempranillo (*Figura 42*) los vinos de 0, 12 y 13 meses presentaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con respecto a la referencia, siendo los vinos jóvenes (0 meses) los que presentaron mayor calificación atribuida por los jueces. Este comportamiento puede deberse a que los compuestos volátiles responsables de estas notas (β -damascenona, α - y β -ionona) derivan de la degradación hidrolítica de los carotenoides durante la fermentación alcohólica, por tal razón la madurez que presente la uva durante su cosecha influirá en las notas florales que presente el vino durante su degustación (Jackson, 2009).

- **Olor especiado y tostado**

La madera no es un material inerte, sino un producto natural que contiene entre otras sustancias aromas y compuestos fenólicos no volátiles que son responsables de los cambios que experimenta el aroma del vino durante su crianza y existen muchas preguntas todavía sin respuesta, entre ellas

algunas son: el papel sensorial de algunos de los compuestos o familias de compuestos que cede la madera, las diferencias de comportamiento de las barricas de roble según su especie-origen, el secado de la madera, tostado y su volumen (Palacios, 2005).

Por lo cual se evaluó el efecto del tiempo de crianza en vinos tintos Syrah (*Figura 41*) en la percepción del olor especiado, donde se presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los tres tiempos de crianza con respecto de la referencia marcada. Siendo los vinos de 15 meses los que presentaron mayor puntaje en la cata realizada por los jueces. Diferentes investigaciones han identificado que son los sequiterpenos y rotundona la fuente del aroma a pimienta en los vinos Syrah. Existiendo durante el envejecimiento un cambio en los tipos y proporciones de terpenos que se encuentran en los vinos de esta variedad (Jackson, 2009).

En el caso de los vinos Tempranillo (*Figura 42*) se presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los vinos de 0, 8 y 13 meses con respecto de la referencia, siendo los vinos de 8 meses de crianza los que presentaron mayor calificación por los jueces. Los aromas especiados que adquieren los vinos de crianza puede deberse a los ésteres hidroxicinámicos generados durante la fermentación alcohólica o en la barrica y por sus derivados vinilfenoles y etilfenoles los que pueden donar olores especiados, siendo el eugenol el principal compuesto que puede atribuir un olor a clavo en los vinos de crianza (Jackson, 2009).

Como se muestra en la *Figura 41*, el efecto de la crianza de los vinos Syrah sobre la percepción de las notas a tostado presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los tres tiempos estudiados con respecto a la referencia, siendo los vinos de 15 meses los que presentaron mayor presencia de estas notas de acuerdo con los jueces. Este comportamiento puede deberse a que los vinos con crianza en barrica presentan compuestos responsables del olor a madera los cuales son diversas lactonas y algunos fenoles. Entre los fenoles volátiles más característicos en los vinos de crianza producidos por del tostado de la barrica y la degradación térmica de la lignina, es el guayacol que cede un olor a humo en el vino (Palacios, 2005; Jackson, 2009; Etaio *et al.*, 2007).

En el caso de los vinos Tempranillo (*Figura 42*) los vinos de 0, 8 y 13 meses presentaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con respecto a la referencia marcada, siendo los vinos de 0 meses los que presentaron mayor puntaje por los jueces durante su evaluación. Una posible respuesta a la presencia de notas tostadas en los vinos jóvenes puede ser atribuida a la producción de cetonas durante la fermentación alcohólica, como el diacetilo que a bajas concentraciones pueden tener un significado sensorial a tostado, mantequilla y nuez (Jackson, 2009).

- **Armonía o equilibrio**

La noción de equilibrio o armonía es muy interesante desde el punto de vista gustativo de los vinos, pero sumamente complejo. Para que un vino tenga un buen sabor y por consecuencia un buen equilibrio, hace referencia al grado en el que el dulzor (debido al alcohol y glicerol principalmente) compensa la acidez, la astringencia y el amargor (Etaio *et al.*, 2007; Palacios, 2005). Mientras que el término equilibrio de aromas o *bouquet* que presenta un vino es mucho más que la suma de sus olores y son construcciones cerebrales dentro de cada catador. Conociendo el carácter varietal de un vino se induce la búsqueda de estímulos sensoriales propios de la uva para que coincida con las expectativas y dependiendo del grado de ajuste los catadores, se tienen diferentes grados de éxito durante la cata (Jackson, 2009)

Por lo cual se evaluó la armonía que expresaron los vinos Syrah con diferentes tiempos de crianza (*Figura 41*), donde se presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los vinos de 12 y 15 meses con respecto a la referencia, siendo los vinos de 15 meses los que de acuerdo con los catadores presentaron mayor equilibrio entre sus componentes. En el caso de los vinos Tempranillo (*Figura 42*) fueron los vinos de 8 y 13 meses los que presentaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con respecto de la referencia, siendo para los jueces los vinos de 8 meses los que presentaron mayor armonía.

Los vinos escogidos por los catadores que mostraron mayor armonía, nos da una posible referencia de las preferencias del paladar mexicano hacia los vinos con una crianza media-alta, siendo vinos que expresaron sabores de acidez bajos, una astringencia media, un amargor medio-bajo, un cuerpo medio y un color con tendencia a los matices naranjas. Mientras que la preferencia de aromas que mostraron los catadores en los vinos son aromas frutales de bajo umbral, aromas florales medios y mayor gusto por aromas propios de la crianza, los cuales son los especiados y tostado. Una probable respuesta a la preferencia de los vinos de crianza, puede estar relacionado a que en las últimas cuatro décadas los gustos de los consumidores mexicanos se han convertido más exigentes, buscando la mejor calidad, mostrando una preferencia a los vinos importados, siendo los vinos españoles los que dominan más del 25% de las importaciones nacionales. Los vinos europeos son percibidos por los consumidores mexicanos como productos de calidad, diseño, clase social y se asocia esta idea debido a que estos productos importados son los más fuertes en sabor y aromas (ICEX, 2013).

4.5 Análisis de los marcadores fenólicos en los vinos de crianza por medio de HPLC

El proceso de envejecimiento del vino es un procedimiento tecnológico comúnmente utilizado en la elaboración de vino y su capacidad de crianza está estrechamente relacionada con la composición fenólica de este. Es importante señalar que el procedimiento de crianza por sí sólo no transforma a un vino de baja calidad en un vino de calidad inigualable, sino que la calidad final es un resultado de todo el proceso en conjunto y se debe utilizar de manera racional (Alañon *et al.*, 2011; Hernández *et al.*, 2007; Frangipane *et al.*, 2007; Seruga *et al.*, 2001; Hernández *et al.*, 2007; Peña *et al.*, 2000; Porgali & Büyüktuncel, 2012; Fang Fang *et al.*, 2008; Álamo *et al.*, 2004; García *et al.*, 2007).

Las especies de madera de roble más comúnmente utilizados en la fabricación de barricas son la *Quercus alba* también llamada “roble americano” (cultivada en los bosques de Estados Unidos), la *Quercus petraea* y *Quercus robur* conocidas como “roble francés” (las cuales crecen en Europa centro y Europa del este), en ambas especies los factores que influyen en el contenido de compuestos fenólicos que puedan cederle al vino son la especie, el origen geográfico y los procesos que se ocupan en la tonelería como lo es el proceso de tostado, que provocar cambios profundos en la composición química de la madera original (Jordao *et al.*, 2005; Cabrita *et al.*, 2011; Alañon *et al.*, 2011).

Otro envejecimiento que sufre el vino y que es muy importante, es el anaeróbico y no oxidativo en botella después de la crianza en barricas de madera, cual es una práctica tradicional en la producción de vinos de calidad (Hernández *et al.*, 2007). Desde el punto de vista económico, las dos prácticas implican costos muy diferentes y es claro que el uso exclusivo de las nuevas barricas afecta notablemente el precio final de un vino mientras que el uso de varios años puede reducir el coste de los contenedores, de ahí el gran interés de profundizar el conocimiento de los procesos implicados durante la crianza de los vinos (Frangipane *et al.*, 2007; Fernández *et al.*, 2003).

Teniendo en cuenta la importancia del papel que desempeñan los compuestos fenólicos en los vinos, es por lo tanto necesario desarrollar un método preciso y rápido para el análisis de estos durante cada etapa del proceso de vinificación. La selección de los compuestos fenólicos de estudio se realizó en base a investigaciones realizadas por diferentes autores (Fang Fang *et al.*, 2008; Fang Fang *et al.*, 2007; Sanza *et al.*, 2004; Sanz *et al.*, 2012; Alañon *et al.*, 2011) seleccionando así marcadores fenólicos del envejecimiento provenientes de la uva (ácido gálico, (+)- catequina, ácido elágico, ácido *p*-cumárico) y de la madera (galangina y ácido elágico).

En la *Tabla 24* se exponen las ecuaciones y los coeficientes de correlación (R) y de determinación (R²) obtenido al realizar las curvas de calibración para la cuantificación de los marcadores fenólicos del envejecimiento.

Tabla24.- Parámetros de los modelos lineales obtenidos para las curvas de calibración de Área o Altura vs Concentración del fenol.

Compuesto fenólico	Propiedad medida	Pendiente	Intercepto	R	R ²
Ácido Gálico	Altura	-0.0470 ± 0.0077	0.0441 ± 0.0002	0.9998	0.9996
(+)-Catequina	Área	-0.0013 ± 0.0070	0.0037 ± 0.0001	0.9816	0.9637
Ácido <i>p</i> -cumárico	Área	0.0150 ± 0.0020	0.0646 ± 0.0001	0.9999	0.9999
Ácido Elágico	Área	-0.0022 ± 0.0034	0.0851 ± 0.0005	0.9996	0.9992
Galangina	Altura	0.0079 ± 0.0031	0.1997 ± 0.0047	0.9954	0.9909

Nota: El coeficiente de correlación esta simplificado por la letra "R" y el porcentaje de R cuadrado por "r²"

A continuación en las *Figuras 43* se muestra el comportamiento de la concentración de los marcadores fenólicos seleccionados durante los tres niveles de crianza en los vinos de variedad Syrah. El ácido gálico es el ácido fenólico más abundante en las variedades de uva para vinificación y representa el 35-36% de los benzoatos (García *et al.*, 2007). El comportamiento decreciente demostrado en la *Figura 43A* puede deberse al grado de tostado que se utilizó en los diferentes niveles de añejamiento, ya que el ácido gálico proveniente de la madera es muy sensible a la degradación térmica ó también puede deberse a la precipitación que se presenta durante el almacenamiento en botella (Sanza *et al.*, 2004; García *et al.*, 2007 Alañon *et al.*, 2011). El comportamiento del ácido *p*-cumárico tiende a ser ascendente como se muestra en la *Figura 43C* debido probablemente al aumento de la concentración del compuesto aglicano por la hidrólisis de la unión existente con los antocianos. En el caso de la (+)-catequina, compuesto proveniente de la uva y de la madera, su comportamiento tiende a disminuir como se muestra en la *Figura 43B* conforme aumenta el contacto del vino con la madera debido a una posible precipitación de polímeros de este compuestos con los taninos (Sanza *et al.*, 2004).

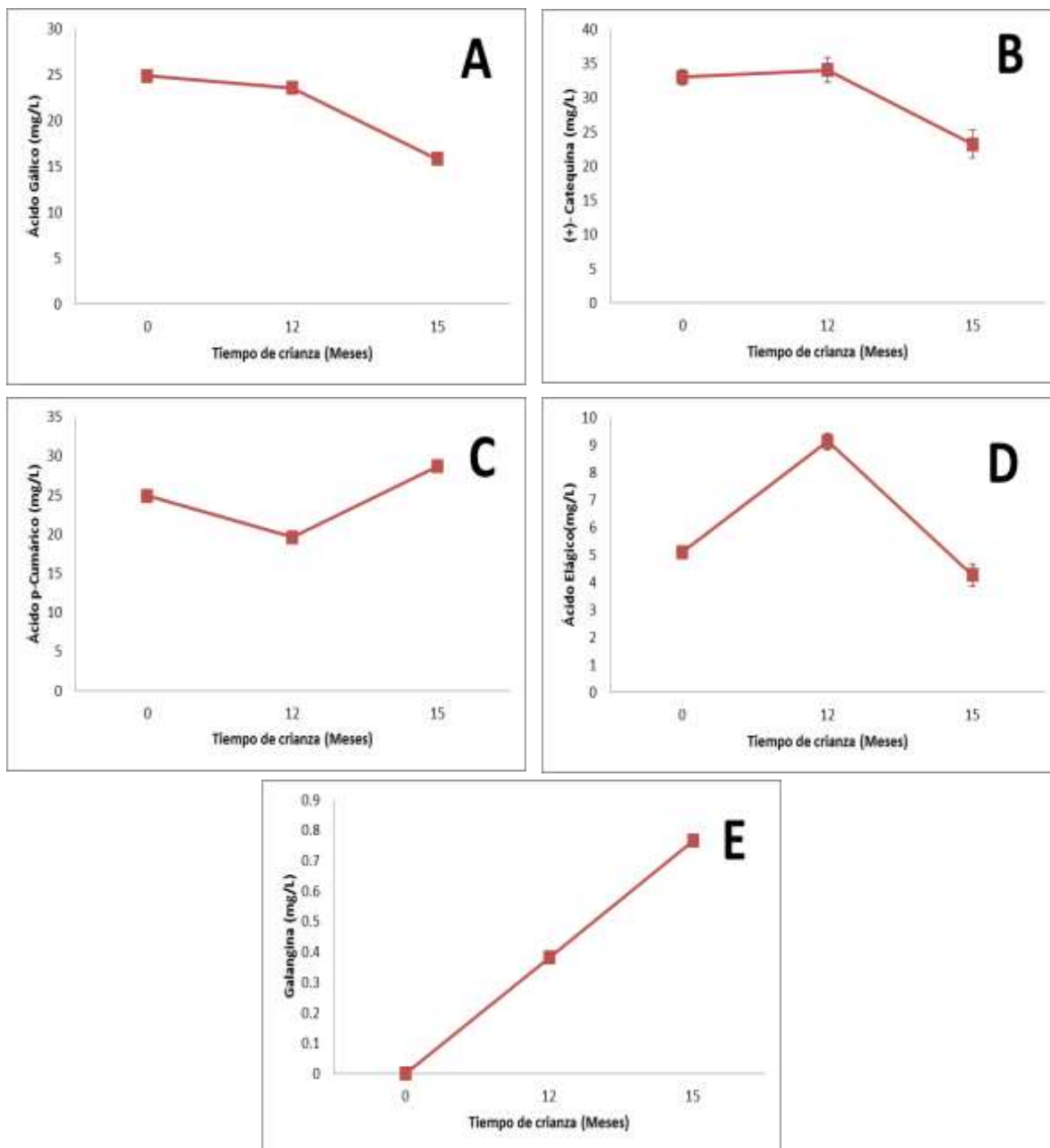


Figura 43.- Comparación de la evolución de cada marcador fenólico durante los diferentes tiempos de envejecimiento en vinos de variedad Syrah: (A) Ácido gálico, (B) (+)- Catequina, (C) Ácido p-cumárico, (D) Ácido elágico y (E) Galangina

El comportamiento del ácido elálgico (*Figura 43D*) tienden aumentar como consecuencia del contacto con la madera al principio de la crianza pero el efecto del tostado de la barrica puede provocar que se produzca una baja transferencia de este compuesto al vino (Frangipane *et al.*, 2007), esto podría explicar el que no exista una tendencia clara en el aumento y/o disminución de este compuesto. De acuerdo a varias investigaciones (Sanza *et al.*, 2004) las condiciones óptimas de tostado para que exista una buena extracción de compuestos fenólicos de la madera es de 185°C durante 45 minutos.

De acuerdo a varias investigaciones realizadas (Fang Fang *et al.*, 2007; Fang Fang *et al.*, 2008) la galangina es un flavonoide perteneciente de la madera de roble que se transfiere al vino durante el tiempo de crianza y su expresión en los vinos se detecta a partir de los 135 días de envejecimiento y va aumentando su concentración conforme pasan los días. Los resultados obtenidos por el presente estudio muestran un comportamiento similar para la galangina comprobando que la mayor concentración de este compuesto se obtiene en el envejecimiento más prolongado como se muestra en la *Figura 43E*.

A continuación en la *Tabla 25* se expresan las concentraciones por cada etapa de añejamiento en los vinos de variedad Syrah por cada marcador fenólico del envejecimiento.

Tabla 25.- Concentración de los marcadores fenólicos en los vinos de variedad Syrah

Vino	Ácido Gálico (mg/L)	(+)- Catequina (mg/L)	Ácido <i>p</i> -cumárico (mg/L)	Ácido Elálgico (mg/L)	Galangina
Sy-08-0	24.82 ± 0.44 (a)	32.96 ± 1.09 (a)	24.94 ± 0.21 (b)	5.08 ± 0.03 (b)	NI
Sy-09-12	23.48 ± 0.44 (b)	33.98 ± 1.80 (a)	19.62 ± 0.33 (c)	9.11 ± 0.31 (a)	0.38 ± 0.013 (b)
Sy-05-15	15.78 ± 0.34 (c)	23.18 ± 2.00 (b)	28.70 ± 0.06 (a)	4.26 ± 0.41 (b)	0.76 ± 0.018 (a)

Nota: El signo (\pm) indica la desviación estándar de las tres réplicas por cada tiempo de crianza (0, 12 y 15 meses), NI significa No Identificado y las letras diferentes en cada grupo indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

De acuerdo al análisis estadístico realizado al comportamiento del ácido gálico durante el envejecimiento, se expone que existe una diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los tres niveles de añejamiento y la concentración puede ser comparable con varios autores (Seruga *et al.*, 2001; Porgali & Büyüktuncel, 2012; Sanz *et al.*, 2012) que presentan concentraciones de 30.3 mg/L a 60

mg/L, varios factores presentes durante el envejecimiento de los vinos puede provocar una disminución de la concentración de los ácido fenólicos como lo es el proceso de condensación oxidativa y durar durante el envejecimiento (Hernández *et al.*, 2007)

El resultado de la concentración en vino del flavonoide (+)-catequina es comparable con los trabajos realizados por Hernández *et al.* (2007) quienes obtuvieron valores después de 21 meses de añejamiento en barrica de 16.3 mg/L, para los resultados obtenidos existe una diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en los 15 meses de añejamiento existiendo una disminución del 30% con respecto a los 0 y 12 meses, la disminución de los flavonoles puede depender de la calidad de la madera del barril (Sanz *et al.*, 2012).

En el caso del comportamiento del ácido *p*-cumárico tiende a aumentar, existiendo una diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los tres tiempos de crianza siendo el tiempo de 15 meses el de mayor concentración con 28.70 mg/L. De acuerdo con García (2007) el aumento de los niveles de ácido *p*-cumárico puede estar asociado a la degradación de las antocianinas durante el almacenamiento de los vinos.

La concentración de ácido elágico muestra una diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en los 12 meses de crianza con respecto de 0 y 15 meses, siendo la concentración de estos vinos casi el doble con respecto a los 0 meses, pero sucede una disminución en su concentración a los 15 meses, esta situación se puede explicar como una consecuencia del nivel de oxígeno del vino durante la crianza que determina la oxidación total de ácido elágico, otra posibilidad es que los taninos elágicos, en su forma nativa, se someten a transformaciones rápidas que no se hidrolizan para formar ácido elágico (Jordao *et al.*, 2005).

En el comportamiento de la galangina existe una diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los tres niveles de envejecimiento de los vinos tintos de variedad Syrah, con una notable tendencia ascendente conforme aumenta el tiempo de crianza de los vinos. Los resultados obtenidos son comparables con diferentes investigaciones (Fang Fang *et al.*, 2008; Fang Fang *et al.*, 2007) en las cuales obtuvieron concentraciones para galangin de 0-1.56 mg/L en vinos de crianza.

A continuación en las Figuras 44 se muestra el comportamiento de la concentración de los marcadores fenólicos en los vinos de variedad Tempranillo

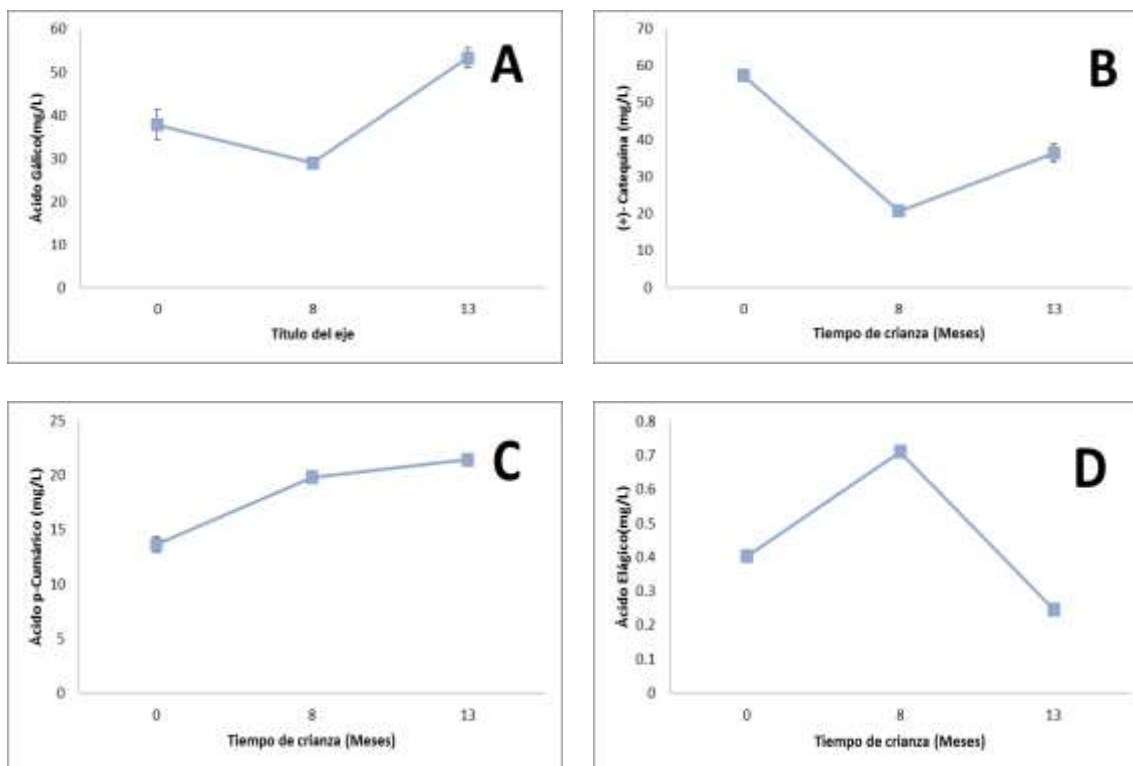


Figura 44. Comparación de la evolución de cada marcador fenólico durante los diferentes tiempos de envejecimiento en vinos de variedad Tempranillo: (A) Ácido gálico, (B) (+)-Catequina, (C) Ácido *p*-cumárico y (D) Ácido elágico

El comportamiento ascendente del ácido gálico demostrado en la *Figura 44A* durante el paso del tiempo del añejamiento de los vinos de variedad Tempranillo puede deberse principalmente a la calidad y grado de tostado de la madera, siendo los factores de especie y origen geográfico de la madera los que influyen en la transferencia de este compuesto al ser la especie *Quercus robur* la que facilita su extracción durante el añejamiento (Peña *et al.*, 2000; Sanza *et al.*, 2004; Cabrita *et al.*, 2011).

La alta concentración de la (+)-catequina que se visualiza al principio de la maduración del vino puede deberse a la excelente extracción de este compuesto de las semillas de la uva durante el proceso de maceración. Aunque se observa en la *Figura 44B* una disminución a los 12 meses de envejecimiento de la concentración de la (+)-catequina al paso del tiempo tiende a aumentar a los 15 meses debido, al igual que el ácido gálico, a la calidad de la madera y el grado de tostado (Peña *et al.*, 2000).

El comportamiento ascendente del ácido *p*-cumárico durante el añejamiento de los vinos tintos de variedad Tempranillo como se observa en la *Figura 44C* puede deberse como ya se mencionó a la hidrólisis del enlace con los antocianos durante el envejecimiento de los vinos ó también a la hidrólisis alcohólica de la madera de roble, teniendo en cuenta que este compuesto también puede proceder de la barrica (Sanza *et al.*, 2004; Peña *et al.*,2000).

El comportamiento del ácido elágico tiende a disminuir durante la crianza de los vinos de variedad Tempranillo como se demuestra en la *Figura 44D*, varias investigaciones han demostrado que al principio del proceso de envejecimiento es fácil la extracción por su gran solubilidad y tiende a disminuir debido a su inestabilidad como elemento (Jordao *et al.*,2005).

En la *Tabla 26* se expresan la concentración de los marcadores fenólicos en Tempranillo.

Tabla 26.- Concentración de los marcadores fenólicos en los vinos de variedad Tempranillo

Vino	Ác. Gálico (mg/L)	(+)- Catequina (mg/L)	Ác. <i>p</i> -cumárico (mg/L)	Ácido Elágico (mg/L)	Galangina (mg/L)
Tm-08-0	37.72 ±3.4 (b)	57.35 ± 1.71 (a)	13.65 ± 0.70 (c)	0.40 ± 0.01 (b)	NI
Tm-10-8	28.94 ±0.11 (c)	20.70± 1.07 (c)	19.82 ± 0.04 (b)	0.70 ± 0.01 (a)	NI
Tm-05-13	53.23 ±2.27(a)	36.41 ± 2.53 (b)	21.43 ± 0.16 (a)	0.24 ± 0.02 (c)	NI

Nota: El signo (±) indica la desviación estándar de las tres réplicas por cada tiempo de crianza (0, 8, 13 meses). NI significa No Identificado y las letras diferentes en cada grupo indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$)

De acuerdo al análisis estadístico realizado al comportamiento del ácido gálico durante la crianza de los vinos de variedad Tempranillo demostró una diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los tres niveles de envejecimiento, presentando a los 13 meses la mayor concentración con un valor de 53.23 mg/L. De acuerdo a diversos estudios (Cabrita *et al.*, 2011) este compuesto presenta su concentración más alta en las maderas de tostado medio, lo que significa que el ácido gálico se degrada a altas temperaturas y podría incluso presentar valores que son más pequeños que los de la madera sin tostar, probablemente a esto se daba que los vinos de 8 meses presentaron menor valor.

En el caso de la (+)- catequina, entre los tres niveles de crianza de los vinos de variedad Tempranillo se observó una diferencia significativa ($p \leq 0.05$), presentando en la crianza de 0 meses el valor más alto con 57.35 mg/L, siendo esta crianza dos veces mayor con respecto del valor más bajo que es a los 8 meses de crianza. En investigaciones realizadas se ha explicado que la

concentración que presentan los vinos dependerá de la variedad de uva utilizada para la vinificación, los procedimientos utilizados para las reacciones de vinificación y químicos que ocurren durante el envejecimiento de los vino y también a que la composición fenólica puede ser modificada por la levadura durante la fermentación del mosto, como resultado de la conversión de las sustancias no fenólicas en compuestos fenólicos (Peña *et al.*, 2000).

El análisis estadístico realizado a los resultados obtenidos de la concentración del ácido *p*-cumárico durante el envejecimiento de los vinos de variedad Tempranillo se observó una diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los tres niveles de añejamiento, existiendo una tendencia aumentar siendo el añejamiento de 13 meses el que presentó la mayor concentración con un valor de 21.43 mg/L. El comportamiento de este compuesto va a estar influenciado más que nada por la madurez de la uva, el proceso de vinificación y la calidad de la uva, porque como se ha comentado este compuesto puede extraerse tanto de la uva como de la madera (Álamo *et al.*, 2004.)

Para el ácido elágico existe una diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los tres niveles de añejamiento, siendo el valor más alto a los 8 meses con 0.70 mg/L una posible razón de su disminución y tan baja concentración es la menor estabilidad que presenta este compuesto después de la extracción de los elagitaninos, algunos autores informaron una disminución en la concentración de estos compuestos (Jordao *et al.*, 2005).

En los vinos de variedad Tempranillo no se pudo identificar y cuantificar la presencia del compuesto fenólico de la galangina debido probablemente al desgaste de las duelas de madera de la barrica o también a un exceso en de tostado de la madera. Como se demostró en la variedad Syrah este compuesto proviene exclusivamente de la madera y es por tal motivo que tanto la composición química, como el procesamiento de la madera para transformarla en barril, la especie, el tiempo de uso de la barrica y la intensidad de tostado influirá en la expresión de nuevos compuestos fenólicos al vino (Fernández *et al.*, 2003; Hernández *et al.*, 2007).

4.6 Relación de la capacidad antioxidante y los compuestos fenólicos

Como se ha mencionado en el presente estudio, el vino es una de las bebidas más estudiadas por su potencial antioxidante atribuible a su alto contenido en polifenoles, cuáles pueden ser modificados por factores naturales y tecnológicos.

El proceso de envejecimiento es el procedimiento tecnológico más utilizado en la vinificación que parece contribuir a un aumento en la capacidad antioxidante de los vinos, eso es debido a la cantidad importante de polifenoles que se extrae de la madera de roble durante el contacto con el

vino en la etapa de envejecimiento. Sin embargo, la estimación de la capacidad antioxidante aportado por la madera de roble es una tarea difícil, porque los vinos presentan ser una mezcla rica de polifenoles y las prácticas enológicas incluyendo la adición de dióxido de azufre, contacto con la piel, maceración, las condiciones de vinificación pueden influir en la capacidad antioxidante (Alañón *et al.*, 2011).

Por lo cual se estudió el efecto de diferentes tiempos de crianza en la correlación que existe entre la concentración de fenoles totales y los compuestos fenólicos identificados con la capacidad antioxidante que presentaron los vinos de variedad Syrah y Tempranillo mediante la correlación de Pearson como se muestra en la *Tabla 27* y *Figura 45*.

Tabla 27. Correlación de Pearson entre los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante en vinos tintos Syrah y Tempranillo.

Variedad	Fenoles totales	Ácido Gálico	(+)-Catequina	Ac. p-Cumárico	Ácido Elágico	Galangina
Syrah	0.001	0.308	0.379	0.052	0.001	0.450*
Tempranillo	0.081	0.233	0.011	0.171	0.114	NI

*= Los valores indican que existe una relación significativa aplicando una prueba de correlación de Pearson

NI= No Identificado

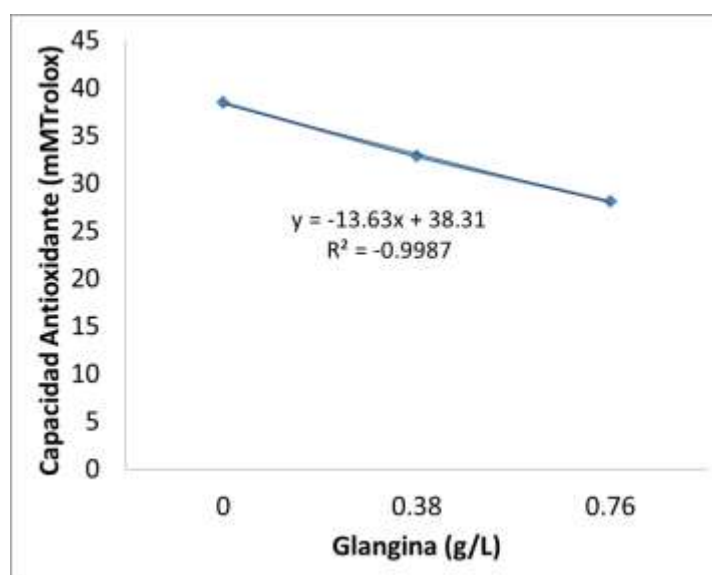


Figura 45.- Capacidad antioxidante vs concentración de galangina

La galangina es un compuesto procedente de la degradación térmica de la lignina, efecto del tostado de la madera para el uso de la crianza de vinos tintos (Fang-Fang *et al.*, 2007). La presencia de este compuesto nos indica que probablemente las barricas utilizadas para la crianza sufrieron un tostado y desde el punto de vista funcional la barrica de roble tostado es más recomendada para llevar a cabo el proceso de envejecimiento (Alañón *et al.*, 2011).

De acuerdo con Alañón *et al.* (2011) las barricas no tostadas demuestran mayor poder antioxidante que las maderas de barricas tostadas, esto debido a la composición de los polifenoles de la madera. Este hecho indica que el proceso de tostado reduce la capacidad antioxidante de la madera de roble, probablemente por la degradación térmica de polifenoles de bajo peso molecular como el ácido gálico, ácido cafeico y el ácido *p*-cumárico responsables de la capacidad antioxidante en los vinos tintos.

Por lo que el comportamiento descendiente de la actividad antioxidante en relación con la galangina, se puede decir que los compuestos resultantes de la degradación térmica de la lignina y otros elagitaninos no tienen una importante contribución a la capacidad antioxidante de la madera de roble al vino durante el tiempo de crianza.

Cabe aclarar que aunque la correlación lineal permita establecer la relación entre las variables, estas no siempre influirán, ya que existen otros factores dentro de la vinificación del vino que determinan el efecto de una variable sobre la otra, como lo pueden ser la variedad de uva, factores naturales de la región de cultivo y así también técnicas enológicas empleadas.

“Hombre que vive del amor y vino, que no se queje de su destino”

Proverbio popular.

5.- Conclusiones

Con base en el estudio del presente trabajo se concluye:

- ❖ La variedad de uva no afectó los parámetros físicos, químicos y fisicoquímicos de los vinos en estudio, solamente se observó un efecto en los azúcares reductores, al encontrarse una mayor concentración en los vinos de la variedad Syrah con respecto a la Tempranillo.
- ❖ Los vinos de variedad Syrah fueron los que presentaron mayor estabilidad en el proceso de añejamiento o crianza, en comparación con los vinos Tempranillo, al no observarse diferencia significativa entre los tres tiempos de añejamiento en los parámetros de intensidad colorante, fenoles, taninos, pH, acidez total, dióxido de azufre total.
- ❖ Los vinos estudiados presentaron un efecto significativo en el contenido fenólico por el tipo de uva, siendo la variedad Tempranillo la que presentó vinos con mayor concentración de estos compuestos contribuyendo así a la respuesta de la capacidad antioxidante, al ser los vinos que presentaron mayor valor en este parámetro sin existir una diferencia significativa con respecto a los vinos de variedad Syrah.
- ❖ El análisis sensorial realizado a los vinos de variedad Syrah y Tempranillo permite concluir que ambas variedades mostraron el mismo comportamiento durante su envejecimiento al disminuir la percepción de sabores de acidez, amargor y astringencia conforme aumenta el tiempo de estancia del vino en barrica, obteniendo así una ganancia en aromas especiados y tostados, siendo los vinos de crianza media-alta de ambas variedades los de mayor preferencia por los catadores mexicanos.
- ❖ El método desarrollado de HPLC es el óptimo para identificación y cuantificación de los marcadores fenólicos seleccionados y así poder proponer un monitoreo del comportamiento del vino en barrica, siendo el compuesto fenólico de la galangina el marcador principal del tiempo de añejamiento y con su estudio se podría controlar desde un punto de vista más técnico el proceso de maduración del vino, pronosticando así el tiempo ideal que debe conservarse el vino en la barrica para tener una mayor expresión de los compuestos fenólicos y también prevenir posibles adulteraciones y engaños en el mercado.
- ❖ Con la correlación obtenida entre el compuesto de la galangina y la capacidad antioxidante se puede concluir que efectivamente existe una transferencia de nuevos compuestos fenólicos al vino provenientes de la madera, pero sin ofrecer la misma respuesta

antioxidante con respecto de los compuestos fenólicos provenientes de la uva, dicho comportamiento se puede observar al no existir diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los compuestos fenólicos de los tres tiempos de crianza en ambas variedades pero si una tendencia a disminuir la capacidad antioxidante conforme aumenta el tiempo de crianza.

“Lo que se prometió con el vino, se olvida por el camino”

Proverbio popular.

6.-Recomendaciones

- ❖ Comparar los resultados obtenidos en vinos tintos ahora realizando la misma metodología con vinos blancos monovarietales que hayan sido sometidos a crianza en barrica y conocer si los indicadores fenólicos del envejecimiento de vinos tintos también pueden ser aplicados para la crianza de vinos blancos.
- ❖ Realizar el estudio del presente trabajo controlando el grado de tostado de las duelas de madera que conforman la barrica, para conocer la relación entre la degradación térmica de la madera con la extracción de compuestos fenólicos por parte del vino.
- ❖ Realizar el estudio de los indicadores fenólicos del envejecimiento en vinos tintos con un muestreo directo del vino en la barrica teniendo como control el tiempo de estancia del vino en el tonel.
- ❖ Realizar un análisis detallado del perfil de compuestos fenólicos por HPLC en los vinos de crianza, para obtener una cuantificación por separado y así conocer la existencia de mayores indicadores de envejecimiento.
- ❖ Realizar un análisis de polimerización entre antocianos y taninos por espectrofotometría y HPLC para conocer el comportamiento de dichos compuestos durante la estancia del vino en barrica y conocer las condiciones de control para estabilizar las polimerizaciones y evitar precipitaciones y una posible disminución en la concentración de estos compuestos.

“Si el mar fuera vino, todos seríamos marineros”

Proverbio popular

ANEXO A

Identificación de los marcadores fenólicos del envejecimiento en los vinos Syrah y Tempranillo.

La identificación de los marcadores fenólicos del envejecimiento se realizó mediante los métodos de adición de estándar y comparación de espectros de absorción utilizando un detector de arreglo de diodos a las longitudes de onda de 270, 300 y 360 nm. A continuación en las *Figuras 46 y 47* se muestran los espectros de absorción de los marcadores fenólicos

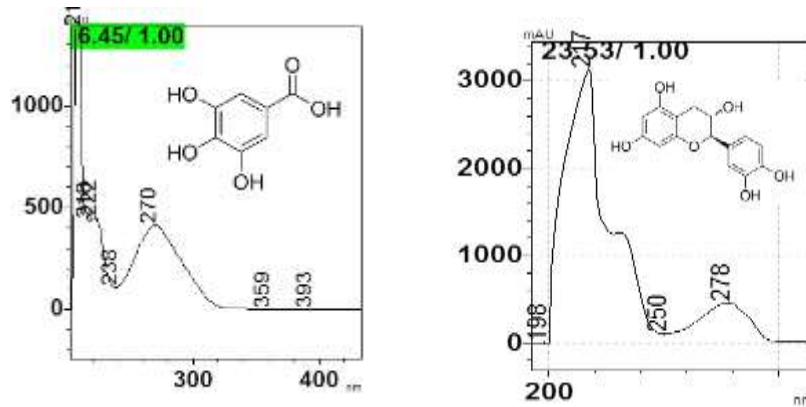


Figura 46. Espectros de absorción del ácido gálico (derecha) y de la (+)- catequina (izquierda).

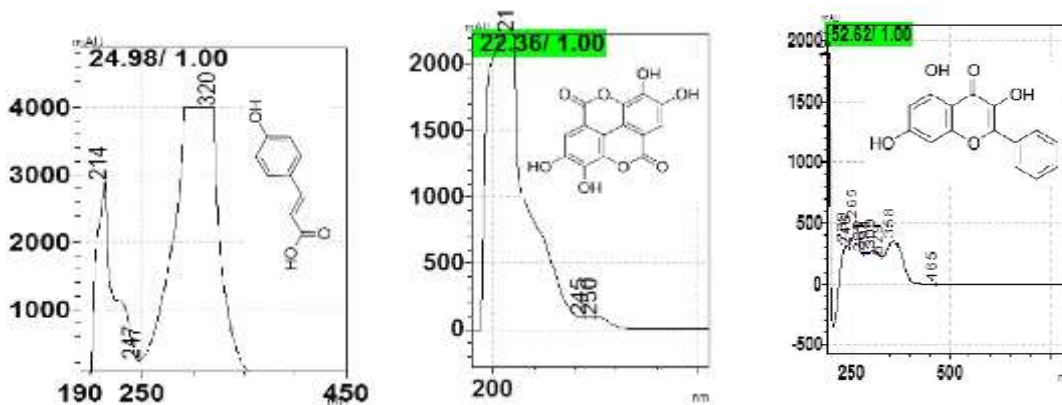


Figura 47.- Espectros de absorción del ácido p-cumárico (derecha), ácido elágico (medio) y galangina (izquierda).

En la *Figura 48* se muestra el perfil cromatográfico de los vinos Syrah con diferentes tiempos de crianza señalando la identificación de los marcadores fenólicos del envejecimiento con los siguientes números: (1) ácido gálico, (2) (+)-catequina, (3) ácido elágico, (4) ácido p-cumárico, (5) estándar interno y (6) la galangina. Se observa claramente que la galangina es un compuesto

proveniente de la madera al poder ser identificada después de los vinos de crianza media y no en los vinos jóvenes (0 meses)

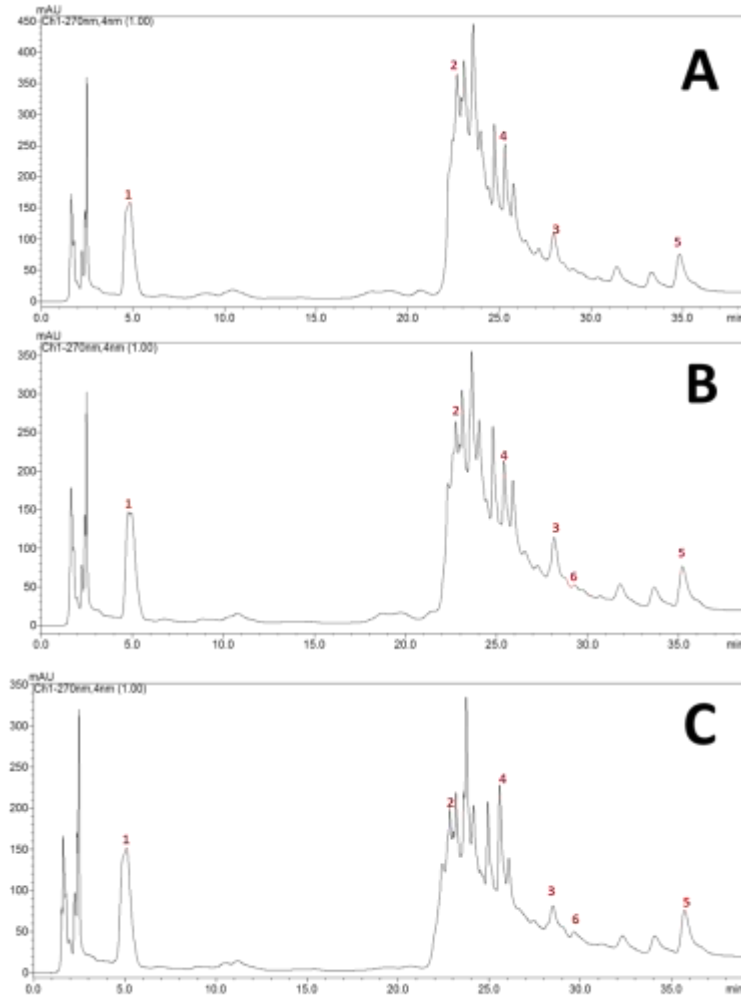


Figura 48. Cromatogramas de los vinos de variedad Syrah con diferentes tiempos de crianza: (A) 0 meses, (B) 12 meses y (C) 15 meses.

En la *Figura 49* se muestra el perfil cromatográfico de los vinos Tempranillo con diferentes tiempos de crianza señalando la identificación de los marcadores fenólicos del envejecimiento con los siguientes números: (1) ácido gálico, (2) (+)-catequina, (3) ácido elágico, (4) ácido p-cumárico, (5) estándar interno. En el caso de los vinos de variedad Tempranillo no se presenta la ausencia de la galangina, su ausencia fue corroborada con una concentración de los vinos pero sin tener respuesta de la presencia de este compuesto.

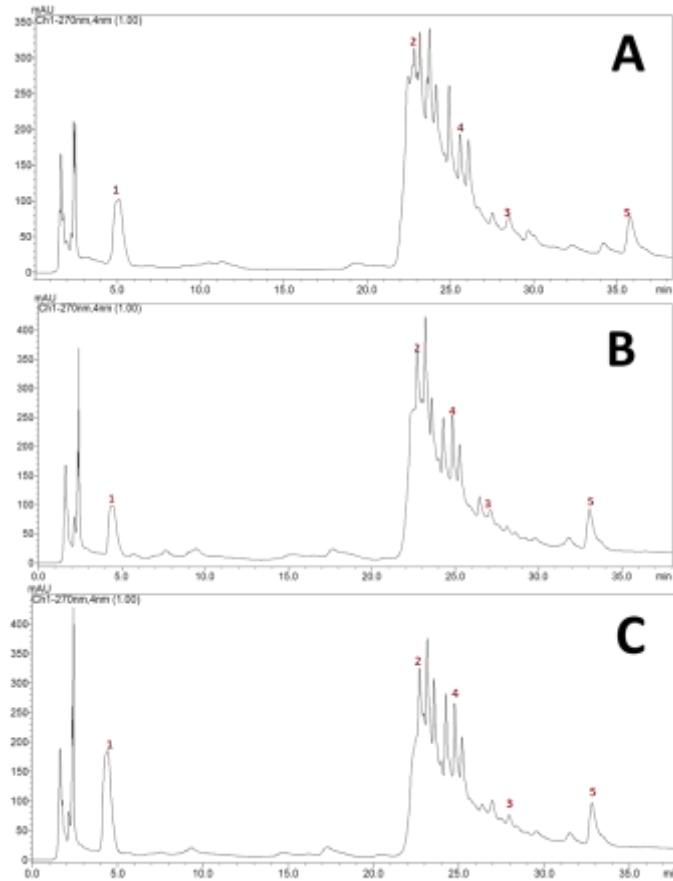


Figura 49. Cromatogramas de los vinos de variedad Tempranillo con diferentes tiempos de crianza: (A) 0 meses, (B) 8 meses y (C) 13 meses.

En la *Tabla 28* se muestran los tiempos de retención de cada fenol.

Tabla 28. Tiempo de retención de los marcadores fenólicos del envejecimiento

Marcador fenólico	Tiempo de retención (min)
Ácido gálico	5 ± 0.4
(+)- Catequina	22 ± 0.3
Ácido p-cumárico	25 ± 0.2
Ácido elágico	28 ± 0.3
Galangina	29 ± 0.4

*“Caballo viejo para cabalgar, leña vieja para quemar, vino viejo para beber,
amigos viejos para conversar y libros viejos para leer.”*

Proverbio popular.

Referencias

1. Aguilar, C. A., Gris, H. L. (2012). Estudio de la capacidad antioxidante, compuestos fenólicos y calidad sensorial de vinos tintos mexicanos procedentes de diferente región. Tesis de Ingeniería en Alimentos. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
2. Aguirre, M.J., Isaacs, M., Matsuhira, B., Mendoza, L., Santos, L.S., Torres, S. (2011). Anthocyanin composition in aged Chilean Cabernet Sauvignon red wines. *Food Chemistry*. 129(2):514-519.
3. Álamo, M., Casado, L., Hernández, V., Jiménez, J.J. (2004). Determination of free molecular phenolics and catechins in wine by solid phase extraction on polymeric cartridges and liquid chromatography with diode array detection. *Journal of Chromatography A*. 1049(1):97-105.
4. Alañón, M.E., Castro, V.L., Díaz, M.M.C., Gordon, M.H., Pérez, C.M.S. (2011). A study of the antioxidant capacity of oak Wood used in wine ageing and the correlation with polyphenol composition. *Food Chemistry*. 128(4):997-1002.
5. Aleixandre, B.J.L., Aleixandre, T.J.L. (2011). Conocimiento del vino, cata y degustación. Universitat Politècnica de Valencia, España.
6. Alén, R.F., García, F.M.S., Pérez, L.M.C., Martínez, C.E., Simal, G.J. (2009). Influence of major polyphenols on antioxidant activity in Mencía and Brancelllo red wines. *Food Chemistry*. 113(1): 53-60.
7. Almanza, A.E., Figuero, G.J.J., Alvarado, N.M.D., Herrera, H.M.G. (2012). Caracterización fisicoquímica de vinos tinto Malbec con diferente tiempo de añejamiento. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 7(3):1347-1360.
8. Alonso, A.M., Domínguez, C., Guillén, D.A., Barroso, C.G. (2002). Determination of antioxidant power of red and white wines by a new electrochemical method and its correlation with polyphenolic content. *Journal of agricultural and food chemistry*. 50(11):3112-3115.
9. Amerine, A.M., Ough, S.C. (1974). Vine and must analysis. John Wiley and Sons. Inglaterra.
10. Arbillaga, L., Ezpeleta, O., López de Cerain, A. (2004). ¿Es la ocratoxina A una micotoxina mutagénica? *Revista de Toxicología*, 21(1):1-10.
11. Bartowsky, E.J., Henschke, P.A. (2008). Acetic acid bacteria spoilage of bottled red wine. *International journal of food microbiology*. 125(1): 60-70.

12. Bindon, K., Varela, C., Kennedy, J., Holt, H., Herderich, M. (2013). Relationships between harvest time and wine composition in *Vitis Vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon 1. Grape and wine chemistry. *Food Chemistry*. 138(1): 1696-1705.
13. Bordeu, S.E., Scarpa, B.B. J. (1998). Análisis químico del vino. Universidad Católica de Chile, Chile.
14. Boulton, B.R., Singleton, L.V., Bisson, F.L., Kunkee, E.R. (2002). Teoría y práctica de la elaboración del vino. Acribia, Zaragoza, España.
15. Brouillard, R., Dangles, O. (1994). Anthocyanin molecular interactions: the first step in the formation of new pigments during wine aging. *Food chemistry*. 51(4):365-371.
16. Cabanillas, P., Canals, J.M., Rozés, N., Arola, L., Zamora, F. (2001). Influencia de la microoxigenación en el color y las características organolépticas de los vinos tintos. *Tecnología del vino*. 2(1):51-55.
17. Cabrita, M.J., Barrocas, D.C., Costa, F.A.M. (2011). Phenolic acids, phenolic aldehydes and furanic derivatives in oak chips: American vs french oaks. *South African Society for Enology & Viticulture*. 2(1): 80-87.
18. Cadahía, E., Fernández de Simón, B., Sanz, M., Poveda, P., Colio, J. (2009). Chemical and chromatic characteristics of Tempranillo, Cabernet Sauvignon and Merlot wines from do Navarra aged in Spanish and French oak barrels. *Food Chemistry*. 115(2): 639-649.
19. Campos, A.M., Lissi, E.A. (1996). Total antioxidant potential of Chilean wines. *Nutrition Research*. 16(3):385-389.
20. Camussoni, G., Carnevali, E. (2004). Determinación comparativa del contenido de polifenoles en vinos tintos de origen argentino. *Invenio*. 7(13):151-159.
21. Castillo-Sánchez, J.X., García-Falcón, M.S., Garrido, J., Martínez-Carballo, E., Martins-Dias, L.R., Mejuto, X.C. (2008). Phenolic compounds and color stability of Vinhao wines: Influence of wine-making protocol and fining agents. *Food Chemistry*. 106(1):18-26.
22. Ceppi de Lecco, C., Catillo, I.P. (2008). Caracterización de cepas y vinos syrah y cabernet-sauvignon en cuatro zonas del valle central de Tarija. *Revista Boliviana de Química*. 25(1):10-17.
23. Chira, K., Lorrain, B., Ky, I., Pierre-Louis, T. (2011). Tannin composition of Cabernet-Sauvignon and Merlot grapes from the Bordeaux Area for Different Vintages (2006 to 2009) and Comparison to Tannin profile of five 2009 vintage mediterranean grapes varieties. *Molecules*, 16(2): 1519-1532.

24. Clarke, J.R., Bakker, J. (2004). Wine flavor chemistry. Blackwell Publishing. Estados Unidos.
25. Cliff, M.A., King, M.C., Schlosser, J. (2007). Anthocyanin, phenolic composition, colour measurement and sensory analysis of BC commercial red wines. Food Research International. 40(1):92-100.
26. CMV. (2013). Consejo Mexicano Vitivinícola. Consultado el 9 de Julio, 2013. Disponible en: <http://www.vinosmexicanos.net>
27. Cosme, F., Da Silva, R.J.M., Laureano, O. (2009). Tannin profiles of *Vitis vinifera* L. cv. Red grapes growing in Lisbon and from their monovarietal wines. Food Chemistry. 112(1):197-204.
28. Cox, D.J., Henick, K.T. (1989). Chemiosmotic energy from maloláctica fermentation. Journal of Bacteriology. 171(10):5750-5752.
29. De Beer, D., Joubert, E., Gelderblom, W.C., Manley, M. (2003). Antioxidant activity of South African red and white cultivar wines: free radical scavenging. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 51(4):902-909.
30. De la Cruz, A.M.A., Martínez, P.R.A., Becerril, R.A.E., Chavaro, O.M.S. (2012) Caracterización física y química de vinos tintos producidos en Querétaro. Rev. Filotec.Mex. 35(5): 61-67.
31. Delanoë D., Maillard C., Maisondieu D. (2003). El vino: del análisis a la elaboración. Acribia. España.
32. Díaz, C., Conde, J.E., Claverie, C., Díaz, E., Pérez, T.J.P. (2003). Conventional enological parameters of bottled wines from the Canary Islands. Journal of Food Composition and Analysis. 16(1): 49-56.
33. Durán, D.O., Trujillo, Y.Y. (2008). Estudio comparativo del contenido fenólico de vinos tintos colombianos e importados. Vitae. 15(1):17-24.
34. Etaio, A.I., Pérez, E.F.J., Aguado, A.M., Salmerón, E.J., Ojeda, A.M., Gatón, E.E. (2007). Guía para la evaluación sensorial de la calidad de los vinos tintos de Rioja Alavesca. Vitoria-Gasteiz. España.
35. Fang Fang, Jing-Ming, L., Ping, Z., Ke, T., Wei, W., Qiu-Hong, P., Wei-Dong, H. (2008). Effects of grape variety, harvest date, fermentation vessel and wine ageing on flavonoid concentration in red wines. Food Research International. 41(1):53-60.
36. Fang Fang, Jing-Ming, L., Qiu-Hong, P., Wei-Dong, H. (2007). Determination of red wine flavonoids by HPLC and effect of aging. Food Chemistry. 101(1):428-433.

37. Fernández, G.A., Muñoz, J.M.A., Cambillo, M.E.N., Ramos, E.F., Alvarado O.U.C. (2007). Efecto del consumo moderado de vino tinto sobre algunos factores de riesgo cardiovascular. *Acta Médica Peruana*, 3(24):145-152.
38. Fernández, S.B., Hernández, T., Cadahía, E., Dueñas, M., Estrella, I.(2003). Phenolic compounds in a Spanish red wine aged in barrels made of Spanish, French and American oak Wood. *Eur Food Res Technol*. 216(1):150-156.
39. Fernández, V., Berradre, M., Sulbarán, B., Ojeda de Rodríguez, G., Peña, J. (2009). Caracterización química y contenido mineral en vinos comerciales venezolanos. *Rev. Fac. Agron*. 26(1):382-397.
40. Fernández-Navales, J., López, M.I., Sánchez, M.T., García, J.A., Morales, J. (2008). A feasibility study on the use of a miniature fiber optic NIR spectrometer for the prediction of volumic mass and reducing sugars in white wine fermentations. *Journal of Food Engineering*. 89(3): 325-329.
41. Fernández-Pachón, M.S., Villaño, D. Troncoso, A.M., García-Parrilla, M.C.(2006) Revisión de los métodos de evaluación de la actividad antioxidante in vitro del vino y valoración de sus efectos *in vivo*. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 2(56):145-164.
42. Flanzky C. (2003). *Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos*. Mundi-Prensa, España.
43. Fogliano, V., Verde, V., Randazzo, G., Ritieni, A. (1999) Method for measuring antioxidant activity and its application to monitoring the antioxidant capacity of wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47(3):1035-1040.
44. Frangipane, T.M., De Santis, D., Ceccarelli, A.(2007).Influence of oak woods of different geographical origins on quality of wines aged in barriques and using oak chips. *Food Chemistry*. 103(1):46-54.
45. Freitag R. (2002). *Modern Advances in Chromatography*. Springer. Estados Unidos
46. García, F.M.S., Pérez, L.C., Martínez, C.E., Simal, G.J.(2007). Determination of phenolic compounds in wines: Influence of bottle storage of Young red wines on their evolution. *Food Chemistry*. 105(1):248-259.
47. Ginjom, I., D´Arcy, B., Caffin, N., Gidley, M.(2011). Phenolic compound profiles in selected Queensland red wines at all stages of the wine-making process. *Food Chemistry*. 125(3): 823-834.
48. Girard G. (2004). *Bases científicas y tecnológicas de la enología*. Acribia. España

49. González, S.J.M.L. (2002). Los compuestos fenólicos las características sensoriales de los vinos. Área de Tecnología de los Alimentos. Universidad de Burgos.
50. Gortzi, O., Metaxa, X., Mantanis, G., Lalas, S. (2013). Effect of artificial aging using different wood chips on the antioxidant activity, resveratrol and catechin concentration, sensory and colour of two Greek red wines. *Food Chemistry*. 14(1):2887-2895.
51. Grainger, K., Tattersall, H. (2005). Producción de vino, desde la vid hasta la botella. Acribia, España.
52. Gutiérrez, I.H., Lorenzo, E.SP., Espinosa, A.V. (2005). Phenolic composition and magnitude of copigmentation in young and shortly aged red wines made from the cultivars, Cabernet Sauvignon, Cencibel and Syrah. *Food Chemistry*. 92(2): 269-283.
53. Harris C.D. (1992). *Quantitative Chemical Analysis*. 3ª edición. W H Freeman and Company. Estados Unidos.
54. He, F., Liang, N.N., Mu, L., Pan, Q.H., Wang, J., Reeves, M.J., Duan, C.Q. (2012). Anthocyanins and their variation in red wines II. Anthocyanin derived pigments and their color evolution. *Molecules*. 17(2): 1483-1519.
55. Heredia, F.J., Troncoso, A.M., Guzmán-Chozas, M. (1997). Multivariate characterization of aging status in red wines based on chromatic parameters. *Food Chemistry*. 60(1):103-108.
56. Hernández, T., Estrella, I., Dueñas, M., Fernández de Simón, B., Cadahía, E. (2007). Influence of Wood origin in the polyphenolic composition of a Spanish red wine aging in bottle, after storage in barrels of Spanish, French and American oak Wood. *Eur Food Res Technol*. (1)224: 695-705.
57. Hidalgo T.J. (2003). *Tratado de enología*. Tomo 1. Mundi-Prensa, España.
58. Hidalgo, T. J. (2010). *Tratado de enología*. 2ª. Mundi-Prensa, España.
59. ICEX (2013). España Exportación e Inversiones. El Mercado del vino en México. Consultado el 4 de Octubre, 2013. Disponible en <http://www.icex.es>
60. Izquierdo P., Céspedes E., Camacho M., García A., Torres G., Piñero M. (2008a). Aminas biógenas en vinos venezolanos. *Multiciencias*, 2(8):139-147.
61. Izquierdo, C.P.M, García, R.E., Gómez, A.S., Palop, H.M.L.L. (2008b). Changes in the aromatic composition of Tempranillo wines during spontaneous maloláctica fermentation. *Journal of Food Composition and Analysis*. 21(8): 724-730.
62. Jackson, S.A. (2009). *Wine tasting: A professional Handbook*. Academic Press. Estados Unidos.

63. Jordao, A.M., Da Silva, R.J.M., Laureano, O. (2005). Extraction of some ellagic tannins and ellagic acid from oak Wood chips (*Quercus pireaica* L.) in model wine solutions: effect of time, pH, temperature and alcoholic content. *South African Journal for Enology and Viticulture*. 26(2):83-90.
64. Kennedy, A.J. (2008). Grape and wine phenolics: Observations and recent findings. *Cien. Inv. Agr.* 35(2): 107 -120.
65. Kondrashov, A., Sevcik, R., Benakova, H., Kostirova, M., Stipek, S. (2009). The key role of grape variety for antioxidant capacity of red wines. *e-SPEN, the European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism*. 4(1): e41-e46
66. Lonvaud, A. (2001). Biogenic amines in wines role of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol Lett.* 199(1): 9-13.
67. Martínez, M.A. (2006). Flavonoides. Universidad de Antioquia. Colombia
68. Miller, L. G. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical chemistry* 31(3):426-428.
69. Minussi, C.R., Rossi, M., Bologna, L., Cordi, L., Rotilio, D., Pastore, M.G., Durán, N. (2003). Phenolic compounds and total antioxidant potential of comercial wines. *Food Chemistry*. 82(3):409-416.
70. Monagas, M., Gómez, C.C., Bartolomé, B. (2006). Evolution of the phenolic content of red wines from *Vitis vinifera* L. during ageing in bottle. *Food Chemistry*. 95(3): 405-412.
71. Moreno, A. M. V., Polo, M. C. (2009). *Wine Chemistry and Biochemistry*. Springer, Estados Unidos.
72. Muñoz, J.A.M, Fernández, G.A., Ramos, E.F., Alvarado-Ortiz, U.C. (2007). Evaluación de la actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en vinos producidos en Perú. *Rev. Soc. Quím. Perú*. 73(1):30-40.
73. NMX-V-015-NORMEX-2006. Bebidas alcohólicas-Determinación de acidez total, acidez fija y acidez volátil- Métodos de ensayo (Prueba). Norma mexicana.
74. NMX-V-027-NORMEX-2009. Bebidas alcohólicas-Determinación de anhídrido sulfuroso, Dióxido de azufre (SO₂) Libre y Total-Métodos de ensayo (Prueba). Norma mexicana.
75. NMX-V-O15-S-1980. Bebidas alcohólicas destiladas - Determinación de acidez fija. Norma mexicana.

76. OIV (2012). Organización Internacional de la Viña y el Vino. Compendium of international methods of wine and must analysis. Consultado 30 Agosto, 2012. Disponible en <http://www.oiv.int>
77. OIV. (2013). Organización Internacional de la Viña y el Vino. Stat OIV extract. Consultado 12 de Julio, 2013. Disponible en: <http://www.oiv.int>
78. Palacios, A. (2005). Informe técnico: Gestión de pH en el vino de Calidad. Fundación para la cultura del vino. España
79. Pellegrini, N., Simonetti, P., Gardana, C., Brenna, O., Brighenti, F., Pietta, P. (2000) Polyphenol content and total antioxidant activity of vini novelli (Young red wines). Journal of Agricultural and Food Chemistry. 48(3):732-735.
80. Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Del Río, D., Salvatore, S., Bianchi, M., Brighenti, F. (2003). Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. The Journal of Nutrition. 133(9): 2812-2819.
81. Peña, N.A., Hernández, T., García, V.C., Estrella, I., Suárez, J.A.(2000). A survey of phenolic compounds in Spanish wines of different geographical origin. Eur Food Res Technol. 210:445-448.
82. Pérez, S. de R. L. (2001). El vino, arte que se puede beber. Panorama, México.
83. Pérez-Lamela, C., García-Falcón, M.S., Simal-Gándara, J., Orriols-Fernández, I. (2007). Influence of grape variety, vine system and enological treatments on the color stability of Young red wines. Food Chemistry. 101(2):601-606.
84. Peynaud, E., Blouin, J. (2002). El gusto del vino. 2^{da} edición. Mundi-Prensa. España.
85. Porgali, E., Büyüktuncel, E. (2012). Determination of phenolic composition and antioxidant capacity of native red wines by high performance liquid chromatography and spectrophotometric methods. Food Research International. 45(1): 145-154.
86. Puertas, B., Cruz, S., Serrano, M.J., Valcárcel, M.C., García de Luján, A. (2003). Incidencia de la práctica del aclareo de racimos en la concentración de antocianos y taninos y en el color de los vinos de las variedades Cabernet Sauvignon, Merlot, Syrah y Tempranillo. X Congreso Brasileiro de Viticultura e Enologia. Brasil.
87. Quintanar, E. M. A., Calderón, S. J. V. (2009). La capacidad antioxidante total, bases y aplicaciones. *REB*. 28 (3):89-101.
88. Rankine, B. (1989). Manual práctico de enología. Acribia. España.

89. Rastija, V., Medic-Saric, M. (2009). QSAR study of antioxidant activity of wine polyphenols. *European journal of medicinal chemistry*. 44(1): 400-408.
90. Ratti, R. Ratti (2000). *Come degustare i vini, manuale dell'assaggiatore*. 3ª edición. AEB Brescia, Italia.
91. Renaud, S.D., De Lorgeril, M. (1992). Wine, alcohol, platelets, and the french paradox for coronary heart disease. *The Lancet*. 339(8808): 1523-1526.
92. Reyes D.A., Escamilla H.M.L., Verde C.J.R. (1992). *Elaboración de los vinos de mesa: Enología*. Universidad Autónoma Metropolitana, México.
93. Reyes, D.A., Escamilla, H.M de L., Malpica, S.F., Verde, C.J.R. (2000). *Manual de cata, principio básicos de la cata de los vinos*. Universidad Autónoma Metropolitana, México.
94. Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Donéche, B., Lonvaud, A. (2006a). *Handbook of Enology*. Vol 1. Segunda edición. John Wiley & Sons, Ltd. Inglaterra.
95. Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., Dubourdieu, D. (2006b). *Handbook of Enology*. Vol. 2. Segunda edición. John Wiley & Sons, Ltd. Inglaterra.
96. Rivero-Pérez, M.D., Muñiz, P., González-Sanjosé, M.L. (2008). Contribution of anthocyanin fraction to the antioxidant properties of wine. *Food and Chemical Toxicology*. 46(8): 2815-2822.
97. Rodríguez, A.D. (2003). *Estudio comparativo de vinos tintos, variedad Syrah envejecidos en distintos tipos de barricas*. Pontificia Universidad Católica de Chile. Tesis para el título de Ingeniero Agrónomo. Chile.
98. Rodríguez, M.L. (1998). El vino y la alimentación. *Ciencia Tecnología Alimentos*, 2(2):100-107.
99. Ruiz, H. M. (1994). *Crianza y envejecimiento del vino tinto*. Madrid Vicente, España.
100. Salaha, M.I., Kallithraka, S., Marmaras, I., Koussissi, E., Tzourou, I. (2008). A natural alternative to sulphur dioxide for red wine production: Influence on color, antioxidant activity and anthocyanin content. *Journal of food composition and analysis*. 21(8):660-666.
101. Salazar, R., Espinoza, G., Ruiz, C. (2011). Compuestos fenólicos, actividad antioxidante, contenido de resveratrol y componentes del aroma de 8 vinos peruanos. *Rev. Soc. Quím. Perú*. 77(2):135-143.
102. Santamaría, P., López, R., Guitiérrez, A.R., García-Escudero, E. (1995). Influencia de la temperatura en la fermentación alcohólica. *Logroño*. 7(1):137-149.

103. Sanz, M., Fernández, S.B., Esteruelas, E., Muñoz, A.M., Cadahía, E., Hernández, M.T., Estrella, I., Martínez, J. (2012). Polyphenols in red wine aged in acacia (*Robinia pseudoacacia*) and oak (*Quercus petraea*) wood barrels. *Analytica Chimica Acta*. 732(1):83-90.
104. Sanza, M.A., Nevares, D.I., Cárcel, C.L.M., Navas, G.L. (2004). Analysis for low molecular weight phenolic compounds in a red wine aged in oak chips. *Analytica Chimica Acta*. 513(1): 229-237.
105. Seruga, M., Novak, I., Jakobek, L. (2011). Determination of polyphenols content and antioxidant activity of some red wines by differential pulse voltammetry, HPLC and spectrophotometric methods. *Food Chemistry*. 124(1): 1208-1216.
106. Sherz, H., Senser, F. (2000). *Food Composition and Nutrition Tables*. Medpharm. Alemania.
107. Sigma Aldrich (2013). Disponible en <http://www.sigmaaldrich.com>. Consultado el 15 de Agosto de 2013.
108. Simon, J. (2004). *Discovering Wine*. Blume, Inglaterra.
109. Skoog, A. D., Holler, F.J., Nieman, T.A. (2001). *Principios de análisis instrumental*. McGraw Hill. . España.
110. Strang C. (2011). *El pequeño Larousse de los vinos*. Larousse. México.
111. Suárez, L.J.A. (2002). *Impacto de levaduras y bacterias en los aromas vínicos fermentativos*. ETS de Ingenieros Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid.
112. Tao, Y.S., Liu, Y.Q., Li, H. (2009). Sensory characters of Cabernet Sauvignon dry red wine from Changli Country. *Food Chemistry*. 114(2):565-569.
113. The British Museum(2014). Consultado el día 7 Febrero de 2014. Disponible en <http://www.britishmuseum.org>
114. Usseglio, T. L. (1998). *Química enológica*. Mundi-Prensa, España.
115. Valls, J., Lampreave, M., Nadal, M., Arola, L. (2000). Importancia de los compuestos fenólicos en la calidad de los vinos tintos de crianza. *Alimentación equipos y tecnología*, 19(2):119-124.
116. Versari, A., Parpinello, G.P., Mattioli, A.U. (2007). Characterisation of color components and polymeric pigments of comercial red wines by using selected UV-Vis spectrophotometric methods. *South African journal for enology and viticulture*. 28(1):6.
117. Viguera, G.A.R., Aquilué, M.P.S, Martín, R.M.L., Sevilla, M.J. (1995). Selección de levaduras vínicas en la denominación de origen calificada rioja. *Logroño*. 7(1): 103-111.

-
118. Vila, H., Catania, C., Ojeda, H. (2003). Efecto del tiempo de maceración sobre el color, la composición tánica y la astringencia de vinos Cabernet Sauvignon y Malbec de Argentina. Congreso brasileiro de viticultura y enología (pp 115-124).
 119. Villaño, D., Fernández-Pachón, M.S., Troncoso, A.M., García-Parrilla, M.C. (2004). The antioxidant activity of wines determined by the ABTS method: influence of simple dilution and time. *Talanta* 64(2):501-509.
 120. Zamora, F. (2003). *Elaboración y crianza del vino tinto: Aspectos científicos y prácticos*. Mundi-Prensa, España.
 121. Zoecklein, W.B., Fugelsang, C.K., Gump, H.B., Nury, S.F. (2001). *Análisis y producción de vino*. Acribia. España.