



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**Evaluación fisicoquímica en vinos blancos elaborados con adición de aminoácidos, enzimas y maceración de cítricos.**

**Tesis**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**QUÍMICO DE ALIMENTOS**

**PRESENTA**

**EDUARDO FERNANDO SEGURA MORALES**



**MÉXICO, D.F.**

**2015**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:** Profesor: Duarte Lisci Georgina Artemisa

**VOCAL:** Profesor: Cañizares Macías María del Pilar

**SECRETARIO:** Profesor: Miranda Martínez Inés

**1er. SUPLENTE:** Profesor: Ruíz Terán Francisco

**2° SUPLENTE:** Profesor: Monroy Barreto Minerva

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:** FACULTAD DE QUÍMICA, EDIFICIO F,  
LABORATORIO 211.

**ASESOR DEL TEMA:** Dra. Cañizares Macías María del Pilar \_\_\_\_\_

**SUSTENTANTE:** Eduardo Fernando Segura Morales \_\_\_\_\_

# Índice

Abreviaturas .....	5
Introducción .....	6
1. Objetivos.....	8
1.1 Objetivo general.....	8
1.2 Objetivos particulares.....	8
2. Antecedentes.....	9
2.1 El vino.....	9
2.2 Historia del vino.....	9
2.3 El vino en México.....	9
2.4 Producción de vino a nivel mundial.....	10
2.5 Consumo de vino a nivel mundial.....	12
2.6 Producción y consumo del vino en México.....	13
2.7 Uvas comúnmente usadas para elaborar vino blanco.....	15
2.8 Técnicas vinícolas utilizadas actualmente.....	17
2.8.1 Maceración de cítricos.....	18
2.8.2 Suplementación del mosto con aminoácidos.....	19
2.8.3 Adición de enzimas.....	19
2.9 Importancia del análisis fisicoquímico y colorimétrico en la industria vitivinícola.....	20
2.10 Legislación del vino.....	21
2.11 Percepción del color.....	22
2.12 Evaluación del color en vinos por métodos instrumentales.....	23
3. Metodología .....	25
3.1 Elaboración de vino blanco.....	25
3.1.1 Obtención del mosto.....	25
3.1.2 Implementación de las técnicas enológicas.....	25
3.1.3 Fermentación y envasado.....	26
3.2 Análisis fisicoquímicos.....	26
3.2.1 pH.....	26
3.2.2 Acidez total.....	26
3.2.3 Nitrógeno asimilable.....	27

3.2.4 Acidez volátil.....	28
3.2.5 Dióxido de azufre libre y combinado .....	29
3.2.6 Carbohidratos reductores.....	30
3.2.7 Grado alcohólico.....	31
3.2.8 Análisis de fenoles por Análisis por Inyección en Flujo (FIA).....	32
3.3 Evaluación instrumental de color. ....	33
3.3.1 Condiciones de análisis.....	33
3.3.2 Análisis de las muestras.....	34
4. Resultados y análisis.....	36
4.1 Parámetros de desempeño de la determinación de polifenoles por Análisis por Inyección en Flujo (FIA). ....	36
4.2 Parámetros de desempeño de la determinación de azúcares reductores por el método del ácido dinitrosalicílico (DNS). ....	37
4.3 Evaluación de los parámetros fisicoquímicos en los vinos .....	37
4.3.1 pH y dióxido de azufre. ....	38
4.3.2 Acidez total.....	39
4.3.3 Acidez volátil.....	42
4.3.4 Polifenoles totales .....	44
4.3.5 Nitrógeno asimilable.....	45
4.3.6 Azúcares reductores y grado alcohólico.....	46
4.4 Resultados del análisis de color.....	48
4.4.1 Luminosidad (L) .....	48
4.4.2 Parámetro a* .....	50
4.4.3 Parámetro b* .....	52
4.4.4 Cromo (C*).....	54
4.4.5 Tono o matiz (h°) .....	55
5. Conclusiones .....	57
6. Anexo I. Tablas de resultados. ....	59
7. Bibliografía.....	71

## **Abreviaturas**

De acuerdo con su proceso de elaboración los vinos están rotulados de la siguiente forma:

- Control: Su elaboración no incluyó una técnica enológica especial, es decir, fue elaborado por el método tradicional.
- Aminoácidos: Corresponde al vino cuyo mosto fue enriquecido con alanina, arginina, glutamina, prolina y treonina.
- Enzima: Se refiere al lote de mosto al que se le adicionó el kit enzimático Zymapect® durante la fermentación.
- Macerado: Al mosto se le añadió la cáscara de un cítrico (lima al mosto de la variedad Chenin Blanc, mandarina al de la variedad Sylvaner y maracuyá para el mosto de Sauvignon Blanc) la cual se dejó sumergida en el mismo durante 24 horas.
- Macerado + enzima: El mosto fue sometido a la misma técnica del punto anterior para posteriormente adicionar el kit enzimático Zymapect® durante el proceso de fermentación.

## **Introducción**

El vino es una de las bebidas alcohólicas más antiguas, complejas y fascinantes que existen actualmente. Su consumo, beneficios para la salud y excelente acompañamiento que le da a la comida, han sido algunas de las razones que han impulsado su estudio e investigaciones que permiten comprenderlo, apreciarlo y mejorar su calidad.

Las tendencias del mercado, los gustos de los consumidores, las modas y las cuotas de producción imprimen a la tecnología de la vinificación (que es el proceso que conduce a la transformación de la uva en vino) especificaciones propias que la industria vitivinícola puede satisfacer aplicando soluciones procedentes de distintas áreas como diseño, producción, análisis químicos, físicos, microbiológicos y organolépticos (Noguez, 2006).

En los últimos 10 años la cultura de beber vino ha ido incrementando en nuestro país, esto debido a que las diferentes regiones nacionales que producen vino lo elaboran con mejor calidad, es decir, que existe un control de calidad sobre las características del vino, como lo son la cantidad de azúcares residuales, el contenido de anhídrido sulfuroso, la acidez volátil y total, el contenido de alcohol entre otros.

La vitivinicultura, una de las actividades que ha acompañado el desarrollo humano, es económicamente muy dinámica en nuestro país y requiere potenciar los atributos de diversidad, innovación y valores culturales en sus producciones de vino (Goldner, 2008).

El mercado internacional influye en los mercados nacionales en dos sentidos, por un lado estimula el cultivo de variedades acreditadas nacional e internacionalmente en lugares donde no se habían cultivado anteriormente y por otro, suscita que cada región vitivinícola cuide de sus variedades autóctonas y contribuya a dar diversidad al mercado universal para que no sea monocorde, intentando en ambos casos potenciar al máximo el carácter varietal de la uva, este punto es importante ya que si bien en México se elabora vino blanco a partir de variedades de uva utilizadas a nivel mundial (Chenin Blanc, Sylvaner, Suavignon

Blanc, etc.), éstas tienen características propias en el territorio nacional que es importante aprovechar y potenciar mediante el uso de diferentes técnicas vinícolas (Alonso, 2012).

En el presente trabajo de investigación se realizaron microvinificaciones para obtener vinos blancos a partir de cepas cultivadas en México, tales como Chenin Blanc, Sylvaner y Sauvignon Blanc, implementando diferentes técnicas enológicas con la finalidad de observar, mediante análisis fisicoquímicos y colorimétricos, las características del producto final y compararlos con los vinos elaborados por el método tradicional para así evaluar los efectos que tienen dichas técnicas en ciertos parámetros de calidad de los vinos blancos.

## **1. Objetivos**

### **1.1 Objetivo general.**

- Elaborar vinos blancos a partir de uvas (*Vitis vinifera*) de las variedades Chenin Blanc, Sylvaner y Sauvignon Blanc, recreando el proceso tradicional de vinificación a pequeña escala (microvinificación), partiendo desde la selección de uvas hasta el embotellamiento, e implementando técnicas enológicas como enriquecimiento del mosto con aminoácidos, adición de enzimas glicohidrolasas y maceración de cítricos en el mosto, con el fin de evaluar los efectos de estas técnicas en algunos parámetros fisicoquímicos de calidad de los vinos.

### **1.2 Objetivos particulares.**

- Establecer si los vinos elaborados cumplen con las normativas vigentes establecidas por diferentes organismos (CODEX enológico, Consejo de la Unión Europea y Organización Internacional del Vino) en función de sus características fisicoquímicas.
- Hacer el análisis de parámetros fisicoquímicos como acidez total, pH, acidez volátil, dióxido de azufre libre y combinado, grado alcohólico, nitrógeno asimilable, polifenoles totales y azúcares reductores así como el análisis instrumental de las características cromáticas de vinos elaborados con variedades de uva Chenin Blanc, Sylvaner y Sauvignon Blanc.
- Hacer un estudio comparativo de los resultados de los análisis fisicoquímicos de los vinos analizados en función de la variedad de uva y el proceso de elaboración al que fueron sometidos.

## **2. Antecedentes**

### **2.1 El vino.**

El vino es la bebida resultante de la fermentación alcohólica total o parcial del jugo de la uva fresca o el mosto. La vid de vinificación es la uva fresca, madura o sobremadura en la misma planta, que entra en el proceso de elaboración del mosto o del vino.

### **2.2 Historia del vino.**

El vino ha sido acompañante del ser humano desde las civilizaciones antiguas donde destacaron las contribuciones hechas por las sociedades griega y romana, sin embargo, a partir del siglo XX, debido a múltiples publicaciones científicas donde han dado a conocer los beneficios del vino en la salud del ser humano, tales como su contenido de compuestos antioxidantes, antidepresivos, anticancerígenos y antisépticos, su producción y consumo a nivel mundial ha ido en un crecimiento notable (Font *et al*, 2009).

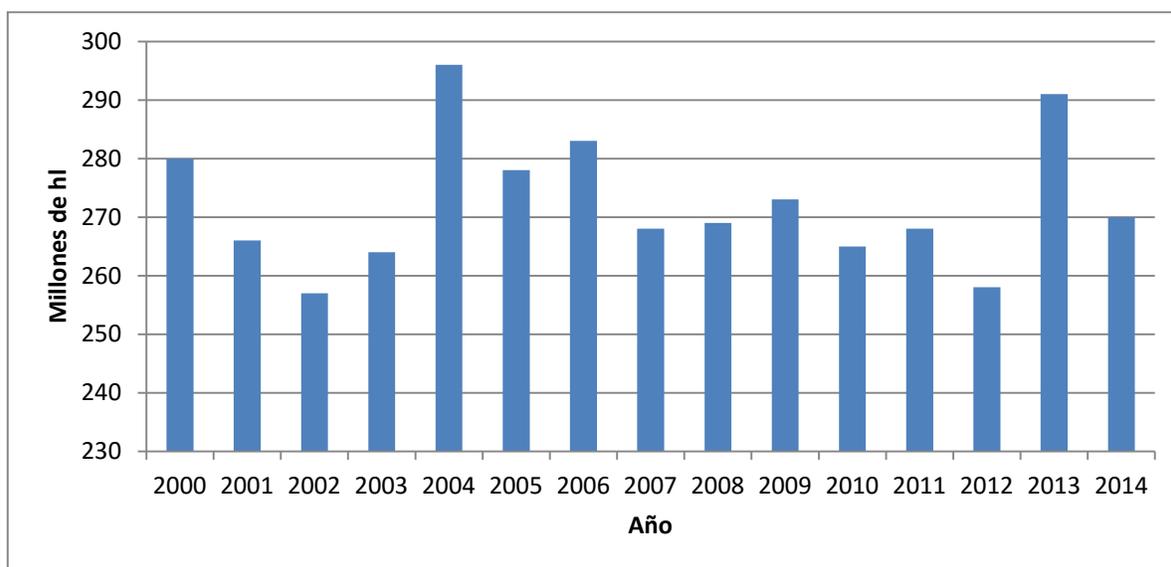
### **2.3 El vino en México.**

Los vinos mexicanos empezaron a producirse formalmente hasta 1920, pero no se logró que tuvieran buena calidad. En 1948 fue creada la Asociación Nacional de Vitivinicultores, que afilió inicialmente a quince empresas. En el periodo comprendido entre los años 1950 y 1954 se incorporaron catorce compañías más. La situación general ha cambiado considerablemente a partir de los años 70, por lo que el cultivo de la vid se ha incrementado. La implantación de variedades de uvas seleccionadas, la instalación de cavas de vinificación integrando los progresos de la ciencia enológica más moderna, el mejoramiento del nivel de vida de la clase media, los esfuerzos comerciales y educativos de las grandes marcas, han permitido colocar en el mercado productos de una mejor calidad, ésto aunado a la gran cantidad de publicaciones científicas recientes en las que se demuestran los múltiples beneficios que conlleva el consumo del vino de manera regular y

moderada ha suscitado en el público un mayor interés hacia unas nuevas costumbres de consumo del vino (Strang y Hanicotte, 2007).

#### 2.4 Producción de vino a nivel mundial.

De acuerdo a estudios hechos por la Organización Internacional del Vino (OIV), en el último conteo anual registrado de la producción mundial del vino (2014), ésta puede calcularse en 270 millones de hectolitros, lo que representaría un decremento de 21 millones de hectolitros en relación al 2013 (Gráfica 1).



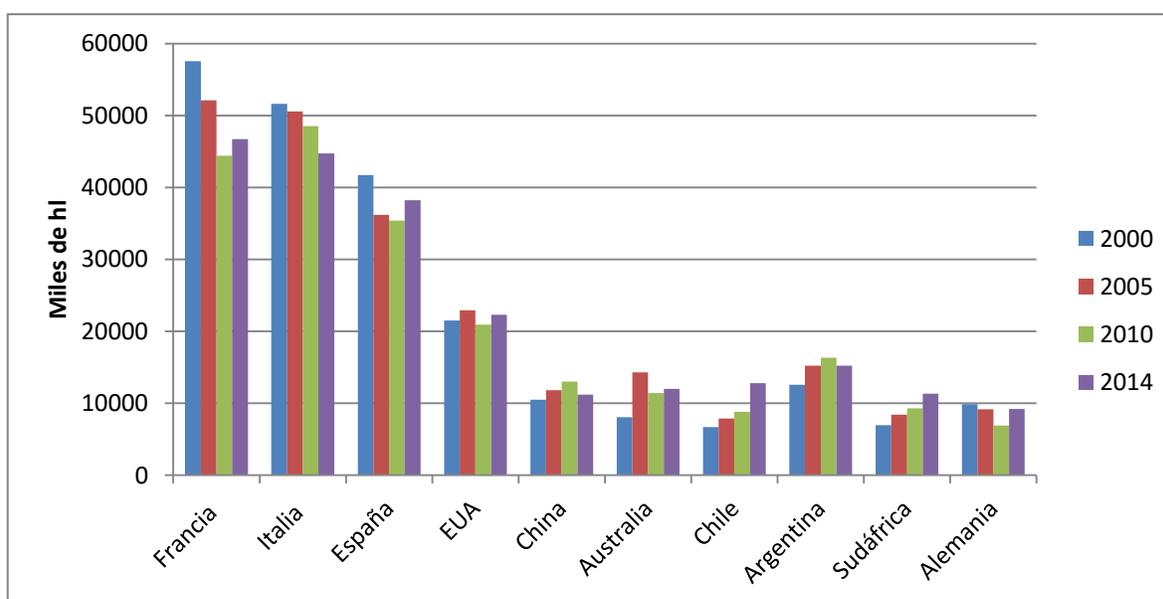
Gráfica 1. Producción mundial de vino entre los años 2000 y 2014

Fuente: OIV (2013)

El país con la mayor producción de vino a nivel mundial es Francia, con una producción de 46,7 millones de hectolitros anuales, lo que representa 17.3% de la producción mundial, seguido por Italia con 44.7 millones de hectolitros, 16.6% mundial, y en tercer lugar se encuentra España con 38.2 millones de hectolitros, 14.1% mundial. A pesar de que los principales productores de vino a nivel mundial siempre han sido países pertenecientes a la Union Europea (UE), se comienza a observar una tendencia a la baja en la producción de los países mencionados pues en Francia, del año 2000 al año 2014, ha habido un decremento del 19% en la cantidad de vino producido, mientras que en Italia el decremento es del 14% y en España del 9%. Este comportamiento puede atribuirse a la complicada

situación económica (crisis económica) que se vive en la UE, la cual sin duda esta afectando a la industria vinícola en cuanto a su inversión y, por lo tanto, a su capacidad de producción.

Fuera de la Unión Europea (UE), el principal país no europeo productor de vino es Estados Unidos de América (E.U.A.) con 22.3 millones de hectolitros, 8.3% de la producción mundial, seguido de Australia con 12 millones de hectolitros, el tercer lugar lo ocupa China con 11.2 millones de hectolitros y posteriormente se encuentra Argentina con 15.2 millones de hectolitros anuales. Es notable el contraste que hay en los cambios experimentados respecto a la producción de vino entre los países europeos y los países de otras regiones del mundo entre los años 2000 y 2014, ya que los principales productores no europeos han incrementado su producción de una manera sobresaliente, tal es el caso de Australia, Chile y Sudáfrica quienes han incrementado el volumen de su producción en un 49%, 91% y 62% respectivamente. Esto demuestra que la cultura de la producción y consumo del vino se ha extendido de manera notable en diversas regiones del planeta pues entre los principales productores se encuentran países del continente americano, asiático y oceánico. En la Gráfica 2 se puede observar de manera gráfica lo mencionado anteriormente.



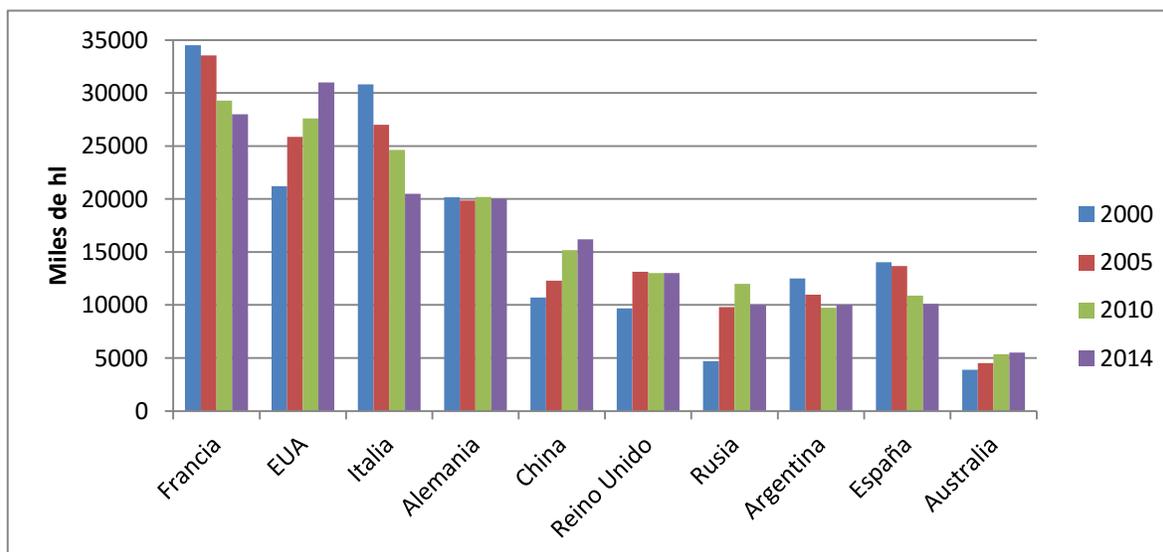
Gráfica 2. Principales productores de vino y su producción en el periodo 2000-2012.

Fuente: OIV (2013)

## 2.5 Consumo de vino a nivel mundial.

La OIV habría estimado que el consumo mundial de vino para el 2014 sería de 240 millones de hectolitros lo que representa una reducción de 3 millones de hl en comparación con el consumo en el año 2013, no obstante, se puede observar un balance positivo del 6% entre la cantidad de vino consumida en el año 2000 (226 millones de hl) y la estimación mencionada anteriormente.

A pesar de que entre los principales consumidores de vino se encuentran un gran número de países pertenecientes a la Unión Europea, algunos de ellos han experimentado una disminución en su consumo en el periodo 2000-2014. Para Francia, por ejemplo, se estimó que una vez concluido el 2014 la reducción fue de aproximadamente el 18.8% mientras que para Italia fue del 33.4% y para España hubo un déficit del 28.1%. El único miembro de la Unión Europea que ha visto un aumento en su consumo de vino en el mismo periodo ha sido el Reino Unido (26%). Fuera de la Unión Europea, los países que han tenido un incremento considerable son Estados Unidos con un crecimiento del 46%, China ha visto una mejora del 51.5%, mientras que Rusia y Australia acrecentaron su consumo en un 112% y 41% respectivamente.

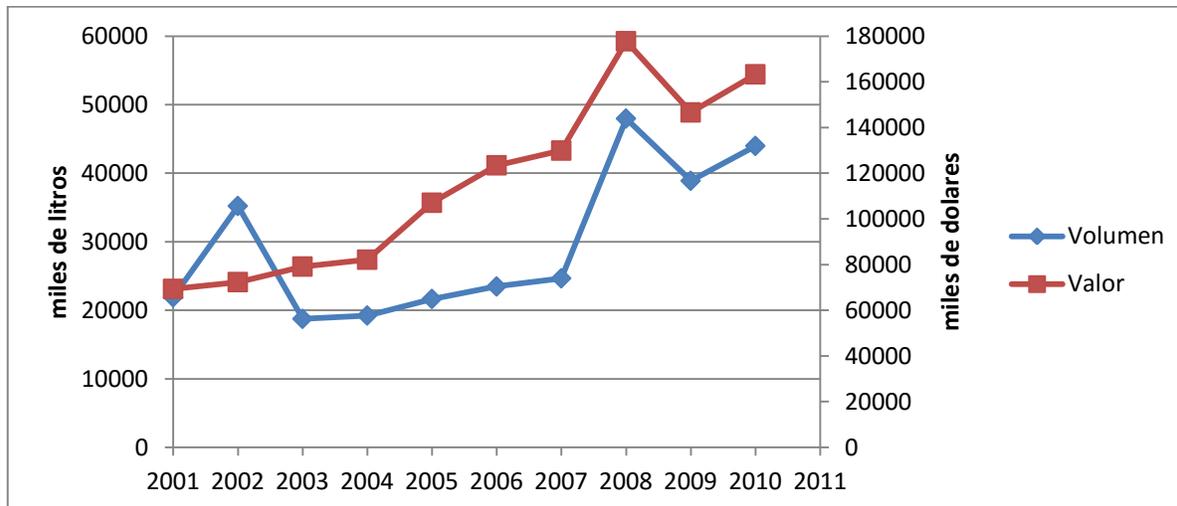


Gráfica 3. Principales consumidores de vino y su consumo en el periodo 2000-2012.

Fuente: OIV (2013)

## 2.6 Producción y consumo del vino en México.

México es considerado como el productor de vino más antiguo en América, sin embargo, la industria de vinos de calidad en el país es relativamente reciente; y existe mucha competencia con Estados Unidos, Chile y Argentina. Así como en otros países, mencionados anteriormente, la industria vinícola mexicana ha crecido en los últimos años, al grado que, según la Asociación Nacional de Vitivinicultores, se estima que apoya en gran medida la economía del país (Font *et al*, 2009). De acuerdo con dicho organismo, en el 2012 la producción de vino fue de más de 62 millones de litros (6 900 000 cajas) que representa aproximadamente un valor de 10 300 millones de pesos. Sin embargo, este desarrollo está sustentado principalmente por el mercado de vinos importados, mientras que el de vinos nacionales ha tenido un desarrollo menor. Como se puede observar en la Gráfica 4 el mercado de vinos importados tuvo un incremento del 95% en volumen y del 157% en valor durante el período 2000-2010.



Gráfica 4. Evolución del mercado de vinos importados en México

Fuente: CMV (2012)

La oferta de vino en México, tanto los de producción nacional, como los importados han ido creciendo en los últimos años, destacando un mayor consumo

en el país de vino importado que nacional (Gráfica 5). La mayoría del vino importado por México corresponde a los vinos tintos, rosados y blancos.



Gráfica 5. Mercado de vinos en México (miles de litros)

Fuente: CMV (2012)

Hasta el año 2010 la industria mexicana se encontraba integrada por más de cien bodegas y productores de uva para vino, ubicados en las diferentes zonas vitivinícolas, casi el 90% de ellas en Baja California, y el resto en Coahuila, Querétaro, Zacatecas, Guanajuato y Aguascalientes, las cuáles, en su conjunto, ofrecen más de 350 etiquetas de vino (Tabla 1).

Tabla 1. Producción de los distintos viñedos ubicados en México

Fuente: CMV (2012)

Estado	Hectáreas plantadas	Hectáreas en producción	Rendimiento Ton/ha	Bodegas de vinificación productoras	Toneladas de uva estimadas.	Litros de vino estimados
Aguascalientes	120	102	7.00	6	714	510,000
Baja California	2662	2,263	7.50	72	16,970	12,121,607
Coahuila	435	370	8.00	3	2,958	2,112,857
Guanajuato	25	21	7.00	4	149	106,250
Querétaro	315	268	7.50	3	2,008	1,434,375
Zacatecas	62	53	7.00	5	369	263,500
Total	3619	3,076	7.53	93	23,168	16,548,589

La demanda de vino ha venido creciendo a ritmos del 12% anual, o más, durante la última década, sin embargo, a pesar del ritmo acelerado de incremento, aún tenemos una base de consumo muy marginal dado que el consumo per cápita de vino en México es de 0.55 L, lo que representa una cifra muy baja en comparación con países como Francia (58 L/ año), España (45 L/año), Italia (62 L/año) y Argentina (28 L/año) (Font *et al.*, 2009). Este bajo consumo se explica por la preferencia de otras bebidas alcohólicas (cerveza y tequila, principalmente) y sobre todo por la arraigada costumbre entre la población de acompañar las comidas con refrescos carbónicos u otras bebidas endulzadas. A pesar de esto, debido a la tendencia de mejora observada en los indicadores económicos, la ANV tiene la visión a mediano plazo de que el consumo de vino llegue a niveles de 2 litros per cápita, al tiempo que la categoría vino crecerá en esta década hasta niveles de entre 15 y 20 millones de cajas, mientras que se contempla que los vinos nacionales podrían incrementar la participación de mercado hasta suponer el 50% de la categoría (Consejo Mexicano Vitivinícola, 2012). Empero, esta visión depende de la percepción cualitativa del vino mexicano entre los consumidores, para lo cual se requiere de la innovación necesaria para impulsar esta importante actividad agrícola.

## **2.7 Uvas comúnmente usadas para elaborar vino blanco.**

Las cepas se diferencian por características morfológicas (color, forma y volumen de los racimos y de las bayas, silueta de las hojas) y fisiológicas (floración, madurez, sensibilidad a las enfermedades, contenido de azúcares, taninos, sustancias aromáticas, etc.)

El viticultor elige sus cepas específicas según criterios relativos a las condiciones de cultivo (suelo, clima, etc.) y a la calidad del vino deseada (Strang y Hanicotte, 2007).

A continuación se presentan variedades de uvas que se utilizan para la elaboración de vino blanco (Tabla 2).

Tabla 2. Variedades de Uvas blancas y algunas de sus características

Variedad	Características
<p><b>Chardonnay</b></p> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ El grano de uva es pequeño, redondo y adquiere un tono miel cuando madura.</li> <li>▪ Es capaz de adaptarse a suelos y climas variados.</li> <li>▪ Puede presentar aromas potentes y aromas cítricos, piña y frutas exóticas.</li> <li>▪ Estados en los que se cultiva: Aguascalientes, Baja California, Coahuila y Querétaro.</li> </ul>
<p><b>Chenin Blanc</b></p> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Esta cepa polivalente se adapta a todos los suelos y climas para producir vinos muy característicos.</li> <li>▪ Sus racimos son de tamaño mediano y compacto, las bayas son de tamaño mediano y color dorado.</li> <li>▪ Sus características aromáticas son netamente frutales.</li> <li>▪ Sus características de sabor son netamente secas.</li> <li>▪ Estados en los que se cultiva: Baja California, Coahuila y Querétaro.</li> </ul>
<p><b>Moscatel</b></p> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Es una variedad blanca de maduración media, necesita sol, tierra húmeda e influencia del mar.</li> <li>▪ Los granos de esta especie son grandes, lisos, redondos y la piel posee un color blanco.</li> <li>▪ Caracteriza por su delicado aroma y su sabor dulce.</li> <li>▪ Estados en los que se cultiva: Querétaro y Guanajuato.</li> </ul>

<p><b>Sauvignon Blanc</b></p> 	<ul style="list-style-type: none"><li>▪ Es una planta resistente al frío. Tiene brotación temprana.</li><li>▪ El racimo es de tamaño mediano y forma cilíndrica. Las bayas son de tamaño mediano, forma redonda y color amarillo-dorado.</li><li>▪ Produce vinos secos y ácidos.</li><li>▪ Estados en los que se cultiva: Baja California, Coahuila y Querétaro.</li></ul>
<p><b>Semillón</b></p> 	<ul style="list-style-type: none"><li>▪ Es bastante resistente a la enfermedad, excepto en lo referente a la podredumbre.</li><li>▪ La uva madura pronto, adquiriendo un tono rosado en climas templados.</li><li>▪ Estados en los que se cultiva: Coahuila y Guanajuato</li></ul>
<p><b>Sylvaner</b></p> 	<ul style="list-style-type: none"><li>▪ La vid es vigorosa y productiva, con hojas de tres lóbulos.</li><li>▪ Los racimos son pequeños y cilíndricos, con bayas verdes medianas que maduran rápidamente.</li><li>▪ En ocasiones se mezcla con otras variedades debido a su alta acidez y sabor neutro.</li><li>▪ Estados en los que se cultiva: Querétaro.</li></ul>

Fuentes: Strang y Hanicotte (2007); Ortiz (2007); López (2005)

## 2.8 Técnicas vinícolas utilizadas actualmente.

En los últimos años y según las demandas de los consumidores, se persigue obtener vinos blancos jóvenes con un aspecto atractivo en lo que se refiere al color, frescos y afrutados y que expresen al máximo sus características varietales sin dejar a un lado su calidad fisicoquímica mediante el control del proceso de elaboración del mismo por medio del análisis de ciertos parámetros enológicos.

De acuerdo a estas demandas los industriales del sector enológico están preocupados no sólo por elegir las variedades de uva más aromáticas sino también por la aplicación de todas aquellas técnicas que actualmente tienen disponibles para aumentar y mejorar las características finales del vino. Por eso todas las buenas bodegas y cooperativas han mejorado notablemente sus equipos e instalaciones, y han incorporado prácticas enológicas modernas, con lo que sus vinos están alcanzando elevadas cotas de calidad (Alonso, 2012).

La complejidad aromática de los vinos varía, dependiendo de la variedad de uva usada, los aromas producidos durante la fermentación y aquellos desarrollados durante el proceso de añejamiento. La producción de ambos, aromas y compuestos de descomposición, por las levaduras puede ser significativamente afectado por prácticas de vinificación tales como clarificación, aireación, inoculación de cepas de levaduras, adición de nutrientes y temperatura de fermentación (Hernández-Orte *et al.*, 2005).

### *2.8.1 Maceración de cítricos.*

Entre las técnicas que han surgido en un tiempo reciente está la maceración de cáscaras de cítricos en el mosto durante la fermentación con el objetivo de que éstos liberen compuestos que aporten principalmente aroma a los vinos, tal es el caso de algunos compuestos fenólicos, terpenos y ésteres presentes en las cáscaras de dicho grupo de frutas, a la vez que también modifican el color de los mismos por medio de diversos pigmentos naturales que incluyen clorofilas, carotenoides, betalaínas y flavonoides (Hough y Fiszman, 2005). De forma general, con esta técnica, la composición de los mostos sufre modificaciones sobre: aromas, compuestos fenólicos, acidez, polisacáridos y compuestos nitrogenados. Dichas modificaciones junto con las transformaciones que tienen lugar durante la fermentación van a tener gran repercusión sobre la composición y las características del producto final. Sin embargo, si bien se tiene cierta información acerca de los cambios que esta técnica produce en las características finales del vino obtenido, aún falta investigar más al respecto para determinar que compuestos son los más influyentes durante el proceso.

### *2.8.2 Suplementación del mosto con aminoácidos.*

En los viñedos es común practicar la suplementación del mosto con fosfato diamónico (DAP), urea o nutrientes para levaduras con el propósito de prevenir problemas relacionados con la deficiencia de nitrógeno (fermentaciones lentas y producción de sulfuro de hidrógeno).

El contenido de nitrógeno en el mosto afecta la cinética de fermentación, la producción de compuestos aromáticos y de descomposición, de etanol y glicerol (Albers *et al.*, 1996) y también de urea, el principal precursor del etilcarbamato, un carcinógeno presente en el vino. Las dos principales fuentes de nitrógeno asimilable por las levaduras son aminoácidos primarios y sales de amonio (Butzke, 1998). A pesar de que se han realizado varios estudios acerca del efecto que la adición de amonio al mosto tiene sobre estos parámetros, poco se ha averiguado respecto a su influencia en la formación de la mayoría de los compuestos aromáticos.

### *2.8.3 Adición de enzimas.*

La transformación que tiene un fruto no maduro hasta el momento de ser apto para el consumo representa un conjunto de procesos biológicos estrechamente relacionados con numerosos sistemas enzimáticos. Así ocurre en la maduración de la uva y en su transformación en vino.

Las enzimas que intervienen en enología proceden del mismo grano, de microorganismos y de mohos patógenos que tienen una acción benéfica o desfavorable en la evolución de los productos. En ocasiones, las enzimas provenientes de la uva o de los microorganismos de la vinificación quedan inhibidas por la composición del mosto o como consecuencia de tratamientos prefermentativos (Flanzy, 2000). Entonces es deseable, en algunos casos, compensar esta deficiencia de actividad o bien recurrir a otros métodos de transformación utilizando enzimas industriales (Villettaz, 1995).

La mayoría de los preparados utilizados en la industria vitivinícola son los que contienen glicohidrolasas, es decir, enzimas que catalizan la hidrólisis de enlaces osídicos, bien entre dos grupos glucídicos en cadenas oligo- ó poliosídicas, o bien

entre un glúcido y una unión no glucídica como por ejemplo un núcleo fenólico o una molécula volátil (Flanzy, 2000). En este grupo de enzimas se encuentran las pectinasas, celulasas, hemicelulasas y glicosidasas.

Los preparados enzimáticos comerciales sirven fundamentalmente para ampliar y mejorar los fenómenos espontáneos que se presentan durante la vinificación. Entre las principales aplicaciones tecnológicas de estos preparados se encuentran su adición a los mostos para así optimizar procesos como el desfangado, el prensado y la maceración gracias a la actividad de las pectinasas, celulasas y hemicelulasas, mejorando así el brillo y la luminosidad del producto final, al eliminar las causas de turbidez (Brillouet et al, 1990), mientras que su adición a los vinos mejora su filtración y clarificación a la vez que las glicosidasas permiten enriquecer el vino en compuestos aromáticos (Dupin et al, 1992).

## **2.9 Importancia del análisis fisicoquímico y colorimétrico en la industria vitivinícola.**

El estudio fisicoquímico de los vinos es fundamental para la elaboración de los mismos ya que su composición influirá directamente en su calidad y, por lo tanto, en la aceptación de los consumidores. El vino contiene una gran cantidad de compuestos los cuáles son responsables de las características organolépticas, como color, aroma, astringencia y amargor. Además de que el control de algunos parámetros fisicoquímicos, como el pH y la acidez, antes y durante la fermentación, evitan la aparición de algunos defectos o "enfermedades" del vino, tales como gustos azufrados, quiebra proteica, precipitación de tartratos, entre otros. Este factor también ha sido importante para el crecimiento y desarrollo de la industria vinícola, esto debido a que las diferentes regiones nacionales que producen vino, lo elaboran con mejor calidad, es decir, que existe un control de calidad sobre las características del vino, como lo son la cantidad de azúcares residuales, el contenido de anhídrido sulfuroso, la acidez volátil y total y el contenido de alcohol entre otros y debido a las exigencias de la legislación vigente existen diferentes métodos de análisis que dan respuesta a estas necesidades (Nieto, 2010).

El aspecto del vino también es un indicador importante de su calidad, estilo, y del origen varietal. La identidad y calidad de algunos alimentos es determinada por el color, por lo que muchos consumidores asocian un color con productos específicos, tal es el caso del café, el vino, los quesos, etc. por mencionar algunos (Jaros, et al., 2000).

En el campo de la enología, el color representa la primera característica sensorial percibida por el catador, aportando no solo información sobre defectos, tipo o la evolución del vino, sino también influye de gran manera sobre su aceptabilidad y precio (Peynaud y Blouin, 2002). Así, fuertes correlaciones han sido encontradas entre el color y la calidad de los vinos.

En comparación con los vinos tintos, se conoce muy poco sobre la naturaleza química y la evolución del color de los vinos blancos. El pequeño contenido fenólico de los vinos blancos es el de los hidroxicinamatos, como el ácido cafeíco y sus derivados. En general, se piensa que la mayoría de la pigmentación amarilla de los vinos blancos jóvenes es debida a la extracción y oxidación de los flavonoles, como la quercetina y el kaempferol. A su vez, los tonos dorados pueden desarrollarse mediante la formación de pigmentos denominados melanoidinas a través de la reacción de Maillard (pardeamiento no enzimático) (Jackson, 2009). Habitualmente, los vinos blancos jóvenes y secos presentan colores desde los pajizos pálidos hasta los prácticamente incoloros. Además de la importancia del color, la claridad es otro aspecto importante al momento de evaluar la calidad de un vino ya que la turbidez será siempre considerada un defecto.

## **2.10 Legislación del vino**

Los negocios internacionales requieren de actividades competitivas para ampliar los mercados internacionales y mantener un crecimiento económico nacional. Para México es importante cumplir con las normatividades internacionales para exportar los vinos de origen nacional y de esta forma darlos a conocer al mercado mundial, por ello es importante que las bebidas alcohólicas, en general, estén sustentadas en un principio por una norma oficial, ya que de esta manera se logran regular las

especificaciones adecuadas, para que cumplan con la finalidad de ayudar a los consumidores a comprender mejor las especificidades de los productos vitivinícolas y garantizar a los productores la valorización de la calidad de éstos además de que representa un respaldo para el producto nacional al compararlo con la competencia extranjera.

México cuenta con la Norma Oficial Mexicana que tiene por objetivo, establecer las especificaciones sanitarias, disposiciones de etiquetado sanitario y comercial de las bebidas alcohólicas que se comercialicen en el territorio nacional (NOM-142-SSA1-1995). Sin embargo, a diferencia de algunos organismos extranjeros, México no cuenta con una norma que establezca especificaciones de materia prima y producción del vino para así poder gestionar de mejor manera la situación actual del sector vitivinícola. Este punto, sin duda, es importante ya que para apoyar a esta industria, que en pocos años ha tomado gran importancia, es necesario establecer normas relativas a la designación, denominación y presentación de todos los productos de la industria vinícola con el objetivo de adoptar estándares de calidad nacional.

### **2.11 Percepción del color.**

La percepción del color es un fenómeno físico y fisiológico, ya que se hace uso del sistema visual, respondiendo a estímulos de luz que se registran por la retina, transmitidos por señales eléctricas al cerebro donde son interpretados.

La luz puede ser refractada, reflejada, transmitida o absorbida por un objeto, lo cual lleva a la variación de su color, que a su vez puede variar en tres dimensiones: tono (hue,  $h^\circ$ ), lo que el consumidor siempre llama “color”, luminosidad (relación entre la luz absorbida y reflectada) también llamado brillo de un objeto y la saturación refiriéndose a la pureza del color, (Lawless, 1998).

Existen distintos estudios referidos a la evaluación de color en vinos, haciendo uso de métodos sensoriales e instrumentales (colorímetro o espectrofotómetro). El colorímetro es un instrumento analítico basado en la espectrofotometría, el cual mide el grado de luminosidad (L) (relación entre la luz absorbida y reflectada), la variación de color entre el rojo y el verde (a) y la variación de color entre el

amarillo y el azul (b), permitiendo la cuantificación de diferencias no perceptibles en coloración en los alimentos por el ojo humano, (O'Sullivan, et al., 2002).

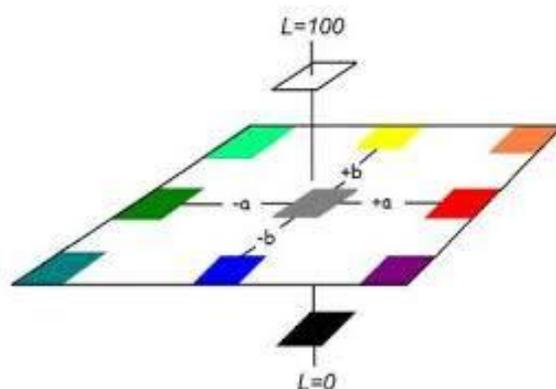
## **2.12 Evaluación del color en vinos por métodos instrumentales.**

La inspección visual del color, involucra el análisis cualitativo y la comparación con muestras estándares. Como la percepción del color difiere de persona a persona y depende de la iluminación y otros factores, muchas industrias correlacionan la medida visual del color con la medida instrumental del mismo (McCaig, 2001).

Los instrumentos de medición del color buscan simular la manera en la cual los ojos humanos captan el color de un objeto, bajo determinadas condiciones de iluminación, para proporcionar una medida cuantitativa reproducible.

La Commission Internationale de l'Éclairage (CIE) ha propuesto diferentes sistemas para la representación del color en un intento por encontrar una que reflejara la sensación visual de los observadores en un modo apropiado. Cuando la determinación de un color es llevada a cabo es necesario determinar la posición del observador, la fuente de luz, y el intervalo de adquisición de datos (García-Marino *et. al.*, 2012).

El color de objetos puede ser expresado a través de las coordenadas de color de los diferentes espacios de color (CIE, 2004). El CIE 1976 ( $L^*$ ,  $a^*$ , y  $b^*$ ), o espacio de color CIELAB, es un sistema de coordenadas cartesianas definido por tres coordenadas colorimétricas,  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ . En la Figura 1 se muestran las coordenadas  $L^*a^*b^*$ . El atributo  $L$  describe el componente de claridad o luminosidad de un color, con base en las tonalidades de blanco (100) hasta negro (0). La coordenada  $a$  da un valor de las tonalidades de rojo (+ $a$ ) hasta verde (- $a$ ), mientras que la coordenada  $b$  indica tonalidades de amarillo (+ $b$ ) hasta azul (- $b$ ). A partir de estas tres coordenadas, otros parámetros de color están definidos dentro de este espacio: tono (hue,  $h^\circ$ ), el parámetro angular considerado el atributo cualitativo de color, y el croma ( $C^*$ ), el atributo cuantitativo de color el cual puede ser usado para evaluar el grado de diferencia de cualquier tonalidad relativa a un color gris con la misma claridad (García-Marino *et. al.*, 2012).



**Figura 1.** Representación gráfica de las coordenadas  $L^*a^*b^*$

Existen distintos estudios referidos a la evaluación de color en vinos blancos, tintos y rosados haciendo uso de métodos sensoriales e instrumentales, donde se comparan y correlacionan los datos obtenidos por los jueces, consumidores y el instrumento de medición que bien puede ser el colorímetro o un espectrofotómetro, obteniéndose información complementaria con ambos métodos. Esta metodología es usada en diversas investigaciones para analizar los cambios que experimentan los vinos en sus características cromáticas en función de la modificación de uno o varios factores involucrados en la elaboración del vino, por ejemplo, la variedad y estado de madurez de la uva utilizada, el tiempo de maceración (en caso de que se aplique), el uso de aditivos (clarificantes, antioxidantes, enzimas, nutrientes, etc.), las condiciones de fermentación (levadura, tiempo, temperatura, etc.), entre otros.

### **3. Metodología**

#### **3.1 Elaboración de vino blanco.**

##### *3.1.1 Obtención del mosto.*

Se partió de tres especies de uva (*Vitis vinífera*) para la obtención de los mostos, variedad Chenin Blanc, variedad Sylvaner y variedad Sauvignon Blanc. Las uvas fueron provistas por Viñedos Freixenet (Querétaro, México), las cuales se seleccionaron e inspeccionaron cuidadosamente para eliminar las uvas podridas y/o dañadas físicamente. Posteriormente las uvas se estrujaron, despalillaron y prensaron por operación manual de manera inmediata. Una vez obtenidos los mostos se sulfitaron, añadiendo de manera directa bisulfito potásico (J.T. Baker), de modo que la concentración de SO<sub>2</sub> fuera de 100 mg/L. El mosto fue entonces dejado en reposo a temperatura ambiente durante 24 h y, posteriormente, decantado para separar la pulpa de las uvas.

Cada mosto ya decantado se separó en cinco lotes del mismo volumen (1. control, 2. adicionado con aminoácidos, 3. adicionado con un kit enzimático glicosídico-pectinolítico (Zymapect®), 4. macerado con cáscara de cítrico y 5. macerado con cáscara de cítrico y adicionado con un kit enzimático glicosídico-pectinolítico, y se vertieron en matraces erlenmeyer de 2000 mL.

##### *3.1.2 Implementación de las técnicas enológicas.*

Para la maceración de cítricos se colocó una cantidad de cáscara del cítrico (lima para el mosto Chenin Blanc, mandarina para el mosto Sylvaner y maracuyá para el mosto Sauvignon Blanc) equivalente al 2.5% m/V y se dejó sumergida en el mosto durante 24 horas.

Los aminoácidos adicionados fueron treonina y prolina, ambos en una concentración de 50 mg/L, y alanina, arginina y glutamina en una concentración de 100 mg/L (todos marca Sigma-Aldrich®) para el caso de los tres mostos trabajados.

Las enzimas glicohidrolasas las proporcionó un complejo enzimático marca Zymapect® el cual se adicionó 48 h antes de la filtración en todos los vinos, en una concentración de 2.5 %.

### *3.1.3 Fermentación y envasado.*

Para la activación de la levadura se pesó la cantidad adecuada, de manera que su concentración en el mosto fuese de 0.2 g/L y se suspendió en agua potable a 35°C con azúcar (mismo peso de levadura) durante 20 minutos. La levadura *Saccharomyces cerevisiae cerevisiae* fue inoculada en los mostos y posteriormente, 24 h después de haber inoculado la levadura, se agregó bentonita como agente floculante (100 mg/L).

La fermentación se llevó a cabo en un rango de temperatura de 20-25 °C y se consideró terminada cuando el peso del mosto fue constante en un intervalo de 48-72h, antes de envasar se añadió a cada vino polivinilpolipirrolidona como agente clarificante (Sigma-Aldrich®) en una concentración de 700 mg/L.

La filtración se realizó utilizando una bomba peristáltica de 3 cabezas Easy-Load® y un filtro de nylon PureFlo® con un diámetro de poro de 0.45µm. Los vinos, ya filtrados, se envasaron en botellas de vidrio y se taparon con corcho para después ser almacenados a una temperatura de 4 °C.

## **3.2 Análisis fisicoquímicos.**

### *3.2.1 pH*

El pH de los mostos y vinos se midió con un electrodo Oakton® y un potenciómetro Oakton® previamente calibrado, sumergiendo el electrodo en la muestra contenida en un vaso de precipitados y registrando la lectura proporcionada por el potenciómetro.

### *3.2.2 Acidez total*

La acidez titulable de un vino es la cantidad total disponible de iones hidrógeno en solución. Esta se obtiene haciendo reaccionar completamente un volumen conocido de vino con una base fuerte, dando una medida de los protones que

están unidos a aniones como también todos los libres (Bordeu, E. y Scarpa J., 2000).

Para la acidez total se tomaron 10 mL de muestra, se vertieron en un matraz Erlenmeyer de 125 mL y se titularon con una disolución de hidróxido de sodio  $\approx$  0.1 M, previamente normalizada con biftalato de potasio (P.Q. Monterrey<sup>®</sup>), utilizando una disolución de fenolftaleína al 1% en etanol como indicador, la titulación se terminó al observar el vire del indicador (OIV, 2014).

La acidez total se expresó como gramos de ácido tartárico (el de mayor predominio en la especie *Vitis vinifera*) por litro de vino o mosto, y se calculó con base en la siguiente fórmula:

$$Acidez\ total = \frac{(V_T)(M_{NaOH})(M.M_{Tar})}{2(V_m)}$$

Donde:

$V_T$  = Volumen de titulante gastado al llegar al punto final (mL)

$M_{NaOH}$  = Concentración del titulante (mol/L)

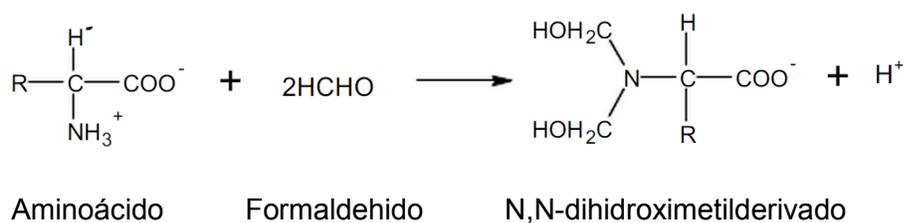
$M.M_{Tar}$  = Masa Molecular del ácido tartárico (150 g/mol)

$V_m$  = Volumen de muestra titulada (mL)

2: Factor estequiométrico con base en la reacción de titulación

### 3.2.3 Nitrógeno asimilable

El término "nitrógeno asimilable" incluye los aminoácidos (nitrógeno orgánico) y el amoníaco (nitrógeno inorgánico). Uno de los métodos para la determinación de nitrógeno asimilable es el de Sörensen o titulación con metanal. Este método consiste en bloquear la función amina por adición de un exceso de metanal según la siguiente reacción:



El derivado metílico formado contiene el carboxilo de los aminoácidos, pero no posee más al grupo básico (-NH<sub>2</sub>), por lo tanto se produce un descenso en el pH el cual se puede titular con hidróxido de sodio.

Para la determinación del nitrógeno asimilable se utilizó la muestra en la que se determinó la acidez total, se añadieron 20 mL de formaldehído (Sigma-Aldrich®) ajustado a pH = 7 (utilizando hidróxido de sodio), se agitó vigorosamente y se tituló con una disolución de NaOH ≈ 0.1 M, previamente normalizada con biftalato de potasio, el punto final se determinó al observar el vire de la fenolftaleína (Aerny, 1996).

El contenido de nitrógeno asimilable se expresó como miligramos de nitrógeno por litro de vino o mosto, y se calculó con base en la siguiente fórmula:

$$\text{Nitrógeno asimilable} = \frac{(1000 \text{ mg/g})(V_T)(M_{\text{NaOH}})(M.A.\text{Nitrógeno})}{(V_m)}$$

Donde:

$V_T$  = Volumen de titulante gastado al llegar al punto final (mL)

$M_{\text{NaOH}}$  = Concentración del titulante (mol/L)

$M.A.\text{Nitrógeno}$  = Masa atómica del nitrógeno (14 g/mol)

$V_m$  = Volumen de muestra titulada (mL)

#### 3.2.4 Acidez volátil

Esta determinación está basada en la destilación directa del vino durante la cual se separan los ácidos volátiles, con el arrastre con vapor de agua y la rectificación de los vapores, de este modo los ácidos volátiles se concentran en el destilado y se cuantifican por medio de una valoración ácido-base.

La acidez volátil se determinó destilando 100 mL de vino, por destilación simple, calentando a ebullición y recibiendo el destilado en un matraz Erlenmeyer colocado en un baño de hielo, la destilación se detuvo una vez recolectados 50 mL de destilado, se tomaron 10 mL del destilado, se vertieron en un matraz Erlenmeyer de 125 mL y se procedió a titularlos con una disolución de NaOH ≈ 0.1

M utilizando fenolftaleína como indicador, la titulación se terminó al observar el vire del indicador (OIV, 2014).

La acidez volátil se expresó como gramos de ácido acético (ácido de mayor predominio entre los ácidos volátiles del vino) por litro de vino y se calculó con base en la siguiente fórmula:

$$Acidez\ volátil = \frac{(V_T)(M_{NaOH})(M.M.Acético)}{(V_m)}$$

Donde:

$V_T$  = Volumen de titulante gastado al llegar al punto final (mL)

$M_{NaOH}$  = Concentración del titulante (mol/L)

$M.M.Acético$  = Masa Molecular del ácido acético (60 g/mol)

$V_m$  = Volumen de muestra titulada (mL)

### 3.2.5 Dióxido de azufre libre y combinado

La determinación del dióxido de azufre se basa en una valoración de óxido-reducción con  $I_2$  como reactivo valorante en medio ácido y en presencia de almidón como indicador. La reacción que se lleva a cabo es:



(García, J., Xirau, M., 2000)

La determinación del contenido de dióxido de azufre combinado se inicia con la hidrólisis de la parte de éste que está unida a compuestos orgánicos. Esto se consigue utilizando una base fuerte (NaOH) y después acidulando con  $H_2SO_4$  para posteriormente valorar la muestra con  $I_2$  (Madrid *et al.*, 2003).

Para analizar el contenido de dióxido de azufre libre se tomaron 50 mL de muestra y se colocaron en un vaso de precipitados, se adicionaron 3 mL de solución acuosa de almidón al 1% como indicador y 3 mL de  $H_2SO_4$  1/10 (a partir del ácido concentrado). Esta disolución se valoró inmediatamente con una disolución de yodo  $\approx 0.02$  M, normalizada con una disolución de tiosulfato de sodio que fue a su vez estandarizada por yodometría, la titulación se terminó al observar el vire del

indicador y se registró el volumen gastado ( $V_{T(1)}$ ). Para el dióxido de azufre combinado se partió de la misma solución en la que se había determinado el  $SO_2$  libre anteriormente, se añadieron 8 mL de NaOH 4 N con agitación y se dejó en reposo durante 5 min., posteriormente se añadieron 10 mL de  $H_2SO_4$  1/10 y se valoró con la disolución de yodo  $\approx 0.02$  M, se registró el volumen gastado para observar el vire del indicador ( $V_{T(2)}$ ), después se añadieron 20 mL de NaOH 4 N con agitación y se dejó reposar durante 5 min., se agregaron 30 mL de  $H_2SO_4$  1/10 y se valoró nuevamente con la disolución de yodo  $\approx 0.02$  M registrando el volumen gastado para llegar al punto final ( $V_{T(3)}$ ) (Madrid *et al.*, 2003).

El contenido de dióxido de azufre, libre y combinado, se expresó como gramos de  $SO_2$  por litro de vino y se calculó con base en las siguientes fórmulas:

$$SO_{2\text{libre}} = \frac{(V_{T(1)})(M_{I_2})(M.M._{SO_2})}{V_m} \quad SO_{2\text{combinado}} = \frac{(V_{T(2)} + V_{T(3)})(M_{I_2})(M.M._{SO_2})}{V_m}$$

Donde:

$V_{T(1)}$  = Volumen de titulante gastado para alcanzar el primer punto final (mL)

$V_{T(2)}$  = Volumen de titulante gastado para alcanzar el segundo punto final (mL)

$V_{T(3)}$  = Volumen de titulante gastado para alcanzar el tercer punto final (mL)

$M_{I_2}$  = Concentración del titulante (mol/L)

$M.M._{SO_2}$  = Masa molecular del dióxido de azufre (64 g/mol)

$V_m$  = Volumen de muestra titulada (mL)

### 3.2.6 Carbohidratos reductores

El ácido 3,5-dinitrosalicílico en presencia de calor se reduce a ácido 3-amino-5-nitrosalicílico por los azúcares reductores presentes, desarrollando un color amarillo café, el cual es estable hasta por 24 horas (Figura....). La lectura se realiza en el espectrofotómetro a 540 nm. Éste método permite determinar los azúcares reductores presentes en la muestra (Mejía *et al.*, 2007).



El grado alcohólico de las muestras se reportó como mL de etanol contenidos en 100 mL de muestra.

### 3.2.8 Análisis de fenoles por Análisis por Inyección en Flujo (FIA)

El método más usado para la determinación del contenido de polifenoles en alimentos es el ensayo de Folin-Ciocalteu para el cual se utiliza un reactivo del mismo nombre, que consiste en una disolución de iones complejos provenientes de los heteropoliácidos fosfotúngstico ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) y fosfomolibdico ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ) (Ikawa *et al.*, 2003).

Los constituyentes metálicos de estos iones complejos son reducidos por el grupo hidroxilo de los polifenoles formando un producto de color azul, que es una mezcla de azul de molibdeno y azul de tungsteno. La absorbancia de este producto se mide a 730 nm y es posible relacionarla con la concentración de polifenoles totales en el alimento.

La determinación de polifenoles se realizó adaptando el método de Folin-Ciocalteu a un sistema de Análisis por Inyección en Flujo (FIA por sus siglas en inglés). La configuración del sistema se muestra en la Figura 2. La muestra se preparó tomando 1 mL de la misma y vertiéndolo en un matraz aforado de 10 mL llevando al aforo con agua destilada, el portador utilizado fue agua destilada y se utilizó NaOH 0.5 M para establecer el pH óptimo para la reacción, el reactivo de Folin, que consiste en una mezcla de ácido fosfo-wolfrámico y ácido fosfomolibdico, fue utilizado en una concentración del 10% en agua destilada. Para la propulsión de los reactivos y la muestra se utilizó una bomba peristáltica Gilson® y como detector se utilizó un espectrofotómetro UV-Vis CARY®. La curva patrón fue preparada a partir de ácido gálico (Sigma- Aldrich®) en concentraciones de 12.5, 25, 50, 100 y 150 mg/L, de este modo se obtuvo el contenido de polifenoles totales en la muestra al interpolar las absorbancias obtenidas (Escutia, 2011).

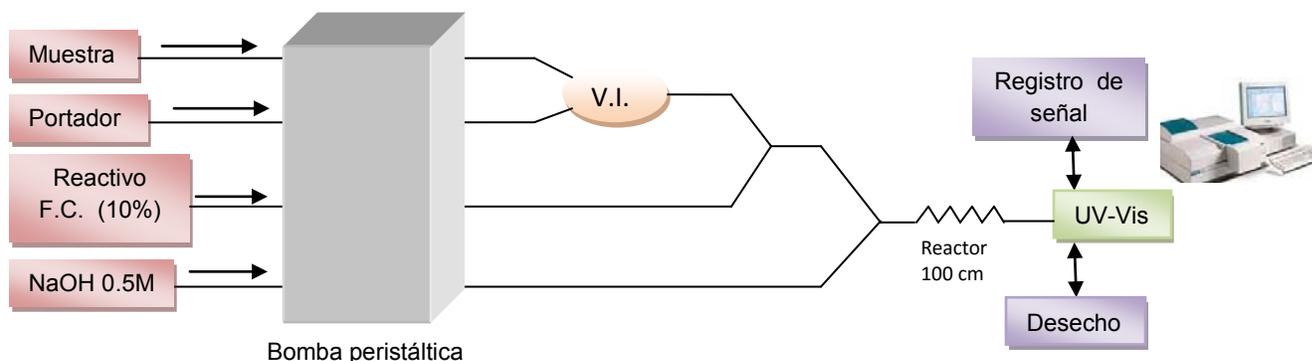


Figura 3. Configuración del sistema FIA para la determinación de polifenoles totales. V.I. : Válvula de inyección; F.C.: Folin-Ciocalteu

### 3.3 Evaluación instrumental de color.

El instrumento utilizado para llevar a cabo la evaluación de color en los vinos elaborados fue el espectrofotómetro Minolta CM-3600d. Este instrumento permite la evaluación de color en dos modalidades como son el % de Reflectancia y % de Transmitancia, eligiéndose cualquiera de ellos de acuerdo al tipo de muestra a analizar.

Debido a que las muestras a analizar fueron clasificadas como cuerpos translúcidos, ya que permiten el paso de una fracción de la luz que incide sobre ellas, la evaluación de color se realizó determinando el % de Transmitancia y con incidencia de luz de día (D65) sobre la muestra. El reporte de los atributos del color se obtuvo bajo el sistema CIE  $L^*a^*b^*$ .

#### 3.3.1 Condiciones de análisis

Antes de llevar a cabo la evaluación de las muestras, el instrumento fue calibrado con una placa de calibrado de cero transmitancia (suministrados por el proveedor); dentro de la calibración se indica al equipo cuales son las condiciones de trabajo con las que se evaluarán todas las muestras, dichas condiciones se detallan en la Tabla 3.

Tabla 3. Condiciones de análisis instrumental del color.

Parámetro	Condición y/o valor
No. de disparos o flashes	1
Estándar	Nulo
Energía UV	Incluida
Componente especular (SC)	Excluido
Lente o área de visión	Grande (Large: 25.4 mm)
Tamaño de celda	20 mm
Iluminante	D65 (Luz de día, natural 6,500 K)
Detector	10°
Sistema de reporte de color	CIE L*a*b*

El número de disparos fue sugerencia del proveedor debido al tipo de muestras en estudio y también porque el equipo sufre menos desgaste con el paso del tiempo. La energía UV es incluida en la determinación ya que se requiere que la evaluación de los productos se realice con luz de día; el componente especular excluido (SCE), se seleccionó porque permite correlacionar la medida hecha por el ojo humano y el instrumento, por lo que este, al evaluar el color toma en cuenta el brillo y la textura (apariencia) de la muestra, lo que permite mayor discriminación por parte del equipo. El detector que funge como observador, está situado en todos los análisis en 10°, ya que el equipo así lo tiene ajustado. No se usó estándar en ninguna de las evaluaciones, debido a que no existen referencias en las cuales basarse.

### 3.3.2 Análisis de las muestras.

Cada uno de los vinos elaborados fue previamente homogeneizado, por medio de agitación, posteriormente se vertió la muestra en la celda del colorímetro hasta llegar a la marca del aforo y se prosiguió con el análisis instrumental. Se realizaron tres réplicas de cada muestra, siguiendo las mismas condiciones de análisis para cada una de ellas, de manera que se realizó el promedio de los tres valores de los atributos de color de cada uno de los vinos con el fin de encontrar las diferencias de color entre cada uno de ellos.

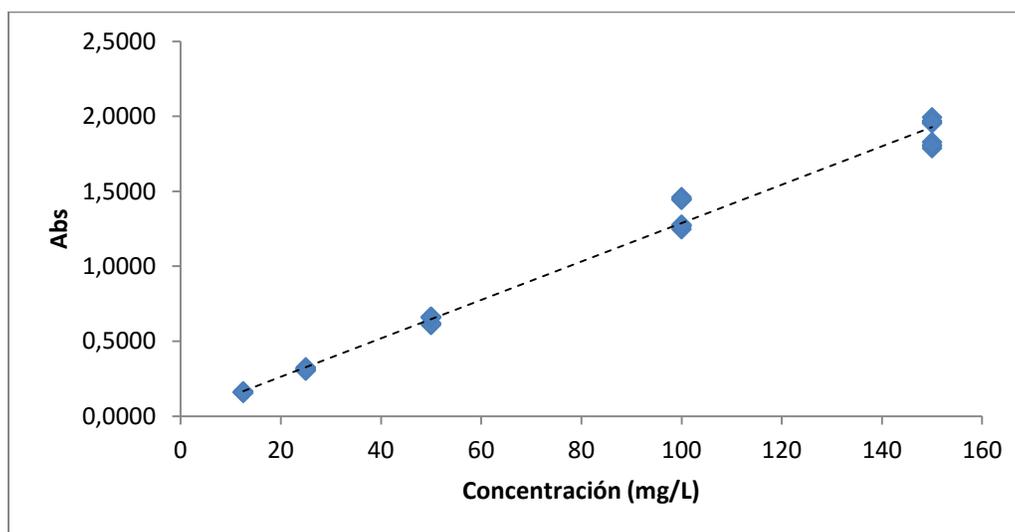
## **4. Resultados y análisis**

### **4.1 Parámetros de desempeño de la determinación de polifenoles por Análisis por Inyección en Flujo (FIA).**

Previamente a la determinación del contenido de polifenoles en los mostos y vinos elaborados, se realizó por triplicado la curva de calibración replicando exactamente el procedimiento mencionado anteriormente utilizando ácido gálico (Sigma-Aldrich®) como estándar obteniendo así los parámetros de regresión para esta metodología (Tabla 4).

Tabla 4. Parámetros de regresión de la metodología para la determinación de polifenoles por FIA

Parámetro	Valor
Coefficiente de determinación ( $r^2$ )	0.99469
Pendiente (m, en mg/L)	0.01281
Desviación estándar de la pendiente	0.00048
Ordenada al origen (b)	0.01428
Desviación estándar de la ordenada al origen	0.00214



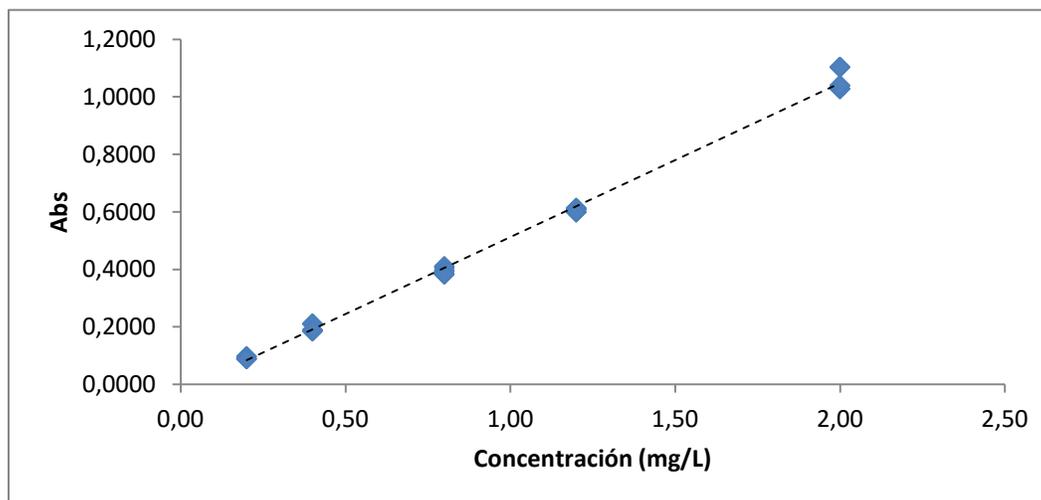
Gráfica 6. Curva de calibración para la determinación de polifenoles por FIA

#### 4.2 Parámetros de desempeño de la determinación de azúcares reductores por el método del ácido dinitrosalicílico (DNS).

Para determinar el contenido de azúcares reductores en los mostos y vinos, al igual que en el análisis del contenido de polifenoles, se realizó la curva de calibración por triplicado desarrollando la metodología descrita anteriormente y utilizando dextrosa anhidra (J.T.Baker) como estándar estableciendo así los parámetros de regresión para esta metodología (Tabla 5)

Tabla 5. Parámetros de regresión de la metodología para la determinación de azúcares reductores

Parámetro	Valor
Coeficiente de determinación ( $r^2$ )	0.99698
Pendiente (m, en g/L)	0.53525
Desviación estándar de la pendiente	0.00191
Ordenada al origen (b)	-0.02308
Desviación estándar de la ordenada al origen	0.00031



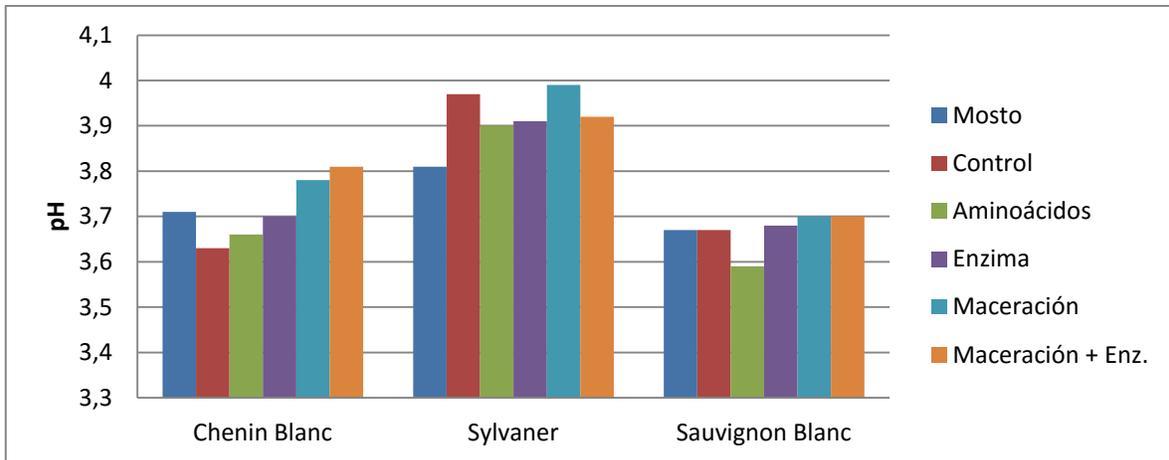
Gráfica 7. Curva de calibración para la determinación de azúcares reductores por el método DNS.

#### 4.3 Evaluación de los parámetros fisicoquímicos en los vinos

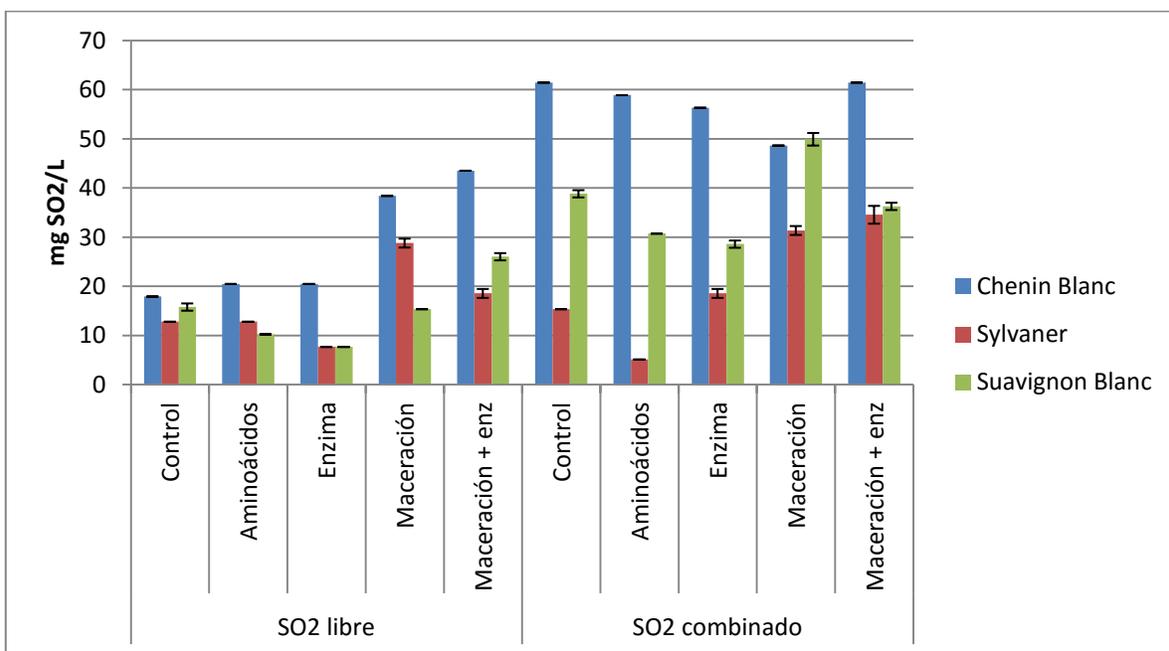
A continuación se presentan los resultados obtenidos del análisis fisicoquímico de los vinos elaborados a partir de la variedad Chenin Blanc, variedad Sylvaner y variedad Sauvignon Blanc.

#### 4.3.1 pH y dióxido de azufre.

Habitualmente los vinos de mesa tienen un  $\text{pH} \leq 3.6$ , por lo que un valor mayor en este parámetro puede representar una problemática en ciertos factores (físicoquímicos y microbiológicos) importantes para mantener la calidad del vino. Un punto importante, como se puede observar en la Gráfica 8 es el hecho de que los vinos de las tres variedades tienen un pH relativamente alto (mayor a pH 3.4), lo que los vuelve muy inestables tanto biológica como químicamente. Esto es ocasionado porque en estas condiciones se ven favorecidas las reacciones de oxidación de los polifenoles que resultan en cambios negativos sobre su perfil sensorial. Aunado a esto la eficiencia del sulfito como antioxidante y antiséptico se ve disminuida debido a que su solubilidad en el vino disminuye significativamente ocasionando que el desarrollo de bacterias se vea favorecido, trayendo consigo efectos negativos sobre la calidad organoléptica y microbiológica del vino debido a la formación de productos de la fermentación de azúcares, como el ácido láctico y el ácido acético que traen consigo alteraciones en el sabor y aroma del vino. De acuerdo con Delanoë y Maillard (2003), cuando el pH en el vino es alto, la proporción de  $\text{SO}_2$  activa (libre) es menor, esto puede verse claramente en los resultados obtenidos pues el valor de  $\text{SO}_2$  combinado en la mayoría de los casos supera al de  $\text{SO}_2$  libre en un 50% o más (Gráfica 9), esto aunado al hecho de que el anhídrido sulfuroso siempre será el de mayor concentración en los vinos debido a que este incluye al que se encuentra ligado a azúcares, polifenoles y ácidos orgánicos. La relación entre el pH y el dióxido de azufre se debe al equilibrio que se presenta en disolución acuosa entre el  $\text{SO}_2$  molecular y los iones bisulfito ( $\text{HSO}_3^-$ ) los cuales a su vez presentan un equilibrio con los iones sulfito ( $\text{SO}_3^{2-}$ ). Al tratarse de equilibrios ácido-base dependen directamente del pH, siendo un pH bajo el que desplace el equilibrio en favor de la formación del anhídrido sulfuroso, que es la molécula activa como agente antimicrobiano y antioxidante, mientras que conforme incrementa el pH los iones bisulfito y sulfito, las formas inactivas, incrementarán su concentración. Por ello es que a valores de pH mayores los vinos pueden presentar alteraciones causadas por el desarrollo de bacterias lácticas y/o acéticas.



Gráfica 8. pH determinado en los vinos de las variedades Chenin Blanc, Sylvaner y Sauvignon Blanc



Gráfica 9. Contenido de dióxido de azufre (SO<sub>2</sub>) libre y combinado en vinos de las variedades Chenin Blanc, Sylvaner y Sauvignon Blanc

#### 4.3.2 Acidez total

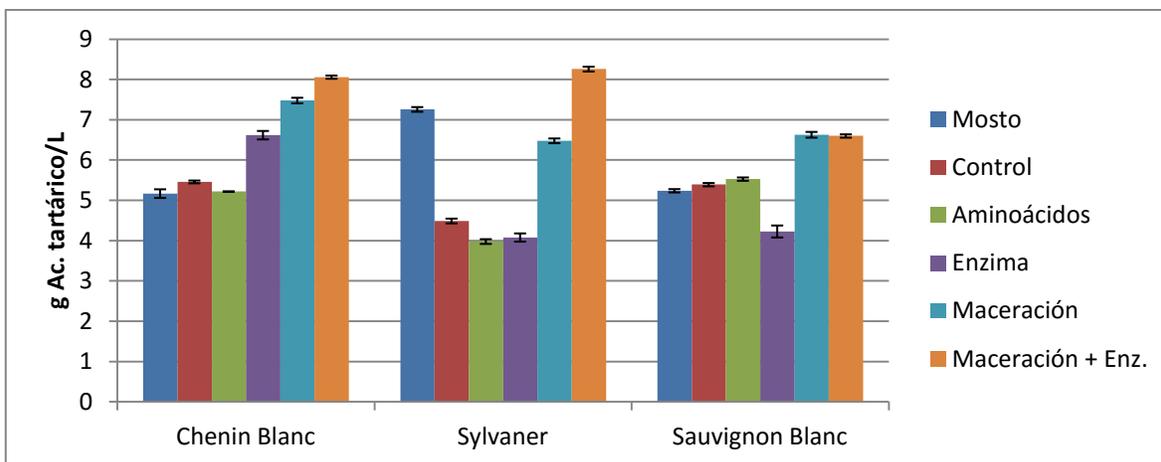
De acuerdo al reglamento del Consejo de la Unión Europea, el vino debe de tener un mínimo de acidez total, expresada como ácido tartárico, de 3.5 gramos por litro, por lo que, de acuerdo a los resultados mostrados en la Gráfica 10 todos los vinos elaborados cumplen con este parámetro para el caso de esta norma, mientras que

el CODEX enológico y la OIV no establecen un límite en el contenido de acidez total para los vinos blancos (CE, 1999; CODEX, OIV, 2006; OIV, 2012).

Los cambios observados, en este parámetro, del mosto al vino obtenido en las tres variedades presentadas son muy variados tanto en función de la variedad a partir de la que se obtuvo el mosto como en función del tipo de la técnica de vinificación que se implementó en su elaboración.

Los mostos de las variedades Chenin Blanc y Sauvignon Blanc tuvieron valores de acidez similares entre si (5.17 y 5.24 g/L respectivamente) mientras que el mosto de la variedad Sylvaner tuvo un valor elevado en relación a los dos mencionados anteriormente, esto puede significar que algunas de las uvas utilizadas padecieran de la llamada "podredumbre ácida", la cual se produce cuando los hollejos degradados por hongos o por accidentes meteorológicos, dejan escapar el mosto que contienen las bayas, siendo éste invadido por bacterias acéticas o levaduras aerobias, produciendo así una importante cantidad de ácido acético (Hidalgo, 2010), esto puede corroborarse en la Gráfica 10 donde se muestra que los vinos de esta variedad resultaron con el mayor contenido de este ácido, lo que implica que dicho defecto fue producto del mal estado físico de algunas de las uvas utilizadas para la obtención del mosto. Sin embargo, se encontró que la acidez total en los vinos control, adicionado con aminoácidos y el adicionado con enzimas, la acidez se redujo de manera considerable al grado de estar entre los vinos con menor valor en este parámetro entre todos los vinos analizados. Este fenómeno pudo presentarse a causa de una alta concentración de sales de potasio y calcio en el medio ya que estos cationes pueden reaccionar con el ácido tartárico presente en el mosto para formar sales (bitartrato de potasio y tartrato de calcio) cuya solubilidad va disminuyendo a medida que se produce etanol durante la fermentación alcohólica, dando por ende una precipitación de estas sales y, por lo tanto, una reducción en la acidez total del producto final así como un incremento en el pH, parámetro que corrobora esta teoría dado que los vinos de esta variedad muestran un pH elevado (>3.9) a causa del desplazamiento del equilibrio ácido-base del ácido tartárico en dirección a la formación de sus respectivas sales (tartrato y bitartrato). La cantidad de potasio y calcio en las uvas depende

principalmente de factores varietales así como de factores vitícolas (riqueza del suelo en potasio, clima, uso de fertilizantes, entre otros) (Hidalgo, 2005). El mismo potasio tiene incidencia en otro fenómeno observado respecto al pH y la acidez total, el someter los mostos a la maceración de las cáscaras de cítricos incrementó su acidez total con respecto a los vinos controles de las tres variedades. A su vez, la adición del kit enzimático en los mostos con maceración, de las tres variedades, incrementó aún más la acidez del medio gracias a su actividad pectinolítica que favorece la hidrólisis de la pectina presente en las cáscaras de los cítricos, la cual está compuesta por moléculas de ácido D-galacturónico unidos por enlaces  $\alpha(1-4)$ , esta reacción libera las moléculas de este ácido en el medio, ocasionando que tengan una mayor capacidad de acidificar el mosto. A pesar de este incremento en la acidez total, el pH de los vinos macerados es mayor que en los demás vinos elaborados, lo que se explica por la composición de la cáscara de los cítricos empleados en el proceso de vinificación, las cuales contienen ácidos orgánicos de un carácter más débil que el ácido tartárico presente en las uvas, es decir, que los valores de pKa de los ácidos predominantes en los cítricos, tales como el ácido cítrico (3.09, 4.39, 5.74), el ácido ascórbico (4.04, 11.34) y el ácido málico (3.46, 5.05), son más altos que los del ácido tartárico (3.04 y 4.37), lo que significa que su grado de disociación en solución acuosa es menor, por lo que el pH de disoluciones donde predominen estos ácidos no será tan bajo como en las que el ácido tartárico es el predominante (Alves de Oliveira *et al.* 2013; Cañizares y Duarte, 2009; Ledesma *et al.*, 2015). A este factor se suma la presencia de potasio en las cáscaras de los cítricos, ocasionando la pérdida de ácido tartárico durante la fermentación alcohólica. En resumen, la maceración de la cáscara de algunos de los cítricos en el mosto resulta en un balance positivo en el contenido de ácidos aunque hace rico el vino en ácidos más débiles que el ácido tartárico, el cual se pierde por precipitación en el proceso.



Gráfica. 10. Acidez total determinada en los vinos de las variedades Chenin Blanc, Sylvaner y Sauvignon Blanc

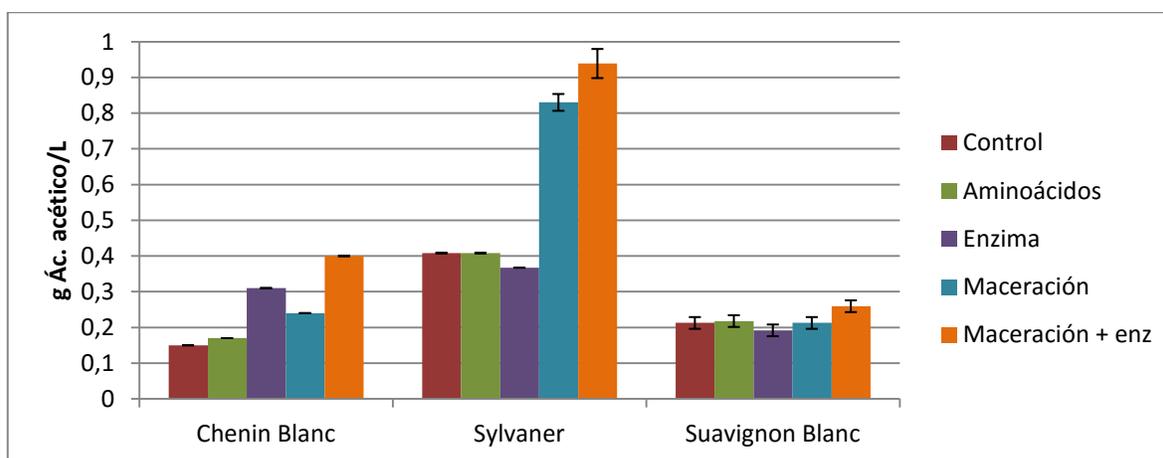
#### 4.3.3 Acidez volátil

Los vinos elaborados a partir de las tres variedades utilizadas en este estudio cumplen con las especificaciones para el límite máximo de este parámetro establecidas en las legislaciones de la Comunidad Económica Europea, la cual fija un límite de 1.08 g/L, el CODEX enológico y la Organización Internacional del Vino, quienes decretan un máximo de 1.20 g/L (ambos valores son expresados como ácido acético) (CE, 1999; CODEX, OIV, 2006; OIV, 2012). Sin embargo, existen vinos que tuvieron una mayor acidez volátil en comparación con el resto. En general, los vinos elaborados con la variedad Sylvaner resultaron con la mayor cantidad de ácido acético entre los vinos analizados (Gráfica 11), lo que coincide con el hecho de que también fueron los vinos con el pH más alto ( $> 3.90$ ), estas condiciones fisicoquímicas favorecen la formación de ácido acético por parte de las levaduras durante la fermentación alcohólica de los mostos, a la vez que, debido a la reducción del contenido de dióxido de azufre libre, propicia el crecimiento de ciertas especies de bacterias relacionadas con el deterioro en la calidad de los vinos, del género *Acetobacter*, por ejemplo, las cuales producen ácido acético a partir de etanol. La presencia de estas bacterias en el vino se puede ver corroborada por medio del análisis colorimétrico pues sus valores de luminosidad son los más bajos en comparación con sus equivalentes de las otras

dos variedades, lo que representa una presencia de enturbiamiento a causa de las colonias bacterianas existentes.

Además de las notables disparidades de una variedad de uva a otra, los distintos procesos de elaboración también ocasionan cambios en el contenido de acidez volátil, principalmente la maceración con cítrico en el mosto la cual incrementa el contenido de ácido acético en el producto final, efecto que se ve potenciado si se añade el kit enzimático al mismo, esto debido a que la producción de este ácido por parte de la levadura, además de depender del pH, como ya se demostró, también depende de la cantidad inicial de azúcares fermentables en el mosto, ya que mientras mayor sea la cantidad inicial de azúcares antes de iniciar la fermentación, mayor será la producción de ácido acético por parte de las levaduras (Hidalgo, 2010). La cáscara del cítrico, ya sea lima, mandarina o maracuyá, provee de azúcares al mosto, mientras que la adición del kit enzimático incrementa aún más la concentración de estas sustancias por medio de la hidrólisis de los glucósidos presentes en dichas cáscaras.

La adición de aminoácidos trajo consigo un leve aumento en este parámetro para el caso de las variedades Chenin Blanc y Sauvignon Blanc, lo que esta directamente relacionado con lo que se ha reportado respecto a que la composición y cantidad de nitrógeno inicial en los mostos afecta tanto a la cinética de fermentación como en la producción de compuestos volátiles como compuestos fenólicos, ácidos grasos, aldehídos y ésteres (Hernández-Orte *et al.*, 2005).

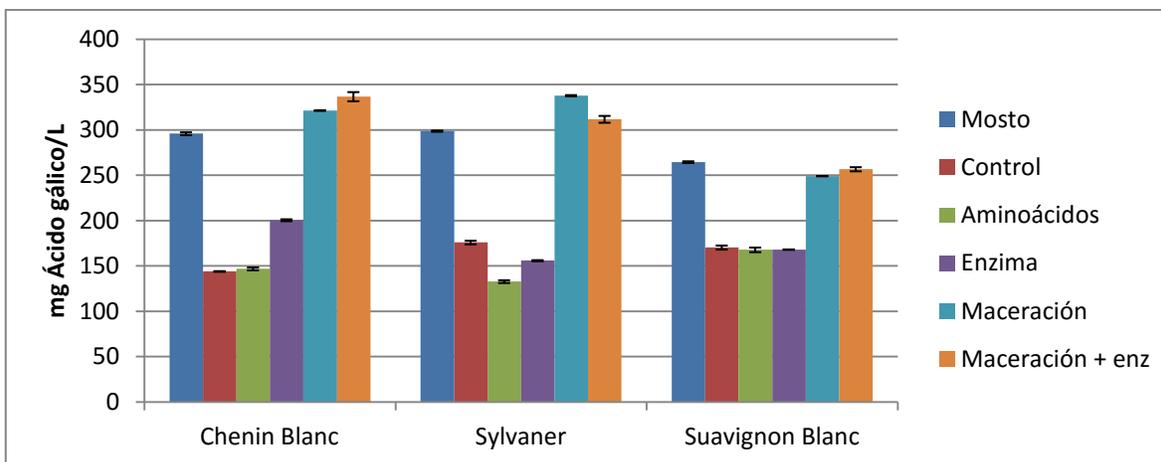


Gráfica 11. Acidez volátil presente en los vinos de la variedad Chenin Blanc, Sylvaner y Sauvignon Blanc

#### *4.3.4 Polifenoles totales*

Tal y como se puede apreciar en la Gráfica 12 los mostos obtenidos con las distintas variedades de uva no muestran valores muy diferentes entre sí sobre todo las variedades Chenin Blanc y Sylvaner en las que su valor en este parámetro es muy parecido (295.86 mg/L y 298.74 mg/L respectivamente) mientras que el mosto de Sauvignon Blanc tuvo un contenido de 264.51 mg/L, expresado como ácido gálico. Esta diferencia responde a diversos factores pues el contenido en compuestos fenólicos tanto de los mostos como de los vinos depende del grado de maduración de la uva, de las características varietales y de las condiciones de cultivo, entre otras (Cravero, 1990).

Respecto a los vinos elaborados, los resultados son muy variados y se encuentran en un intervalo de 144 a 338 mg/L expresados en equivalente de ácido gálico (Tabla 6 del Anexo 1), siendo el control de la variedad Sylvaner el de mayor contenido de polifenoles. Existen estudios en los que se reporta un contenido de total de compuestos fenólicos de entre 80 y 146 mg/L en vinos blancos (Sánchez *et al.*, 2013), a la vez que en este mismo trabajo se cita a Mannino *et al.* (1998) donde se reportan valores de 40 a 145 mg/L para este parámetro en vinos blancos. A excepción de los vinos con maceración durante su elaboración, los cuales resultaron con un contenido de polifenoles notablemente mayor al resto debido a que encontraron en las cáscaras de los cítricos una fuente extra de polifenoles tales como flavanonas, flavonas y flavonoles, que son los tres tipos de flavonoides mayoritarios en las cáscaras de los frutos cítricos (Escobar, 2010), los vinos obtenidos poseen un contenido de polifenoles totales que se encuentra en un intervalo cercano al de los artículos mencionados (132.87 a 200.56 mg/L).

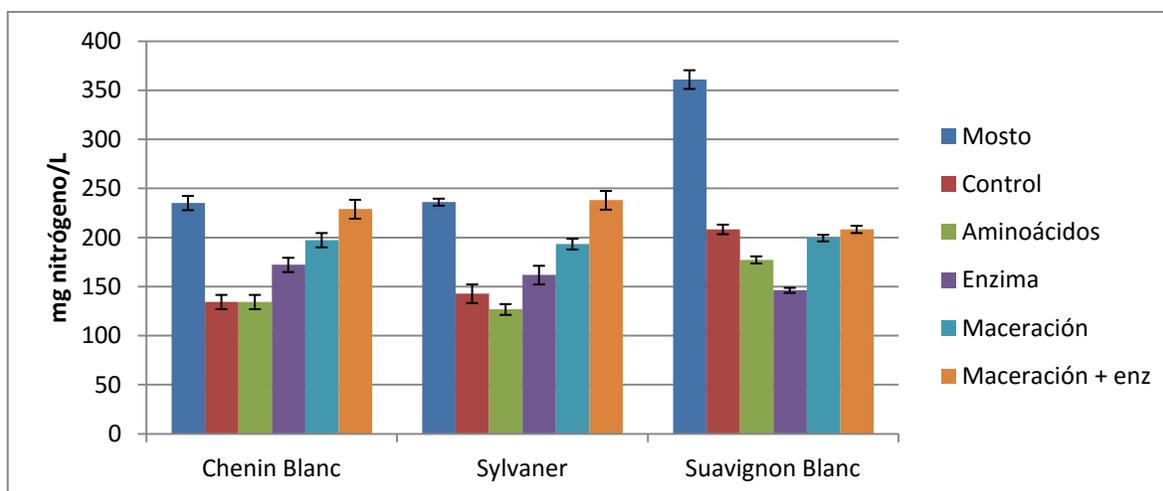


Gráfica 12. Contenido de polifenoles totales en los vinos de la variedad Chenin Blanc, Sylvaner y Sauvignon Blanc.

#### 4.3.5 Nitrógeno asimilable.

Los mostos obtenidos del prensado de las uvas resultaron con un contenido de nitrógeno asimilable suficiente para asegurar una buena fermentación (Gráfica 13), se considera una deficiencia de nitrógeno en niveles menores a 150 mg/L (Blouin y Peynaud, 2003), por lo que en teoría la adición de aminoácidos no era requerida aunque se aplicó para observar posibles cambios en los diferentes parámetros analizados.

Un punto importante es que a pesar de haber adicionado una fracción del mosto con aminoácidos, el contenido de nitrógeno asimilable en los vinos adicionados fue menor a su respectivo control, lo que supondría que la levadura tiene una mayor capacidad de reproducirse en un inicio, dado el alto contenido de fuentes de nitrógeno, lo que ocasiona que al final se consuma una mayor cantidad de aminoácidos que en el control, donde probablemente la velocidad de reproducción de la levadura sea menor. Además, el enriquecimiento del mosto en este aspecto no se manifestó en un incremento del grado alcohólico, a pesar del incremento en la velocidad de reproducción de la levadura, por lo que podemos concluir que estos dos aspectos no están relacionados entre sí, o bien, que el rápido incremento en el contenido de levaduras ocasionó que otros nutrientes necesarios para su buen desempeño durante la fermentación, tales como minerales y/o vitaminas, representaran un limitante durante dicho proceso.



Gráfica 13. Contenido de nitrógeno asimilable en los vinos de la variedad Chenin Blanc, Sylvaner y Sauvignon Blanc.

#### 4.3.6 Azúcares reductores y grado alcohólico.

En la Tabla 6 se muestran las distintas clasificaciones para vinos blancos respecto a las legislaciones de la Comunidad Europea y de la Organización Internacional del Vino en función de su contenido de azúcares reductores. Como se puede observar en la Tabla 7, los vinos de las variedades Chenin Blanc y Sauvignon Blanc pueden denominarse como vinos secos debido a un contenido de azúcar inferior a 4g/L. Mientras que los vinos elaborados con la variedad Sylvaner son considerados como semi-secos al tener un contenido mayor a 4 g/L, con excepción del que fue adicionado con aminoácidos y al que se añadió el kit enzimático, los cuales también son considerados como vinos secos de acuerdo a la legislación de la CE, aunque bajo la normatividad de la OIV, el vino con enzimas se consideraría como vino semiseco.

Tabla 6. Clasificación de vinos blancos de acuerdo a su contenido de azúcares reductores (CE, 1999; OIV, 2012).

Legislación (Año)	CE (1999)	OIV (2012)
Seco	< 5 g/L	< 4 g/L
Semiseco	5-25 g/L	12-18 g/L
Dulce	25-125 g/L	>45 g/L

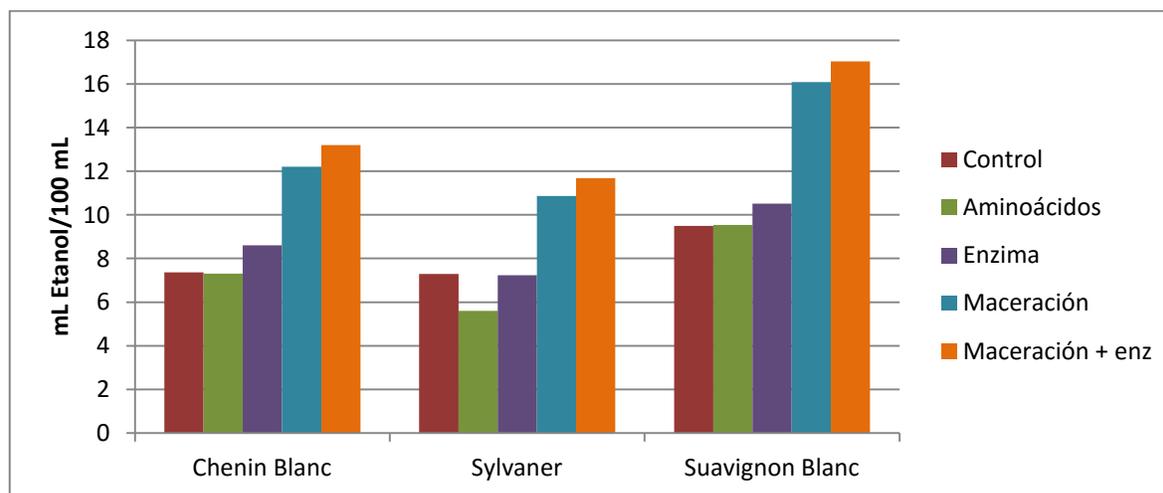
Los vinos de la variedad Sylvaner resultaron con el mayor contenido de azúcares reductores aunque en la Gráfica 14 podemos observar que el grado alcohólico fue el menor en comparación con las otras dos variedades. Esto puede estar correlacionado con lo mencionado anteriormente respecto al desarrollo de bacterias lácticas y/o acéticas durante la fermentación de los mostos elaborados a partir de esta variedad debido a que existe un efecto antagónico funcional entre levaduras y bacterias lácticas de tal modo que cuando estas últimas están en actividad las levaduras resultan inhibidas en su proceso de reproducción ocasionando que después de cierto tiempo ocurra una parada de fermentación, interrumpiendo de esta forma la producción de alcohol en el vino (Hidalgo, 2010).

Los vinos con maceración de cítricos durante su elaboración tuvieron un incremento notable en su contenido de etanol respecto a los controles de cada variedad, esto a causa de los azúcares que fueron extraídos de las cáscaras de estos frutos durante la maceración los cuáles fueron aprovechados por las levaduras para producir etanol a partir de ellos. De igual manera el contenido de azúcares reductores aumentó en estos vinos ya que algunos de los carbohidratos extraídos corresponden a azúcares no fermentables, tal es el caso de las pentosas, por lo que éstas no pudieron ser metabolizadas por las levaduras durante la fermentación alcohólica, sin embargo, si fueron cuantificadas en el análisis por DNS debido a su capacidad reductora.

La adición de enzimas ocasionó un incremento en el grado alcohólico de los vinos, incluso en los que se implementó la maceración, debido a su acción sobre los enlaces glucosídicos de los heterósidos presentes en el mosto, liberando así la fracción glucídica de estas moléculas y dejándola disponible para su fermentación por parte de las levaduras.

Tabla 7. Contenido de azúcares reductores (expresado en mg/L) en los vinos elaborados de la variedad Chenin Blanc, Sylvaner y Sauvignon Blanc.

Variedad	Control	Aminoácidos	Enzima	Maceración	Maceración + enzima
Chenin Blanc	217.47	269.27	216.47	528.00	450.10
Sylvaner	5072.67	3287.33	4395.33	5820.00	8003.65
Suavignon Blanc	2700.2	1620.67	1577.47	2792.00	2760.98



Gráfica 14. Grado alcohólico en los vinos de la variedad Chenin Blanc, Sylvaner y Sauvignon Blanc.

#### 4.4 Resultados del análisis de color

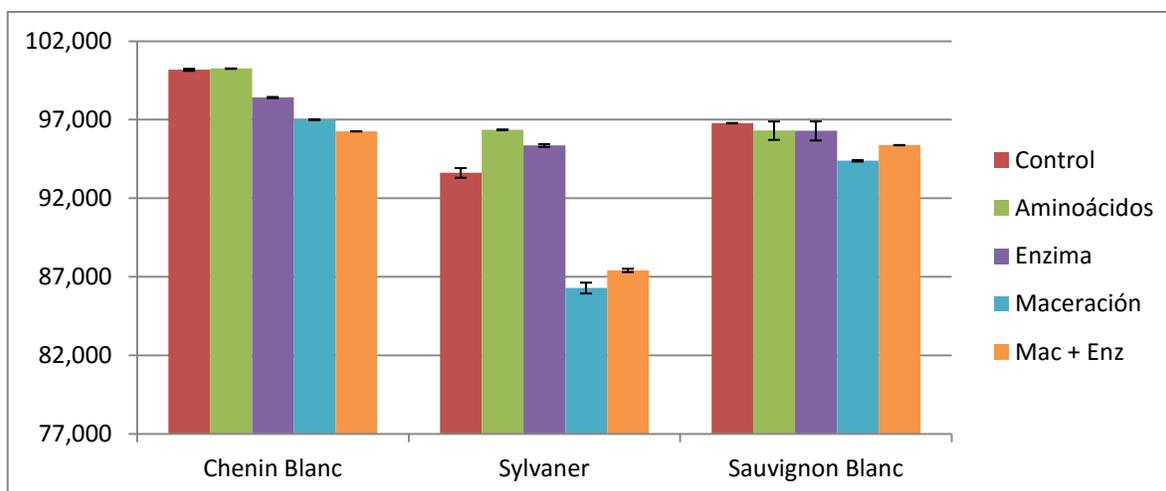
A continuación se presentan los resultados obtenidos de la evaluación instrumental de color en los vinos elaborados.

##### 4.4.1 Luminosidad (L)

En la Gráfica 15 se muestran los valores de luminosidad (L) para cada vino, este valor es el resultado del promedio de tres réplicas evaluadas. Comparando la luminosidad de los vinos elaborados por el método tradicional (control) podemos observar que la variedad de uva con la que se obtuvo un vino de un color más claro fue la variedad Chenin Blanc, mientras que el vino con el valor más bajo en este parámetro fue el fabricado con Sauvignon Blanc. A pesar de esto, los

productos control son muy claros, como es de esperarse de un vino blanco, ya que su valor de luminosidad es mayor a 90 en los tres casos, lo que significa que reflejan la luz en un grado relativamente alto.

Si comparamos ahora el contenido de polifenoles en los tres vinos control (Gráfica 12) podemos encontrar cierta relación entre este parámetro y la luminosidad ya que el vino con mayor contenido de polifenoles (Sylvaner) es, a su vez, el que menor valor de luminosidad tuvo; de manera inversa, el vino con menor contenido de polifenoles (Chenin Blanc) resultó con el mayor valor de luminosidad. Esto es debido a que entre las múltiples propiedades que los polifenoles le confieren a los vinos de cualquier tipo se encuentra la de atribuirles color, lo que significa que mientras mayor sea el contenido de polifenoles en el vino, mayor será la concentración del color y turbidez en el mismo, ocasionando que la luz que incida sobre ellos no se refleje en el mismo grado que en los vinos con menor contenido de polifenoles, dando como resultado una disminución en el valor de luminosidad. Una tendencia similar se observa al comparar entre los vinos elaborados con una misma especie ya que cuando el contenido de polifenoles varía de un tipo de vino a otro, la luminosidad también cambia en el sentido inverso. En el caso de los vinos obtenidos por las tres diferentes variedades, la diferencia en la luminosidad se observa de una manera más clara entre el control y los vinos elaborados por medio de la maceración de la cáscara de un cítrico en el mosto (lima en el caso de Chenin Blanc, mandarina para la variedad Sylvaner y maracuyá en la variedad Sauvignon Blanc) debido a su notorio incremento en la concentración de polifenoles (con respecto al control de la misma variedad con la que fueron elaborados) los cuales fueron extraídos de la cáscara de los cítricos mencionados, este efecto trajo consigo que el valor de luminosidad en estos vinos se viera disminuido, volviéndose productos más opacos.



Gráfica 15. Valores de luminosidad en los vinos elaborados con las variedades Chenin Blanc, Sylvaner y Sauvignon Blanc.

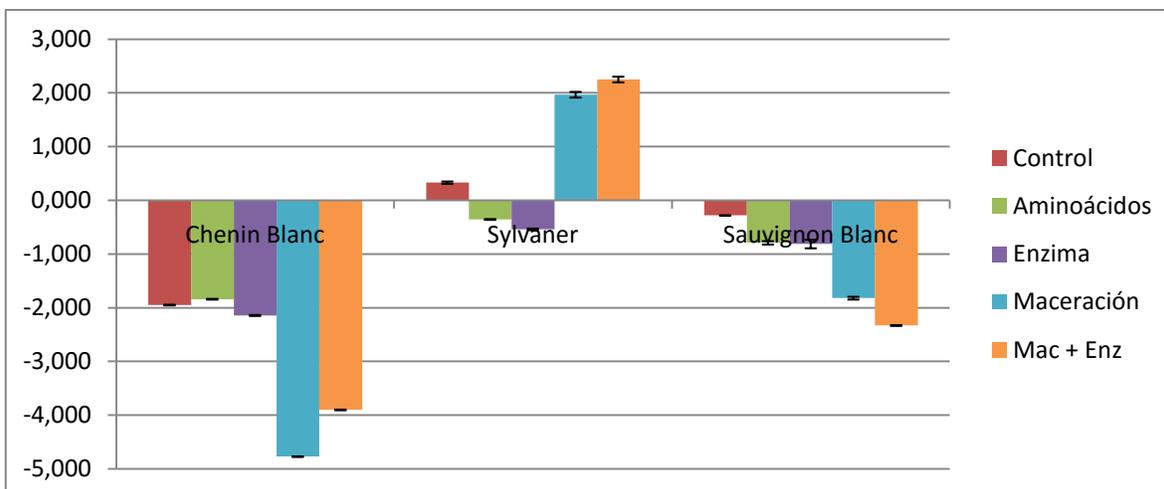
#### 4.4.2 Parámetro $a^*$

El atributo  $a^*$  hace referencia a los tonos rojos y verdes presentes en la muestra, en el caso de los vinos elaborados con la variedad Chenin Blanc, al tener sólo valores negativos, como se observa en el Gráfico 16, se considera que hay presencia de tonos verdes y no de rojos, lo mismo ocurre con todos los vinos de la variedad Sauvignon Blanc. Sin embargo, hay vinos que tuvieron un valor de  $a^*$  mayor que los otros dentro de cada variedad, por ejemplo, tres de los vinos de la variedad Chenin Blanc (control, enriquecido con aminoácidos y adicionado con enzimas) no experimentan una diferencia notable respecto a este parámetro, mientras que los vinos obtenidos por medio de la maceración con lima (con y sin adición de enzimas) muestran una diferencia notable con respecto al resto así como también demuestran ser diferentes entre sí. Estos vinos resultaron en valores inferiores de  $a^*$ , es decir, poseen una mayor tonalidad verde con respecto a los demás, lo cual se debe a la extracción de compuestos presentes en la cáscara de lima capaces de aportar este color al vino, como es el caso de las clorofilas que se han reportado como los principales pigmentos en la cáscara de frutas color verde (Rodrigo *et al.*, 2013), este cambio se ve ligeramente atenuado en el vino al que fue adicionado el kit enzimático Zymapect<sup>®</sup>, ya que, en principio,

también se vieron incrementadas las tonalidades verdes en comparación con el control aunque en menor grado que el vino en el que solo se maceró la lima.

En cuanto a los vinos obtenidos de la variedad Sylvaner, el vino control presenta una ligera existencia de tonalidades rojas, la presencia de esta pigmentación está relacionada con el alto pH de dichos vinos (Gráfica 8) ya que se ha demostrado que la susceptibilidad a oxidación de los compuestos fenólicos en los mostos o vinos está directamente relacionada con un pH elevado (Hidalgo, 2005), produciendo un defecto conocido como "pinking" en el que el vino se torna de un color rosado. Aunado a esto, la maceración de mandarina durante la fermentación e inclusive la maceración con una posterior adición del kit enzimático potencia la presencia de estas tonalidades rojas a causa de la presencia de pigmentos en la cáscara de mandarina de color rojo o anaranjado, como son la  $\beta$ -citraurina y la  $\beta$ -criptoxantina (Rodrigo *et al.*, 2013). Sin embargo, los procedimientos de adición de aminoácidos y del kit enzimático tuvieron el efecto adverso, ya que las tonalidades verdes se vieron incrementadas en ambos vinos, dando como resultado un valor negativo del parámetro  $a^*$ . Esto se relaciona principalmente con el pH de estos dos vinos ya que dentro de la variedad Sylvaner ambos tienen el pH más ácido (Gráfica 8) lo que los vuelve menos susceptibles a la oxidación, conservando de esta manera la tonalidad verde que es natural en esta bebida.

Los vinos obtenidos de la variedad Sauvignon Blanc vieron incrementadas sus tonalidades verdes al aplicárseles alguna de las metodologías de vinificación implementadas aunque hay prácticas que ocasionaron cambios más notorios, como la maceración de cáscara de maracuyá y más aún la adición del kit enzimático al mosto macerado, lo que significa que la cáscara de este fruto contiene pigmentos con ese matiz y que al ser hidrolizados por la enzima adicionada su intensidad de color incrementa. A su vez, la adición del kit enzimático y de aminoácidos tuvo el mismo efecto solo que en menor magnitud, lo que significa que este tipo de uva posee glucósidos que al ser descompuestos por una enzima glucosidasa pueden potenciar la coloración que los polifenoles presentes atribuyen al vino.



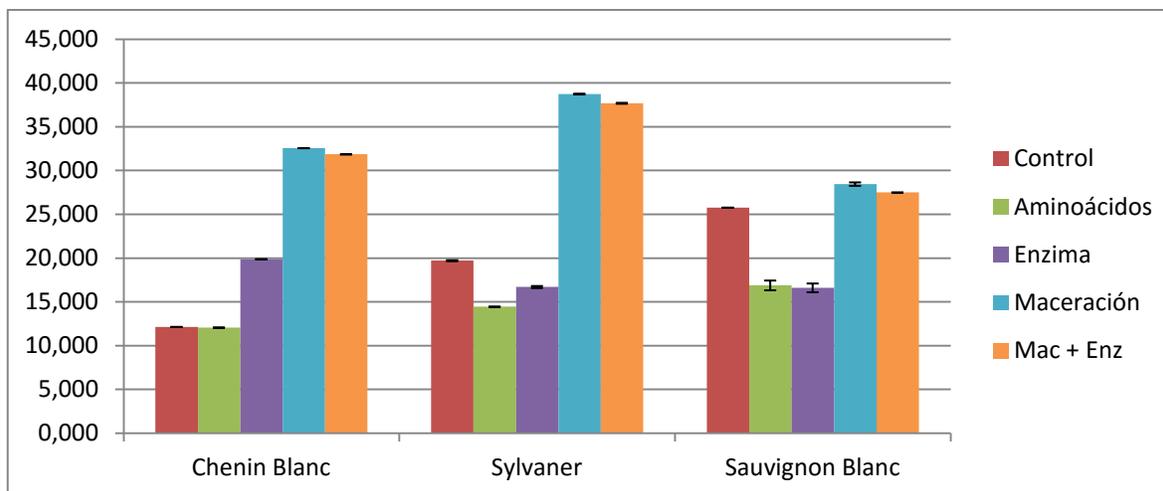
Gráfica 16. Valores del parámetro  $a^*$  en los vinos elaborados con las variedades Chenin Blanc, Sylvaner y Sauvignon Blanc.

#### 4.4.3 Parámetro $b^*$

Con respecto al atributo  $b^*$ , que hace referencia a los tonos amarillos y azules presentes en las muestras, se obtuvieron solamente valores positivos (Gráfica 17), entendiendo con esto que los vinos obtenidos por todas las variedades únicamente tienen tonos amarillos y que las longitudes de onda de los tonos azules son absorbidos por éstas, (Meilgaard, et al., 1999, McMurry, 2001).

El vino control con un valor más alto en este parámetro es el de la variedad Sauvignon Blanc mientras que el de menor valor fue el vino control de Chenin Blanc, estas diferencias a causa de la composición de cada una de las variedades, principalmente en el contenido de flavonas y flavonoles dado que este tipo de moléculas flavonoides son las responsables del color amarillo originario de todos los vinos, sean tintos o blancos (Hidalgo, 2010). La maceración con cítricos potenció la tonalidad amarilla de manera apreciable, con respecto a sus respectivos controles, en las tres variedades trabajadas sin importar el cítrico que se añadió en cada caso (lima (Chenin Blanc), mandarina (Sylvaner) o maracuyá (Sauvignon Blanc)) lo que significa que la cáscara de estos cítricos son ricas en compuestos fenólicos capaces de incrementar el color amarillo en el vino, como la diosmina, por ejemplo, la cual, de acuerdo a múltiples reportes, ha sido extraída por diferentes procedimientos de la cáscara de varios cítricos, principalmente del

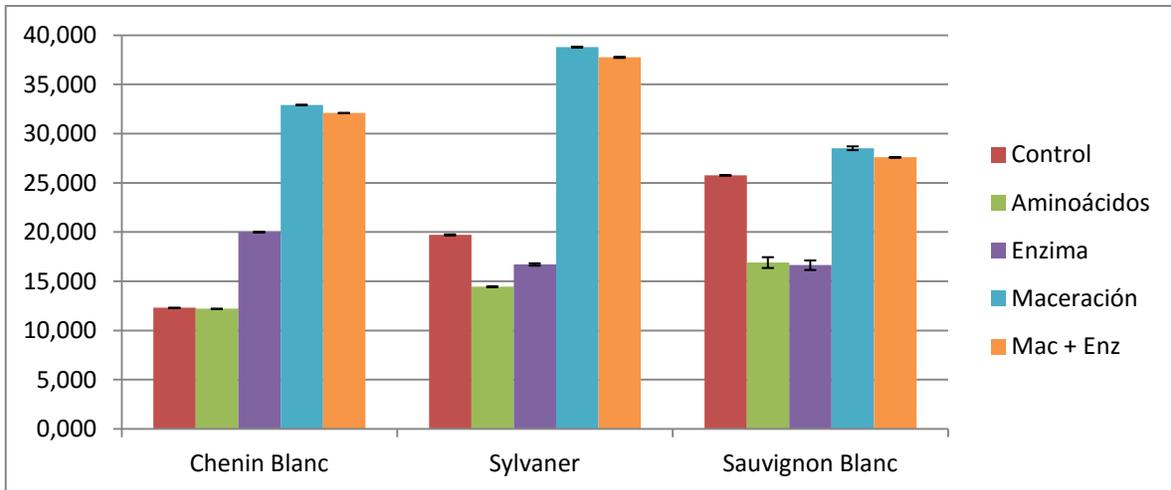
género *Citrus* (Escobar, 2010), a la vez que Mareck *et al.* (1990) han reportado la presencia de flavonoides, como isoorientina, orientina, isovitexina, entre otros, en la composición de la fruta maracuyá. Otros compuestos que están contribuyendo a incrementar la tonalidad amarilla en los vinos sometidos al proceso de maceración son las xantofilas que se encuentran en las cáscaras de los cítricos como es la violaxantina en el caso de la mandarina (Rodrigo, 2013) y la luteína y sus isómeros en la lima (Agocs *et al.*, 2007). Mientras que el uso de otras técnicas, como la adición de aminoácidos y del kit enzimático redujo el valor de este parámetro en los vinos de las variedades Sylvaner y Sauvignon Blanc, lo que significa que hubo un incremento en la cantidad de compuestos con tonalidades azules presentes en estos vinos. No obstante, la excepción se ve en los vinos de la variedad Chenin Blanc, pues al adicionar aminoácidos al mosto, no se observó un cambio considerable en el valor de  $b^*$  mientras que con la adición del kit enzimático la tonalidad amarilla se incremento con respecto al control de dicha variedad. Estas discrepancias entre los vinos de las distintas variedades respecto al efecto que tuvo la adición de enzimas o de aminoácidos en la magnitud del parámetro  $b^*$  se debe principalmente a las diferencias que hay en la composición química de cada una de las variedades trabajadas, pues de esto dependerá si los aminoácidos adicionados tienen capacidad de reaccionar con algunos de los compuestos presentes y la naturaleza cromática que tendrán los productos de dichas reacciones. De igual manera, el kit enzimático adicionado a los mostos puede alterar el valor de los distintos parámetros colorimétricos del vino final en función de los tipos de glucósidos que poseen las uvas y de los polifenoles (flavonoides) libres que pueden resultar de su hidrólisis.



Gráfica 17. Valores del parámetro  $b^*$  en los vinos elaborados con las variedades Chenin Blanc, Sylvaner y Sauvignon Blanc.

#### 4.4.4 Croma ( $C^*$ )

Para el atributo  $C^*$ , que indica la cromaticidad o saturación del color, es decir, indica la concentración del color en la muestra, (Lawless, 1998), se encuentra directamente relacionado con los valores de  $b^*$  pues, como se puede observar en la Gráfica 18, ambos parámetros guardan la misma tendencia. Esto debido a que la concentración del color en los vinos, depende totalmente de las tonalidades consideradas en la determinación del parámetro  $b^*$  (amarillos y azules). Por lo tanto, el vino control con el valor más alto en este parámetro fue el de la variedad Sauvignon Blanc, mientras que el proceso de maceración elevó considerablemente el valor de este parámetro para las tres variedades de uva trabajadas.



Gráfica 18. Valores del Croma (C\*) en los vinos elaborados con las variedades Chenin Blanc, Sylvaner y Sauvignon Blanc.

#### 4.4.5 Tono o matiz ( $h^\circ$ )

El último atributo del sistema CIE evaluado fue  $h^\circ$ , el cual indica el ángulo donde se ubica el color (matiz) de la muestra, simulando que los atributos  $a^*$  y  $b^*$  se encuentra graficados sobre un círculo de  $360^\circ$ , este valor se relaciona directamente con el color (Lawless, 1998). En la Figura 3 se presentan los ángulos de esta figura geométrica y la representación de los atributos de color.

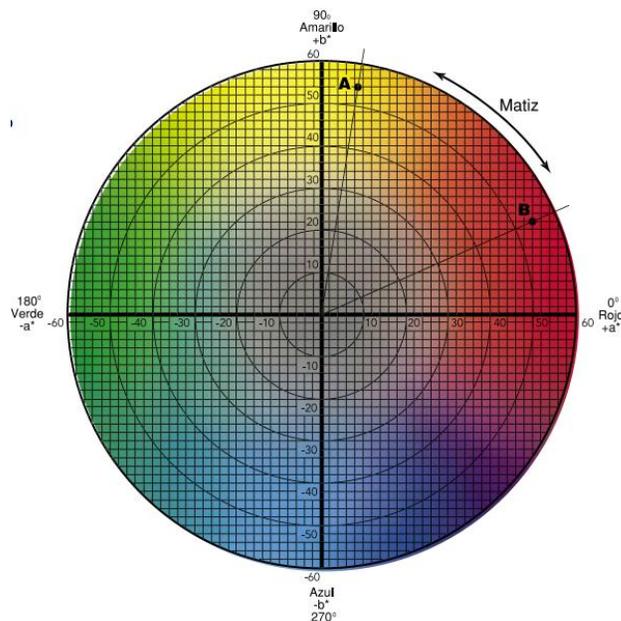
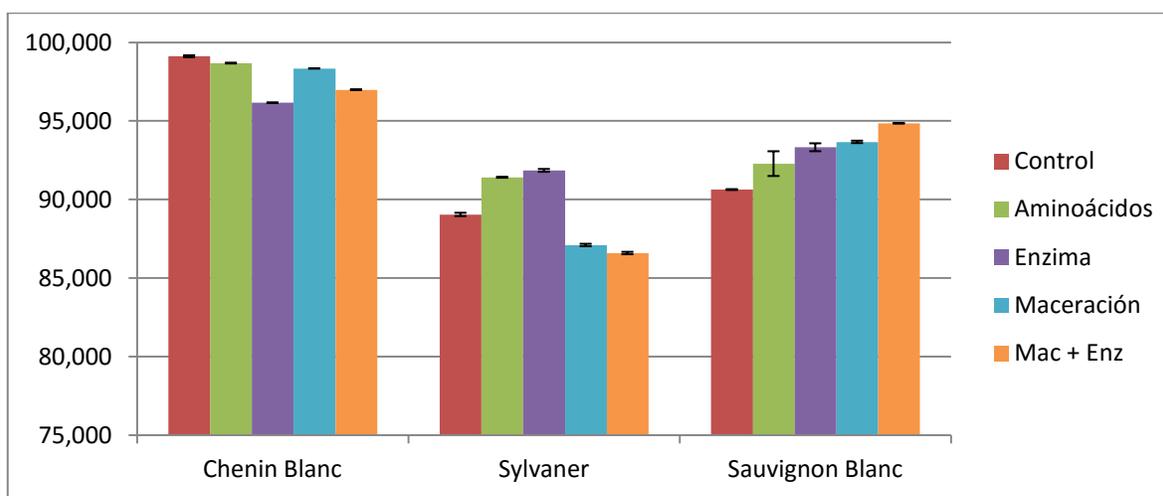


Figura 4. Ángulos representativos de los atributos de color ( $h^\circ$ )

Los valores de  $h^\circ$  obtenidos (Gráfica 19) representan el valor de un ángulo, que a su vez indica la ubicación del tono de la muestra, considerando que las características cromáticas están ubicadas en un círculo (Figura 3). En el caso de los vinos analizados, como se pudo observar anteriormente, con base en los valores de los atributos  $a^*$  y  $b^*$  reportados, estos presentan tonos amarillos con ligeras diferencias entre ellos dado que las variedades Chenin Blanc (valores de  $h^\circ$  entre  $95^\circ$  y  $100^\circ$ ) y Sauvignon Blanc (valores de  $h^\circ$  entre  $90^\circ$  y  $95^\circ$ ) resultaron en vinos ubicados en el segundo cuadrante debido a la presencia de algunas tonalidades verdes (valores negativos de  $a^*$ ) propias de la uva las cuales se incrementan al someter el mosto a la maceración (Gráfica 16), mientras que el vino control de la variedad Sylvaner, además de los macerados con cáscara de mandarina (con y sin el kit enzimático) se encuentran ubicados en el primer cuadrante (valores de  $h^\circ$  entre  $85^\circ$  y  $90^\circ$ ) a causa de las tonalidades rojas que presentan (valores positivos de  $a^*$ ) en tanto que los elaborados con la adición de aminoácidos y de enzimas resultaron con valores de  $h^\circ$  mayores a  $90^\circ$ , es decir, con una mayor cantidad de tonos verdes debido a sus características fisicoquímicas.



Gráfica 19. Valores del tono ( $h^\circ$ ) en los vinos elaborados con las variedades Chenin Blanc, Sylvaner y Sauvignon Blanc.

## **5. Conclusiones**

- Todos los vinos elaborados resultaron en un pH ligeramente elevado lo que los hace ligeramente vulnerables físicoquímica y microbiológicamente hablando debido a una reducción en la eficiencia del dióxido de azufre como agente antioxidante y antimicrobiano a causa de los equilibrios ácido-base que éste presenta en el vino. Esto también tiene incidencia en la luminosidad de los vinos ya que un pH alto y una baja concentración de SO<sub>2</sub> libre se refleja en un vino más opaco.
- Los vinos obtenidos cumplen con las especificaciones establecidas en las legislaciones del Consejo de la UE, CODEX enológico y la OIV para los parámetros de acidez total y acidez volátil.
- Las Normas mexicanas que consideran al sector vinícola deben ser revisadas y modificadas con el fin de determinar factores importantes como definiciones y clasificaciones de producto además de los análisis microbiológicos y físicoquímicos en los vinos. Para, de este modo, lograr un mejor control en la legislación mexicana así como lo presentan otras regulaciones de carácter internacional.
- La maceración de cáscaras de cítricos en el mosto incrementa la acidez total en el producto final por la extracción de ácidos propios de los frutos, este efecto se ve aún potenciado por la adición del kit enzimático Zymapect® al mosto. A pesar del incremento en la acidez total, el pH se vuelve de carácter más básico ya que existe una diferencia en el grado de disociación de los ácidos de las uvas y los de los cítricos utilizados.
- La acidez volátil se vió incrementada al someter los mostos a la maceración de cítricos, con y sin enzimas, al igual que el enriquecimiento del mosto con aminoácidos también aumenta el contenido de ácidos volátiles en el vino.
- El contenido de polifenoles en los vinos analizados es similar al reportado en artículos relacionados, siendo el control de la variedad Sylvaner el de mayor contenido en este parámetro. El contenido de este tipo de

compuestos se ve notablemente incrementado por la maceración con cítricos tanto con la adición del kit enzimáticos como sin ella.

- La adición de aminoácidos al mosto provocó, contrario a lo esperado, una reducción en la cantidad de nitrógeno asimilable al final de la fermentación de los mostos, a la vez que no se encontró que dicha variación en el proceso sea un factor que afecte la cantidad de etanol producido por las levaduras.
- De acuerdo a las legislaciones de la CE y la OIV, respecto a la clasificación de los vinos con base en su contenido de azúcares, los vinos de las variedades Chenin Blanc y Sauvignon Blanc se consideran secos al igual que los vinos adicionados con aminoácidos y el kit enzimático de la variedad Sylvaner, mientras que los vinos control y macerados con mandarina de esta variedad se clasifican como semisecos.
- La adición del kit enzimático Zymapect® favorece la producción de etanol durante la etapa de fermentación, tanto en el vino sin maceración de cítricos, como en el que sí contó con dicho proceso, el cual por si solo también incrementa el grado alcohólico en el vino.
- Todos los vinos elaborados cuentan con un valor de luminosidad alto, como se esperaba al tratarse de vinos blancos. Este parámetro muestra correlación con el contenido de polifenoles en el vino, ya que al incrementar la concentración de compuestos fenólicos, la luminosidad disminuye y viceversa. Por ello la maceración con cítricos, con y sin adición de enzimas glicosidasas, reduce el valor de este parámetro.
- La maceración con cítricos provee de pigmentos a los vinos que modifican de manera notable los valores en los parámetros colorimétricos del espacio CIELAB, mientras que la adición de aminoácidos y de enzimas glicosidasas, tendrán efectos diversos en función de la variedad de uva con la que se elabore el vino.

## **6. Anexo I. Tablas de resultados.**

En las siguientes tablas se muestran los resultados correspondientes a los análisis realizados a los vinos y mostos elaborados.

**Tabla 1. Acidez total en los vinos elaborados, expresada en g de ácido tartárico/L.**

Variedad de uva	Producto	Proceso de elaboración	Réplica			Promedio	Desv. Est.
			1	2	3		
Chenin Blanc	Mosto	--	5,27	5,06	5,17	5,17	0,107
Chenin Blanc	Vino	Control	5,42	5,49	5,46	5,46	0,034
Chenin Blanc	Vino	Aminoácidos	5,22	5,22	5,22	5,22	0,000
Chenin Blanc	Vino	Enzima	6,52	6,73	6,59	6,61	0,105
Chenin Blanc	Vino	Macerado	7,55	7,41	7,48	7,48	0,069
Chenin Blanc	Vino	Macerado + enzima	8,10	8,03	8,10	8,07	0,040
Sylvaner	Mosto	--	7,26	7,13	7,39	7,26	0,13
Sylvaner	Vino	Control	4,49	4,49	4,59	4,52	0,06
Sylvaner	Vino	Aminoácidos	3,98	3,98	4,08	4,01	0,06
Sylvaner	Vino	Enzima	4,18	3,98	4,08	4,08	0,10
Sylvaner	Vino	Macerado	6,53	6,43	6,43	6,46	0,06
Sylvaner	Vino	Macerado + enzima	8,27	8,27	8,37	8,30	0,06
Sauvignon Blanc	Mosto	--	5,27	5,20	5,27	5,25	0,04
Sauvignon Blanc	Vino	Control	5,41	5,41	5,34	5,39	0,04
Sauvignon Blanc	Vino	Aminoácidos	5,56	5,56	5,49	5,53	0,04
Sauvignon Blanc	Vino	Enzima	4,28	4,06	4,35	4,23	0,15
Sauvignon Blanc	Vino	Macerado	6,63	6,56	6,70	6,63	0,07
Sauvignon Blanc	Vino	Macerado + enzima	6,56	6,63	6,63	6,60	0,04

**Tabla 2. Nitrógeno asimilable en los vinos elaborados, expresada en mg de nitrógeno/L.**

Variedad de uva	Producto	Proceso de elaboración	Réplica			Promedio	Desv. Est.
			1	2	3		
Chenin Blanc	Mosto	--	239,40	226,80	239,40	235,20	7,27
Chenin Blanc	Vino	Control	126,00	138,60	138,60	134,40	7,27
Chenin Blanc	Vino	Aminoácidos	138,60	126,00	138,60	134,40	7,27
Chenin Blanc	Vino	Enzima	163,80	176,40	176,40	172,20	7,27
Chenin Blanc	Vino	Macerado	201,60	189,00	201,60	197,40	7,27
Chenin Blanc	Vino	Macerado + enzima	239,40	220,50	226,80	228,90	9,62
Sylvaner	Mosto	--	234,08	234,08	240,24	236,13	3,56
Sylvaner	Vino	Control	133,28	152,32	142,80	142,80	9,52
Sylvaner	Vino	Aminoácidos	133,28	123,76	123,76	126,93	5,50
Sylvaner	Vino	Enzima	161,84	171,36	152,32	161,84	9,52
Sylvaner	Vino	Macerado	190,40	190,40	199,92	193,57	5,50
Sylvaner	Vino	Macerado + enzima	247,52	228,48	238,00	238,00	9,52
Sauvignon Blanc	Mosto	--	370,5	351,5	361	361,00	9,5
Sauvignon Blanc	Vino	Control	219,45	206,15	199,50	208,37	10,16
Sauvignon Blanc	Vino	Aminoácidos	186,20	192,85	179,55	186,20	6,65
Sauvignon Blanc	Vino	Enzima	146,30	152,95	146,30	148,52	3,84
Sauvignon Blanc	Vino	Macerado	199,50	192,85	206,15	199,50	6,65
Sauvignon Blanc	Vino	Macerado + enzima	199,50	212,80	212,80	208,37	7,68

**Tabla 3. Acidez volátil en los vinos elaborados, expresada en g de ácido acético/L.**

Variedad de uva	Producto	Proceso de elaboración	Réplica			Promedio	Desv. Est.
			1	2	3		
Chenin Blanc	Vino	Control	0,16	0,16	0,16	0,16	0,00
Chenin Blanc	Vino	Aminoácidos	0,22	0,22	0,22	0,22	0,00
Chenin Blanc	Vino	Enzima	0,33	0,33	0,33	0,33	0,00
Chenin Blanc	Vino	Macerado	0,27	0,27	0,27	0,27	0,00
Chenin Blanc	Vino	Macerado + enzima	0,44	0,44	0,44	0,44	0,00
Sylvaner	Vino	Control	0,41	0,41	0,41	0,41	0,00
Sylvaner	Vino	Aminoácidos	0,41	0,41	0,41	0,41	0,00
Sylvaner	Vino	Enzima	0,37	0,37	0,37	0,37	0,00
Sylvaner	Vino	Macerado	0,82	0,82	0,86	0,83	0,02
Sylvaner	Vino	Macerado + enzima	0,90	0,98	0,94	0,94	0,04
Sauvignon Blanc	Vino	Control	0,228	0,228	0,256	0,2375	0,0164
Sauvignon Blanc	Vino	Aminoácidos	0,228	0,228	0,256	0,2375	0,0164
Sauvignon Blanc	Vino	Enzima	0,199	0,228	0,228	0,2185	0,0164
Sauvignon Blanc	Vino	Macerado	0,228	0,228	0,256	0,2375	0,0164
Sauvignon Blanc	Vino	Macerado + enzima	0,285	0,285	0,313	0,2945	0,0164

**Tabla 4. Dióxido de azufre libre en los vinos elaborados, expresada en g de SO<sub>2</sub>/L.**

Variedad de uva	Producto	Proceso de elaboración	Réplica*			Promedio	Desv. Est.
			1	2	3		
Chenin Blanc	Vino	Control	17,92	17,92	--	17,92	0,00
Chenin Blanc	Vino	Aminoácidos	20,48	20,48	--	20,48	0,00
Chenin Blanc	Vino	Enzima	20,48	20,48	--	20,48	0,00
Chenin Blanc	Vino	Macerado	38,40	38,40	--	38,40	0,00
Chenin Blanc	Vino	Macerado + enzima	43,52	43,52	--	43,52	0,00
Sylvaner	Vino	Control	12,80	12,80	--	12,80	0,000
Sylvaner	Vino	Aminoácidos	12,80	12,80	--	12,80	0,000
Sylvaner	Vino	Enzima	7,68	7,68	--	7,68	0,000
Sylvaner	Vino	Macerado	28,16	29,44	--	28,80	0,905
Sylvaner	Vino	Macerado + enzima	17,92	19,20	--	18,56	0,905
Sauvignon Blanc	Vino	Control	15,36	16,64	15,36	15,79	0,74
Sauvignon Blanc	Vino	Aminoácidos	10,24	10,24	10,24	10,24	0,00
Sauvignon Blanc	Vino	Enzima	7,68	7,68	7,68	7,68	0,00
Sauvignon Blanc	Vino	Macerado	15,36	15,36	15,36	15,36	0,00
Sauvignon Blanc	Vino	Macerado + enzima	25,60	26,88	25,60	26,03	0,74

\* Debido a la insuficiencia de muestra, el número de réplicas en el análisis de los vinos de las variedades Chenin Blanc y Sylvaner se limitó a dos por muestra.

**Tabla 5. Dióxido de azufre combinado en los vinos elaborados, expresada en g de SO<sub>2</sub>/L.**

Variedad de uva	Producto	Proceso de elaboración	Réplica*			Promedio	Desv. Est.
			1	2	3		
Chenin Blanc	Vino	Control	61,44	61,44	--	61,44	0,00
Chenin Blanc	Vino	Aminoácidos	58,88	58,88	--	58,88	0,00
Chenin Blanc	Vino	Enzima	56,32	56,32	--	56,32	0,00
Chenin Blanc	Vino	Macerado	48,64	48,64	--	48,64	0,00
Chenin Blanc	Vino	Macerado + enzima	61,44	61,44	--	61,44	0,00
Sylvaner	Vino	Control	15,360	15,360	--	15,36	0,000
Sylvaner	Vino	Aminoácidos	5,120	5,120	--	5,12	0,000
Sylvaner	Vino	Enzima	17,920	19,200	--	18,56	0,905
Sylvaner	Vino	Macerado	30,720	32,000	--	31,36	0,905
Sylvaner	Vino	Macerado + enzima	33,280	35,840	--	34,56	1,810
Sauvignon Blanc	Vino	Control	38,400	39,680	38,400	38,8267	0,739
Sauvignon Blanc	Vino	Aminoácidos	30,7200	30,7200	30,7200	30,7200	0,000
Sauvignon Blanc	Vino	Enzima	28,1600	29,4400	28,1600	28,5867	0,739
Sauvignon Blanc	Vino	Macerado	48,6400	51,2000	49,9200	49,9200	1,280
Sauvignon Blanc	Vino	Macerado + enzima	35,8400	37,1200	35,8400	36,2667	0,739

\* Debido a la insuficiencia de muestra, el número de réplicas en el análisis de los vinos de las variedades Chenin Blanc y Sylvaner se limitó a dos por muestra.

**Tabla 6. Polifenoles totales en los vinos elaborados, expresada en mg de acido gálico/L.**

Variedad de uva	Producto	Proceso de elaboración	Réplica			Promedio	Desv. Est.
			1	2	3		
Chenin Blanc	Mosto	--	293,14	297,43	296,86	295,81	2,33
Chenin Blanc	Vino	Control	149,69	141,00	141,54	144,08	4,87
Chenin Blanc	Vino	Aminoácidos	160,08	141,46	139,23	146,92	11,45
Chenin Blanc	Vino	Enzima	210,23	195,00	196,46	200,56	8,40
Chenin Blanc	Vino	Macerado	331,92	315,92	316,46	321,44	9,09
Chenin Blanc	Vino	Macerado + enzima	347,31	335,00	327,85	336,72	9,84
Sylvaner	Mosto	--	299,15	298,00	299,08	298,74	0,65
Sylvaner	Vino	Control	177,62	173,77	176,46	175,95	1,97
Sylvaner	Vino	Aminoácidos	138,00	129,23	131,38	130,31	1,52
Sylvaner	Vino	Enzima	163,92	152,38	151,54	151,96	0,60
Sylvaner	Vino	Macerado	347,38	333,46	332,54	333,00	0,65
Sylvaner	Vino	Macerado + enzima	315,85	311,08	308,38	311,77	3,78
<Sauvignon Blanc	Mosto	--	265,62	264,15	263,77	264,51	0,97
Sauvignon Blanc	Vino	Control	175,38	168,69	167,15	170,41	4,38
Sauvignon Blanc	Vino	Aminoácidos	172,69	165,08	165,77	167,85	4,21
Sauvignon Blanc	Vino	Enzima	176,46	163,69	164,23	163,96	0,38
Sauvignon Blanc	Vino	Macerado	249,46	249,31	248,69	249,15	0,41
Sauvignon Blanc	Vino	Macerado + enzima	263,08	251,85	255,31	256,74	5,75

**Tabla 7. Azúcares reductores en los vinos elaborados, expresada en g de glucosa /L.**

Variedad de uva	Producto	Proceso de elaboración	Réplica			Promedio	Desv. Est.
			1	2	3		
Chenin Blanc	Mosto	--	90,740	94,540	95,240	93,507	2,4214
Chenin Blanc	Vino	Control	0,208	0,224	0,220	0,217	0,0084
Chenin Blanc	Vino	Aminoácidos	0,268	0,270	0,270	0,269	0,0013
Chenin Blanc	Vino	Enzima	0,214	0,217	0,218	0,216	0,0024
Chenin Blanc	Vino	Macerado	0,532	0,528	0,524	0,528	0,0042
Chenin Blanc	Vino	Macerado + enzima	0,454	0,450	0,445	0,450	0,0046
Sylvaner	Mosto	--	85,53	85,73	85,71	85,66	0,11
Sylvaner	Vino	Control	5,22	5,03	4,97	5,07	0,13
Sylvaner	Vino	Aminoácidos	3,26	3,30	3,30	3,29	0,02
Sylvaner	Vino	Enzima	3,94	4,60	4,65	4,39	0,40
Sylvaner	Vino	Macerado	5,49	5,97	6,00	5,82	0,29
Sylvaner	Vino	Macerado + enzima	7,99	8,05	8,04	8,03	0,03
<Sauvignon Blanc	Mosto	---	191,280	198,360	197,420	195,687	3,8451
Sauvignon Blanc	Vino	Control	2,697	2,703	2,700	2,700	0,0030
Sauvignon Blanc	Vino	Aminoácidos	1,620	1,622	1,620	1,621	0,0008
Sauvignon Blanc	Vino	Enzima	1,574	1,580	1,578	1,577	0,0030
Sauvignon Blanc	Vino	Macerado	2,787	2,797	2,792	2,792	0,0052
Sauvignon Blanc	Vino	Macerado + enzima	2,745	2,758	2,762	2,755	0,0087

**Tabla 8. Valores de luminosidad (L\*) de los vinos analizados.**

Variedad de uva	Producto	Proceso de elaboración	Réplica			Promedio	Desv. Est.
			1	2	3		
Chenin Blanc	Vino	Control	100,085	100,238	100,178	100,167	0,077
Chenin Blanc	Vino	Aminoácidos	100,278	100,252	100,250	100,260	0,016
Chenin Blanc	Vino	Enzima	98,385	98,461	98,412	98,419	0,038
Chenin Blanc	Vino	Macerado	97,005	97,009	97,004	97,006	0,002
Chenin Blanc	Vino	Macerado + enzima	96,295	96,223	96,277	96,265	0,037
Sylvaner	Vino	Control	93,964	93,519	93,377	93,620	0,306
Sylvaner	Vino	Aminoácidos	96,368	96,351	96,367	96,362	0,009
Sylvaner	Vino	Enzima	95,411	95,421	95,258	95,364	0,091
Sylvaner	Vino	Macerado	86,683	86,041	86,146	86,290	0,344
Sylvaner	Vino	Macerado + enzima	87,303	87,517	87,416	87,412	0,107
Sauvignon Blanc	Vino	Control	93,296	93,269	93,285	93,283	0,014
Sauvignon Blanc	Vino	Aminoácidos	95,641	96,734	96,554	96,309	0,586
Sauvignon Blanc	Vino	Enzima	95,756	96,949	96,174	96,293	0,606
Sauvignon Blanc	Vino	Macerado	94,441	94,348	94,378	94,389	0,047
Sauvignon Blanc	Vino	Macerado + enzima	95,386	95,377	95,398	95,387	0,010

Tabla 9. Valores del atributo a\* de los vinos analizados.

Variedad de uva	Producto	Proceso de elaboración	Réplica			Promedio	Desv. Est.
			1	2	3		
Chenin Blanc	Vino	Control	-1,964	-1,957	-1,950	-1,957	0,007
Chenin Blanc	Vino	Aminoácidos	-1,848	-1,838	-1,835	-1,840	0,007
Chenin Blanc	Vino	Enzima	-2,152	-2,143	-2,133	-2,143	0,009
Chenin Blanc	Vino	Macerado	-4,769	-4,778	-4,767	-4,771	0,006
Chenin Blanc	Vino	Macerado + enzima	-3,908	-3,896	-3,898	-3,901	0,007
Sylvaner	Vino	Control	0,296	0,327	0,368	0,330	0,036
Sylvaner	Vino	Aminoácidos	-0,350	-0,351	-0,363	-0,355	0,008
Sylvaner	Vino	Enzima	-0,560	-0,539	-0,515	-0,538	0,022
Sylvaner	Vino	Macerado	1,910	2,015	1,978	1,968	0,053
Sylvaner	Vino	Macerado + enzima	2,301	2,196	2,256	2,251	0,053
Sauvignon Blanc	Vino	Control	-0,294	-0,272	-0,276	-0,280	0,011
Sauvignon Blanc	Vino	Aminoácidos	-0,419	-0,812	-0,767	-0,666	0,215
Sauvignon Blanc	Vino	Enzima	-0,757	-1,247	-0,868	-0,957	0,257
Sauvignon Blanc	Vino	Macerado	-1,838	-1,791	-1,833	-1,820	0,026
Sauvignon Blanc	Vino	Macerado + enzima	-2,338	-2,324	-2,327	-2,330	0,007

**Tabla 10. Valores del atributo b\* de los vinos analizados.**

Variedad de uva	Producto	Proceso de elaboración	Réplica			Promedio	Desv. Est.
			1	2	3		
Chenin Blanc	Vino	Control	12,134	12,135	12,145	12,138	0,006
Chenin Blanc	Vino	Aminoácidos	12,070	12,067	12,044	12,060	0,014
Chenin Blanc	Vino	Enzima	19,883	19,889	19,860	19,877	0,015
Chenin Blanc	Vino	Macerado	32,561	32,578	32,565	32,568	0,009
Chenin Blanc	Vino	Macerado + enzima	31,859	31,850	31,871	31,860	0,010
Sylvaner	Vino	Control	19,778	19,665	19,700	19,714	0,058
Sylvaner	Vino	Aminoácidos	14,423	14,464	14,442	14,443	0,020
Sylvaner	Vino	Enzima	16,580	16,722	16,812	16,705	0,117
Sylvaner	Vino	Macerado	38,748	38,788	38,696	38,744	0,046
Sylvaner	Vino	Macerado + enzima	37,732	37,633	37,711	37,692	0,052
Sauvignon Blanc	Vino	Control	25,755	25,775	25,776	25,768	0,012
Sauvignon Blanc	Vino	Aminoácidos	17,534	16,599	16,542	16,892	0,557
Sauvignon Blanc	Vino	Enzima	16,829	16,038	16,966	16,611	0,501
Sauvignon Blanc	Vino	Macerado	28,281	28,671	28,435	28,462	0,196
Sauvignon Blanc	Vino	Macerado + enzima	27,502	27,496	27,476	27,491	0,014

Tabla 11. Valores de Croma (C\*) de los vinos analizados.

Variedad de uva	Producto	Proceso de elaboración	Réplica			Promedio	Desv. Est.
			1	2	3		
Chenin Blanc	Vino	Control	12,292	12,292	12,300	12,295	0,005
Chenin Blanc	Vino	Aminoácidos	12,211	12,206	12,183	12,200	0,015
Chenin Blanc	Vino	Enzima	19,999	20,004	19,974	19,992	0,016
Chenin Blanc	Vino	Macerado	32,909	32,927	32,912	32,916	0,009
Chenin Blanc	Vino	Macerado + enzima	32,097	32,088	32,109	32,098	0,010
Sylvaner	Vino	Control	19,780	19,668	19,704	19,717	0,057
Sylvaner	Vino	Aminoácidos	14,428	14,468	14,447	14,448	0,020
Sylvaner	Vino	Enzima	16,590	16,730	16,820	16,713	0,116
Sylvaner	Vino	Macerado	38,795	38,841	38,747	38,794	0,047
Sylvaner	Vino	Macerado + enzima	37,802	37,697	37,778	37,759	0,055
Sauvignon Blanc	Vino	Control	25,756	25,776	25,777	25,770	0,012
Sauvignon Blanc	Vino	Aminoácidos	17,539	16,619	16,560	16,906	0,549
Sauvignon Blanc	Vino	Enzima	16,846	16,086	16,988	16,640	0,485
Sauvignon Blanc	Vino	Macerado	28,341	28,726	28,494	28,521	0,194
Sauvignon Blanc	Vino	Macerado + enzima	27,602	27,594	27,574	27,590	0,014

**Tabla 12. Valores de tono (ángulo h\*) de los vinos analizados.**

Variedad de uva	Producto	Proceso de elaboración	Réplica			Promedio	Desv. Est.
			1	2	3		
Chenin Blanc	Vino	Control	99,193	99,162	99,121	99,159	0,036
Chenin Blanc	Vino	Aminoácidos	98,705	98,661	98,661	98,676	0,026
Chenin Blanc	Vino	Enzima	96,177	96,151	96,131	96,153	0,023
Chenin Blanc	Vino	Macerado	98,332	98,344	98,328	98,335	0,008
Chenin Blanc	Vino	Macerado + enzima	96,994	96,974	96,972	96,980	0,012
Sylvaner	Vino	Control	89,142	89,048	88,931	89,040	0,106
Sylvaner	Vino	Aminoácidos	91,390	91,390	91,441	91,407	0,030
Sylvaner	Vino	Enzima	91,934	91,846	91,755	91,845	0,089
Sylvaner	Vino	Macerado	87,178	87,026	87,075	87,093	0,077
Sylvaner	Vino	Macerado + enzima	86,510	86,661	86,576	86,582	0,076
Sauvignon Blanc	Vino	Control	90,653	90,605	90,613	90,624	0,026
Sauvignon Blanc	Vino	Aminoácidos	91,370	92,801	92,655	92,275	0,787
Sauvignon Blanc	Vino	Enzima	92,574	94,447	92,930	93,317	0,995
Sauvignon Blanc	Vino	Macerado	93,718	93,574	93,688	93,660	0,076
Sauvignon Blanc	Vino	Macerado + enzima	94,859	94,831	94,841	94,844	0,014

## **7. Bibliografía**

Aerny, J., 1996. Composés azotés des mouts et des vins. Rev. Suisse Vitic. Arboric. Hortic. 28 (3), 161-165.

Agocs, A., Nagy, V., Szabo, Z., Mark, L., Ohmacht, R., Deli, J., 2007. Comparative study on the carotenoid composition of the peel and the pulp of different citrus species. Innovative Food Science and Emerging Technologies 8, 390–394.

Alves de Oliveira, G., de Castilhos, F., Claire, C., Bureau, S., 2013, "Comparison of NIR and MIR spectroscopic methods for determination of individual sugars, organic acids and carotenoids in passion fruit", Food Research International, 60, pp. 154-162.

Asociación Nacional de Vitivinicultores. (2010). Regiones vinícolas (Versión electrónica) Fecha de consulta: Noviembre, 2014. Disponible en: <http://www.uvayvino.org/>

Albers, E., Larsson, C., Liden, G., Niklasson, C., Gustafsson, L. 1996. Influence of the nitrogen source on *Saccharomyces cerevisiae* anaerobic growth and product formation. Applied and Environmental Microbiology, 62(2), 3187-3195.

Alonso, R. 2012. Estudio del potencial aromático y del impacto sensorial de vinos bancos de la variedad Verdejo cultivada en Castilla-La Mancha, Tesis de doctorado, Ciudad Real, Universidad de Castilla-La Mancha.

Blouin, J. y Peynaud, É. 2003. Enología práctica: Conocimiento y elaboración del vino. Cuarta edición. Mundi-Prensa. Madrid, España, pp. 50.

Bordeu, E., Scarpa, J., 2000, Análisis químico del vino, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Brillouet, J.M., Saulnier, L. y Montounet, M. (1990). Les polysaccharides pectiques et les enzymes de dégradation, Revue Francaise d'oenologie, 30 (122), 43-54.

Butzke, C. E. 1998. Survey of yeast assimilable nitrogen status in musts from California, Oregon and Washington, *American Journal of Enology and Viticulture*, 49(2), 220-224.

Cañizares, M., Duarte, G. *Fundamentos de química analítica*, segunda edición, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., México, pp. 340, 347, 352.

CODEX, OIV, 2006. "CODEX Enológico Internacional". Disponible en: [www.oiv.int/oiv/files/5%20.../5%20.../5-1-12\\_Codex\\_2006\\_ES.pdf](http://www.oiv.int/oiv/files/5%20.../5%20.../5-1-12_Codex_2006_ES.pdf)

Commission International de l'Eclairage, Technical Report. Colorimetry. CIE 15:2004, tercera ed., Central Bureau, Viena, Austria, 2004.

Consejo de la Unión Europea (CE), 1999, "Reglamento del mercado vitivinícola". Disponible en:

<http://eurlex.europa.eu/legalcontent/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:32008R0479&from=ES>]

Cravero, M.C.; Di Stefano, R.I. (1990) Compositi fenolici y l'origine varietale delle uve. *Rivista di Viticoltura e di Enologia*, 1, 33-44.

Escobar, M. 2010. Extracción de compuestos fenólicos de las cáscaras de cítricos producidos en México. Tesis de maestría. México D.F. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas IPN.

Escutia, L. 2011. Extracción asistida por ultrasonido de polifenoles en uva. Tesis de licenciatura. México D.F. Facultad de Química UNAM.

Font, I., Gudiño, P., Sánchez A. 2009. La industria vinícola mexicana y las políticas agroindustriales: Panorama general. México D. F. Universidad Autónoma Metropolitana.

García, J., Xirau, M. 2000. Técnicas usuales de análisis de enología, Universidad de Barcelona, Panreac Química, S.A., España.

García-Marino, M., Escudero-Gilete, M., Escribano-Bailón, M., González-Miret, M., Rivas-Gonzalo, J., Heredia, F. 2012. Colorimetric characteristics of the phenolic fractions obtained from Tempranillo and Graciano wines through the use of different instrumental techniques, *Analytica Chimica Acta*, 732, 153–161.

Goldner, Ma. Cristina. 2008. Caracterización sensorial y fisicoquímica de vinos Chardonnay y Malbec de distintas regiones vitivinícolas argentinas. Tesis de doctorado. Buenos Aires. Universidad de Buenos Aires.

Hough, G., Fiszman, S. 2005. Estimación de la Vida Útil Sensorial de los Alimentos. Programa CYTED. Madrid. España.

Hernández-Orte, P.; Ibarz, M. J.; Cacho, J.; Ferreira, V. 2005. Effect of the addition of ammonium and amino acids to musts of Airen variety on aromatic composition and sensory properties of the obtained wine. *Food Chemistry*, 89, 163-174.

Hidalgo, José., 2005, "Tecnología de elaboración y soluciones enológicas al aumento de pH en los vinos debido al potasio", Gestión de pH en el vino de calidad, Informe técnico. Disponible en: [http://www.culturadelvino.org/fcv/wp-content/uploads/pdf/encuentros/encuentro\\_2005.pdf](http://www.culturadelvino.org/fcv/wp-content/uploads/pdf/encuentros/encuentro_2005.pdf)

Hidalgo, José. 2010. Tratado de enología I, segunda edición, Mundi-Prensa, Madrid, España, pp. 575 y 1057.

Ikawa, M., Schaper, T.D., Dollard, C.A., Sasner, J.J., 2003, Utilization of Folin-Ciocalteu phenol reagent for the detection of certain Nitrogen Compounds, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51, 1811-1815.

Iturbe, F. ; Sandoval, J. 2011. Análisis de alimentos: Fundamentos y técnicas. México D.F. UNAM.

Jaros D., Rohm H. y Strobl M., (2000). Appearance Properties- A significant Contribution to Sensory Food Quality, *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie Journal*, 33 (4), 320-325.

López, M. 2005. Viticultura, enología, cata para aficionados, Mundi-Prensa, España, pp. 214.

Lawless H., T. y Heymann H., (1998). Sensory Evaluation of Food Principles and practices, Kluwer Academic/Plenum Publishers, USA, 406-450.

Ledesma, C., Priego, F., Luque de Castro, M., 2015, "Comparative study of the effect of auxiliary energies on the extraction of Citrus fruit components", Talanta, 144, 522-528.

Madrid, J., Madrid, A., Moreno, G., 2003, Análisis de vinos, mostos y alcoholes. Madrid. Mundi-Prensa, 185-187.

Mareck, U., Galensa, R., Herrmann, K, 1990, Identifizierung von Passionsfruchtsaft in Fruchtprodukten mittels HPLC, Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und Forschung. 191, 269–274.

McCaig, T.N., 2002, "Extending the use of visible/near-infrared reflectance spectrophotometers to measure colour of food and agricultural products", Food Research International, 35, 731–736.

McMurry J., 2001, Química Orgánica, 5a Edición, Internacional Thomson Editores, México, 452,458.

Meilgaard M., Civille G. V. y Carr T. B., (1999). Sensory Evaluation Techniques. Impr. Boca Ratón, Florida: CRC.

Mejía, L., Martínez, H., Betancourt, J., Castrillón, C., 2007, "Aprovechamiento del residuo agroindustrial del mango común en la obtención de azúcares fermentables", Revista: Ingeniería y Ciencia, Vol. 3, Número 6, pp. 41-62. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=83530603>

Nieto, Y. 2010. Manual del vino mexicano: su historia, características y proceso tecnológico. Tesis de licenciatura. Estado de México. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

Noguez, R. 2006. El papel de la microbiología enológica y su importancia en la elaboración de vinos de calidad. Tesis de licenciatura. Facultad de Química UNAM.

Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV). Estadísticas del sector vitivinícola mundial.

Consultado en: <http://www.oiv.int/oiv/info/esstatistiquessecteurvitivinicole#secteur>.  
Diciembre 2014

Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV). 2012. International Code of Oenological Practices; Maximum Acceptable Limits. Disponible en: <http://www.oiv.int/oiv/info/espratiquesoenologiques>

O'Sullivan M. G., Byrne D.V. y Martens M., (2003). Evaluation of pork colour: sensory colour assesment using trained and untrained sensory panellists, *Meat Science*, 63, 119-129.

Ortiz, I. 2007. Atlas Ilustrado de Vinos del Mundo, Susaeta, Madrid, España, pp. 256.

Peynaud, E., Blouin, J. El Gusto del Vino: el Gran Libro de la Degustación, segunda ed., Mundi-Prensa, Madrid, 2002.

Rodrigo, J.M., Alquézar, B., Alós, E., Lado, J., Zacarías, L. 2013. "Biochemical bases and molecular regulation of pigmentation in the peel of Citrus fruit", *Scientia Horticulturae*, 163, 46-62.

Sánchez, A., Martínez-Fernández, M., Moreno, M., Bermejo, E., Zapardiel, A., Chicharro, M. 2013. "Analysis of total polyphenols in wines by FIA with highly stable amperometric detection using carbon nanotub-modified electrodes", *Journal Food Chemistry*, 136, 1183-1192.

Strang, C. y Hanicotte, C. (2007). *El pequeño Larousse de los vinos*, Larousse, México, pp. 952.