El jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, aprobó la tesis:

"Estudio de la composición volátil y perfil sensorial de un vino rosado elaborado con uvas Cabernet Sauvignon, madurado en botella con la adición de chips de madera"

que presentó:

I. A. Miguel Ángel Hernández Carapia

Director: Dr.	José Ramón Verde Calvo
Asesor intern	o: Dr. Héctor Bernardo Escalona Buendía
Asesora exter	na: Dra. Araceli Peña Álvarez
Jurado:	1 n 1
Presidente	West Sand
Secretario	Dr. Héctor Bernaldo Escalona Buendía Mtra. Frida Malpica Sánchez
Vocal	Grande Reno Glivang. Dra. Araceli Peña Álvarez
Vocal	Dra Josefat spitia Lónez

Comité tutorial:





Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa

División de Ciencias Biológicas y de la Salud Departamento de Biotecnología

Estudio de la composición volátil y perfil sensorial de un vino rosado elaborado con uvas Cabernet Sauvignon, madurado en botella con la adición de chips de madera

Tesis para la obtención de grado de Maestro en Biotecnología

Presenta:

I. A. Miguel Ángel Hernández Carapia

Director:

Dr. José Ramón Verde Calvo





División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Departamento de Biotecnología

Estudio de la composición volátil y perfil sensorial de un vino rosado elaborado con uvas Cabernet Sauvignon, madurado en botella con la adición de chips de madera

Tesis para la obtención de grado de Maestro en Biotecnología

Presenta:

I. A. Miguel Ángel Hernández Carapia

Director:

Dr. José Ramón Verde Calvo

El Posgrado en Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana está incluido en el Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt).

Ciudad de México a 7 de septiembre de 2016

El jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, aprobó la tesis:

"Estudio de la composición volátil y perfil sensorial de un vino rosado elaborado con uvas Cabernet Sauvignon, madurado en botella con la adición de chips de madera"

que presentó:

I. A. Miguel Ángel Hernández Carapia

Comité tutori	al:
Director: Dr.	José Ramón Verde Calvo
Asesor intern	o: Dr. Héctor Bernardo Escalona Buendía
Asesora exter	na: Dra. Araceli Peña Álvarez
Jurado:	
Presidente	Dr. Héctor Bernardo Escalona Buendía
Secretario	Mtra. Frida Malpica Sánchez
Vocal	Dra. Araceli Peña Álvarez
Vocal	Dra. Josefa Espitia López



"Las piedras de los cimientos para un éxito equilibrado son la honestidad, el carácter, la integridad, la fe, el amor y la lealtad"

Zig Ziglar

"Mejor fracasar con honor que triunfar con fraude."

Sófocles

"Se nos olvida que todo lo bueno que merece la pena poseer debe ser pagado en golpes de esfuerzo diario. Posponemos y posponemos, hasta que las posibilidades sonrientes están muertas."

William James

"Vive como si fueras a morir mañana. Aprende como si fueras a vivir siempre."

Mahatma Gandhi

"Hay más filosofía y sabiduría en una botella de vino, que en todos los libros."

Louis Pasteur

"Ten cuidado de confiar en alguien a quien no le guste el vino"

Karl Marx

Agradecimientos

A Dios: por la vida, por ponerme en este camino, por otorgarme entendimiento y rodearme de gente noble y virtuosa... Gracias.

A mi padre (+): por significar mi ejemplo a seguir, por enseñarme rectitud y perseverancia ante todo, por forjarme un carácter que me ha ayudado a lograr lo que hasta ahora, por haberme dado junto con mi madre y mi hermana una infancia y vida excepcionales... Gracias.

Al doctor José Ramón Verde Calvo: por compartir sus conocimientos y dirigir este trabajo de investigación... Gracias.

A la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa: por todas las facilidades otorgadas para formarme como ingeniero y para la obtención de un posgrado... Gracias.

A mis compañeros de laboratorio, por hacer, junto con el doctor Ramón, tan ameno el tiempo en este lugar, por su cooperación, apoyo y contribución en el desarrollo de este trabajo... Gracias.

A mi madre: por su apoyo incondicional, por su esfuerzo realizado para darme una educación a pesar de las adversidades, por sacrificar parte de su vida para dedicarla a la mía... Gracias.

A mi hermana: ejemplo de dedicación, constancia y éxito; por su amistad, apoyo y compañía durante toda mi vida... Gracias.

Al doctor Héctor B. Escalona Buendía y a la doctora Araceli Peña Álvarez: por su asesoría y contribución en el desarrollo de esta investigación... Gracias.

A mis amigos: por todas las experiencias vividas, por permitirme formar parte de sus vidas y por ser gente protagonista en la mía... Gracias.

A la maestra Frida Malpica Sánchez, por su apoyo y asesoría en el laboratorio... Gracias.

Al Conacyt, por el apoyo económico otorgado durante el transcurso de mis estudios realizados para la obtención del grado de Maestro... Gracias.

Índice

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
MARCO TEÓRICO	4
EL VINO Y SU CLASIFICACIÓN	4
PANORAMA DEL VINO EN EL MERCADO MEXICANO	5
ELVINO	5
COMPUESTOS FENÓLICOS	6
LAS ANTOCIANIDINAS	6
Las antocianinas	7
Las antocianinas en los vinos jóvenes	8
La variedad Cabernet Sauvignon	10
EL PROCESO DE VINIFICACIÓN EN ROSADO	11
EL VINO ROSADO, EL PROCESO DE MACERACIÓN Y EL COLOR EN EL VINO	11
LOS COMPUESTOS VOLÁTILES DEL VINO Y SU RELACIÓN CON EL AROMA DEL MISMO	13
La maduración y el añejamiento en los vinos	14
ANTECEDENTES	17
JUSTIFICACIÓN	19
HIPÓTESIS	20
OBJETIVO GENERAL	20
OBJETIVOS PARTICULARES	20
ESTRATEGIA EXPERIMENTAL Y MÉTODOS DE ANÁLISIS	21
Maceración	21
Variedad, procedencia y características fisicoquímicas de las uvas empleadas	21
Cinética de maceración	22
Descripción del proceso de maceración	23
Aleatorización	23
Determinación de las antocianinas totales	24
MÉTODOS FISICOQUÍMICOS EMPLEADOS PARA LA CARACTERIZACIÓN DEL VINO Y DEL MOSTO.	26
Análisis fisicoquímicos de las uvas	26
Acidez total	26
Determinación de sólidos solubles (°Brix)	27
Determinación de pH	27
Determinación de antocianinas totales en los hollejos de las uvas Cabernet Sauvignon empleadas.	27
Medición de características fisicoquímicas del vino Azúcares reductores directos	28 28
Gravedad específica y contenido de etanol	30
Acidez total	31
Cenizas	31
Determinación de extracto seco	32
Determinación de acidez volátil	33
Determinación de bióxido de azufre libre (sulfuroso libre)	34
Determinación de bióxido de azufre total (sulfuroso total)	34

Determinación de las antocianinas totales	35
Identificación de los compuestos volátiles varietales y de aquéllos extraídos de la madera	35
ELABORACIÓN DEL VINO	36
MADURACIÓN DEL VINO EN BOTELLA	37
Aleatorización para llevar a cabo la maduración del vino mediante distintos tratamientos.	39
Aleatorización de los chips	39
RESULTADOS	40
Maceración	40
Elección del tiempo y temperatura de maceración para la elaboración del vino rosado	43
Modelos matemáticos que describen el proceso de maceración llevado a cabo bajo las condiciones	
previamente descritas	44
ESTANDARIZACIÓN DEL PROCESO DE MICROVINIFICACIÓN Y DETERMINACIÓN DE LOS MÉTODOS FÍSICOS Y QUÍMICOS PARA LA	4
CARACTERIZACIÓN DEL VINO	47
Elaboración del vino rosado con uvas Cabernet Sauvignon	50
Proceso de vinificación para el vino rosado elaborado	50
Curva de fermentación	54
MADURACIÓN DEL VINO CON LOS CHIPS DE MADERA	57
COMPUESTOS VOLÁTILES	63
Identificación de los compuestos volátiles	63
Preparación de la muestra y extracción de los compuestos volátiles	63
Cromatografía de gases-Espectrometría de masas (GC-MS)	64
Análisis estadístico	65
Resultados	66
Volátiles identificados	69
Compuestos primarios, secundarios y terciarios.	72
Compuestos volátiles identificados en los vinos obtenidos de los tratamientos con los chips.	77
EVALUACIÓN SENSORIAL	85
CONCLUSIONES	91
RECOMENDACIONES	92
REFERENCIAS	93
ANEXOS	108

Resumen

Existen pocos reportes científicos relacionados con la maduración de vinos rosados y el uso de nuevas tecnologías como la adición de chips de madera. Asimismo, existe un mercado creciente del vino en México, lo que ha generado una demanda de nuevos productos, especialmente en el público joven. Dado lo anterior, se llevó a cabo una investigación sobre la maduración con chips de madera de roble blanco Americano de un vino rosado varietal de Cabernet Sauvignon, sobre sus compuestos volátiles varietales y aquéllos que fueron extraídos de los chips de madera, así como de su perfil sensorial. Para esto, previamente se realizó una cinética de maceración de 48 horas a cuatro diferentes temperaturas con la finalidad de obtener el tiempo y temperatura óptimos para la elaboración de dicho vino y se propusieron 3 modelos matemáticos para explicar la difusión de las antocianinas durante la maceración; de éstos, fue el logarítmico el que explicó de mejor manera este proceso. Asimismo, la maceración durante 3 horas a 10 °C resultó ser la mejor para elaborar el vino deseado. Por otro lado, para la maduración del vino con los chips de madera se empleó un diseño experimental de dos factores: tiempo (21, 28 y 35 días) y cantidad de chips (1 y 3 g/L). Sobre estos vinos, además de dos vinos comerciales, se llevó a cabo la identificación de los compuestos volátiles primarios, secundarios y terciarios, lo cual se hizo mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-MS) y se empleó la técnica de microextracción en fase sólida (SPME). Para la técnica de SPME se utilizaron dos condiciones diferentes de extracción: una a 30 °C durante 30 minutos y una más a 40 °C durante 60 minutos; y fueron estas segundas con las que se pudieron identificar una mayor cantidad de compuestos volátiles. De éstos se identificaron 43 en total: 5 alcoholes, 23 ésteres, 2 ácidos carboxílicos, 3 terpenos, 3 aldehídos, 4 cetonas, 1 acetal, 1 oxima y 1 hidrocarburo aromático. Asimismo, de los 43 compuestos identificados, 15 pertenecen a aromas primarios o varietales, 22 a secundarios o de fermentación, 3 a aromas terciarios o de maduración, 3 están clasificados tanto en primarios como secundarios (acetato de 2-feniletilo, el hidrocinamato de etilo y el fenilacetato de etilo), 2 como primarios y terciarios (nonanal y decanal), y uno fue reportado por Grimm CC, et. al., (2002) como componente del pegamento de la fibra empleada en la técnica de SPME (metoxi-fenil oxima). De los compuestos extraídos de los chips únicamente se identificó la cis-whisky lactona y fue el vino madurado durante 28 días con 3 g de chips aquél que mostró una mayor abundancia de este compuesto. Los vinos elaborados con uvas Cabernet Sauvignon de la región de Dolores Hidalgo, Guanajuato, fueron de un color rosado intenso, con aromas frutales y florales, un gusto ácido y con baja percepción de dulzor.

Abstract

Because there are few scientific reports about the use of oak chips during the aging of rosé wines, in addition to the growing wine market in México and the demand for new products by young consumers, a research about aging of a Cabernet Sauvignon rosé wine using American oak chips was carried out in order to study both its varietal and oak-related volatile compounds, as well as its sensory profile. First, a 48- hour-kinetics maceration was performed using 4 different temperatures to obtain both the best time and temperature for making the wine. Besides, in order to explain the diffusion of anthocyanins during the maceration, 3 mathematical models were proposed; and a logarithmic model was the most suitable for this purpose. Likewise, the maceration at 10 °C for 3 hours was the best for making the wanted wine. On the other hand, for the aging with oak chips a two factor completely randomized design was used. The factors were 'contact time' (21, 28 and 35 days) and 'amount of oak chips' (1 g and 3 g per liter). In the obtained wines, as well as two commercial wines, primary, secondary and tertiary volatile compounds were identified by using solid- phase microextraction in mode headspace coupled to gas chromatography-mass spectrometry (SPME-GC-MS). For SPME technique two different extraction conditions were used: 30 °C for 30 minutes and 40 °C for 60 minutes. And with the latter ones a major amount of compounds could be identified. The identified volatile compounds were 5 alcohols, 23 esters, 2 carboxylic acids, 3 terpenes, 3 aldehydes, 4 ketones, 1 acetal, 1 oxime and 1 aromatic hydrocarbon. Among these, 15 are primary or varietal aroma compounds, 22 are secondary or fermentation aroma compounds, 3 are tertiary or aging aroma compounds, 3 are classified both as primary and secondary aroma compounds (2-phenylethyl acetate, ethyl hydrocinnamate and benzeneacetic acid ethyl ester), 2 are classified both as primary and tertiary aroma compounds (nonanal and decanal), and one is reported as being used in the fiber glue (methoxy-phenyl oxime). Regarding to the oak-related aroma compounds, just the cis-whisky lactone could be identified and the wine aged with 3 g of chips during 28 days was the one which had more abundance of this compound. The wines which were made from Dolores Hidalgo Cabernet Sauvignon grapes had an intense pink color, fruity and floral aroma, an acid taste and low sweetness.

Introducción

El presente trabajo de investigación aborda la maduración con chips de madera de roble blanco en un vino sobre el cual se ha estudiado poco este proceso: el vino rosado. Este vino fue elaborado con uvas de la variedad Cabernet Sauvignon del municipio de Dolores Hidalgo, Guanajuato y el resultado fue un producto de un color más intenso que aquéllos que se ofrecen actualmente en el mercado mexicano.

La estructura de este trabajo está diseñada de tal manera que el lector sea empapado, primeramente, con los temas y conceptos centrales que se tratarán a lo largo del escrito. A continuación se ofrecen los motivos que dieron origen a esta investigación así como los objetivos hacia los cuales se dirige la misma. Posteriormente se detalla la estrategia experimental tomada para el desarrollo de este trabajo así como los métodos fisicoquímicos empleados para la caracterización de los vinos y los fundamentos científicos en los que se basa cada uno de ellos. Seguido a la estrategia experimental, se ofrecen los resultados que se obtuvieron en cada una de las secciones en que fue dividida ésta y que, en general, puede fraccionarse en cuatro: 1) experimentación en la maceración, llevada a cabo con la finalidad de estudiar la cinética de extracción de los pigmentos contenidos en los hollejos de las uvas hacia el mosto así como determinar las mejores condiciones para elaborar el vino que sería objeto de estudio en el presente trabajo; 2) elaboración del vino, en la cual se toman las condiciones óptimas de maceración y se aplica la técnica de microvinificación para la fabricación del producto; asimismo, se aplican los distintos tratamientos para la maduración del vino rosado con los chips de madera; 3) identificación de los compuestos volátiles, realizada por cromatografía de gases-espectrometría de masas mediante la técnica de microextracción en fase sólida para lo cual se aplicaron dos condiciones de extracción distintas; 4) evaluación sensorial de los vinos, realizada con un panel entrenado y con el objetivo de obtener el perfil sensorial de los productos finales obtenidos. Cabe señalar que con la finalidad de tener una mejor comprensión de las técnicas y los resultados en las dos últimas secciones, la metodología empleada en éstas se incluye junto con sus resultados. Finalmente, después de las conclusiones, se ofrecen algunas recomendaciones que podrían considerarse para estudios futuros.

Marco Teórico

El vino y su clasificación

La NMX-V-012-NORMEX-2005 es una regulación técnica de aplicación voluntaria que es expedida por la Sociedad Mexicana de Normalización y Certificación S.C (Normex), la cual es una empresa privada establecida en noviembre de 1993 que elabora normas NMX-NORMEX, ofrece servicios de certificación, verificación y laboratorios de prueba para garantizar la independencia e imparcialidad en la evaluación de la conformidad de productos, procesos y sistemas.

La NMX ya mencionada define al vino como aquella bebida que se obtiene de la fermentación alcohólica de los mostos de uva fresca de variedades Vitis vinifera con o sin la presencia de los hollejos; o bien, de la mezcla de los mostos concentrados obtenidos de las variedades de Vitis vinifera y agua. Su contenido alcohólico es de 8.5 a 15 % Alc. Vol. el cual deberá proceder únicamente de los azúcares propios de la uva. Para vinos procedentes de cosechas tardías la norma contempla un contenido alcohólico de hasta 17 % Alc. Vol. Esta misma norma hace distinción entre vinos de marca, a los cuales define como aquéllos en cuya etiqueta no se destaca el origen del vino ni la variedad de uva empleada; vinos de origen, que son aquéllos en los que se destaca a la región o localidad en donde fueron producidas por lo menos el 85 % de las uvas de las que proviene el vino; y vinos varietales, definidos como aquéllos en los que el vino contiene al menos 75 % de una variedad específica de uva. En cuanto a tipificación se clasifican en vino blanco, definido como el producto de la vinificación de los mostos de uvas blancas o de mostos de uvas tintas de jugo blanco; vino rosado, el cual se obtiene de la vinificación de los mostos de uvas rosadas o de uvas tintas, con maceración parcial de sus hollejos; vino tinto, obtenido mediante la vinificación de los mostos de uvas tintas, con maceración de sus hollejos o de la vinificación de uvas cuyo jugo es tinto; y vino clarete, el cual resulta de la vinificación de mezclas de uvas tintas y/o blancas, o de sus mostos y cuya fermentación se hace parcialmente en presencia de los orujos de uva tinta. Con relación a su contenido de azúcares, la norma mencionada los clasifica en seco, cuando el vino contenga hasta 4 g/L de azúcares reductores totales, expresados en azúcar invertido (masa/volumen); semi-seco, cuando el vino contenga de 4.1 a 12 g/L de azúcares reductores totales; semidulce, cuando el contenido de azúcares reductores totales esté entre 12.1 y 50 g/L; y dulce, cuando su contenido de azúcares reductores totales sea mayor que 50.1 g/L.

Panorama del vino en el mercado mexicano

De acuerdo con el Consejo Mexicano Vinícola (CMV), el consumo de vino en nuestro país se ha incrementado en un 12 % anual durante el período del 2000-2010 y para esta década se espera un crecimiento similar o superior a éste. Actualmente, la producción de vino en México sigue siendo muy inferior al volumen de vino importado, aunque va ganando presencia en el mercado gracias, sobre todo, a su aceptación y consumo por parte del público joven (El informador, 2013). Por otro lado, cabe mencionar que el perfil del consumidor de vino en México ha variado. Ya no sólo está representado por hombres de mediana edad con un perfil socio-económico medio-alto y alto, sino que hay un segmento más joven y dinámico de la población hacia el cual muchas de las casas de vinos han empezado a dirigir algunas de sus etiquetas. A pesar de que el consumo promedio anual de vino en México (0.75 litros per cápita) es aún muy inferior al consumo en países eminentemente productores como España (20 litros per cápita), Italia (37 litros per cápita) o Francia (47.7 litros per cápita), el incremento en los últimos años permite tener una visión optimista (Girón P, 2014). Asimismo es importante señalar que en México la venta de vinos tintos, blancos y rosados corresponde en porcentaje a 65, 30 y 5 %, respectivamente (El Economista, 2013)

El vino

El vino es una mezcla compleja de cerca de 1,000 compuestos químicos que están presentes en éste de manera natural. Estos compuestos provienen de tres fuentes: 1) los compuestos que están presentes en el mosto de la uva, 2) los compuestos que son producidos por los microorganismos durante la fermentación, y 3) los compuestos que son añadidos como parte del proceso de vinificación o de maduración del vino. El agua es el mayor componente en el vino y constituye entre un 80 y 90 % de la solución. El contenido de ésta afecta la calidad química y sensorial del vino, pero su papel más importante en el vino es el de actuar como el solvente en el cual otros constituyentes del vino están disueltos. Después del agua, el etanol es el compuesto que más abunda en el vino y tiene un papel muy importante en el aspecto sensorial y de estabilidad del vino. El glicerol es otro tipo de alcohol producido por las levaduras pero, a diferencia del etanol, éste no tiene un efecto tóxico; sin embargo, contribuye para dar viscosidad o cuerpo al vino. Los ácidos orgánicos están presentes en cantidades similares al glicerol pero éstos tienen un efecto

sensorial mucho mayor. Algunos de los compuestos más importantes que aportan sabor al vino están presentes en pequeñas cantidades (Henderson JP, Rex D, 2012).

Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son el tercer grupo más grande de los componentes de las uvas. Éstos contribuyen a la pigmentación roja, a la formación de substratos color marrón, a los compuestos de amargor y astringencia y, en menor medida, al gusto en las uvas y el vino. Los constituyentes primarios de los compuestos fenólicos son: los flavonoides y los no flavonoides. Los primeros representan aproximadamente el 85 % del total e incluyen a las antocianinas, 3-flavanoles (flavonoides monoméricos o categuinas), y taninos poliméricos (Jacobson JL, 2006a).

Las antocianidinas

Las antocianidinas son flavonoides con un catión pirilio como heterociclo (Imagen 1). Éstas típicamente no se encuentran como agliconas libres, con excepción de los siguientes compuestos coloreados ampliamente distribuidos: pelargonidina, color rojo-naranja; cianidina, rojo; peonidina, rosa-rojo; delfinidina, azul-violeta; petunidina, azul- púrpura; y malvidina, púrpura. La antocianidina más común es la cianidina. Estos compuestos están presentes en los tejidos vegetales coloreados tales como hojas o pétalos de flores. El color de los pigmentos depende del pH, iones metálicos presentes, y la combinación de acilésteres y azúcares sustituyentes. Los diferentes colores pueden también resultar de la presencia de combinaciones de diferentes antocianidinas (Vermerris W, Nicholson R, 2008).

$$R_1=H; \quad R_2=H: \quad \text{Pelagonidin} \\ R_1=OH; \quad R_2=H: \quad \text{Cyanidin} \\ R_1=OH; \quad R_2=OH: \quad \text{Delphinidin} \\ R_1=OH; \quad R_2=OH: \quad \text{Petunidin} \\ R_1=OCH_3; \quad R_2=OCH_3; \quad \text{Malvidin} \\ R_1=OCH_3; \quad R_2=OCH_3; \quad R$$

Imagen 1. Estructura química de las antocianidinas (González JM)

Las antocianinas

Las antocianinas son glucósidos de antocianidinas solubles en agua. El glucósido más común es el 3-glucósido. Si hay una segunda molécula de azúcar presente, está casi siempre en la posición 5-hidroxilo, y es por lo general un residuo de glucosa. Asimismo, las antocianinas pueden estar aciladas (Vermerris W, Nicholson R, 2008) y dicha acilación se presenta en la posición C-6 de la molécula de glucosa por esterificación con ácido acético (C₂H₄O₂), *p*-cumárico (C₉H₈O₃) o caféico (C₉H₈O₄). Además de las ya mencionadas se ha reportado la existencia de antocianinas aciladas con ácido láctico (C₃H₆O₃), las cuales se originan en el vino a partir de las antocianinas de la uva (Mazza y Miniati, 1993). En las variedades de *Vitis vinifera* aparecen principalmente como glucósidos y acilglucósidos de cinco antocinidinas: delfinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina las cuales, con base en su estructura química y en el pH de la solución en la cual están presentes, pueden generar diferentes colores. (Castañeda A, et. al., 2009; Clifford MN, 2000). Las antocianinas en las uvas tintas se acumulan principalmente en los hollejos aunque las variedades "tenturier" también contienen antocianinas en la pulpa (Burns J, et. al., 2002) y la distribución y concentración de éstas en la uva dependen de la variedad, el cultivo, madurez, condiciones

climáticas, área de producción y el rendimiento de los frutos. Sin embrago, los factores genéticos son determinantes para que cada variedad posea su perfil de antocianinas característico (Esteban MA, et. al., 2001; Arozarena I, et. al., 2002). En general, la malvidina es la antocianina prevaleciente en variedades tintas, representando arriba del 90 % en Garnacha y menos del 50% en Sangiovese. Sin embrago, la cantidad de antocianinas aciladas está ampliamente influenciada por la variedad de la uva e, incluso, podrían estar ausentes de algunas variedades tales como Pinot noir (Ribéreau-Gayón, et. al., 2000). En la Imagen 2 se muestra la estructura química general de las antocianinas.

Delfinidina (R1=OH, R2=OH); cianidina (R1=OH, R2=H); pelargonidina (R1=H, R2=H); peonidina (R1=OCH3, R2=H); malvidina (R1=OCH3, R2=OCH3).

Imagen 2. Estructura química de las antocianinas ((Kuskoski M, et. al., 2004)

Las antocianinas en los vinos jóvenes

En los vinos jóvenes, las antocianinas libres son la principal fuente de color rojo y, aunque las antocianinas monoméricas no son muy estables debido a la deficiencia electrónica del núcleo de flavilio (Mulinacci N, et. al., 2008; Ocampo R, et. al., 2008), están presentes predominantemente en cinco formas moleculares (figura 2), incluyendo al compuesto flaveno por la adición de bisulfito, la base quinoidal, el catión flavilio, el hemicetal o la pseudobase carbinol y la chalcona en sus formas cis y trans (Jackson RS, 2008; Ribéreau-Gayon P, et. al., 2005; Berente B, et. al., 2000; Brouillard R, Dubois J, 1977). Los factores que afectan la distribución entre estas formas, y por lo

tanto el color, en vinos jóvenes son los valores de pH, la temperatura y la cantidad de sulfuroso libre. Un pH bajo puede incrementar la proporción del estado flavilio y retardar la hidrólisis de las antocianinas. A medida de que el pH se incrementa, la concentración de antocianinas en el estado flavilio y la densidad de color declinan rápidamente (Jackson RS, 2008). Por otro lado, la cantidad de sulfuroso libre es el factor que mayormente impacta el color de los vinos tintos jóvenes. El sulfuroso puede blanquear fuertemente a las antocianinas libres por adición nucleofílica en la posición C4 en el catión flavilio del anillo C (Imagen 3), aunque tal reacción es reversible (Jackson RS, 2008; Ribéreau-Gayon P, et. al., 2005; Berente B, et. al., 2000). Sin embargo, las antocianinas del vino y, por lo tanto su color, pueden ser estabilizadas por co-pigmentación o a través de su conversión a pigmentos más estables por diferentes reacciones de condensación que ocurren durante el proceso de vinificación (Monagas M, Bartolomé B, 2009).

Normalmente, durante la vinificación, la concentración de antocianinas monoméricas decrecerá después de alcanzar un nivel máximo después de pocos días de fermentación debido a que algunas de las antocianinas extraídas son adsorbidas en las paredes celulares de las levaduras, precipitadas con las sales de ácido tartárico y reducidas por filtración y clarificación (Castillo-Sánchez JJ, et. al., 2006; Romero-Cascales I, 2005). Reacciones de hidrólisis (por ejemplo desglicosilación enzimática) así como reacciones de condensación con otros fenoles durante la vinificación también pueden modificar la composición de antocianinas de los vinos (Etiévant y Schilich, 1988; González-San José, et. al., 1990; Almela, et. al., 1996; Arozarena, et. al., 2000)

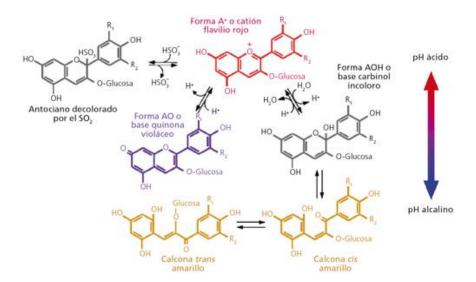


Imagen 3. Equilibrio dependiente de pH entre las diferentes formas estructurales de antocianinas en vinos tintos (Zamora F, 2013)

La variedad Cabernet Sauvignon

Como en cualquier otro tipo de vino, las características sensoriales y tecnológicas de la uva tienen una importancia evidente en la vinificación del rosado. Una gran diversidad de cepas intervienen en la elaboración de estos vinos y todas las variedades tintas son susceptibles de ser utilizadas. Asimismo, la madurez óptima de la uva estará en función de los productos deseados. De tal forma que si se quiere obtener un vino rosado fresco, aromático, ácido y fácil de beber no deberán emplearse uvas con grado alcohólico potencial superior a 12 % (Fauvet J, Guttard A, 2003).

La Cabernet Sauvignon (Imagen 4) es una de las variedades viníferas más conocidas y extendidas en el mundo. Es una variedad de brotación y maduración tardía, con racimos pequeños y apretados, de forma cilíndrica corta; bayas esféricas pequeñas, ácidas de pigmentación muy obscura y con hollejos de gran espesor (Hidalgo J, 2011; Jackson RS, 2008). Las técnicas de identificación de ADN realizadas, indican que la variedad Cabernet Sauvignon es el resultado de una cruza entre la Cabernet Franc y la Sauvignon Blanc (Bowers y Meredith, 1997).



Imagen 4. Racimo de uvas Cabernet Sauvignon

Las características positivas de una variedad, como por ejemplo su potencial aromático, se manifiestan siempre que las condiciones del medio le sean favorables. Por lo tanto, es comprensible que la variedad Cabernet Sauvignon produzca vinos de características bastante diferentes según su procedencia geográfica (Sancho J, *et. al.*, 1999). En general, produce vinos con aromas (varietales) a frambuesa (β-ionona), grosella negra o cassis (3-mercaptano-hexilacetato) y pimiento verde (3-isobutil-2-metoxipirazina y 3-*sec*-butil-metoxipirazina), los cuales evolucionan con el tiempo hacia matices especiados, hongos y animales (Hidalgo J, 2011).

El proceso de vinificación en rosado

La elaboración de rosados consiste, básicamente, en emplear la técnica de vinificación en blanco pero con uvas tintas. Los mostos que van a ser destinados para su producción se obtienen principalmente mediante dos técnicas: el prensado directo y la maceración corta o sangrado. Una vez extraído el mosto, éste se protege de la oxidación mediante sulfitado y a continuación se somete a una operación de desfangado, la cual debe de estar exenta de toda fermentación. El mosto desfangado se fermenta a una temperatura aproximada de 20 °C. El mosto ya fermentado se sulfita nuevamente para ajustar el contenido de sulfuroso libre, el cual debe permanecer entre 20 y 30 mg/L. Finalmente, el mosto sulfitado se trasiega para eliminar las lías (Fauvet J, Guittard A, 2003; Ribéreau-Gayon P, et. al., 2006).

El vino rosado, el proceso de maceración y el color en el vino

El vino rosado se elabora con variedades tintas de la especie *Vitis vinifera*, empleando distintos métodos. Respecto a éstos, la Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV) permite su elaboración mediante técnicas como la maceración corta o el prensado directo; la mezcla de vinos tintos y blancos sólo está permitida para vinos con denominación de origen si así se establece en las condiciones que rigen la concesión de la denominación, ya que la Comunidad Económica Europea prohíbe esta práctica como medio de obtención de vinos rosados. Cabe aclarar que la clasificación legal de vino rosado no está aún establecida de manera precisa (André y Aubert, 1970). Esta situación se debe a dos factores: el nivel de intensidad del color y la técnica de elaboración (Fauvet J, Guttard A, 2003). De tal manera que en el mercado es posible encontrar vinos que van desde tonos rosa pálidos o muy claros hasta aquéllos muy pigmentados.

Como se mencionó anteriormente, son dos las técnicas que se emplean, principalmente, en la elaboración del vino rosado: la presión directa y la maceración corta. Con la primera, usualmente se obtienen mostos delicados y de color rosa pálido; con la segunda, el mosto resultante es de color mucho más intenso debido a que éste permanece en contacto con los hollejos durante algunas horas. Por lo que, además de difundirse una mayor cantidad de pigmentos, también se lleva a cabo una mayor difusión de compuestos que le confieren aromas varietales, situación por la que algunos consideran a la maceración corta mejor que el prensado directo para la obtención de vinos rosados (George R, 2003).

Las condiciones de maceración, fermentación y maduración del vino influyen en la composición de las antocianinas en éste (Cotea VV, et. al., 2007). Y es en la maceración en donde tiene lugar la extracción de las antocianinas, principales compuestos que le dan el color a los vinos tintos y rosados. Durante la breve maceración, a la que es sometida el mosto que va a ser destinado para la producción de vino rosado, se obtiene una disolución controlada y limitada de materias tánicas y colorantes en el mosto, lo que permite conseguir la tonalidad rosa característica (André V, 2008). La duración de la maceración debe ajustarse mediante degustación del mosto a lo largo del tiempo, de tal forma que ésta se puede reducir o alargar en función de la intensidad deseada en el color. Este proceso en los vinos rosados puede llegar incluso a las 24 horas con la condición de bloquear, por adición de SO₂, el comienzo espontáneo de la fermentación; lo cual, además, tiene un efecto favorable sobre la disolución de los compuestos fenólicos (Girard G, 2004).

Se han realizado múltiples estudios sobre el proceso de maceración; no obstante, éstos se han orientado hacia este proceso en vinos tintos, principalmente. Damijanić K, et. al. (2011) realizó un estudio acerca de la influencia de las temperaturas de maceración sobre el contenido de antocianinas en la elaboración de vino con uvas Teran y concluyó que la modificación de la temperatura durante el proceso de maceración afectó el progreso de las concentraciones de antocianinas, mostrando un incremento en la concentración para el tratamiento de criomaceración prefermentativa (a 5 °C durante 5 días), mientras que la maceración a altas temperaturas (30 °C y 25 °C más calentamiento a 35-40 °C, después de finalizada la fermentación) mostró un decremento en la concentración de antocianinas en los vinos elaborados. Este proceso de maceración en frío, o criomaceración, consiste en mantener el mosto sin clarificar, sulfitado (4 a 5 g/hL), un cierto tiempo (4 a 5 días mínimo) a baja temperatura (5 a 10° C), sin comenzar la

fermentación. Esta práctica facilita la manifestación de los caracteres aromáticos de la cepa ya que favorece la liberación a partir de los fragmentos de hollejos, de aromas libres y ligados. Esta tecnología da lugar, generalmente, a aromas varietales más desarrollados y más complejos; los vinos son mejor equilibrados y con una amplia expresión aromática (Fauvet J y Guittard A, 2003).

La extracción de antocianinas de la uva en el mosto es esencialmente un proceso de difusión y tanto la razón como el grado de la extracción están influenciados por su concentración y localización en la baya, los métodos de procesamiento, la temperatura, el gradiente de concentración entre los hollejos y el mosto, las reacciones en el mismo y el equilibrio químico (Romero-Cascales I, et. al., 2005). El contenido total de antocianinas en los vinos rosados puede oscilar entre los 35 y 160 mg/L (Murat ML, et. al., 2003). El color del mosto, por su parte, va a depender de la cantidad de antocianinas en la uva, el pH, reducción de la fermentación y efectos del sulfuroso. Por ejemplo, una adición de sulfuroso durante la maceración resultará en un efecto de blanqueamiento, causando un decremento del color como resultado de la unión de pequeñas porciones del sulfuroso a las antocianinas. Por otro lado, un decremento en el pH intensificará el color y cambiará la forma de las antocianinas libres a estructuras con pigmentación de la gama de rojos. Por su parte, la fermentación reduce el color debido al incremento gradual en el contenido de alcohol, el cual disminuye los enlaces hidrógeno-ion (Margalit, 1997). Las reacciones de hidrólisis así como las reacciones de condensación con otros compuestos fenólicos durante la vinificación también modifican la composición de antocianinas en el vino (Etiévant y Schilich 1988; González-San José, et. al., 1990; Almela, et. al., 1996; Arozarena, et. al., 2000).

Los compuestos volátiles del vino y su relación con el aroma del mismo

El aroma de los vinos está constituido por cientos de compuestos volátiles, en un rango de concentraciones que va de mg/L hasta ng/L, o incluso menos. Asimismo, el umbral de percepción olfativa de estos compuestos también varía considerablemente. En consecuencia, el impacto olfativo de los compuestos volátiles en el vino depende tanto del tipo de compuesto como de la concentración de éstos; de tal manera que, ciertos compuestos presentes en cantidades traza pueden tener un impacto más importante en el aroma mientras que otros mucho más abundantes pueden tener únicamente una ligera contribución en esta característica del vino . La complejidad en el aroma de los vinos es debida a la diversidad de los mecanismos involucrados en su desarrollo que son: 1) el metabolismo de la uva, lo cual depende de la variedad así como el suelo, el clima y

las técnicas de cultivo empleadas para su producción; 2) fenómenos bioquímicos (oxidación e hidrólisis) que ocurren previo a la fermentación (durante la extracción del mosto y maceración); 3) el metabolismo de los microorganismos responsables de las fermentaciones alcohólica y maloláctica; 4) reacciones químicas o enzimáticas que tienen lugar después de la fermentación, durante el envejecimiento del vino en tonel, barrica y botella. Los distintos compuestos odoríferos liberados y transferidos al vino durante su envejecimiento en barrica tienen un impacto importante en el aroma. Sin embargo, los compuestos odoríferos de las uvas juegan un papel más decisivo en la calidad y carácter regional de los vinos más que cualquier otro tipo de aroma (Ribéreau-Gayon P, et. al., 2006b). Entonces, los compuestos odoríferos de los vinos pueden clasificarse en tres: 1) aromas primarios o varietales, que son aquéllos provenientes de las uvas y que trascienden hasta el vino después de todo el proceso de vinificación; 2) aromas secundarios o de fermentación, que son resultado del metabolismo de las levaduras y bacterias; 3) aromas terciarios o de maduración, que son aquéllos generados durante el almacenamiento del vino y son el resultado de reacciones químicas y/o extracción de compuestos de la madera cuando éste somete a envejecimiento en barrica (Bakker J, Clarke RJ, 2012).

La maduración y el añejamiento en los vinos

El envejecimiento del vino puede ser separado en dos fases: la primera conocida como maduración (del vino a granel), y que es el cambio químico que experimenta el vino durante su almacenamiento previo al envasado. Este cambio se presenta como resultado del ambiente y la manipulación a la cual está sometida el vino lo cual incluye adiciones, movimientos, condiciones de almacenamiento, clarificación y estabilización (Citado por Jacobson JL, 2006), por lo cual el vino está expuesto a condiciones de oxigenación y, por tanto, de oxidación. En etapas tempranas de la maduración ocurren fenómenos post fermentativos tales como la fermentación maloláctica, la clarificación final y la estabilización del tartrato. Por su parte la segunda fase, conocida simplemente como envejecimiento (también llamado envejecimiento en botella), se da en condiciones mayormente anaeróbicas y se lleva a cabo en la botella o en contenedores que simulan las condiciones de ésta (Boulton RB, et. al., 1999). Entonces, el envejecimiento, incluyendo la maduración del vino a granel y aquél realizado en la botella, es el resultado de procesos y reacciones oxidativas y no oxidativas. Entre las primeras se tiene la oxidación de alcoholes, oxidación de compuestos fenólicos (degradación oxidativa de antocianinas,

estabilización de éstas por formación de complejos, reacciones de antocianinas y taninos con etanal, oxidación de tioles a disulfuros), y oxidación del ácido tartárico a ácido glioxílico. Y entre las no oxidativas se tienen reacciones de esterificación, hidrólisis de ésteres, eterificación, reacciones de Maillard e hidrólisis glicosídica (Rebéreau-Gayon P, et. al., 2006; Linsenmeier AW, et. al., 2010). Por otro lado debe mencionarse que la maduración requiere una inversión de tiempo y recursos económicos por parte de la compañía vinícola. Dependiendo de la variedad, los vinos de alta calidad tienden a ser madurados por más tiempo que los vinos afrutados o que los vinos de menor calidad y, aquéllos que han sido sometidos a un proceso largo de maduración casi siempre tendrán un alto precio en el punto de venta final para el consumidor (Jacobson J, 2006b).

Algunas de las reacciones químicas que suceden durante la maduración y envejecimiento en la barrica pueden afectar la composición final de los compuestos volátiles del vino. Entre estas reacciones se encuentran las de oxidación debido a la entrada de oxígeno a través de los poros de la madera, lo cual modifica tanto los compuestos volátiles propios del vino como aquéllos que han sido extraídos de la madera. Por otro lado, los microorganismos, procedentes del vino o de la barrica, especialmente bacterias lácticas y levaduras, pueden producir importantes compuestos volátiles desde el punto de vista sensorial como vinilfenol y vinilguayacol (Jarauta, et. al., 2005).

Las ventajas de la maduración en la mayoría de los vinos jóvenes varietales puede dividirse en cuatro categorías: substracción, adición, multiplicación y continuidad. La primera categoría, consiste en la remoción o reducción de elementos indeseables que podrían afectar la calidad de los vinos jóvenes: levaduras, bacterias ácido-lácticas, CO₂ y sólidos suspendidos son removidos para mejorar la claridad, promover la estabilidad, reducir la gasificación y reducir la contaminación microbiana en el vino. La segunda categoría, la adición, consiste en introducir sustancias que mejoren el aroma, el bouquet, el sabor, el gusto y el color del vino; las dos adiciones más comunes provienen del oxígeno (oxidación) y de la extracción de compuestos de las barricas de roble durante su almacenamiento. Por su parte, la multiplicación se refiere al desarrollo de un perfil de sabor más complejo. Finalmente, la continuidad consiste en la retención y preservación de los sabores afrutados y aromas varietales de un vino joven para el embotellado; esta es realizada por condiciones de almacenamiento del vino a bajas temperaturas (Jacobson J, 2006c).

El envejecimiento o maduración de los vinos en barrica mejora su calidad y contribuye a sus características organolépticas (Pérez-Prieto, *et. al.*, 2003). Con mucha frecuencia se emplea el roble para la fermentación y/o almacenamiento, lo cual implica la interacción del aire, del vino y

de la madera (Zoecklein BW, et. al., 2001). La complejidad del aroma se incrementa debido a la extracción de ciertos compuestos presentes en la madera, los cuales son transferidos al vino durante el periodo de envejecimiento. Estudios llevados a cabo acerca de las contribuciones de la madera de roble a las características olfatorias del vino han mostrado que éstas están principalmente influenciadas por compuestos tales como el furfural, guayacol, whisky lactona, eugenol, vainillina y siringaldehído (Pollnitz, Jones, y Sefton, 1999; Mosedale, Puech y Feuillat, 1999; Pérez-Coello, Sanz y Cabezudo, 1999; Spillman, Iland y Sefton, 1998; Spillman, 1997). La liberación de volátiles de la madera en el vino durante la maduración en barrica está regulado por cinéticas de difusión. Como regla general, la extracción de compuestos volátiles es mayor al inicio de la maduración y conforme va aumentando el tiempo en barrica, ésta va disminuyendo (Puech, 1987; Towey y Waterhouse, 1996; Gómez-Plaza, et. al., 2004).

Una vez que los compuestos de la madera han sido extraídos, éstos experimentan una serie de alteraciones microbiológicas. Estas incluyen la reducción de los aldehídos furánico y fenólico a sus respectivos alcoholes y la formación subsecuente de sus etil ésteres (Boidron, et. al., 1988; Spillman, et. al., 1998).

Actualmente se han desarrollado alternativas para simplificar el proceso de añejamiento mientras se asegura que los compuestos volátiles originados en la madera son liberados en el vino. Una de estas técnicas consiste en la adición de pequeñas piezas de madera, comúnmente conocidas como chips, al vino almacenado en tanques de acero inoxidable o barricas usadas. Estas alternativas al añejamiento en barricas de roble han sido una práctica extendida por varios años en los EE.UU., Australia, Chile y otros países pero no era una práctica legal en naciones de la Unión Europea hasta octubre del 2006 cuando se aprobó el uso de piezas de madera de roble en la fabricación del vino y la designación y presentación del vino así tratado (Bautista-Ortín AB, et. al., 2007). Los chips de madera de roble fueron primeramente usados para los vinos blancos, a los cuales fueron añadidos durante la fermentación o después de ésta, para someterlos a un periodo corto de maduración. Este método parece representar una alternativa especial para las variedades neutrales de uvas con aromas florales y frutales débiles. El uso de chips de madera de roble provee aromas de roble, especiados y de vainilla a los vinos, mejorando la impresión sensorial de los mismos. Adicionalmente, comparado con el envejecimiento en barrica, los atributos frutales intrínsecos a la variedad de uva usada están aún expresados en los vinos, debido a que los

compuestos volátiles no experimentan oxidación mientras el vino está en contacto con los chips (Wilker y Gallander, 1988; Gutiérrez Alfonso, 2002).

Antecedentes

En general, la mayoría de los estudios enológicos realizados están enfocados en vinos tintos y blancos, lo cual deja a los vinos rosados en un segundo término. De estos últimos, en lo que respecta al proceso de maceración, Puertolas E, et. al. (2010) llevaron a cabo un estudio sobre la evolución del contenido de antocianinas en vinos rosados obtenidos a partir de uvas de la variedad Cabernet Sauvignon las cuales fueron tratadas con pulsos eléctricos; asimismo, estudiaron la influencia de la temperatura y el tiempo de maceración en la extracción de las antocianinas y reportaron que los vinos tratados con impulsos eléctricos presentaron un contenido más elevado de antocianinas, respecto a los controles, después de dos meses de almacenamiento en botella; además, reportan que empleando un tiempo de maceración de 2 horas, se logró reducir la temperatura del proceso, de 20 a 4 °C, para obtener una concentración de estos pigmentos en el mosto de 50 mg/L. En otro estudio, Kelebek H, et. al. (2007) realizaron un análisis de las antocianinas en vino rosado elaborado con uvas de la variedad Öküzgözü así como el efecto del tiempo de maceración sobre el contenido de antocianinas; en este trabajo, ellos lograron la identificación y cuantificación de trece diferentes antocianinas (cinco monoglucósidos, cinco acetil- glucósidos y tres cumaroil-glucósidos); asimismo, reportan el incremento del contenido total de antocianinas con el tiempo de maceración. Salinas MR, et. al. (2003) hicieron un análisis de los compuestos polifenólicos, de los compuestos del color y los del aroma en vinos rosados después de la maceración prefermentativa y tratamientos enzimáticos. Murat ML, et. al. (2003) estudiaron el efecto de las antocianinas en la estabilidad de un compuesto clave del olor, el 3mercaptohexan-1-ol, en vinos rosados de Burdeos. Asimismo, Joslyn MA y Little A (1967) estudiaron la relación del tipo y concentración de compuestos fenólicos con el color y la estabilidad de los vinos rosados.

Por otro lado, Romero-Cascales I, et. al. (2005) realizaron un estudio de la extracción de antocianinas, desde los hollejos de las uvas hacia el vino, durante el proceso de maceración en la vinificación del tinto, de lo cual concluyeron que los cambios más importantes se dan durante los primeros 7 días de maceración así como que el perfil de antocianinas del vino era muy distinto

comparado con aquél de los hollejos de las uvas. Por su parte, Damijanić K, et. al. (2011) investigaron los efectos de la temperatura sobre la composición de antocianinas en vino tinto elaborado con uvas Teran, y los resultados arrojados en este estudio mostraron un incremento en la extracción de antocianinas durante los primeros cinco días empleando temperaturas más elevadas (30 y 25 °C); no obstante, al cabo de tres meses, los vinos con mayor contenido de antocianinas fueron aquéllos que se sometieron a un proceso de criomaceración prefermentativa (5 °C por 5 días).

Con referencia a los compuestos volátiles correspondientes a los aromas varietales de uvas Cabernet Sauvignon, Cai J, et. al. (2014) estudiaron el efecto de la criomaceración prefermentativa sobre los compuestos aromáticos de vinos elaborados con uvas Cabernet Sauvignon en diferentes tipos de fermentadores industriales; en esta investigación los autores reportaron cambios en el contenido de isobutanol e isopentanol; ésteres, de acetato en su mayoría; 2-hexenoato de etilo, βdamascenona y succinato de dietilo, principalmente. Igualmente, Canuti V., et., al. (2009), describieron el perfil de volátiles libres en uvas Cabernet Sauvignon y en vinos elaborados con éstas para lo cual emplearon la técnica de micro extracción en fase sólida- cromatografía de gasesespectrometría de masas (SPME-GC-MS); con esta, identificaron 27 compuestos en uvas de distinto grado de madurez de los que, a su vez, 10 fueron identificados en los vinos correspondientes, entre estos la β-damascenona y el 2-feniletanol. En otro estudio realizado sobre compuestos volátiles, Xu XQ, et. al. (2015) reportaron las diferencias en los perfiles aromáticos de uvas Cabernet Sauvignon cultivadas en dos regiones distintas de China además de la relación de estos con las condiciones meteorológicas de ambas regiones. Estos investigadores reportaron variaciones en las concentraciones de, entre otros compuestos, alcohol bencílico, 2-feniletanol, 1hexanol, hexanal, heptanal y β-damascenona.

Debido a que la producción de rosados está destinada, principalmente, para su consumo como vinos del año o como vinos jóvenes, son sumamente escasos los antecedentes que se tienen en el estudio de vinos rosados en contacto con chips de madera de roble para la extracción de aromas de torrefacción o aromas de añejamiento. Sin embargo, hay múltiples estudios realizados sobre el análisis de vinos que han sido añejados mediante el uso de chips de madera de roble. Sobre esto, Arapitsas P, et. al. (2003) realizaron el análisis del contenido de furfural, vainillina, guayacol, whisky lactona, eugenol y siringaldehído en un vino tinto, de la variedad Asyrtico, tratado con chips de madera de roble empleando dos tamaños distintos y éste fue comparado con

otro vino de la misma variedad pero añejado en barrica de roble. Sus resultados mostraron que el furfural tuvo la mayor razón de extracción y, en contraparte, el siringaldehído, la menor durante los primeros tres días y después llegó a ser mínima su extracción. Asimismo, la concentración de siringaldehído fue más alta en el vino tratado con chips que en aquél envejecido en barrica. En otra investigación, Bautista-Ortín AB, et. al. (2007) estudiaron el efecto del tiempo de contacto y el tamaño de chips de madera de roble sobre los compuestos aromáticos durante el envejecimiento de un vino tinto en tanques de acero inoxidable y en barricas usadas los cuales fueron comparados con vinos envejecidos, bajo las mismas condiciones, en barricas nuevas. Los resultados obtenidos por estos investigadores mostraron que los chips liberaron los compuestos aromáticos en el vino muy rápidamente, después se estabilizaron o incluso decrecieron cuando el tiempo de contacto excedió los tres meses; en contraparte, los vinos añejados en barricas mantuvieron la extracción de los compuestos aromáticos por un largo periodo de tiempo y se alcanzaron las concentraciones más altas para la mayoría de los compuestos aromáticos.

Justificación

Se han realizado una gran cantidad de estudios sobre los compuestos que dan color y aroma a los vinos tintos y blancos; sin embargo, aquéllos destinados al análisis de los vinos rosados son escasos. Además, debido a las características fisicoquímicas de los vinos rosados, principalmente a su índice de polifenoles totales (IPT), difícilmente son sometidos a un proceso de maduración o envejecimiento en barrica; por lo cual, casi la totalidad de éstos se destinan para su consumo como vinos del año o como vinos jóvenes. En consecuencia la mayoría de los vinos madurados y añejados disponibles en el mercado son tintos y aunque se ofrecen algunos blancos y rosados la oferta de estos últimos es muy limitada. Por otra parte, en los últimos años se ha reportado un incremento considerable y gradual en el consumo del vino en México, aunado a la incorporación de consumidores jóvenes en el mercado vinícola que buscan, además de los productos ya existentes, nuevas opciones en vinos. Todos estos elementos sirven como fundamento para considerar la elaboración de un vino rosado varietal (con uvas Cabernet Sauvignon) y madurado en botella con chips de madera de roble, sobre el cual se determinará la cinética de extracción de antocianinas y se estudiarán los compuestos que conforman el olor y sabor del vino obtenido.

Hipótesis

La maduración del vino rosado en contacto con los chips de madera de roble blanco americano permitirá la difusión hacia el vino de los compuestos volátiles extraídos de éstos; con lo cual, el producto final conservará tanto aromas varietales como aquéllos relacionados con la madera y esto se verá reflejado en el perfil sensorial del producto final.

Objetivo general

Elaborar un vino rosado varietal y estudiar el efecto de la adición de chips de madera, durante el proceso de maduración, sobre el perfil de compuestos varietales y aquéllos extraídos de la madera así como sobre su perfil sensorial.

Objetivos particulares

- a) Elaborar un vino rosado con uvas Cabernet Sauvignon, utilizando la técnica de microvinificación.
- Determinar la cinética de extracción de antocianinas de los hollejos de las uvas hacia el mosto.
- c) Identificar los compuestos volátiles correspondientes a los aromas varietales de la uva Cabernet Sauvignon.
- d) Identificar los compuestos extraídos de los chips de madera hacia el vino.
- e) Realizar el análisis fisicoquímico del producto final y verificar que cumpla con los parámetros establecidos en la NMX-V-012-2005.
- f) Realizar la evaluación sensorial del producto final para la obtener los descriptores del mismo.

Estrategia experimental y métodos de análisis

En este trabajo de investigación primeramente se realizó un estudio sobre la etapa de maceración, en el cual se evaluó el efecto de la temperatura y el tiempo de extracción sobre la extracción de pigmentos. Para explicar la cinética de extracción de pigmentos se propusieron 3 modelos matemáticos: logarítmico, semi-logarítmico y logístico. Una vez obtenidos los resultados de la primera etapa, se establecieron las condiciones de tiempo y temperatura de maceración para llevar a cabo la producción del vino rosado por el método de microvinificación. Este vino fue después sometido a su maduración con chips de madera en 6 diferentes tratamientos resultantes de la combinación de los factores: cantidad de chips (1g/L y 3g/L) y tiempo de contacto con los chips (21, 28 y 35 días). Además de los tratamientos, fue empleado un vino control el cual fue madurado bajo las mismas condiciones pero sin los chips de madera. Los vinos, ya madurados con los diferentes tratamientos así como el control, fueron sometidos a análisis fisicoquímico y posteriormente se realizó, en cada uno de ellos y en dos vinos comerciales, la identificación de compuestos volátiles por cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS), mediante la técnica de microextracción en fase sólida (SPME). Finalmente, los vinos experimentales, el control y los dos comerciales fueron evaluados sensorialmente para obtener su perfil sensorial.

Maceración

Variedad, procedencia y características fisicoquímicas de las uvas empleadas

Tanto para la cinética del proceso de maceración como para elaboración del vino rosado se emplearon uvas de la variedad Cabernet Sauvignon, las cuales fueron obtenidas durante la vendimia de septiembre de 2015 en los viñedos de la Bodega Cuna de Tierra ubicada en Dolores Hidalgo, Guanajuato. Las características fisicoquímicas de las uvas fueron las siguientes:

- Azúcares reductores directos = 26. 3 % p/v
- Acidez total = 7 g de ácido tartárico/ L
- pH = 3.4
- Antocianinas libres totales = 1.33 mg/g de fruto

Cinética de maceración

Para la cinética de maceración se empleó un diseño experimental completamente aleatorizado de 1 factor (DCA-1 factor). Para establecer los parámetros de la cinética, y al no encontrar estudios en vinos rosados, se usó como base la investigación realizada por Damijanić K, et. al. (2011), al cual se le realizaron modificaciones ya que este fue realizado en maceración para vino tinto.

Factor: Temperatura de maceración (T)

Niveles:

- a. $5 \,^{\circ}C (T_1)$
- b. 10 °C (T₂)
- c. 15 °C (T₃)
- d. 20 °C (T₃)

Tiempo de maceración (tomas de muestra):

- $e. Oh(t_1)$
- $f. 3 h(t_2)$
- g. $6h(t_3)$
- h. 9 h (t₄)
- i. 12 h (t₅)
- j. 24 h (t₆)
- k. 48 $h(t_7)$

Control local:

- a) Variedad, procedencia y año de vendimia de las uvas
- b) Cantidad de SO₂ añadido (100 ppm)
- c) Operación de selección y despalillado
- d) Material de envasado del mosto
- e) Temperatura de congelación (-20 °C)

Medición de variables:

a) Antocianinas totales (expresada en mg/L)

Descripción del proceso de maceración

Primero, las uvas fueron seleccionadas para eliminar aquéllos frutos que presentaran daños mecánicos o algún signo de daño microbiológico; después, se retiraron los raspones y se sometieron a la temperatura correspondiente a cada uno de los niveles del factor; es decir, a 5, 10, 15 y 20 °C. Estas uvas fueron sulfitadas a una concentración de 100 mg/Kg. Posteriormente, en un baño de hielo o de agua templada para mantener la temperatura adecuada al nivel trabajado del factor, las uvas fueron estrujadas manualmente y enseguida el mosto fue separado de la pulpa, hollejos y semillas para evitar que comenzara el proceso de difusión de las antocianinas desde los hollejos hacia el mosto (independientemente de aquellas extraídas por el proceso mismo de prensado). De este mosto se tomaron las primeras tres muestras que correspondieron al tiempo 0. Seguido a ello se pesaron 150 g de la pulpa con hollejos y semillas así como 130 g de mosto y ambos fueron introducidos en botellas de vidrio de 355 mL con tapa. Se procedió de la misma forma hasta completar un total de 21 botellas (3 repeticiones para cada nivel de temperatura), incluyendo las 3 asignadas al tiempo 0. Dicha operación se realizó de manera aleatoria. Estas botellas (de las cuales cada una corresponde a una unidad experimental, (UE) durante el tiempo que duró todo el proceso de maceración fueron mantenidas a la temperatura correspondiente a su nivel y se realizó agitación manual cada hora. Para cada tratamiento, que resultó de la combinación de cada nivel de tiempo trabajado (0, 3, 6, 9, 12, 24 y 48 h) con cada nivel de temperatura empleada, se asignaron tres unidades experimentales, es decir tres repeticiones. Al cabo de cada nivel de tiempo las unidades asignadas a éste fueron retiradas e inmediatamente se separó el mosto mediante un prensado manual; mosto que fue introducido en frascos de plástico y congelado a -20 °C hasta el momento de su análisis. Todo este mismo proceso se llevó a cabo para las diferentes temperaturas trabajadas.

Aleatorización

Se realizó la enumeración de las botellas (del 1 al 21 para cada nivel de temperatura). Por otro lado, en una urna, que se marcó como "urna de repeticiones y tiempos", se introdujeron 21 papeles marcados con el número de repetición (del 1 al 3) y el nivel de tiempo (0, 3, 6, 9, 12, 24 y 48 h). En otra urna, marcada como "urna de las UE" se introdujeron 21 papeles marcados con números del 1 al 21. Tenidas estas dos urnas, se sacó un papel de cada una de ellas para asignar el

nivel de tiempo y el número de repetición que le correspondía a cada botella. Una vez asignado lo anterior a todas las UE del nivel correspondiente se repitió esta última operación pero esta vez la urna de UE determinaba el orden de llenado de las botellas.

Determinación de las antocianinas totales

La determinación de las antocianinas totales se realizó por el método de diferencial de pH (espectrofotometría) reportado por Ronald E. Wrolstad (1976).

Fundamento

A pH 1.0, las antocianinas existen en su forma oxonio o flavilio, altamente coloreada; y a pH 4.5, están predominantemente en su forma carbinol, carente de color. El procedimiento cuantitativo para determinar el contenido de antocianinas está basado en estos hechos. Una alícuota de una solución acuosa de antocianinas es ajustada a pH 1.0 y otra a pH 4.5. La diferencia en absorbancia a la longitud de onda de máxima absorción será proporcional al contenido de antocianinas (Wrolstad, 1976).

Descripción del método

Se tomaron dos alícuotas, de 1 mL cada una, del mosto de cada UE perteneciente al proceso de maceración y éstas fueron aforadas a 25 mL, una con buffer de pH= 1.0 y otra con un buffer de pH= 4.5. Una vez aforadas, cada solución se dejó reposar por un lapso de una hora y al cabo de este tiempo se midió la absorbancia de estas soluciones en un espectrofotómetro Thermo Spectronic, Modelo BioMate 3, a una longitud de onda de 520 nm así como a 700 nm para considerar la turbidez que existía en las muestras debido a los sólidos propios del mosto. El valor de la absorbancia real de cada solución fue determinada con la siguiente fórmula:

A=
$$(A_{520 \text{ nm}} pH1.0-A_{700 \text{ nm}} pH 1.0)-(A_{520 \text{ nm}} pH 4.5-A_{700 \text{ nm}} pH 4.5)$$

Y el cálculo de la concentración de antocianinas se realizó con la siguiente fórmula:

$$C = \frac{A}{\varepsilon L} (PM)(10^3)(F)$$

En donde:

C= concentración de antocianinas, expresada en mg/L

A= absorbancia

ε= coeficiente de extinción molar de la malvidina-3 glucósido

PM= peso molecular de la malvidina-3 glucósido

F= factor de dilución

Los valores del peso molecular y coeficiente de extinción molar de la malvidina-3-glucósido, antocianina predominante en las variedades de *Vitis vinífera*, fueron:

 $PM_{malv-3-glc} = 493.5 g/mol$

 $\epsilon_{\text{malv-3-glc}}$ = 28,000 L*mol/cm

Reactivos:

Buffer de pH=1

Buffer de pH=4.5

Preparación de los buffers:

pH= 1.0:

125 mL de KCl 0.2 N + 385 mL de HCl 0.2 N

pH= 4.5

400 mL de acetato de sodio 1 M + 240 mL de HCl 1 N + 360 mL de agua destilada

Métodos fisicoquímicos empleados para la caracterización del vino y del mosto.

Análisis fisicoquímicos de las uvas

Acidez total

Método: Titulación

Fundamento

En una valoración o titulación, al analito se le añaden incrementos de la disolución del reactivo, el

valorante, hasta que la reacción se completa. A partir de la cantidad de valorante gastado se

puede calcular la cantidad de analito que hay en la muestra (Harris DC, 2001).

Descripción del método

Se tomó una muestra de las uvas y se sometieron a prensado para extraer el mosto. De éste se

colocaron 10 mL en un matraz Erlenmeyer de 250 mL junto con 20 mL de agua destilada. Este

mosto diluido se tituló con una solución de NaOH 0.1 N hasta alcanzar un pH de 8.2 el cual fue

medido con un potenciómetro. La acidez total se calculó mediante el uso de la siguiente fórmula:

 $AT = \frac{(V)(N)(meq)(1000)}{v}$

AT= acidez total, expresada en g/L de ácido tartárico

v= volumen de la muestra de mosto

N= normalidad de la solución de NaOH empleada en la titulación

V= Volumen de la solución de NaOH empleados para la titulación

meq= miliequivalentes del ácido tartárico

Determinación de sólidos solubles (°Brix)

Método: Refractométrico

Fundamento

La cantidad de azúcares en las uvas representan la gran mayoría de los sólidos solubles (90-94%)

en la pulpa y en el jugo. Por otro lado, los azúcares refractan la luz (desvían la luz cuando ésta pasa

a través de una solución), de tal forma que puede emplearse un dispositivo, llamado

refractómetro, que mida el grado de refracción para obtener un valor estimado del contenido de

azúcares. Los refractómetros han sido adaptados a la escala de °Brix.

Descripción del método

Del mosto extraído de la muestra de uvas se colocó una gota en el refractómetro, se registró la

medición y el resultado se expresó en g/100 mL de mosto.

Determinación de pH

Método: Potenciométrico

Fundamento

El potenciómetro mide, a través de un electrodo, el cambio en el voltaje comparándolo con otro

electrodo de referencia. El medidor calcula después el pH mediante el uso de la ecuación de

Nernst (Iland, et. al., 2000).

Descripción del método

Del mosto extraído de la muestra de uvas se colocaron 30 mL en un vaso de precipitados y se

determinó el pH con uso de un potenciómetro.

Determinación de antocianinas totales en los hollejos de las uvas Cabernet Sauvignon empleadas.

Descripción del método

Para la extracción de las antocianinas de los hollejos se empleó el método (con algunas

modificaciones) reportado por Dimitrovska M, et. al. (2011). A 23 g de uvas les fueron separados

los hollejos los cuales, posteriormente, fueron triturados en un mortero de porcelana. La

extracción se realizó con 40 mL de una solución de HCl al 1% (p/v) en una mezcla de metanol-agua

(60:40). El extracto saturado se decantó y se repitió este procedimiento de extracción 7 veces

(hasta que los hollejos se mostraron descoloridos y pálidos). Este extracto se aforó a 50 mL con el

mismo solvente. La determinación de antocianinas totales también fue realizada por el método de

diferencial de pH.

Medición de características fisicoquímicas del vino

Azúcares reductores directos

Método: Lane-Eynon

Fundamento

El método de Lane- Eynon está basado en la reacción de un azúcar reductor con la modificación de

Soxhlet del reactivo de Fehling, que consiste en una mezcla de sulfato de cobre y una solución

alcalina de tartrato. El reactivo de Soxhlet es mezclado por ebullición con adiciones sucesivas de la

solución del azúcar reductor, se forma Cu₂O y el color azul del tartrato cúprico tiende a

desaparecer. Cuando permanece en la solución un ligero color azul, apenas perceptible, se

agregan algunas gotas de azul de metileno y se completa la titulación. La principal reacción está

basada en la reducción de la sal cúprica a óxido cuproso por el grupo carbonilo del azúcar reductor

(Nollet LM, 2004; Nollet LM y Toldrá F, 2010).

Descripción del método

Composición del reactivo de Fehling (modificación de Soxhlet):

130 g de tartrato de sodio y potasio

- 110 g de hidróxido de sodio

24 g de sulfato de cobre pentahidratado

16.8 g de ferrocianuro de potasio

Valoración del reactivo de Fehling

Se colocaron 10 mL de reactivo de Fehling y 30 mL de agua destilada en un matraz Erlenmeyer de

125 mL. En el matraz se agregaron tres perlas de ebullición y después fue colocado bajo la flama

del mechero. Una vez en ebullición, se realizó la titulación con una solución de glucosa en agua a

una concentración de 0.5 % p/v. El factor de Fehling se calculó mediante el uso de la siguiente fórmula:

$$F = (Glc)(V_T)$$

Donde:

F= factor de Fehling

Glc=g de glucosa/100

V_T= volumen de la solución de glucosa gastados en la titulación

Para el mosto:

Una vez obtenido el mosto, éste se llevó a una dilución con agua 1:10; de éste se tomó una alícuota de 10 mL y se realizó una segunda dilución 1:10. Posteriormente, a esta solución diluida 1:100 se añadió subacetato de plomo y después se sometió a filtración con papel filtro Whatman del número 4. Esta solución, una vez filtrada, se empleó para la titulación del reactivo de Fehling de manera análoga a como se realizó con la solución de glucosa. El porcentaje de azúcares reductores directos se calculó con el uso de la siguiente fórmula:

$$\% ARD = \frac{(V_{af})(F)}{(ali)(V_T)} (100)(f)$$

Donde:

% ARD= % de azúcares reductores directos

V_{af}= volumen del aforo de la muestra de mosto para la primera dilución

F= factor de Fehling

ali= alícuota de la muestra empleada para la primera dilución

V_T= volumen empleado de la solución de mosto para la titulación del reactivo de Fehling

f= factor de la segunda dilución

Para el vino:

Se tomó una alícuota de vino de 25 mL y se llevó a cabo una dilución en agua 1:4 (v/v).

Posteriormente, a esta solución diluida, se añadió subacetato de plomo y después se sometió a

filtración. Esta solución, una vez filtrada, se empleó para la titulación de 1 mL de reactivo de

Fehling diluido con 10 mL de agua destilada, de manera análoga a como se realizó con la solución

de glucosa. El % de azúcares reductores directos se calculó con el uso de la fórmula previamente

proporcionada.

Gravedad específica y contenido de etanol

Método: Destilación y picnometría

Fundamento

La gravedad específica, o densidad relativa, es el cociente del peso específico de una sustancia

entre el peso específico del agua a 4°C; o bien, el cociente de su densidad entre la densidad del

agua a 4°C (Mott RL, 1996). La medida de densidad suministra una información global sobre la

concentración de solutos (Fuentes X, et. al., 1998).

Descripción del método

En un matraz de destilación se agregaron una alícuota de 25 mL de vino, 15 mL de NaOH 1 N, 10

mL de agua destilada y unas perlas de ebullición. Esta solución fue sometida a destilación de la

cual se colectaron 20 mL de líquido destilado en un picnómetro de 25 mL, el cual fue después

aforado con agua destilada. Se calculó la gravedad específica y, consultando tablas de referencia,

con ésta se estimó el contenido de etanol. La gravedad específica fue calculada mediante el uso de

la siguiente fórmula:

$$G_{esp} = \frac{P_D - P_V}{P_A - P_V}$$

Donde:

P_D= peso del picnómetro con el destilado

P_A= peso del picnómetro con agua

P_V= peso del picnómetro vacío

Gesp= gravedad específica

Acidez total

Método: Titulación

El método es el mismo que se empleó para el mosto.

Cenizas

Método: Gravimetría por desecación y calcinación

Fundamento

El término "cenizas" se refiere a los residuos inorgánicos que permanecen después de la

incineración total de la materia orgánica (Pomeranz Y, et. al. 1994; Pearson D, 1973; Joslyn MA,

1970; Harbers LH, 1998). El contenido de cenizas se determina por pérdida de peso lo cual ocurre

por la oxidación completa de la muestra a una temperatura alta (usualmente de 500 a 600 °C) a

través de la combustión y volatilización de la materia orgánica (Joslyn MA, 1970; Harbers LH,

1998). Las cenizas obtenidas, por lo regular, no contienen exactamente el mismo tipo de minerales

que aquéllos presentes en la muestra original debido a que son convertidos en estructuras

moleculares diferentes, tales como óxidos, fosfatos y sulfatos (Pearson D, 1973; Joslyn MA, 1970).

También algunos minerales pueden perderse debido a la volatilización (Harbers LH, 1998).

Descripción del método

Se vertieron 25 mL de vino en un crisol puesto a masa constante. Esta muestra de vino fue

desecada en la parrilla con calentamiento moderado y cuidando de no llevar a completa ebullición

con el fin de evitar pérdidas en la muestra. Una vez desecada, se introdujo en la mufla por 30

minutos a 525 °C. Al cabo de este lapso, se extrajo el crisol de la mufla y se enfrió en un desecador.

Una vez puesto a temperatura ambiente, se determinó el peso del mismo conteniendo la muestra

calcinada; después se agregaron unas gotas de agua destilada y se llevó nuevamente a la mufla

por 30 minutos más. Esto último se realizó hasta que el crisol con la muestra calcinada mantuvo

un peso constante. El porcentaje de cenizas se calculó mediante el uso de la siguiente ecuación:

 $C = \frac{M_1 - M_0}{V} (100)$

Donde:

31

C= Porcentaje de cenizas

M₀= Masa del crisol vacío

M₁= Masa del crisol conteniendo las cenizas de la muestra

V= Volumen empleado de la muestra

Determinación de extracto seco

Método: Densimetría

Fundamento

Se compara la densidad de un vino con la de un líquido hidroalcohólico de igual graduación. La

diferencia entre estas dos densidades se utiliza para calcular de manera aproximada y simple el

peso del extracto seco del vino (García L, Trabes V, 2013).

Descripción del método

Se obtuvo un destilado alcohólico de la misma forma en que se realizó para la determinación de la

gravedad específica y el contenido de alcohol. A este destilado, colocado en un picnómetro, se le

determinó la densidad específica y lo mismo se hizo con una muestra del vino correspondiente.

Con estos datos y con el uso de la fórmula que se proporciona enseguida se calculó la densidad

relativa del extracto seco. Una vez obtenido este valor fue comparado en tablas para determinar el

contenido de extracto seco en el vino.

 $D_R = (DE_V + 1) - DE_{EA}$

Donde:

D_R= Densidad relativa del extracto seco

DE_V= Densidad específica del vino

DE_{EA}= Densidad específica del extracto alcohólico

Determinación de acidez volátil

Método: Microdestilación por arrastre de vapor y titulación

Fundamento

Esta técnica se utiliza para la destilación de líquidos inmiscibles o parcialmente miscibles, por lo

general uno de ellos es el agua. Estas mezclas alcanzan un punto de ebullición que es inferior al de

cada componente puro. Y debido a la falta de solubilidad, cada sustancia ejerce

independientemente su presión de vapor. Por lo que el vapor de agua, generado en un matraz

distinto al que contiene la mezcla a separar, se hace llegar al matraz de la mezcla para que arrastre

el vapor de la sustancia de interés (Fieser LF, Fleser M, 1985).

Descripción del método

Se tomó una alícuota de 1 mL de vino y se colocó en el microdestilador. Se recibieron 10 mL de

destilado en un vaso de precipitados que contenía 10 mL de agua destilada fría. Esta solución se

vertió en un matraz Erlenmeyer de 250 mL, se añadieron unas gotas de fenolftaleína como

indicador y se tituló con una solución de NaOH .01 N. La acidez volátil se calculó empleando la

siguiente fórmula:

$$A_{vol} = \frac{(V)(N)(meq)(1000)}{v}$$

Donde:

Avol= Acidez volátil, expresada en g de ácido acético/ L de vino

v= volumen de la muestra de vino

N= normalidad de la solución de NaOH empleada en la titulación

V= Volumen de la solución de NaOH empleados para la titulación

meg= miliequivalentes del ácido acético

Determinación de bióxido de azufre libre (sulfuroso libre)

Método: Titulación con yodo (método de Ripper)

Descripción del método

Se colocaron 25 mL de vino en un matraz Erlenmeyer de 250 mL; a este se añadieron 5 mL de

H₂SO₄ diluído en agua en proporción 1:3. Se homogeneizó la muestra mediante agitación suave y

se añadieron 10 mL de solución de almidón al 2% p/v, como indicador. Esto fue titulado con una

solución de yodo 0.002 N. El contenido de sulfuroso libre fue calculado con la siguiente fórmula:

$$SO_2 libre = \frac{(V)(N)(Eq)(1000)}{v}$$

Donde:

SO₂libre= sulfuroso libre, expresado en mg/L de vino

V= Volumen de solución de yodo empleados para la titulación

N= normalidad de la solución de yodo

Eq= equivalentes del SO₂

v= volumen de la muestra de vino

Determinación de bióxido de azufre total (sulfuroso total)

Método: Titulación con yodo (método de Ripper)

Descripción del método

En un matraz Erlenmeyer de 250 mL se colocaron 25 mL de KOH 1N y 25 mL de vino. Se tapó el

matraz y se dejó reposar por un lapso de 15 minutos. Al cabo de este tiempo, se adicionaron 10

mL de H₂SO₄ diluido 1:3 así como 5 mL de solución de almidón al 2% p/v, la cual sirvió como

indicador. Todo esto fue titulado con una solución de yodo al 0.002 N. El contenido de sulfuroso

total fue calculado con la misma ecuación empleada para la determinación de sulfuroso libre.

Determinación de las antocianinas totales

La determinación de las antocianinas totales en el vino se realizó por el mismo método que aquél empleado para el mosto durante la cinética de maceración.

Identificación de los compuestos volátiles varietales y de aquéllos extraídos de la madera

Método: Micro-extracción en fase sólida-Cromatografía de gases-Espectrometría de masas (SPME-GC-MS).

Fundamento

GC

Todas las formas de cromatografía involucran la distribución, o división, de un compuesto entre dos fases diferentes, una móvil y otra estacionaria. En una mezcla, los compuestos se distribuyen en diferente grado entre las dos fases, dependiendo su solubilidad en cada fase. Debido a que los compuestos de una mezcla son conducidos por la fase móvil sobre el lecho de la fase estacionaria, éstos serán retenidos en diferente grado debido a su diferente afinidad con las fases, y serán separados físicamente. A los compuestos que tienen una mayor afinidad con la fase estacionaria les toma un mayor tiempo para desligarse de ésta que a aquéllos cuya afinidad es menor. En GC la fase móvil es un gas acarreador inerte y la fase estacionaria es un líquido de elevado peso molecular el cual es depositado en la superficie de finas partículas o en las paredes de un tubo capilar de gran longitud (Karasek FW, Clement RE, 1988).

MS

El primer paso de la espectrometría de masas es la producción de iones moleculares del compuesto en su fase gaseosa, por ejemplo por ionización con electrones. Estos iones moleculares normalmente experimentan fragmentaciones. Debido a que es un catión radical con un número impar de electrones, éste puede fragmentarse para dar un radical y un ion con un número par de electrones o una molécula y un nuevo catión radical. Estos dos tipos de iones tienen diferentes propiedades químicas. Cada ion- producto primario derivado del ion molecular puede, sucesivamente, experimentar fragmentación. Todos estos iones son separados en el espectrómetro de masas de acuerdo a su razón masa/carga y son detectados en proporción a su

abundancia. Estos iones proveen información concerniente a la naturaleza y estructura de su molécula precursora (Hoffmann E, Stroobant V, 2007).

SPME

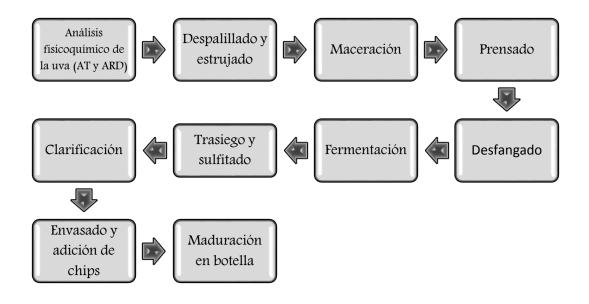
Esta técnica se fundamenta en el mismo principio que aplica a las tecnologías sorbentes: los analitos en la muestra establecerán un equilibrio con la fase sólida de acuerdo a la magnitud del coeficiente de partición y concentración de los mismos. Éstos serán adsorbidos en una pequeña fibra de sílica fundida, usualmente cubierta con una fase polimérica, la cual es montada en un dispositivo tipo jeringa. Después de la adsorción el dispositivo es transferido a un instrumento analítico (por ejemplo, un GC o un HPLC). En el GC, es insertado en el inyector caliente y los analitos se desorben por efecto de la temperatura (Barker SA, 2000; Kleiböhmer W, 2001).

Descripción del método:

La descripción del método se detalla más adelante, en la parte que corresponde a los compuestos volátiles.

Elaboración del vino

Para la elaboración del vino rosado fue empleada la técnica de microvinificación reportada por Reyes D, Escamilla H y Verde JR (1997) en su Manual de Prácticas de Enología. Previo a la elaboración del vino rosado que fue sometido a experimentación se estandarizó el proceso a emplear, para lo cual fue utilizada uva comercial de mesa de la variedad Red Globe. Esta estandarización se llevó a cabo antes del experimento correspondiente a la cinética de maceración. El proceso en general se ilustra en la Imagen 5.



ARD= Azúcares reductores directos

AT= Acidez total

Imagen 5. Proceso general de elaboración del vino

Maduración del vino en botella

El vino fue después envasado en botellas de vidrio de color verde obscuro, de 750 mL, a las cuales se había asignado previamente el tratamiento y se les había añadido los chips (tostado medio, forma de prismas rectangulares y cubos de entre 0.7 y 1 cm de lado; adquiridos con la empresa Artesanías Mayahuel en Tequila, Jalisco) correspondientes al mismo de acuerdo al diseño experimental mostrado en la Imagen 6. Esto se realizó de manera aleatoria, tal y como se describe más adelante. En total fueron dos UE para cada tratamiento (dos repeticiones) y una para el control (vino envasado sin chips). Las botellas fueron tapadas con corchos, introducidas en una caja de cartón para evitar la acción de la luz y almacenadas a temperatura ambiente. Una vez cumplido el tiempo de contacto con los chips, correspondiente a cada UE, se abrieron esas botellas y se retiraron los chips. Posteriormente se volvieron a poner los corchos y se regresaban a las mismas condiciones de almacenamiento. En estas condiciones se llevó a cabo la maduración del vino en la botella, operación que duró 60 días, incluyendo el tiempo que estuvieron en contacto con los chips. Cumplido este tiempo las botellas fueron almacenadas en refrigeración hasta el momento de su análisis.

Factor:	Cantidad de chips (Cc)					
Tiempo de contacto con los chips (tc)	3 g/L	1 g/L				
21 días	t c1 C c1	t C1 C C2				
28 días	t C2 C C1	tc2Cc2				
35 días	tc3Cc1	tc3Cc3				

Imagen 6. Diseño experimental empleado para la maduración con chips de madera del vino rosado obtenido.

Variables respuesta:

- Características fisicoquímicas
 - o pH
 - o Gravedad específica
 - Etanol
 - Azúcares reductores directos
 - Acidez total
 - Acidez volátil
 - Sulfuroso total
 - o Sulfuroso libre
 - o Extracto seco
 - Cenizas
 - Antocianinas totales
- Compuestos volátiles extraídos de la madera. El análisis de los volátiles extraídos de la madera estuvo enfocado en los compuestos reportados por Arapitsas P, et. al. (2003), en un análisis que se hizo sobre el envejecimiento artificial en vinos elaborados con uvas de la variedad Asyrtiko. Los volátiles reportados fueron los siguientes:
 - o Furfural

- Guayacol
- Vainillina
- Whisky-lactona
- Eugenol
- Siringaldehído
- Compuestos volátiles varietales. Para éstos se tomaron como referencia aquéllos compuestos reportados por Xu XQ, et. al., (2015), en un estudio sobre la diferencia de perfiles de los compuestos volátiles de uvas Cabernet Sauvignon cultivadas en dos distintas regiones de China. En este estudio se reportaron en total 40 compuestos volátiles para las uvas de ambas regiones. Asimismo se tomaron como referencia aquéllos reportados por Canuti V, et. al., (2009), en un estudio de volátiles en uvas y vinos de la variedad Cabernet Sauvignon. En este estudio fueron reportados 27 volátiles correspondientes a las uvas de la variedad mencionada.

Aleatorización para llevar a cabo la maduración del vino mediante distintos tratamientos.

La aleatorización se realizó con base en lo reportado por Díaz A (2009) para el diseño completamente aleatorizado (DCA) y ésta fue hecha para las botellas que se asignaron a cada tratamiento, para el orden de llenado de las mismas y para los chips que se asignaron a cada tratamiento (cuya aleatorización se detalla enseguida).

Aleatorización de los chips

Como ya se mencionó, el factor "cantidad de chips" constó de dos niveles, 1 y 3 g/L. Sin embargo, éstos tenían ligeras variaciones en cuanto a peso y forma. Por lo cual primero se pesaron los chips y se adaptó el volumen de vino a añadir a éstos de tal manera que se conservara la concentración establecida para cada nivel del mencionado factor. Para la aleatorización de los chips a las UE correspondientes, se enumeraron del 1 al 6 los chips ya pesados, tanto aquéllos que serían asignados al nivel de 1 g como al de 3 g/L. Por otro lado, se separaron los papeles de los tratamientos en dos lotes, uno de los que correspondían a 1 g/L y otro con los de 3 g/L. Ambos

lotes se introdujeron en diferentes urnas. Otra urna contenía papeles del 1 al 6 y ésta correspondió a los chips, enumerados previamente. La asignación de los chips se hizo primero para un lote y después al otro. Para ello se sacó un papel de la urna de los tratamientos y después una de los chips. De tal manera que si el papel de la urna de los tratamientos tenía registrado "3, 35, 2" y "5", significaba que a la UE del tratamiento de 3 g/L, 35 días de contacto y repetición 2 se le asignarían los chips marcados con el número 5 y se le adicionaría el volumen de vino necesario para que la concentración fuera la correcta. Esto mismo se hizo hasta asignar los chips a las 6 UE del lote de 3g/L y una vez terminado este lote se continuó con el de 1 g/L.

Resultados

Maceración

Como se muestra en la Tabla 2, la mayor concentración inicial promedio de antocianinas totales se obtuvo mediante el prensado a 5 °C (84.31 mg/L) y, en contraparte, la menor concentración inicial de éstas se obtuvo con el prensado de las uvas a 20 °C (52.73 mg/L). No obstante, y como se puede observar en la Gráfica 1 (página 40), la concentración más alta de antocianinas totales al cabo de las 48 horas del proceso de maceración se dio a una temperatura de 20 °C (162.3 mg/L) y la menor, a 5 °C. Esto concuerda con los resultados obtenidos por Koyama, et. al. (2007), quien reportó que un cambio en la temperatura de maceración es un método efectivo para la extracción de las antocianinas ya que afecta la permeabilidad de las células y membranas de las bayas de uva. La concentración de antocianinas de cada unidad experimental se presenta en la Tabla 1. Los datos que aparecen en esta tabla resaltados en negritas, correspondientes a concentraciones de algunas UE, fueron considerados como atípicos por su amplia diferencia respecto a las dos repeticiones restantes en su respectivo tratamiento, por lo cual no fueron tomados en cuenta para el cálculo del valor promedio de la concentración de antocianinas totales para ese tratamiento.

Tabla 1. Concentración de antocianinas totales (expresada en mg/L) correspondientes a cada una de la UE del proceso de maceración.

			Tempe	eratura	
Tiempo (h)	Repetición	20	15	10	5
	1	51.55	69.17	63.45	85.04
0	2	51.55	69.17	62.56	81.07
	3	55.078	69.17	64.33	86.80
	1	112.80	105.75	118.08	103.54
3	2	113.68	110.59	111.91	98.70
	3	111.91	110.15	121.61	106.19
	1	112.80	113.68	122.49	106.63
6	2	112.35	120.73	130.42	110.59
	3	111.91	20 15 10 51.55 69.17 63.45 8 51.55 69.17 62.56 8 55.078 69.17 64.33 8 112.80 105.75 118.08 10 113.68 110.59 111.91 9 111.91 110.15 121.61 10 112.80 113.68 122.49 10 112.35 120.73 130.42 13 111.91 111.47 121.17 10 116.32 120.73 122.05 10 107.07 157.74 124.69 10 113.24 114.56 119.85 10 118.96 119.85 125.13 10 129.98 141.88 125.13 10 129.98 141.88 125.57 10 131.30 137.47 125.57 10 166.11 161.26 125.57 10 162.15 149.81 118.52 <	107.07	
	1	116.32	120.73	122.05	108.39
9	2	107.07	157.74	124.69	101.78
	3	113.24	114.56	119.85	109.27
	1	135.71	124.69	122.05	108.83
12	2	118.96	119.85	125.13	107.51
	3	114.12	116.76	122.49	101.78
	1	129.98	141.88	125.57	117.20
24	2	137.03	130.86	125.13	112.35
	3	131.30	69.17 63.45 8 69.17 62.56 8 69.17 64.33 8 105.75 118.08 10 110.59 111.91 9 110.15 121.61 10 113.68 122.49 10 120.73 130.42 13 111.47 121.17 10 120.73 122.05 10 157.74 124.69 10 14.56 119.85 10 124.69 122.05 10 119.85 125.13 10 141.88 125.57 13 130.86 125.13 13 137.47 125.57 10 149.81 118.52 13	109.71	
	1	166.11	161.26	125.57	101.34
48	2	162.15	149.81	118.52	117.64
	3	158.62	156.86	129.54	113.68

Tabla 2. Concentración promedio de antocianinas totales para cada uno de los tratamientos.

	Anto	Antocianinas totales (mg/L)							
T(°C)	20	15	10	5					
t(h)									
0	52.73	69.18	63.45	84.31					
3	112.80	108.83	119.85	102.81					
6	112.36	112.58	121.83	108.10					
9	114.78	117.65	122.20	108.83					
12	116.55	120.44	123.23	108.17					
24	132.78	139.68	125.43	114.78					
48	162.30	155.98	127.56	115.66					

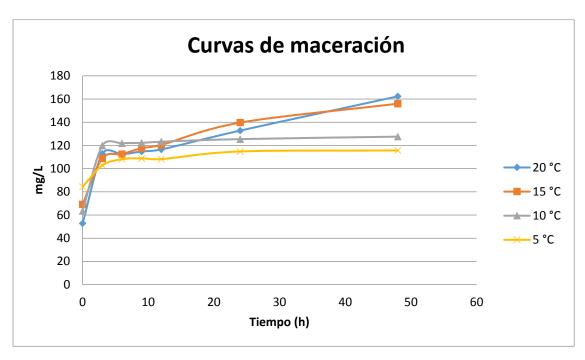
En las Imágenes 7 y 8 se muestran, respectivamente, las soluciones empleadas para la determinación de las antocianinas totales en cada unidad experimental y 3 unidades experimentales correspondientes al proceso de maceración.



Imagen 7. Soluciones de mosto con buffer para la determinación de la absorbancia.



Imagen 8. Unidades experimentales del proceso de maceración.



Gráfica 1. Curvas de maceración realizada a las diferentes temperaturas

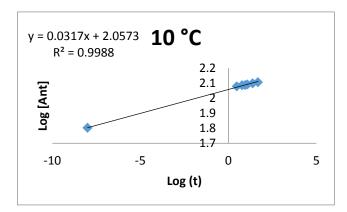
Elección del tiempo y temperatura de maceración para la elaboración del vino rosado

Las condiciones para llevar a cabo la maceración del mosto destinado a la elaboración del vino rosado fueron elegidas de las cinéticas previamente realizadas. Para ello se tomó en cuenta de manera visual el color deseado, considerando que después del proceso de vinificación la concentración de antocianinas decrece y, consecuentemente, el color disminuye. Después se determinó la cantidad de antocianinas totales contenidas en el mosto elegido, la cual fue de 120 mg/L, y observando las cinéticas se calcularon los tiempos a los cuales se alcanzaría en cada una de las temperaturas trabajadas. Una vez realizada la comparación entre los resultados obtenidos se decidió trabajar a una temperatura de 10 °C por ser aquélla a la cual se alcanzó primero la cantidad de antocianinas totales deseada en el mosto (3 horas), aunado a que al ser una temperatura baja (<20 °C) se favorecía la estabilidad aromática del vino (Bisson JB, Daulny B, Bertran A, 1980; Salinas, et al., 2003).

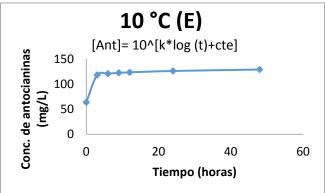
Modelos matemáticos que describen el proceso de maceración llevado a cabo bajo las condiciones previamente descritas

Para describir el proceso de extracción de las antocianinas desde el hollejo de las uvas hacia el mosto bajo las condiciones establecidas en el experimento se consideraron inicialmente tres regresiones para el planteamiento de tres modelos matemáticos: una regresión logarítmica (logaritmo base 10 de la concentración de antocianinas a cada uno de los niveles de tiempo vs logaritmo de tiempo), una regresión semi-logarítmica (logaritmo base 10 del cociente resultante entre la concentración a cada nivel de tiempo, A1, excepto el tiempo 0, y la concentración inicial de antocianinas, A0, vs el tiempo); y, por último, un logístico de la forma LOGCONC=A/(1+B*EXP{-C*t}). Estos fueron sometidos a un análisis con el programa estadístico NCSS 2007/GESS 2006 (Version 0.7.1.21) para obtener el ajuste de cada uno de ellos (R²), los intervalos de confianza de las constantes y el nivel de significancia de la regresión.

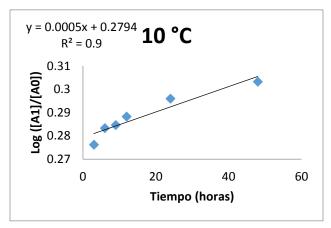
A continuación se presentan las gráficas correspondientes a las regresiones logarítmica y semilogarítmica así como sus modelos exponenciales y, finalmente, el modelo logístico (Gráficas 2, 3, 4, 5 y 6). Todo esto para la maceración realizada a una temperatura de 10 °C la cual, como se explicó previamente, fue considerada como la mejor para la elaboración del vino rosado de este experimento.



Gráfica 2. Regresión logarítmica del proceso de maceración a 10 °C.



Gráfica 3. Modelo exponencial del proceso de maceración a 10 °C.



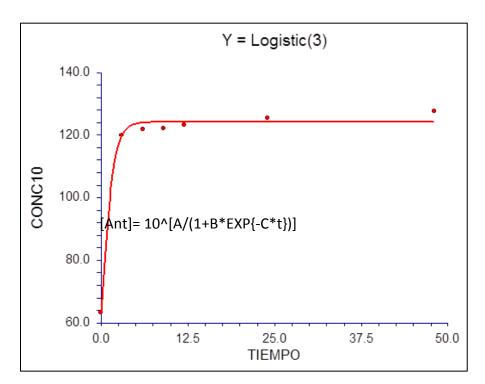
10 °C (E)

[Ant]= 10^[(k*t+cte)+log(A0)]

128
126
124
122
120
0 20 40 60
Tiempo (horas)

Gráfica 4. Regresión semi-logarítmica del proceso de maceración a 10 °C.

Gráfica 5. Modelo exponencial del proceso de maceración a 10 °C.



Gráfica 6. Modelo logístico de la maceración a 10 °C

Tabla 3. Constantes, intervalos de confianza de las constantes y significancias de las regresiones así como del modelo logístico propuestos.

		RI	EGRESIÓN		TIEMP	0		MODELO MATEMÁTICO
MODELO O REGRESIÓN	T (°C)	R^2	Significancia	t(x)	Significancia	Máx	Mín	[Ant]= 10^[(k*t+cte)+log(A0)]
Semi-	20	0.98	<.0001	0.0037	<0.00001	0.0043	0.0032	
logarítmica	15	0.95	0.0009	0.0035	0.0009	0.0046	0.0024	
	10		0.0039	0.0005	0.0039	0.0008	0.0003	
	5	0.74	0.0279	0.001	0.0279	0.0018	0.0002	
Logarítmica	20	0.91	0.0007	0.0422	0.0007	0.0568	0.0277	[Ant]= 10^[k*log(t)+cte)]
	15	0.84	0.0035	0.0297	0.0035	0.0444	0.015	
	10	0.99	<0.00001	0.0317	<0.00001	0.033	0.0305	
	5	0.92	0.0005	0.013	0.0005	0.0172	0.0088	
Logístico	20	0.87	-	0.5799	-	1.4466	-0.2867	[Ant]= 10^[A/(1+B*EXP{-C*t})]
	15	0.89	-	0.1771	-	0.3564	-0.002	
	10	0.99	-	1.0157	-	1.5492	0.4822	
	5	0.95	-	0.3375	-	0.5819	0.0931	

Simbología: [Ant] = Concentración de antocianinas libres totales.

Como se puede observar en la Tabla 3, existe un buen ajuste de los datos (R² mayor a 0.8) en los tres modelos matemáticos propuestos siendo la regresión semi-logarítmica para la maceración a 5 °C aquélla que mostró la R² más baja, 0.74. No obstante el buen ajuste de los datos en las tres temperaturas restantes (R²≥0.9), esta regresión muestra el inconveniente de que al emplearse el cociente del logaritmo de A1 entre A0 ésta no describe la parte inicial de la extracción, sino únicamente a partir de t= 3 horas. Por otro lado, el modelo logístico muestra R² ≥ 0.87 para la descripción de las maceraciones a las 4 temperaturas empleadas. Sin embargo para T= 20 y T= 15 los intervalos de confianza para la variable C incluyen al cero lo cual implicaría una velocidad de crecimiento que no depende del tiempo, por lo tanto permanecería constante a lo largo de éste. Por su parte, el modelo exponencial obtenido a partir de la regresión logarítmica también muestra un buen ajuste de los datos (la menor R² obtenida fue de 0.84 para T= 15). El problema que se presenta con la regresión logarítmica es que no es posible calcular el log de t= 0 pero para lograr estimar la concentración de antocianinas en este punto se empleó un valor de t cercano a cero (1x10⁻⁶). Evaluando el ajuste de los datos, los intervalos de confianza obtenidos para el valor de la k (razón de extracción de las antocianinas) y la posibilidad de estimar la concentración en el tiempo cero, decidió emplearse el modelo exponencial obtenido a partir de la regresión logarítmica para explicar la extracción de antocianinas en la maceración bajo las condiciones empleadas en este experimento.

Estandarización del proceso de microvinificación y determinación de los métodos físicos y químicos para la caracterización del vino

Descripción del proceso

Primero se realizó una selección manual para eliminar los frutos con daños físicos, o algún otro signo aparente de deterioro; seguido a ello, se realizó la eliminación de los raspones. Las uvas, ya despalilladas, fueron sulfitadas a 100 mg/Kg con metabisulfito de potasio con la finalidad de evitar el inicio de la fermentación durante la maceración; después fueron estrujadas manualmente. El mosto sulfitado se dejó macerar a temperatura ambiente (la cual osciló entre 17-21.5 °C) durante 8 horas para llevar a cabo la extracción de las antocianinas, así como de los compuestos que generan los aromas varietales, desde los hollejos hacia el mosto. Durante la operación de maceración se realizaron remontados manuales cada hora con el fin de homogeneizar la concentración de compuestos coloridos en todo el mosto y facilitar así el proceso de difusión de los mismos. Al cabo de este lapso, el mosto se prensó manualmente con ayuda de una tela filtrante para separar los hollejos de la parte líquida. Este mosto fue sulfitado y adicionado con bentonita, a una concentración de 50 mg/L y 200 mg/L, respectivamente para llevar a cabo el desfangado, operación que tuvo una duración de 24 horas y fue realizada a una temperatura de 5 °C. Al término de este tiempo, se decantó el mosto y se eliminaron las lías o sedimentos. El mosto desfangado fue inoculado al 5% v/v con una solución de levadura liofilizada (Lalvin EC 1118, Danstar Ferment AG) y sacarosa, la cual se encontraba a una concentración de 5 y 10 % p/v, respectivamente. El mosto inoculado se dejó fermentar por un periodo de 7 días; durante esta operación se realizó agitación manual durante las primeras 48 horas. Al cabo del tiempo correspondiente a la fermentación se ajustó el contenido de sulfuroso libre a 50 mg/L. Este mosto fermentado y sulfitado se dejó reposar durante 30 días a una temperatura de 5°C para llevar a cabo una clarificación natural. Posteriormente se decantó y eliminó el material precipitado. Para determinar las características físico-químicas de este vino se emplearon los métodos que se describen más adelante. Cabe señalar que el proceso de microvinificación se realizó por duplicado y los análisis fisicoquímicos, por triplicado.

Las Imágenes 7-14 ilustran la estandarización del proceso de microvinificación previamente descrito.



Imagen 7. Uvas despalilladas

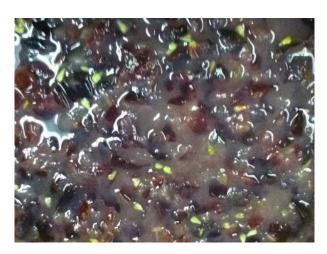


Imagen 8. Maceración



Imagen 9. Mosto



Imagen 10. Mosto sulfitado y adicionado con bentonita



Imagen 11. Fermentación del mosto



Imagen 12. Mosto fermentado



Imagen 13. Mosto fermentado y sulfitado



Imagen 14. Vino

Tabla 4. Características fisicoquímicas del vino rosado elaborado con uvas Red Globe

Característica	Valor	OIV	NMX-V-012- NORMEX-2005
рН	3.2	-	-
Gravedad específica	0.9861	-	-
Alcohol (% v/v)	10.16	> 8.5	8.5 - 15
Azúcares reductores directos	18.4 (semi- dulce)	8 - 45	12.1 - 50
Acidez total (g de ácido tartárico/L)	5.03	-	3.5 - 8
Acidez volátil (g de ácido acético/L)	1.17	1.2	< 1.5
Sulfuroso total (mg/L)	28.52	< 300	< 350
Sulfuroso libre (mg/L)	21.12	-	< 50
Extracto seco (g/L)	18	-	> 10
Cenizas (g/L)	1.48	> 1	1 - 5

De acuerdo a las características fisicoquímicas medidas (mostradas en la Tabla 4), el vino rosado elaborado con uvas Red Globe cumpliría con los parámetros que establece tanto la NMX-V-012-NORMEX-2005 como la OIV y quedaría clasificado como un vino semi-dulce, esto debido a que su contenido de azúcares reductores directos fue de 18.4 g/L, valor que se encuentra dentro del rango establecido para este tipo de vinos.

Elaboración del vino rosado con uvas Cabernet Sauvignon

Proceso de vinificación para el vino rosado elaborado

Inicialmente las uvas fueron llevadas hasta una temperatura de 10 °C. Posteriormente, se realizó la eliminación manual de frutos con daños físicos, o algún otro signo aparente de deterioro, así como de los raspones. Las uvas, ya despalilladas, fueron sulfitadas a una concentración de 100 mg/Kg con metabisulfito de potasio e inmediatamente después fueron estrujadas manualmente. Seguido a la operación del estrujado se realizó el proceso de la maceración en la cual se mantuvo el mosto en contacto con la pulpa, hollejos y semillas de las uvas. Dicho proceso tuvo una duración de tres horas y fue llevado a cabo a 10 °C. Al cabo de este tiempo se separó el mosto y se prensaron los demás elementos contenidos en la maceración. Durante la operación de maceración se realizaron remontados manuales cada hora con el fin de homogeneizar la concentración de compuestos

coloridos en todo el mosto y facilitar así el proceso de difusión de los mismos. Al término de las tres horas el mosto se prensó manualmente con ayuda de una malla plástica de grado alimenticio con la finalidad de separar la parte líquida de los demás constituyentes del macerado (en este momento se tomó una muestra del mosto para su posterior determinación del contenido de antocianinas totales el cual fue de 117.79 mg/L). A este mosto prensado se adicionaron metabisulfito de potasio y bentonita a una concentración de 50 mg/L y 200 mg/L, respectivamente, para llevar a cabo el desfangado, operación que tuvo una duración de 24 horas y fue realizada a una temperatura de 5 °C. Al término de este tiempo se decantó el mosto y se eliminaron las lías o sedimentos. El mosto desfangado fue inoculado al 5% v/v con una solución de levadura liofilizada (Lalvin EC 1118, Danstar Ferment AG) y sacarosa, la cual se encontraba a una concentración de 5 y 10 % p/v, respectivamente. El mosto inoculado se dejó fermentar por un periodo de 9 días; durante esta operación se realizó agitación manual en dos ocasiones en las primeras 48 horas. Al término de la fermentación se ajustó el contenido de sulfuroso a una concentración de 50 mg/L. Este mosto fermentado y sulfitado se dejó reposar durante 30 días a 5°C para llevar a cabo la operación de clarificación. Posteriormente se decantó, se eliminó el material precipitado y de esta manera se obtuvo el vino rosado que sería después madurado en botella en presencia de chips de madera. Las imágenes 15-21 ilustran el proceso de vinificación del vino rosado.



Figura 15. Selección de las uvas



Figura 16. Despalillado

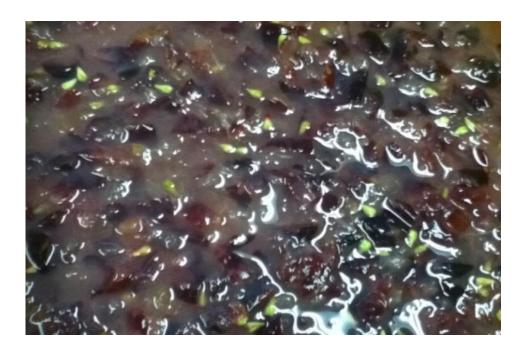


Figura 17. Maceración



Figura 18. Mosto sulfitado y adicionado con bentonita



Imagen 20. Vino rosado previo a la maduración en botella.



Figura 19. Fermentación



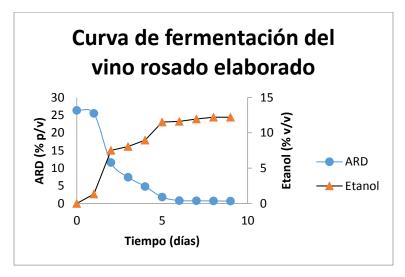
Imagen 21. Vino rosado después de la maduración en botella.

Curva de fermentación

La fermentación del mosto de uvas Cabernet Sauvignon para la elaboración del vino rosado tuvo una duración de 9 días. Este mosto inició con una concentración de azúcares reductores directos (ARD) de 26.34 % p/v y al cabo del proceso fermentativo el producto tenía una concentración de ARD de 0.66 % p/v. En la gráfica 10 puede observarse el incremento del contenido de etanol a lo largo del tiempo de fermentación del mosto, lo cual concuerda con el decremento simultáneo de los ARD, cuyo consumo a lo largo del tiempo también puede ser observado en la misma gráfica.

Tabla 5. Concentraciones de ARD y etanol a lo largo del proceso de fermentación.

Día	ARD (% p/v)	,	
0	26.34	1	0
1	25.48	0.99809	1.34
2	11.57	0.9895	7.51
3	7.43	0.98881	8.06
4	4.79	0.9877	8.96
5	1.78	0.9846	11.53
6	0.81	0.9845	11.61
7	0.75	0.9841	11.95
8	0.7	0.9838	12.21
9	0.66	0.9838	12.21



Gráfica 7. Curva de fermentación del vino rosado elaborado

Como puede observarse, tanto en los datos de la Tabla 5 como en la Gráfica 7, durante las primeras 24 horas de fermentación existió un decremento de los ARD de tan sólo un 3.26 % del total, esto debido a que al inicio de la fermentación las levaduras metabolizan los azúcares y otros nutrientes para obtener energía y así poder incrementar la población (Boulton et. al., 1996; Ribéreau-Gayon, et al., 2000) pero en el transcurso de las primeras horas la población de éstas no aumenta ya que durante este periodo, conocido como fase de latencia, las levaduras se adaptan a las nuevas condiciones del entorno en las que se encuentran inmersas. El decremento de ARD para el segundo día de fermentación fue de 54.6 %, respecto a los del día 1; de poco más del 35% para el tercer y cuarto día, respecto al previo inmediato; y del 62.8 y 54.5% para el quinto y sexto día respectivamente. En estos 5 días se presenta el mayor consumo de los ARD y por consecuencia la mayor producción de etanol cuya concentración para el sexto día se incrementó en más del 10% v/v respecto de aquélla contenida para el día 1. Esto se debe a que, una vez que se han adaptado a las condiciones ambientales, las levaduras comienzan su periodo de crecimiento, conocido como fase exponencial de crecimiento (Zamora F, 2009), fase que está influenciada, entre otros factores, por la temperatura (Ough 1964) y por la presencia de oxígeno (Sablayrolles y Barre 1986). Ya para los días 7, 8 y 9 el decremento de ARD fue de 7.4, 6.6 y 5.7%, respectivamente, debido a que las levaduras han dejado de crecer por falta de nutrientes y han entrado a la fase estacionaria, la cual puede durar de 2 a 10 días. Tras esta fase las levaduras comienzan a morir por la carencia de nutrientes aunado a que el etanol y otras sustancias producidas durante la fermentación alcohólica resultan tóxicas para éstas (Lafon-Lafourcade et al., 1984).

Tabla 6. Características fisicoquímicas del vino rosado elaborado con uvas Cabernet Sauvignon previo al envasado.

		Valor del vino	Parámetros establecidos			
Característica	Característica Método empleado		OIV	NMX-V-012- NORMEX -2005		
рН	Potenciométrico	3.03	-	-		
Gravedad específica	Gravedad específica Destilación y picnometría		-	-		
Alcohol (% v/v)	Destilación y picnometría	12.38	> 8.5	8.5 - 15		
Azúcares reductores directos (g/L)	Lane-Eynon	6.6	< 9 (seco)	4.1 – 12 (semi- seco)		
Acidez total (g de ác. tartárico/L)	Titulación	6.38	-	3.5 - 8		

Acidez volátil (g de ác. acético/L)	Microdestilación y titulación	0.96	1.2	< 1.5
Sulfuroso total (mg/L)	Ripper (titulación con yodo)	71.42	< 300	< 350
Sulfuroso libre (mg/L)	Ripper (titulación con yodo)	19.58	-	< 50
Extracto seco (g/L)	Densimetría	28.4	-	> 10
Cenizas (g/L)	Gravimetría por desecación y calcinación	2.1	>1	1 a 5
Antocianinas totales (mg/L)	Espectrofotometría	91.5	-	-

De acuerdo con las características fisicoquímicas determinadas en el vino rosado obtenido (Tabla 6), éste cumple con los parámetros establecidos tanto con la NMX-V-012-NORMEX-2005 como con aquéllos instaurados por la OIV. La única diferencia entre ambas normas es que en la norma mexicana el vino elaborado en este proyecto de investigación queda clasificado como un vino semi-seco, ya que ésta contempla un rango de entre 4.1 y 12 g/L de ARD al momento de considerar a un vino en esta categoría. Mientras que en los parámetros que establece la OIV, queda clasificado como un vino seco ya que este organismo internacional considera hasta 9 g/L de ARD cuando el contenido de acidez total no es menor que el de estos primeros en más de 2 g/L.

Con referencia a las antocianinas totales cabe señalar que el contenido de éstas en el mosto previo a la fermentación fue de 117.79 mg/L y en el vino rosado obtenido de este mosto fue de 91.5 mg/L. Esta disminución es consecuencia de la adsorción de las antocianinas en las paredes celulares de las levaduras, por las cuales existe una gran afinidad, por su precipitación en forma de material coloidal junto con sales tartáricas y por reacciones hidrolíticas y de condensación con otros fenoles durante el proceso de vinificación (Vasserot, et. al., 1997).

Maduración del vino con los chips de madera

En la Imagen 22 se muestran los 6 vinos rosados experimentales y el control (madurado sin chips).



Imagen 22. Envasado y adición de chips para la maduración en botella.

Como puede observarse en la Tabla 7 (página siguiente), existieron variaciones en las características fisicoquímicas entre los vinos obtenidos con los diversos tratamientos, y de éstos con el control (marcado en la tabla como tratamiento 7). No obstante para verificar si estas diferencias eran significativas, estadísticamente hablando, los datos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) empleando el paquete estadístico NCSS 2007/GESS 2006 (Version 0.7.1.21).

Tabla 7. Resultados del análisis de varianza de las características fisicoquímicas del vino ordenado por factores y niveles de éstos (los superíndices hacen referencia al subgrupo al que pertenecen las muestras).

C. F-Q	CANTID	AD DE CHIF	PS (g/L)	TIEM	MEDIA GENERAL			
	1	3	p-v	21	28	35	p-v	
рН	3.36	3.39	0.037	3.41	3.35	3.37	0.013	3.379
	±0.031 ^a	±0.036 ^b		±0.03 ^a	±0.19 ^b	±0.03 ^b		
AT	5.67	5.63	-	5.98	5.54	5.43	<0.001	5.65
	±0.20 ^a	±0.34 ^a		±0.14ª	±0.11 ^b	±0.13 ^b		
AV	0.67	0.66	-	0.63	0.67	0.70	-	0.668
	±0.04ª	±0.04ª		±0.03°	±0.026 ^a	±0.028 ^a		
GE	0.9834	0.9834 ±	-	0.9834	0.9833	0.9834	-	0.9833
	±7E-05 ^a	1E-04 ^a		±8E-05 ^a	±1E-04 ^a	±8E-05 ^a		
ALC	12.64	12.66	-	12.61	12.73	12.61	-	12.65
	±0.18ª	±0.20 ^a		±0.18ª	±0.22 ^a	±0.18ª		
ARD	6.23	6.25	-	6.05	6.33	6.33	-	6.24
	±0.14ª	±0.31 ^a		±0.16ª	±0.19ª	±0.25°		
SO ₂ L	24.00	19.63	-	22.65	23.89	18.89	-	23.48
	±1.28 ^a	±8.52 ^a		±0.62 ^a	±1.19ª	±11.10 ^a		
SO ₂ T	54.21	51.93	0.029	52.45	54.31	52.45	-	53.07
	±1.87 ^a	±0.93 ^b		±1.56ª	±2.12 ^a	±1.56ª		
EXT	22.50	22.29	-	22.94	22.55	21.70	0.001	22.39
	±0.53ª	±0.67ª		±0.21 ^a	±0.33ª	±0.25 ^b		
CEN	2.09	2.11	-	2.08	2.14	2.09	-	2.1
	±0.06ª	±0.05ª		±0.03ª	±0.06ª	±0.06ª		
ANT	60.14	58.16	-	61.24	59.48	56.72	0.03	59.15
	±2.58 ^a	±2.34 ^a		±2.09 ^a	±2.09 ^b	±1.26 ^c		
PT	0.3766	0.3862	0.035	0.3758	0.3825	0.3860	-	0.3814
	±0.007ª	±0.009 ^b		±0.005	±0.014	±0.005		

Simbología

a) Características fisicoquímicas

TR= Tratamiento; RP= Repetición; AT= Acidez total (g de ácido tartárico/L); GE= Gravedad específica; ALC= Alcohol (% v/v); ARD= Azúcares reductores directos (g/L); SO_2L = Sulfuroso libre (mg/L); SO_2T = Sulfuroso total (mg/L); EXT= Extracto seco (g/L); CEN= Cenizas (g/L); ANT= Antocianinas totales (mg/L); PT= Polifenoles totales (g/L)

C.F-Q= Característica fisicoquímica; **p-v**= p-value o α calculada.

En la Tabla 7 se muestran las medias aritméticas, con su desviación estándar, de cada una de las características fisicoquímicas medidas en los vinos sometidos a maduración con los chips de roble,

así como el p-value en el caso de aquellas características en las cuales hubo diferencia. Asimismo se realizó una prueba de comparación múltiple (Tukey-Kramer) para verificar entre qué niveles se presentaron estas disparidades en los valores y se agruparon los tratamientos que no mostraron discrepancias en la característica correspondiente. Esto se indica en la tabla mencionada con los superíndices colocados en los valores de la desviación estándar y aquéllos que tienen la misma letra conforman un mismo grupo, es decir, sus valores no resultaron significativamente diferentes. Cabe mencionar que para este análisis estadístico, tanto para la prueba de ANOVA como para la de Tukey-Kramer, se empleó un α =0. 05. El contenido de antocianinas decreció conforme aumentó el tiempo de contacto con los chips, esto pudo deberse a que la madera de roble cede taninos al vino y éstos se polimerizan y copolimerizan con las antocianinas (Ruiz M, 1994), tales reacciones hacen que la concentración de éstas en su estado libre decrezca. Por otro lado, el decremento de la acidez total del vino puede deberse a que la madera contiene una fracción mineral representada mayoritariamente por el calcio, potasio y magnesio que pueden reaccionar y formar sales con el ácido tartárico, el más abundante en el vino, lo cual provoca su precipitación (Vivas N, 2005; Valencia F, 2010). Esta fracción precipitada de ácidos provoca también el decremento del extracto seco ya que, además de los azúcares, glicerol, polifenoles, minerales, sustancias nitrogenadas, entre otras, los ácidos fijos como el tartárico constituyen el valor total de éste (Facultad de Ciencias Agrarias, 2016).

Por otro lado, se observa también que hubo una mayor concentración de polifenoles totales en los vinos madurados con 3 g chips/L que con aquéllos madurados con 1 g/L. Asimismo se observó un decremento en el contenido de sulfuroso total el cual pudo ser ocasionado por una pérdida de sulfuroso libre lo cual a su vez ocasionó un ligero incremento en el pH de estos vinos (de 3.36 a 3.39). Las diferencias antes mencionadas son con referencia a los niveles de los factores sin embargo para la combinación entre éstos, es decir para los tratamientos, no hubo ninguna diferencia significativa. Lo cual nos indica que, de los factores y sus niveles estudiados, empleando cualquier combinación de éstos se obtienen vinos con las características fisicoquímicas (de las ya mencionadas) similares. Además del ANOVA realizado entre los tratamientos, se sometieron los resultados de las características fisicoquímicas de cada uno de ellos, los del vino control y los del vino previo a su maduración en la botella a otro ANOVA para verificar la existencia de posibles diferencias

Tabla 8. Resultados del análisis de varianza de las características fisicoquímicas de los vinos obtenidos mediante los seis diferentes tratamientos empleados así como de aquéllas correspondientes al vino control y al vino previo a su maduración en botella.

TR	рН	AT	AV	GE	ALC	ARD	SO ₂ L	SO ₂ T	EXT	CEN	ANT	PT
1	3.40	5.89	0.62	0.9835	12.51	6.18	22.96	53.38	22.94	22.07	62.12	0.3740
	±0.03 ^a	±0.15 ^{bc}	±0.03 ^a	±7E-05	±0.05	±0.07	±0.88 ^a	±1.76°	±0.36 ^b	±0.04	±3.11 ^a	±0.005 ^{ac}
2	3.34	5.62	0.68	0.9834±7E	12.71	6.33	24.21	55.87	22.68	2.11	60.8	0.3708
	±0.007 ^a	±0.10 ^{ac}	±0.03 ^a	-05	±0.23	±0.15	±0.87 ^{ab}	±1.75 ^{ab}	±0.36 ^a	±0.07	±0ª	±0.002 ^{ab}
3	3.34	5.51	0.7	0.9834	12.71	6.18	24.83	53.38	21.9	2.10	57.5	0.3851
	±0.007 ^a	±0.15 ^{ac}	±0.02°	±7E-05	±0.23	±0.21	±1.75 ^{ab}	±1.76ª	±0ª	±0.09	±0.93ª	±0ac
4	3.43	6.08	0.63	0.9834	12.71	5.93	22.34	51.52	22.94	2.09	60.36	0.3775
	±0.03 ^a	±0 ^b	±0.03 ^a	±7E-05	±0.23	±0.13	±0 ^a	±0.87°	±0 ^b	±0.03	±0.62 ^a	±0.005 ^{ac}
5	3.36	5.47	0.66	0.9833	12.76	6.34	23.58	52.76	22.42	2.26	58.16	0.3942
	±0.03 ^a	±0 ^{ac}	±0.02 ^a	±1.4E-04	±0.29	±0.30	±1.76 ^{ab}	±0.87°	±0.36 ^{ab}	±0.06	±2.49 ^a	±0.009 ^c
6	3.39	5.36	0.7	0.9835	12.51	6.49	22.96	51.52	21.51	2.09	55.95	0.3869
	±0.007 ^a	±0.05 ^a	±0.04 ^a	±7E-05	±0.05	±0.23	±0.88ª	±0.87°	±0.18°	±0.05	±1.25 ^a	±0.008 ^{ac}
7	3.37 ^a	5.77 ^{abc}	0.76 ^a	0.9835	12.47	6.33	29.79 ^b	61.46 ^b	22.68 ^{ab}	2.12	62.78 ^a	0.3494 ^b
8	3.03 ^b	6.38 ^b	0.96 ^b	0.9835	12.38	6.60	19.58ª	71.42 ^c	28.4 ^c	2.10	91.65 ^b	-
p-v	<.001	0.001	0.003	-	-	-	0.02	<.001	<.001	-	<.001	0.002

Simbología. La simbología empleada en la Tabla 3 es la misma que la de las Tabla 7

Tratamientos:

1= 1 g de chips/L y 21 días **5**= 3 g de chips/L y 28 días

2= 1 g de chips/L y 28 días **6**= 3 g de chips/L y 35 días

3= 1 g de chips/L y 35 días **7**= control (maduración sin chips).

4= 3 g de chips/L y 21 días **8**=vino previo a su maduración en botella

En la Tabla 8 se muestran los promedios de cada una de las características fisicoquímicas determinadas en los distintos vinos obtenidos con los tratamientos empleados, del vino control y del vino previo a su maduración con los chips, después de haber sometido los datos a un ANOVA y a la prueba de Tukey-Kramer (las mediciones de cada unidad experimental se encuentran en la Tabla 19 en la sección de anexos). En esta tabla se registraron las medias correspondientes seguidas de su desviación estándar. Los superíndices colocados indican lo mismo que se explicó previamente para la Tabla 2.

Por otro lado, al contrastar los valores de las características fisicoquímicas de los tratamientos y el control con el vino previo a su envasado se tuvo un decremento en el contenido de acidez total y volátil así como un incremento en el pH. Esta disminución en ambos tipos de acidez después de su maduración en la botella es debido a la reacción de los ácidos orgánicos con el etanol con lo cual se producen ésteres (Kerem, et. al., 2004). Y el aumento en el pH se debe precisamente a esa disminución de la acidez ya que se disminuye la actividad de los iones hidrógeno libres y con ello aumenta la alcalinidad (lland, et. al., 2000). En cuanto al contenido de sulfuroso, se tuvo un aumento en el libre y un decremento en el total. La reducción en este segundo puede atribuirse a la aireación del vino con lo cual hay una pérdida del sulfuroso libre y por lo tanto también del total por descombinación del mismo hasta alcanzar nuevamente el equilibrio (Hidalgo, 2011). Esta aireación del vino se produjo durante la operación de envasado así como al momento de la separación de los chips. Esto último únicamente para los tratamientos no para el control; por lo que, como se observa en la tabla 3, el control tiene una cantidad mayor de sulfuroso libre en comparación con aquélla contenida en los tratamientos, pero menor comparada con el inicial. Otro factor que pudo haber influido en el aumento del sulfuroso libre después de los tratamientos es la temperatura ya que ésta era menor en el ambiente, y por lo tanto en el vino, al momento de realizar la determinación previo a su maduración en botella que aquélla registrada al momento de hacer la determinación después del proceso de maduración; y la fracción correspondiente al sulfuroso libre se incrementa cuando se aumenta la temperatura (Hidalgo, 2011).

La disminución en el contenido de antocianinas totales se debe a que gran parte de las antocianinas libres, durante la maduración del vino, se combinan o se condensan con otros compuestos fenólicos para formar pigmentos más complejos y estables. Asimismo, una fracción relativamente pequeña desaparece por degradación, oxidación, precipitación o formación de

otros compuestos carentes de color tales como los castavinoles cuya estructura se muestra en la Imagen 23 (Jackson RS, 2008; Monagas M y Bartolomé B, 2009; Castagnino C, et. al., 1996).

Imagen 23. Estructura química del castvinol C3.

En el contenido de cenizas, azúcares reductores directos, gravedad específica y, por consecuencia, cantidad de alcohol no se encontraron diferencias significativas en el vino después de su maduración en la botella y de haber aplicado los distintos tratamientos. Esto concuerda con lo reportado por Gómez MA, et. al., (2015) en un estudio que realizaron en vinos tintos elaborados con uvas de la variedad Moravia Agria los cuales fueron madurados con diferentes cantidades de chips (3 y 6 g/L).

Con lo que respecta a los polifenoles totales, se encontró diferencia para el factor cantidad de chips y los resultados indican que se obtiene una mayor cantidad de polifenoles totales en los vinos al añadir los chips en una concentración de 3 g/L que en aquéllos que se agregan a una concentración de 1g/L. Esto es debido a que la cantidad de madera añadida al vino afecta las características químicas del vino, especialmente su composición fenólica y su composición de volátiles relacionados con la madera (Chira K, Telssedre PL, 2014). En cuanto al factor tiempo de contacto la prueba estadística no arrojó ninguna diferencia significativa; esto es, de acuerdo a lo obtenido, se obtiene la misma concentración de polifenoles totales en los vinos obtenidos después de someterlos al contacto con los chips de madera durante 21, 28 o 35 días. Esto posiblemente a que antes de los 21 días se llega al equilibrio químico entre los chips y el vino. En cuanto a la combinación de ambos factores en cada uno de sus distintos niveles, es decir los tratamientos, no se encontraron diferencias entre ellos lo cual indica que la cantidad de polifenoles totales no varía entre los vinos obtenidos después de aplicar cualquiera de los tratamientos antes mencionados. No obstante, sí existió un incremento significativo en los vinos después de aplicar los tratamientos 1, 3, 4, 5 y 6 respecto del control, lo cual se explica por los compuestos fenólicos extraídos de los

chips de madera, de los cuales se liberan compuestos fenólicos que al final afectan el contenido de éstos en el vino (Chira K, Telssedre PL, 2014).

Compuestos volátiles

Identificación de los compuestos volátiles

La identificación de los compuestos volátiles, tanto los varietales como aquéllos extraídos de los chips de madera, se hizo por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS); y la extracción se realizó mediante el empleo de la técnica de microextracción en fase sólida, SPME por sus siglas en inglés. Para la extracción se aplicaron dos condiciones de temperatura y tiempo de extracción diferentes.

Preparación de la muestra y extracción de los compuestos volátiles

En viales transparentes de 11 mL con tapas acondicionadas para septo se colocaron 2.5 mL de vino rosado, 2.5 mL de agua desionizada, 0.8 g de NaCl y una barra magnética. Estos viales fueron cerrados con cinta teflón y con septos de PTFE/silicón de 13 mm (Chromatography Research Supplies, Inc.). El vial tapado fue introducido en un baño de agua a 30 °C, se aplicó agitación a 1200 rpm y se dejó un tiempo de equilibrio de 5 minutos. Posteriormente se introdujo una fibra PDMS/DVB/CARBOXEN, acondicionada de acuerdo a lo indicado por el fabricante (Supleco, Bellafonte, PA), y se mantuvo por 30 minutos la extracción (Imagen 24). Cada una de las muestras se extrajo también a 40 °C durante 60 min; para éstas la agitación y el tiempo de equilibrio fueron los mismos que aquéllos aplicados en las condiciones previamente mencionadas. Una vez transcurrido el tiempo de extracción se retrajo la fibra dentro de la aguja que contiene la fibra (holder) e inmediatamente fue desorbida en el inyector del GC durante 10 minutos. Bajo estas condiciones se analizaron, además del control y los vinos obtenidos mediante los seis distintos tratamientos, dos vinos rosados comerciales Cabernet Sauvignon: L.A. Cetto (nacional) y Antares (chileno). Esto con el fin de realizar una comparación entre el vino obtenido en este experimento y algunos de los que se ofrecen en el mercado; dos en este caso.



Imagen 24. Extracción de los compuestos volátiles del vino.

Cromatografía de gases-Espectrometría de masas (GC-MS)

Para el análisis se empleó un cromatógrafo de gases HP 5890 (Imagen 25), acondicionado con un detector MS HP5971; una columna Zebron ZB5 de 30 m de longitud, 0.25 mm de diámetro interno y 0.25 μm de espesor de la fase estacionaria. Se empleó helio como gas acarreador con un flujo de 1 mL/min. La temperatura del inyector fue de 250 °C, la línea de transferencia de 280 °C y se empleó una rampa de temperatura del horno comenzando en 40 °C, la cual se mantuvo durante un minuto; el incremento de temperatura fue a razón de 5°C/min hasta 185 °C para tener una duración total de la corrida de 30 min. Cabe mencionar que por razones de protección del detector, éste se programó con un tiempo de solvent delay de 8 min por lo que no se identificaron aquellos compuestos cuyo tiempo de elución fuera menor a éste. La caracterización de los compuestos se realizó mediante la biblioteca G1701DA MSD Chem Station Build D. 00. 00. 38 Standard MSD Version. La identificación del 1-nonanol y el 1-dodecanol se realizó con la inyección de estándares.



Imagen 25. Cromatógrafo de gases HP 5890 con detector MS HP5971.

Análisis estadístico

Para verificar si las diferencias existentes en las abundancias obtenidas para los distintos compuestos eran significativas, los datos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) con el paquete estadístico NCSS 2007/GESS 2006 (Version 0.7.1.21). Y de obtenerse una significancia, los datos eran también analizados mediante la prueba de comparación múltiple de Tukey-Kramer para determinar entre qué muestras de vino existían tales discrepancias. Cabe mencionar que tanto para los ANOVAS como para las pruebas de comparación múltiple se empleó un α de 0.05. Debido a que el análisis realizado fue meramente cualitativo, y no cuantitativo, las abundancias obtenidas para los compuestos se reportaron como áreas relativas. Para esto se tomó el dato mayor de cada compuesto y se le dio arbitrariamente el valor de 100%, y con base en éste se asignó el porcentaje proporcional a los demás valores. Esto se hizo con la finalidad de visualizar de mejor manera las proporciones de cada muestra en el contenido de los compuestos volátiles ya que no se pudieron calcular las concentraciones de los mismos.

Resultados

El análisis fisicoquímico y el de volátiles estaba programado hacerse al mismo tiempo, pero lamentablemente por cuestiones de mantenimiento del cromatógrafo con detector de masas esto no fue posible. Por lo que, primero se efectuaron los análisis fisicoquímicos y dos meses después el estudio de los compuestos volátiles. Esto seguramente provocó la pérdida de volátiles en los vinos experimentales; entre éstos, aquéllos correspondientes a los aromas varietales propios de Cabernet Sauvignon así como los que se extrajeron de los chips de madera de roble los cuales les conferían las notas características de torrefacción.

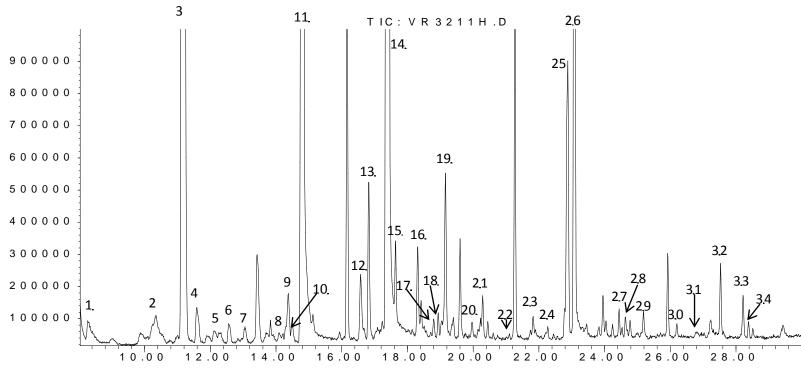
De los 46 compuestos identificados (mostrados en la Tabla 9), 27 de ellos se presentaron en todos los vinos sometidos a la maduración con chips y en el vino control. Entre ellos los más abundantes como el 2-feniletanol, el hexanoato de etilo, el octanoato de etilo, el decanoato de etilo, el succinato de dietilo, el 2-fenilacetato de etilo y la β -damascenona. A pesar de que no se esperaban diferencias en los volátiles correspondientes a los aromas primarios y secundarios, hubo compuestos que no pudieron ser identificados en algunas de las muestras. La geranilacetona no pudo identificarse en el vino madurado durante 35 días con 1 g de chips; el β-linalool, en ninguno de los vinos sometidos a los tratamientos; el 1-(1-etoxietoxi)- pentano sólo se identificó en los vinos madurados durante 1 y 35 días con 3 g de chips así como en el de 21 días con 1 g; la 2nonanona únicamente se detectó en los vinos madurados 21 días con 1 y 3 g de chips; compuestos como el 2,4-bis(1,1-dimetiletil)-fenol y el 3-nonenoato de etilo no lograron ser identificados en los vinos madurados durante 35 días con 3 g de chips; de igual manera, estos dos compuestos, además del 2- furancarboxilato de etilo no se detectaron en el vino control; el 9-decenoato de etilo sólo se detectó en el control y el vino de 3 g y 35 días; el ácido hexanoico sólo en los vinos de 21 y 28 días con 3 g de chips; el ácido octanoico no se identificó en el tratamiento de 21 días y 1 g; y la cis-whisky lactona no se identificó en los vinos de 28 y 35 días con 1 g.

La Imagen 26 es el cromatograma obtenido de la muestra de vino madurado durante 21 días con 3 g de chips. En éste se muestran los picos pertenecientes a los compuestos identificados. Como se observa, el primer compuesto identificado fue la metoxi-fenil oxima (\approx 8.3 min) y el último fue el propanoato de 2-metil-1-(1,1-dimetiletil)-2-metil-1,3-propanedilo (\approx 28.3 min). Asimismo, los compuestos que mostraron los picos más grandes, es decir mayor abundancia, fueron los ésteres hexanoato, octanoato y decanoato de metilo así como el 2-feniletanol y la β -damascenona (picos 3, 14, 26, 11 y 25, respectivamente).

 Tabla 9. Compuestos identificados con las dos condiciones de extracción empleadas

		Extracción: 30 min a 30 °C					Extracción: 60 min a 40 °C												
		1 g	de ch	nips	3 g	de ch	ips		Sin chip)S	1 2	de ch	ips	3 g	de cl	nips		Sin chip	os
t de ret. (min)	COMPUESTOS VOLÁTILES	21	28	35	21	28	35	СТ	ANT	CET	21	28	35	21	28	35	СТ	ANT	CET
	ALCOHOLES																		
12.13	2-etil-1-hexanol	Х	Х	х	х	х	Х	х	х		х	х	х	Х	Х	х	х	х	
15.02	2-feniletanol	х	Х	х	х	х	х	х	х	Х	Х	Х	х	х	х	х	Х	Х	х
16.79	1-nonanol	х	х	х	х	х	х	х			Х	х	х	х	х	х	х		х
25.22	1-dodecanol								х	х	Х	Х	х	х	х	х	х	Х	х
26.18	2,4-bis(1,1-dimetiletil)-fenol										х	х	х	х	х			х	
	ÉSTERES																		
12.90	2-furancarboxilato de etilo								х	х	х	х	х	х	х	х		Х	х
28.38	Propanoato de 2-metil-1-(1,1-dimetiletil)-2-metil-1,3- propanedilo			х	х					х	х	х	х	х	х	х	х	х	х
11.35	Hexanoato de etilo	Х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	Х	х	х	х	Х
11.71	Acetato de hexilo	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х
12.61	(E)-2-hexenoato de etilo	Х	х	х	х	х	Х	х	х	х	Х	Х	х	х	Х	х	х	Х	Х
14.41	Heptanoato de etilo	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х			х
17.05	Succinato de dietilo	х	х	х	х	х	х	х	Х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х
15.15	Octanoato de metilo								х	х									х
17.62	Octanoato de etilo	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х
19.07	Hexanoato de isopentilo	Х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х
19.22	Acetato de 2-feniletilo	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х
20.50	Nonanoato de etilo	х	х	х			х	х		х	х	х	х	х	х	х	х		х
20.22	3-nonenoato de etilo										х	х	х	х	х				
22.98	9-decenoato de etilo			х			х	х	х	х								Х	х
21.08	Decanoato de metilo									х									х
23.24	Decanoato de etilo	х	х	х	х	х	х	х	Х	Х	х	х	х	х	х	х	х	Х	х
21.74	Octanoato de 2-metilpropilo	-		Х			х	Х	Х	Х	Х	Х	х	х	х	Х			Х
24.44	octanoato de 3-metilbutilo	х	х	Х	х	х	х	х	X	х	Х	х	х	х	х	Х	х	х	х
21.82	Hidrocinamato de etilo							Х			Х	Х	х	Х	Х	х	х		X
28.35	Dodecanoato de etilo	х	х	х	х	х	х	X	х	х	X	X	х	X	X	X	X	Х	х
18.80	Fenilacetato de etilo							Х	X	X	X	X	х	х	X	X	х	Х	X
26.85	3-hidroxi-tridecanoato de etilo										X	X	X	X	X	X	X		
19.82	Glutarato de dietilo												_ ~					х	х
13.02	ÁCIDOS CARBOXÍLICOS																	_ ^	^
10.81	Ácido hexanoico			х	х	х			х										
16.96	Ácido octanoico			X	X	X	х	х	_ ^			х	х	х					х
10.50	TERPENOS			^	^	^		^				^	^	^					
18.31	3,7-dimetil-6-octen-1-ol (B-citronellol)	х	Х	Х	х	Х	Х	Х			Х	х	х	Х	Х	х	х		х
27.53	Nerolidol			X	X		^					X					X		
14.36	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl- (B-linalool)	X	Х	X	, X	Х		X	v	v	Х	X	Х	Х	Х	X		v	X
14.30	ALDEHÍDOS								X	Х							Х	Х	X
14.49		V	v	v	v	v		v			v	v	v	v	v	v	v	v	V
17.62	Nonanal Decanal	X	Х	X	Х	Х	,	X			X	X	X	X	X	X	X	Х	Х
		Х		X			Х	X	v		X	X	Х	Х	Х	Х	X	v	
9.88	Benzaldehído CETONAS								Х									Х	
21.00																			
21.09	cis- 5-butildihidro-4-metil-2(3H)-furanona (cis-whisky lactona)					Х					Х			Х	х	Х			
23.13	B-damascenona	Х	Х	Х	Х	Х	х	Х			Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х		
24.63	Geranilacetona									Х	Х	Х		Х	Х	Х	Х	Х	Х
14.30	2-nonanona							х		х	х			х			х		х
	OTRAS MOLÉCULAS																		
10.47	1-(1-etoxietoxi)- pentano										х			х		х	х		
22.12	1,2-dihidro-1,1,6-trimetilnaftaleno								Х	х	Х							Х	х
8.31	Metoxi-feniloxima	х	х	х	х	х			х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х
	TOTAL DE COMPUESTOS IDENTIFICADOS	21	20	26	22	22	21	26	24	26	35	32	31	35	32	31	29	27	34

Abundance



T im e -->

1	Metoxi-feniloxima	8	2-nonanona	15	Decanal	22	cis-whisky lactona	29	1-dodecanol
2	1-(1-etoxietoxi)- pentano	9	Heptanoato de etilo	16	B-citronellol	23	Octanoato de 2-metilpropilo	30	2,4-bis(1,1-dimetiletil)-fenol
3	Hexanoato de etilo	10	Nonanal	17	Fenilacetato de etilo	24	Hidrocinamato de etilo	31	3-hidroxi-tridecanoato de etilo
4	Acetato de hexilo	11	2-feniletanol	18	Hexanoato de isopentilo	25	B-damascenona	32	Nerolidol
5	2-etil-1-hexanol	12	1-nonanol	19	Acetato de 2-feniletilo	26	Decanoato de etilo	33	Dodecanoato de etilo
6	(E)-2-hexenoato de etilo	13	Succinato de dietilo	20	3-nonenoato de etilo	27	octanoato de 3-metilbutilo	34	Propanoato de 2-metil-1-(1,1-dimetiletil)-2-
7	2-furancarboxilato de etilo	14	Octanoato de etilo	21	Nonanoato de etilo	28	Geranilacetona		metil-1,3-propanedilo

Imagen 26. Cromatograma iónico total del vino rosado madurado durante 21 días con 3 g de chips.

Sumando los resultados conseguidos con ambas condiciones de extracción y considerando los vinos obtenidos mediante los 6 diferentes tratamientos, el control y los dos vinos comerciales, en total se lograron identificar 43 compuestos: 5 alcoholes, 23 ésteres, 2 ácidos carboxílicos, 3 terpenos, 3 aldehídos, 4 cetonas, 1 acetal [1-(1-etoxietoxi)- pentano], 1 oxima y 1 hidrocarburo aromático (1,2-dihidro-1,1,6-trimetilnaftaleno). Comparando ambas condiciones, pudieron identificarse una mayor cantidad de compuestos realizando la extracción a 40 °C durante 60 minutos. Al incrementar 10 °C la temperatura y 30 minutos el tiempo de extracción, respecto de las otras condiciones indicadas, se favoreció la volatilización y la identificación de compuestos menos volátiles, es decir con un mayor punto de ebullición. Compuestos tales como el 1dodecanol, el 2,4-bis-(1,1-dimetiletil)-fenol, el propanoato de 2-metil-1-(1,1-dimetiletil)-2-metil-1,3-propanedilo, el nerolidol, el 3-hidroxitridecanoato de etilo y la geranilacetona se extrajeron de mejor manera a las condiciones mencionadas. Asimismo, con estas condiciones se favoreció la extracción e identificación de compuestos cuya concentración en las muestras de vino era baja tales como el 2-furancarboxilato de etilo, el hidrocinamato de etilo, el fenilacetato de etilo, el nonanal, el decanal y la cis-whisky lactona. Por otro lado, bajo estas condiciones también se incrementó la adsorción en la fibra de compuestos como el octanoato de etilo, la β-damascenona y el heptanoato de etilo; y con esto se dificultó la identificación del ácido octanoico, el 9decenoato de etilo y el β-linalool debido a que éstos coeluyen con los primeros compuestos mencionados, en el mismo orden que se indicó. De igual manera, el ácido hexanoico coeluye con el 1-(1-etoxietoxi)- pentano lo que también dificultó su identificación. Por lo ya señalado, la identificación de éstos compuestos fue mejor empleando una extracción a 30 °C durante 30 minutos.

En la Tabla 10 se expresan las áreas relativas de los compuestos que pudieron extraerse e identificarse empleando las dos condiciones de extracción. En ésta, para tener una referencia más clara en cuanto a proporciones de extracción, se emplearon porcentajes de áreas tal y como se detalló previamente. Los resultados revelaron, en general, que en las muestras de vino analizadas se logró una mayor extracción de la mayoría de los compuestos empleando 40 °C de temperatura y 60 minutos de extracción. Únicamente el hexanoato de etilo y el acetato de hexilo mostraron mejores resultados en la extracción realizada a 30 °C durante 30 minutos. De igual forma el vino control reportó mejores resultados cuando se emplearon éstas últimas condiciones.

Tabla 10. Áreas relativas de los compuestos que se extrajeron e identificaron bajo las condiciones empleadas

	1 g de chips					3 g de chips					Control		Vinos comerciales					
	21	días	28	días	35 (días	21	días	28	días	35	días			Ant	ares	Ce	tto
	30 °C Área relativa (%)	40 °C Área relativa (%)																
ALCOHOLES																		
2-etil-1-hexanol			83.26	100					100	97.97					100	78.88		
2-feniletanol	63.12	100	46.12	100	66.04	100	100	88.55	57.64	100	100	81.56	100	76.98	84.67	100	89.09	100
1-nonanol	38.34	100	32.12	100	48.40	100							100	76.03				
1-dodecanol															32.37	100	54.31	100
ÉSTERES																		
2-furancarboxilato de etilo															68.67	100	48.19	100
Propanoato de 2-metil-1-(1,1- dimetiletil)-2-metil-1,3-propanedilo					74.39	100	63.85	100									87.59	100
Hexanoato de etilo	100	85.25	100	81.34	100	66.68	100	85.92	100	83.09	100	29.19	100	24.11	100	60.96	100	69.69
Acetato de hexilo	100	67.60	100	87.26	100	63.47	100	73.76	100	74.41	100	24.27	100	20.92	100	75.91		
(E)-2-hexenoato de etilo	82.14	100	70.09	100	100	96.12	70.25	100	100	63.60	100	25.91	100	15.20	90.47	100	100	92.55
Heptanoato de etilo			15.94	100	92.72	100			67.49	100	65.28	100					100	62.75
Succinato de dietilo	54.45	100	24.58	100	35.93	100	40.63	100	44.77	100	100	57.64	100	17.05	100	93.66	93.82	100
Octanoato de metilo																	91.62	100
Octanoato de etilo	70.21	100	62.07	100	90.48	100	61.03	100	60.70	100	100	51.20	100	45.29	100	85.94	89.92	100
Hexanoato de isopentilo	54.45	100	37.32	100	68.49	100	51.43	100	42.65	100	100	48.64	100	28.82			63.83	100
Acetato de 2-feniletilo	27.52	100	32.16	100	26.03	100	15.72	100	19.09	100	85.72	100	72.92	100	46.24	100	31.76	100
Nonanoato de etilo	100	98.52	71.03	100	100	83.89					100	63.83	100	45.89			67.85	100
Decanoato de etilo	48.44	100			54.98	100	29.30	100	32.11	100	69.01	100	100	57.55	90.62	100	72.89	100
Octanoato de 2-metilpropilo					46.29	100											48.75	100
octanoato de 3-metilbutilo	42.02	100	29.66	100	68.66	100	38.20	100	34.26	100	100	61.54	100	30.68	66.99	100	64.80	100
Hidrocinamato de etilo													100	35.28				
Dodecanoato de etilo	36.33	100	24.25	100	40.94	100	25.10	100	67.49	100	93.41	100	100	60.28	89.40	100	98.98	100
Fenilacetato de etilo													100	49.67	35.90	100	28.88	100
9-decenoato de etilo															47.64	100	65.59	100
ÁCIDOS CARBOXÍLICOS																		
Ácido octanoico					100	12.94	100	29.49										
TERPENOS																		
3,7-dimetil-6-octen-1-ol (B-citronellol)	43.64	100	27.60	100	50.04	100	37.37	100	32.33	100	99.18	100	88.05	100				
(E)-3,7,11-trimetil- 1,6,10-dodecatrien- 3-ol (Nerolidol)	42.97	100	26.42	100	37.81	100	19.21	100	32.06	100			100	42.32				
3, 7-dimetil-1,6-Octadien-3-ol (B-															100	58.71	100	75.97

linalool)																		
ALDEHÍDOS																		
Nonanal	80.64	100	63.98	100	90.49	100	62.87	100	52.83	100			100	38.44				
Decanal	63.65	100			100	87.41					82.48	100	100	45.22				
Benzaldehído															100	83.74		
CETONAS																		
cis- 5-butildihidro-4-metil-2(3H)-									36.28	100								
furanona (cis-whisky lactona)																		
B-damascenona	56.15	100	22.45	100	23.82	100	26.71	100	27.11	100	55.41	100	98.48	100				
(E)- 6,10-dimetil-5,9-undecadien-2-ona																	45.65	100
(Geranilacetona)																		
2-nonanona													100	61.48			99.82	100
OTRAS MOLÉCULAS																		
1,2-dihidro-1,1,6-trimetilnaftaleno															93.45	100	55.41	100
Metoxi-feniloxima	30.13	100	9.60	100	48.93	100	100	74.08	7.23	100					26.89	100	82.27	100

Compuestos primarios, secundarios y terciarios.

Como es muestra en la Tabla 11, del total de compuestos identificados en las muestras de vino, 18 de ellos están reportados como propios de la variedad Cabernet Sauvignon, 24 son producidos durante la fermentación y sólo cinco están clasificados como compuestos de maduración; aunque también algunos ésteres pueden llegar a formarse durante esta etapa. Cabe señalar que el acetato de 2-feniletilo, el hidrocinamato de etilo y el fenilacetato de etilo están reportados como aromas varietales y también como de fermentación. Asimismo, el nonanal y el decanal están reportados como aromas primarios y terciarios o de maduración. En la misma tabla se muestran los compuestos ya clasificados como aromas primarios o varietales, secundarios o de fermentación y terciarios o de maduración, así como el olor con el que están asociados algunos de ellos (Jiang B, Zhang Z, 2010; Xu Xiao- Qing, et. al., 2015; Canuti V, et. al., 2009; citado por Bakker J, Clarke RJ, 2012).

Tabla 11. Volátiles identificados y olor al que están asociados (Jiang B, Zhang Z, 2010; Xu XQ, et. al., 2015; Canuti V, et. al., 2009; citado por Bakker J, Clarke RJ, 2012).

Olor						
Frutal						
Floral, miel, especias, lilas						
Desagradable a alta concentración; floral a baja concentración.						
Queso, rancio, grasa						
Queso, rancio, grasa						
Limón						
Frutal, cítricos						
Verde, ligeramente pungente						
Cítrico, jabón						
Frutal, miel						
Floral						
Floral, verde						
Rosas, miel, tabaco						
Floral, polen						
Manzana verde, frutal, anís						

Acetato de hexilo	Frutal, pera
(E)-2-hexenoato de etilo	
Heptanoato de etilo	Frutal, chabacano
Succinato de dietilo	Ligeramente frutal
Acetato de 2-feniletilo	Rosas, miel, tabaco
Hidrocinamato de etilo	Floral, polen
Fenilacetato de etilo	
Octanoato de metilo	Cítricos
Octanoato de etilo	Piña, pera, floral
Hexanoato de isopentilo	Plátano, frutal
Nonanoato de etilo	Afrutado, nueces
Decanoato de etilo	Frutal
3-nonenoato de etilo	
9-decenoato de etilo	
Decanoato de metilo	
Octanoato de 2-metilpropilo	
Dodecanoato de etilo	Frutal, floral, grasa
3-hidroxi-tridecanoato de etilo	
Glutarato de dietilo	
1,2-dihidro-1,1,6-trimetilnaftaleno	
De maduración (terciarios)	
cis- 5-butildihidro-4-metil-2(3H)-furanona (cis-whisky lactona)	Nuez de coco, resina
Nonanal	Verde, ligeramente pungente
Decanal	Cítrico, jabón
1-(1-etoxietoxi)- pentano	Herbáceo
Benzaldehído	Almendras

Entre los compuestos varietales identificados en los vinos analizados se encuentran el β -linalool, el β -citronellol y el geraniol que son tres de los alcoholes monoterpenos libres más comúnmente encontrados en las uvas (Rapp A, 1998; Mateo JJ y Jimenez M, 2000). De éstos, los dos primeros se encuentran presentes en toda la uva mientras que el tercero mencionado se concentra en el hollejo de ésta. Su producción depende de la síntesis de precursores C_{10} y C_{15} los cuales son, a su vez, derivados C_5 de precursores del isopreno, isopentil pirofosfato (IPP) y dimetilalil pirofosfato (DMAPP), cuya producción en la uva puede ser a través de dos rutas metabólicas: la ruta del mevalonato (MVA), que se lleva a cabo en el citosol y produce IPP a partir de tres moléculas de acetil-CoA y éste puede ser isomerizado a DMAPP (Dunlevy JD, *et. al.*, 2009); y la ruta alterna que es la del metil-eritritol fosfato (MEP), la cual inicia con la condensación del piruvato y el gliceraldehído-3-fosfato para producir desoxixilulosa-5-fosfato y después de una serie de reacciones catalizadas por enzimas se produce una mezcla de IPP y DMAPP. La formación final de los terpenos depende de la presencia de las enzimas que catalizan esa reacción, las terpenoide sintasas (Rodriguez-Concepcion, *et. al.*, 2002). Otro varietal identificado es la β -damascenona, una

cetona que puede clasificarse también como norisoprenoide o apocarotenoide. La biosíntesis de ésta, así como de otros norisoprenoides, inicia con la producción de carotenoides cuya síntesis comienza, a su vez, como la de otros isoterpenoides, con la condensación consecutiva de unidades de IPP y DMAPP con lo cual se forma fitoeno el cual después de una serie de reacciones de desaturación forma el licopeno no cíclico y después éste pasa a cíclico. Éste último, tras la acción de enzimas ciclasas, se transforma en α -caroteno o β -caroteno. Del β -caroteno se produce zeaxantina; de ésta, por una serie de reacciones epoxidantes, se genera violaxantina la cual es convertida, después, en neoxantina (Dunlevy JD, et. al., 2009); de la escisión de ésta se produce un compuesto conocido como grasshopper cetona y de su modificación química se producen la βdamascenona y otros norisoprenoides (Puglisi, et al. 2001; Puglisi, et al. 2005). Este proceso se lleva a cabo en los plástidos celulares de las uvas (Dunlevy JD, et. al., 2009). Dentro de los volátiles varietales también se identificaron algunos compuestos aromáticos (químicamente hablando) que fueron el 2-feniletanol, el acetato de 2-feniletilo, el hidrocinamato de etilo y el fenilacetato de etilo. Se cree que la biosíntesis de la mayoría de éstos en las especies vegetales deriva de la ruta del ácido shikímico el cual es sintetizado a partir de la eritrosa-4-fosfato (E4P) y del fosfoenol piruvato (PEP). El ácido shikímico experimenta la adición de una segunda molécula de PEP seguido de la eliminación de una molécula de ácido fosfórico lo cual da como producto al corismato, un precursor de muchos compuestos aromáticos (Dunlevy JD, et. al., 2009). Por otro lado, la fenilalanina es convertida a E-ácido cinámico (Seigler, 1995), predecesor de compuestos aromáticos voláitles y de otros metabolitos como los ácidos cafeíco, ferúlico y sinápico (Humphreys, et al., 2002). Sin embargo, se cree que los compuestos aromáticos volátiles que tienen una cadena de 2 carbonos, tales como el 2-feniletanol, no derivan del ácido cinámico sino de una ruta alterna para la fenilalanina (Boatright, et al., 2004). Además de los terpenos y los compuestos aromáticos ya mencionados, también se detectaron compuestos volátiles alifáticos (2-etil-1-hexanol, 1-nonanol, 1-dodecanol, ácido hexanoico, ácido octanoico, nonanal, decanal y 2nonanona) los cuales se originan de la oxidación de los ácidos grasos y de la degradación de los aminoácidos (Schwab W, et al., 2008). De éstos predominan los aldehídos y alcoholes de cadena corta que pueden o no estar ramificados aunque ocasionalmente se detectan ésteres (como el octanoato de 3-metilbutilo, el acetato de 2-feniletilo, el hidrocinamato de etilo y el fenilcetato de etilo, en este caso), pero se encuentran en bajas concentraciones, lo que representa un mínimo impacto en el sabor y olor (Schreier P, 1979). La ruta biosintética de los compuestos alifáticos volátiles no ha sido estudiada a fondo en la uva pero se asume que es similar a otros frutos; es decir, a través de la ruta de la polioxigenasa (Gardner HW, 1991; Salas JJ, *et al.*, 2000), la cual involucra el rompimiento enzimático de los ácidos linoleico y linolénico para producir aldehídos y oxo-ácidos C₆, C₉ y C₁₂ (Dunlevy JD, *et. al.*, 2009). Y los aldehídos pueden después ser reducidos a alcoholes (por la enzima alcohol deshidrogenasa) y esterificados (por la alcohol aciltransferasa) usualmente en presencia de ácidos carboxílicos de cadena corta tales como el ácido acético (Chkaiban L, *et al.*, 2007).

De los volátiles secundarios identificados en los vinos analizados, 23 son ésteres. Y está reportado que la mayoría de este tipo de compuestos presentes en el vino son producidos por las levaduras durante la fermentación alcohólica y pueden tener un efecto significativo en el sabor afrutado del mismo; algunos de los más significativos son (además de uno de los más abundantes como el acetato de etilo) el acetato de 2-feniletilo y el hexanoato de etilo, entre otros (Thurston PA, et. al., 1981). La producción de ésteres en las levaduras es a través del metabolismo de los lípidos y acetil-CoA, o bien por esterificación química entre alcoholes y ácidos durante la maduración del vino (Lambrechts MG, Pretorius IS, 2000); pero en este caso quedarían clasificados como aromas terciarios. Las cepas de levadura comercial de Saccharomyces Cerevisiae producen cantidades variables de ésteres tales como el acetato de isoamilo, acetato de hexilo, hexanoato de etilo y octanoato de etilo los cuales tienen un potencial impacto en el perfil aromático de los vinos (Lambrechts MG, Pretorius IS, 2000; Marais J, 2001); sin embargo, algunas cepas distintas a Saccharomyces también pueden contribuir a la producción de ésteres (Rojas V, et. al., 2003). En cuanto a la metoxi-feniloxima, fue reportada por Meng J, et. al. (2011) y por Zhang M, et. al. (2007) como parte de los componentes volátiles identificados en vinos elaborados con Cabernet Sauvignon; sin embargo, se cree que este compuesto se origina del pegamento que es usado para unir la fibra de extracción al émbolo (Grimm CC, et. al., 2002). Respecto a los aromas terciarios, el nonanal y el decanal, además de estar reportados como aromas varietales para Cabernet Sauvignon, también pueden resultar de la oxidación del nonanol y el decanol, respectivamente, durante el proceso de maduración. Asimismo, el 1-(1-etoxietoxi)- pentano es formado a partir de la reacción del pentanal con el etanol en esta misma etapa. De igual forma, el benzaldehído se forma a partir de la oxidación del alcohol bencílico (citado por Bakker J, Clarke RJ, 2012). Por su parte, la cis-whisky lactona es un compuesto extraído de los chips de madera de roble y, junto con su isómero trans, es uno de los principales componentes de la fracción extraíble de la madera de roble (Chatonnet 1998). Y fue este primero el único compuesto de torrefacción detectado en algunos de los vinos; por lo que, compuestos como el furfural, guayacol, vainillina, *trans*-whisky lactona, entre otros, no pudieron ser identificados bajo las condiciones trabajadas.

La *cis*-whisky lactona (Imagen 27) se identificó en todos los vinos madurados con 3 g de chips y en el que se maduró durante 21 días con 1 g (Tabla 12), y fue el vino de 28 días con 3 g de chips aquél que tuvo una mayor concentración de este compuesto; en contraparte, fue el vino de 3 g y 35 días el que presentó un menor contenido de éste. Sin embargo no es posible asegurar que las diferencias existentes se deban a la aplicación de los distintos tratamientos debido a que, como se mencionó previamente, las botellas se abrieron un par de meses antes de realizar estos análisis.

Tabla 12. Áreas relativas del contenido de cis-whisky lactona

Vino	Área relativa	p-value
1 g/21 días	55.2 ^b	
3g/ 21 días	37.8 ^b	10.001
3g/ 28 días	100ª	<0.001
3g/ 35 días	15.5 ^c	

CH₃

Punto de ebullición: 93-94 °C; insoluble en agua.

Imagen 27. Estructura química de la cis-whisky lactona (s. a. Chemical book).

Compuestos volátiles identificados en los vinos obtenidos de los tratamientos con los chips.

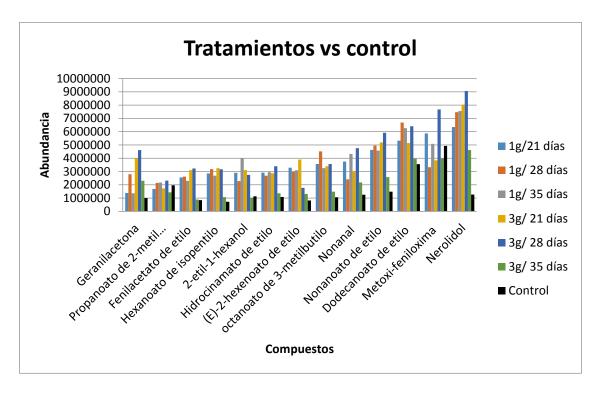
Un total de 30 compuestos fueron identificados en todos los vinos sometidos a los distintos tratamientos (éstos, así como sus áreas relativas, se detallan en las Tablas 13 y 14). En la Tabla 13 se observa que para el factor chips hubo diferencia significativa en 7 de los compuestos; y 6 de ellos mostraron una mayor abundancia en los vinos madurados con un gramo de chips. Para el otro factor se presentaron diferencias en 17 compuestos y fueron los vinos madurados con los chips durante 28 días los que mostraron una mayor abundancia en 10 de los 17 referidos; en contraparte, fue el tiempo de maduración de 35 días aquél en el cual se obtuvo una menor concentración en éstos volátiles. Por otro lado, y como se muestra en la tabla 14, hubo diferencia entre las muestras analizadas en las concentraciones de 14 de los compuestos reportados. Los vinos madurados durante 21 y 28 días con 3 g de chips fueron los que reportaron las mayores abundancias al momento de considerar todos los compuestos y prácticamente no mostraron diferencia entre sí, salvo en el 3-nonenoato de etilo del cual los primeros tuvieron una mayor abundancia. En el caso contrario, el tratamiento de con 3 gramos de chips y 35 días de maduración reflejó las concentraciones más bajas.

Tabla 13. Reporte del análisis estadístico de los factores.

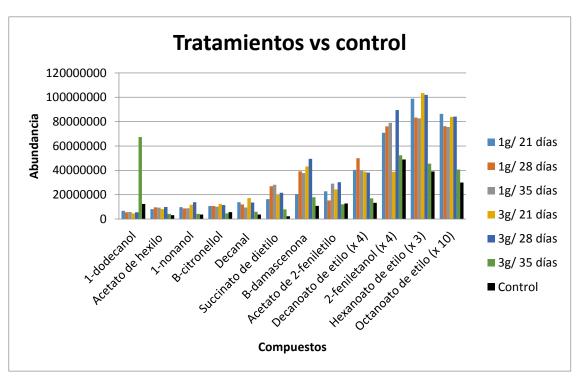
		Chips		Días					
Compuesto	1 g	3 g	p-value	21	28	35	p-value		
Hexanoato de etilo	100	94.8	-	100°	91.6ª	63.4 ^b	<0.001		
Acetato de hexilo	100°	82.2 ^b	0.025	84.0 ^{ab}	100°	70.0 ^b	0.013		
2-etil-1-hexanol	100	87.9	-	100 ^a	83.6 ^{ab}	61.1 ^b	0.018		
(E)-2-hexenoato de etilo	100	74.5	-	100	66.2	61.4	-		
2-furancarboxilato de etilo	85.7	100	-	74.5 ^b	100°	62.8 ^b	0.005		
Heptanoato de etilo	100	69.2	-	100 ^a	60.5 ^{ab}	50.6 ^b	0.022		
Nonanal	100	95.0	-	94.5	100	90.8	-		
2-feniletanol	100	79.9	-	66.2	100	79.3	-		
1-nonanol	91.6	100	-	95.5ª	100°	57.8 ^b	<0.001		
Succinato de dietilo	100°	69.2 ^b	<0.001	74.8	100	74.4	-		
Octanoato de etilo	100°	87.6 ^b	0.01	100°	94.2ª	68.3 ^b	<0.001		
Decanal	95.9	100	-	100 ^a	82.1 ^{ab}	49.8 ^b	0.03		
B-citronellol	100	90.7	-	100°	96.2ª	64.2 ^b	0.006		
Fenilacetato de etilo	100	96.7	-	97.0ª	100°	54.8 ^b	0.002		
Hexanoato de isopentilo	100	85.8	-	96.2ª	100°	59.2 ^b	0.002		
Acetato de 2-feniletilo	100	99.7	-	100	96.7	87.4	-		
3-nonenoato de etilo	100	83.7	-	100°	57.0 ^b	31.5°	<0.001		
Nonanoato de etilo	100	96.6	-	90.4ª	100°	65.9 ^b	0.01		
Octanoato de 2-metilpropilo	100	88.0	-	77.0 ^a	100°	50.8 ^b	0.002		
Hidrocinamato de etilo	100	89.2	-	95.0	100	70.9	-		
B-damascenona	88.2	100	-	71.8	100	62.7	-		
Decanoato de etilo	100°	72.2 ^b	0.001	89.9ª	100°	64.4 ^b	0.003		
Octanoato de 3-metilbutilo	100ª	74.5 ^b	0.006	86.2ª	100°	58.5 ^b	0.003		
Geranilacetona	50.7 ^b	100a	0.003	72.7 ^{ab}	100°	49.4 ^b	0.02		
1-dodecanol	100	75.5	-	100	97.5	81.6	-		
2,4-bis(1,1-dimetiletil)-fenol	80.4	100	-	84.8	100	64.6	-		
3-hidroxi-tridecanoato de etilo	100°	52.7 ^b	0.008	90.6	100	71.2	-		
Nerolidol	98.5	100	-	87.0	100	73.7	-		
Dodecanoato de etilo	100	84.9	-	80.0	100	78.2	-		
Propanoato de 2-metil-1-(1,1-dimetiletil)-2-metil-1,3-propanedilo	100	91.5	-	76.9	100	80.7	-		

Tabla 14. Reporte del análisis estadístico de los tratamientos

	3	g de chip	s	1	g de chip	S	
Compuesto	21 días	28 días	35 días	21 días	28 días	35 días	p-value
Hexanoato de etilo	100°	98.6ª	44.0 ^b	95.5ª	80.5ª	79.9ª	0.002
Acetato de hexilo	83.1ª	100°	43.1 ^b	82.7ª	97.4ª	95.1ª	0.01
2-etil-1-hexanol	100ª	88.6ª	33.0 ^b	93.5ª	73.2 ^{ab}	85.2ª	0.02
(E)-2-hexenoato de etilo	100	45.3	33.8	84.3	76.8	79.4	-
2-furancarboxilato de etilo	69.8ªb	100°	35.4 ^c	49.9 ^{bc}	60.6 ^{bc}	65.4 ^{bc}	0.002
Heptanoato de etilo	100	26.4	45.1	98.7	93.9	55.4	-
Nonanal	63.6	100	45.8	78.9	50.6	90.9	-
2-feniletanol	43.3	100	58.6	79.1	85.2	88.3	-
1-nonanol	85.1 ^{ab}	100°	30.3 ^c	70.5 ^b	63.0 ^b	63.9 ^b	<0.001
Succinato de dietilo	70.9 ^{ab}	76.6 ^{ab}	28.4°	58.2 ^{bc}	95.9ab	100°	0.003
Octanoato de etilo	97.0ª	97.5ª	47.1 ^b	100°	88.2ª	87.5ª	0.001
Decanal	100	78.8	34.6	80.3	69.3	55.1	-
B-citronellol	100°	92.8ª	37.9 ^b	86.3ª	86.3ª	81.7ª	0.001
Fenilacetato de etilo	96.4ªb	100°	27.8 ^c	79.3 ^{ab}	81.1 ^{ab}	71.4 ^b	0.001
Hexanoato de isopentilo	100ª	97.3ª	32.8 ^b	87.8ª	97.8ª	82.6ª	0.01
Acetato de 2-feniletilo	80.4	100	40.2	75.1	50.4	95.8	-
3-nonenoato de etilo	77.1 ^{ab}	58.9 ^{bc}	16.1 ^d	100°	42.0 ^{bcd}	39.8 ^{cd}	0.035
Nonanoato de etilo	87.9ª	100°	43.6 ^b	78.3 ^{ab}	83.8ª	77.5 ^{ab}	0.02
Octanoato de 2-metilpropilo	73.5ª	100°	24.4 ^b	69.4ª	85.7ª	69.8ª	0.01
Hidrocinamato de etilo	84.3	100	40.2	85.8	79.1	86.8	-
B-damascenona	87.2	100	36.3	41.5	79.3	76.2	-
Decanoato de etilo	77.8ª	76.2ª	33.9 ^b	80.6ª	100 ^a	79.5ª	0.02
Octanoato de 3-metilbutilo	75.2	78.9	32.7	78.9	100	71.9	-
Geranilacetona	86.7	100	49.8	30.0	60.5	29.5	-
1-dodecanol	69.6	82.7	51.3	100	82.6	87	-
2,4-bis(1,1-dimetiletil)-fenol	69.3	100	48.4	64.2	57.4	53.4	-
3-hidroxi-tridecanoato de etilo	62.0	32.5	25.3	58.0	100	69.1	-
Nerolidol	88.7	100	51.0	70.1	82.5	83.5	-
Dodecanoato de etilo	77.0	95.9	59.4	79.8	100	93.8	-
Propanoato de 2-metil-1-(1,1-dimetiletil)-2-metil-1,3-propanedilo	75.1	100	61.8	72.9	92.5	93.5	-



Gráfica 8. Volátiles identificados en los vinos obtenidos con los diferentes tratamientos y en el vino control.



Gráfica 9. Volátiles identificados en los vinos obtenidos con los diferentes tratamientos y en el vino control.

En las Gráficas 8 y 9 se muestran los compuestos que tienen en común la totalidad de los vinos madurados en presencia de los chips de madera así como el vino control. En éstos, los compuestos presentes en menor concentración fueron la geranilacetona, el propanoato de 2-metil-1-(1,1dimetiletil)-2-metil-1,3-propanedilo y el fenilacetato de etilo; en contraparte, los de mayor concentración fueron los ésteres octanoato, hexanoato y decanoato de etilo así como el 2feniletanol. Por otro lado, en la Tabla 15 se observa que no se presentó diferencia significativa entre los vinos obtenidos mediante los diferentes tratamientos, ni de estos con el control, en la concentración del (E)-2-hexenoato de etilo, nonanal, 2-feniletanol, acetato de 2-feniletilo, βdamascenona, 1-dodecanol, dodecanoato de etilo y propanoato de 2-metil-1-(1,1-dimetiletil)-2metil-1,3-propanedilo y el fenilacetato de etilo. Asimismo el vino madurado con 3g de chips durante 28 días fue el que presentó las más altas concentraciones para la mayoría de los compuestos y fue también el que más difirió del vino control. Por su parte, este último presentó las concentraciones más bajas para la mayoría de los compuestos y no existió diferencia alguna respecto al vino madurado durante 35 días con 3 g de chips. En cuanto a los vinos madurados con 1 g de chips durante 21, 28 y 35 días así como el de 3g madurado durante 21 días no presentan diferencias significativas en las concentraciones de la mayoría de los compuestos; esto es, son muy similares entre sí.

Tabla 15. Compuestos identificados en las muestras experimentales y en el control

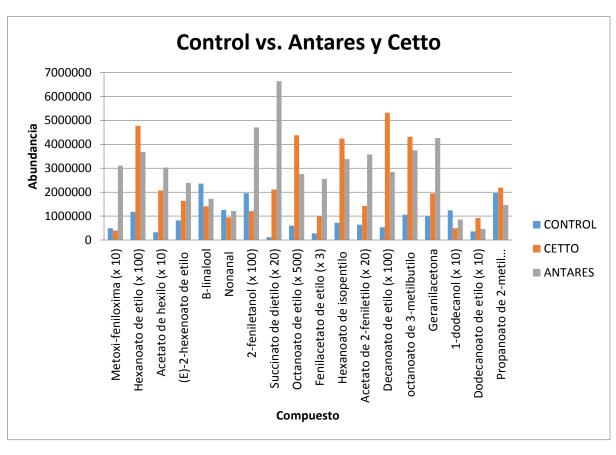
	ÁREAS RELATIVAS (%)											
	1.21	1.28	1.35	3.21	3.28	3.35	CONTROL	P-Value				
Metoxi-feniloxima	15.3 ^b	8.7 ^b	13.3 ^b	10.02 ^b	100ª	10.4 ^b	12.8 ^b	0.011				
Hexanoato de etilo	95.5ª	80.5ª	79.9ª	100°	98.6ª	44.0 ^b	37.7 ^b	<0.001				
Acetato de hexilo	82.7ª	97.4ª	95.1ª	83.1ª	100ª	43.1 ^b	32.6 ^b	<0.001				
2-etil-1-hexanol	72.9 ^{ab}	57.1 ^{bcd}	100 ^a	77.9 ^{abc}	69.1 ^{ab}	25.7 ^d	28.5 ^{cd}	0.002				
(E)-2-hexenoato de etilo	84.3	76.8	79.4	100	45.3	33.8	21.0	-				
Nonanal	78.9	50.6	90.9	63.6	100	45.8	26.4	-				
2-feniletanol	79.1	85.2	88.3	43.3	100	58.6	54.7	-				
1-nonanol	70.5 ^b	63.0 ^b	63.9 ^b	85.1 ^{ab}	100 ^a	30.3 ^c	27.1 ^c	<0.001				
Succinato de dietilo	58.2 ^{bc}	95.9ab	100 ^a	70.9 ^{ab}	76.6 ^{ab}	28.4 ^{cd}	8.3 ^d	<0.001				
Octanoato de etilo	100ª	88.2ª	87.5ª	97.0ª	97.5ª	47.1 ^b	34.7 ^b	<0.001				
Decanal	80.3 ^{ab}	69.3 ^{ab}	55.1 ^{ab}	100°	78.8 ^{ab}	34.6 ^b	21.1 ^b	0.02				
B-citronellol	86.3ª	86.3ª	81.7ª	100°	92.8ª	37.9 ^b	46.1 ^b	<0.001				

Fenilacetato de etilo	79.3 ^{ab}	81.1 ^{ab}	71.4 ^b	96.4 ^{ab}	100°	27.8°	26.0°	<0.001
Hexanoato de isopentilo	87.8ª	97.8ª	82.6ª	100 ^a	97.3ª	32.8 ^b	22.2 ^b	<0.001
Acetato de 2-feniletilo	75.1ª	50.4ª	95.8ª	80.4ª	100 ^a	40.2ª	42.1 ^a	-
Nonanoato de etilo	78.3 ^{ab}	83.8ª	77.5 ^{ab}	87.9ª	100 ^a	43.6 ^{bc}	25.0°	<0.001
Hidrocinamato de etilo	85.8 ^{ab}	79.1 ^{ab}	86.8 ^{ab}	84.3 ^{ab}	100 ^a	40.2 ^{ab}	32.0 ^b	0.021
B-damascenona	41.5	79.3	76.2	87.2	100	36.3	21.7	-
Decanoato de etilo	80.6ª	100°	79.5ª	77.8ª	76.2ª	33.9 ^b	26.5 ^b	<0.001
octanoato de 3-metilbutilo	78.9ª	100°	71.9ª	75.2ª	78.9ª	32.7 ^b	23.4 ^b	<0.001
Geranilacetona	30.0 ^b	60.5 ^{ab}	29.5 ^b	86.7ª	100 ^a	49.8ab	21.7 ^b	0.004
1-dodecanol	54.4	45.0	47.3	37.9	45.0	Dato atípico	100	-
Nerolidol	70.1ª	82.5ª	83.5ª	88.7ª	100 ^a	51.0 ^b	14.0 ^b	0.004
Dodecanoato de etilo	79.8	100	93.8	77.0	95.9	59.4	53.1	-
Propanoato de 2-metil-1- (1,1-dimetiletil)-2-metil-1,3- propanedilo	72.9	92.5	93.5	75.1	100	61.8	84.8	-

Además del análisis de compuestos volátiles realizado a los vinos madurados con chips y el que se maduró sin éstos, y que sirvió como control, se analizaron dos vinos rosados comerciales elaborados con uvas Cabernet Sauvignon; uno fue de la marca L. A. Cetto (Ensenada, Baja California, México) y uno de la marca Antares (D.O. Valle Central, Chile). Esto se hizo con la finalidad de comparar el perfil de volátiles del vino experimental sin chips (control) con algunos de los productos que se ofrecen actualmente en el mercado mexicano. Los resultados (Tabla 16 y Gráfica 10) mostraron que el glutarato de dietilo únicamente se identificó en los dos vinos comerciales; el benzaldehído sólo en el Antares; el decanoato de metilo sólo en el L. A. Cetto; el 3hidroxitridecanoato de etilo, la β-damascenona, el decanal y el 1-(1-etoxietoxi)- pentano sólo fueron identificados en el vino experimental pero, en el caso contrario, en éste no se lograron detectar el 2-furancarboxilato de etilo, el octanoato de metilo y el 1,2-dihidro-1,1,6trimetilnaftaleno, compuestos que sí se presentaron en los dos vinos comerciales. Por otro lado, en el Antares no se detectó el 1-nonanol, el nonanoato de etilo, el hidrocinamato de etilo, el βcitronellol, el nerolidol, la 2-nonanona y el ácido octanoico, los cuales sí se identificaron tanto en el vino experimental como en el vino L. A. Cetto. Y en éste último, el 2-etil-1-hexanol y el 2,4-bis (1,1dimetiletil)-fenol no pudieron ser identificados. En cuanto a la abundancia de los compuestos volátiles que aparecieron en los dos vinos comerciales y en el vino experimental, el vino chileno Antares tuvo una mayor concentración en el (E)-2-hexenoato de etilo, 2-fenil etanol, succinato de dietilo, acetato de 2-feniletilo y la geranilacetona. Y fue precisamente el vino experimental aquél que presentó las menores concentraciones de todos estos compuestos, siendo el succinato de dietilo en el que hubo una mayor diferencia, pues el contenido de éste fue de poco menos del 2% respecto al que presentó el vino Antares. Por otra parte, el vino L. A. Cetto tuvo una mayor concentración de los ésteres octanoato, decanoato y dodecanoato de etilo; de cuyos dos primeros, el vino experimental resultó ser el de menor concentración. Este bajo contenido de volátiles en el vino rosado experimental muy probablemente se debió a que, como se mencionó anteriormente, la botella se abrió aproximadamente dos meses antes de su análisis y se estuvo manipulando continuamente para llevar a cabo las determinaciones fisicoquímicas correspondientes lo cual pudo devenir en la pérdida de los mismos.

Tabla 16. Áreas relativas de los compuestos identificados en los vinos comerciales y el vino control (CTR).

	Í	REAS RELA	TIVAS (%)	
COMPUESTO	CTR	CETTO	ANTARES	p-value
Metoxi-feniloxima	15.9	12.7	100	-
Hexanoato de etilo	24.5 ^b	100 ^a	77.2ª	0.01
Acetato de hexilo	10.6 ^b	68.4 ^{ab}	100°	0.045
(E)-2-hexenoato de etilo	34.3 ^c	68.5 ^b	100°	0.003
B-linalool	100ª	59.6 ^b	72.9 ^{ab}	0.045
Nonanal	100	75.6	96.7	-
2-feniletanol	41.6 ^b	25.6 ^b	100°	0.001
Succinato de dietilo	1.7 ^c	31.8 ^b	100°	0.001
Octanoato de etilo	13.7 ^c	100 ^a	63.0 ^b	0.0001
Fenilacetato de etilo	11.0 ^b	39.1 ^{ab}	100°	0.046
Hexanoato de isopentilo	17.0 ^b	100ª	79.8ª	0.001
Acetato de 2-feniletilo	17.8 ^b	39.7 ^b	100°	0.005
Decanoato de etilo	10.0°	100 ^a	53.5 ^b	<0.001
octanoato de 3-	24.5 ^b	100ª	86.8ª	0.01
metilbutilo				
Geranilacetona	23.5	45.8	100	
1-dodecanol	100ª	39.5 ^b	68.8 ^{ab}	0.047
Dodecanoato de etilo	38.5 ^b	100 ^a	50.1 ^b	0.004
Propanoato de 2-metil	89.7	100	66.8	



Gráfica 10. Abundancia de los compuestos identificados tanto en los dos vinos comerciales como en el vino control.

Evaluación sensorial

Los vinos se evaluaron sensorialmente mediante un análisis descriptivo cuantitativo. Para esto se empleó un panel constituido por siete jueces los cuales fueron inicialmente entrenados para evaluar vino blanco madurado con chips de madera. Para su entrenamiento se empleó un kit de esencias características en los vinos (Le Nez Du Vin, Jean Lenoir, Francia) y se realizaron dos pruebas con vino rosado para generar una lista de descriptores. De estas dos sesiones se obtuvieron un total de 77 atributos (Tabla 17) usados por los jueces para describir los vinos: 10 para el aspecto visual (excepto el color), 28 para el olfativo y 39 para el gustativo. Asimismo se les entregó una carta con 8 tonalidades (Imagen 29, página 88), enumeradas del 1 al 8, empleadas para describir el atributo de color en este tipo de vinos. Una vez obtenida esta lista, se realizó una tercera sesión para generar, de manera consensuada entre todos los jueces participantes, una lista definitiva de los atributos a emplear. Esta lista de atributos, ya depurada, constó de 68 descriptores (5 para el aspecto visual, 28 para el olfativo y 35 para el gustativo), con los cuales se generó el formato para la prueba sensorial de los vinos (incluido en los anexos). En dicha prueba se usó una línea continua de 15 cm para evaluar estos atributos en los vinos de acuerdo a la intensidad con la que eran percibidos (el formato de evaluación se encuentra en la sección de anexos). Esta prueba sensorial se llevó a cabo con el software Fizz. Los datos obtenidos se sometieron a una prueba de ANOVA para identificar de entre los atributos que los jueces calificaron como diferentes, cuáles realmente tenían significancia (ésta prueba se hizo con el paquete estadístico NCSS 2007/GESS 2006 (Version 0.7.1.21). Una vez identificados, a estos descriptores se les realizó la prueba de Análisis Procusteano Generalizado (GPA) para obtener el perfil de compuestos que diferenciaban a cada una de las muestras (para este análisis se empleó el paquete estadístico XLSTAT, versión de prueba).

Tabla 17. Listas generada y depurada de los descriptores para la evaluación de los vinos rosados.

Lista de descriptores generada	Lista de descriptores consensuada	Lista de colores	
Visuales	Visuales		
Brillante	Limpidez	1= Piel de cebolla	
Efervescente	Brillo	2=Salmón	
Presencia de burbujas	Presencia de burbujas	3=Rosado intenso	
Traslúcido	Piernas	4=Rosa carmesí	
Sedimentado	Cuerpo	5=Rosado fuerte	
Cuerpo	Olfativos	6=Rosado claro	
Piernas	Alcohol	7=Blanco con destellos rosados	
Turbio	Almendra	8=Metalizado	
Opaco	Café		
Aceitoso	Ciruela pasa		
Olfativos	Cítricos		
Alcohol	Durazno		
Almendra	Especias		
Café	Levadura		
Ciruela pasa	Tepache		
Cítricos	Floral		
Durazno	Herbáceo		
Especias	Humedad		
Levadura	Ahumado		
Tepache	Madera		
Floral	Mantequilla		
Herbáceo	Manzana		
Humedad	Membrillo		
Ahumado	Pera		
Madera	Sulfuroso		
Mango	Pimiento verde		
Mantequilla	Sidra		
Manzana	Equilibrado		
Membrillo	Uva		
Pera	Vainilla		
Sulfuroso	Vinagre		
Pimiento verde	Moras		
Sidra	Frambuesa		

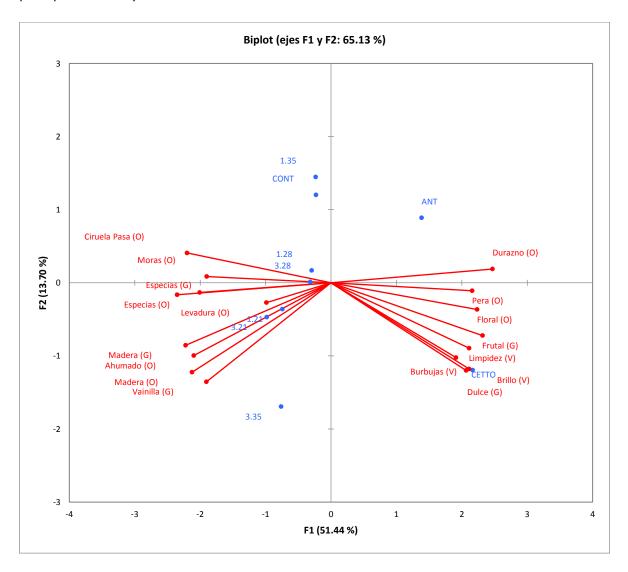
Vinagre I Moras S Frambuesa A Lista de descriptores generada I	Gustativos Alcohol Dulce Salado Amargo Lista de descriptores consensuada Gustativos (aroma en boca,	
Vinagre I Moras S Frambuesa A Lista de descriptores generada I	Dulce Salado Amargo Lista de descriptores consensuada Gustativos (aroma en boca,	
Moras S Frambuesa A Lista de descriptores generada I	Salado Amargo Lista de descriptores consensuada Gustativos (aroma en boca,	
Frambuesa A Lista de descriptores generada I	Amargo Lista de descriptores consensuada Gustativos (aroma en boca,	
Lista de descriptores generada I	Lista de descriptores consensuada Gustativos (aroma en boca,	
	Gustativos (aroma en boca,	
Gustativos (aroma en boca, gustos básicos y sensaciones trigeminales)	gustos básicos y sensaciones trigeminales)	
	Cítricos	
	Agrio	
	Ahumado	
	Ciruela fresca	
	Ciruela pasa	
Dulce F	Fermentado	
Ahumado F	Floral	
Alcohol	Frutal	
Amargo	Herbáceo	
Ciruela fresca	Mantequilla	
Aterciopelado 1	Madera	
Dulce 1	Manzana	
Durazno	Metálico	
Efervescente F	Pera	
Cálido E	Especias	
Fermentado S	Sulfuroso	
Floral	Uva	
Frutal F	Fresa	
Herbáceo E	Equilibrado	
Limón	Sidra	
Madera \	Vainilla	
Mantequilla \	Vinagre	
Manzana L	Levadura	
Metálico Z	Zarzamora	
Pera F	Frambuesa	
Pimienta	Miel	
Clavo	Astringencia	
Salado	Cuerpo	
Sulfuroso	Efervescencia	
Violeta	Calidez en boca	
Uva		

Fresa	
Vainilla	
Vinagre	
Levadura	
Frambuesa	
Zarzamora	
Ciruela pasa	
Miel	
Sidra	

Tabla 18. Lista de atributos significativos y no significativos.

Significativos		No significativos			
Atributo	p-value	Atributo	p-value	Atributo	p-value
Visual		Visual		Gustativo	
Limpidez	0.001	Piernas	0.19	Agrio	0.49
Brillo	0.007	Cuerpo	0.98	Cítricos	0.1
Burbujas	< 0.001	Olfativo		Ahumado	0.17
Olfativo		Alcohol	0.35	Ciruela fresca	0.58
Ciruela pasa	0.001	Almendra	0.12	Ciruela pasa	0.051
Durazno	< 0.001	Cítricos	0.12	Fermentado	0.53
Especias	0.007	Herbáceo	0.58	Floral	0.28
Levadura	0.043	Manzana	0.12	Herbáceo	0.67
Floral	< 0.001	Membrillo	0.078	Manzana	0.14
Ahumado	0.002	Pimiento verde	0.16	Metálico	0.49
Madera	0.001	Sidra	0.31	Pera	0.067
Pera	0.027	Equilibrado	0.052	Uva	0.38
Moras	0.01	Uva	0.79	Fresa	0.06
Gustativo		Vainilla	0.15	Equilibrado	0.1
Dulce	0.023	Vinagre	0.8	Sidra	0.2
Frutal	0.041	Frutos rojos	0.52	Levadura	0.62
Madera	0.002	Frambuesa	0.1	Zarzamora	0.074
Especias	0.006	Gustativo		Frambuesa	0.07
Vainilla	0.031	Alcohol	0.09	Astringencia	0.45
		Ácido	0.73	Cuerpo	0.1
		Salado	0.24	Calidez en boca	0.48
		Amargo	0.19		

Los atributos que aparecen en la Tabla 18 como no significativos son aquéllos con los cuales fueron descritos todos los vinos, incluidos los dos comerciales, pero que en cuanto a intensidad no hubo diferencia significativa entre ellos. Cabe mencionar que los atributos olfativos de café, tepache, humedad, mantequilla y sulfuroso así como los gustativos vinagre, mantequilla, miel, sulfuroso y efervescencia también resultaron no significativos pero fueron excluidos de esta lista debido a que no resultaron ser atributos característicos en ninguno de los vinos, es decir, su percepción fue muy cercana al cero en la línea de intensidad.



Simbología: (O)=Olfativo; (G)=Gustativo; (V)=Visual

Gráfica 11. Mapa del análisis procusteano generalizado (GPA).

En la Gráfica 11 se muestran los diferentes vinos evaluados así como los atributos sensoriales (que resultaron significativos después de la prueba de ANOVA) con los cuales se relacionan. Como se

puede ver, los vinos sometidos a los tratamientos con los chips de madera están relacionados con los atributos olfativos de ciruela pasa, moras, especias, levadura, ahumado y madera; así como con los gustativos de especias, vainilla y madera; sin embargo, no fueron muy altas las intensidades con la que fueron percibidas estos atributos. Los vinos madurados durante 21 días con 1 y 3 g de chips así como el de 3 g y 35 días son los que más se relacionaron con estos descriptores. En contraparte, los vinos madurados durante 28 días con 1 y 3 g de chips, mostraron una menor correlación; pero fueron el vino madurado durante 35 días con 1 g de chips y el control los que mostraron la menor correlación con estos aromas, lo cual se esperaba en este último ya que no fue madurado con chips. En cuanto a los comerciales, el vino L. A. CETTO estuvo altamente relacionado con los aspectos visuales de brillo, presencia de burbujas y limpidez, así como con los aromas de pera y floral además de los atributos gustativos dulce y frutal. Por su parte el vino Antares también estuvo relacionado con el olor a durazno y, en menor medida, con los mismos atributos que el L. A. CETTO. En cuanto a color, todos los vinos experimentales y el control fueron descritos como rosados intenso; el Antares, como color salmón; y el L. A. CETTO, como rosado fuerte. En la imagen 28 se muestran los dos vinos comerciales y el vino control.



Imagen 28. De izquierda a derecha: vino Antares, vino control, vino L.A. CETTO.



Imagen 29. Carta de colores empleada para el análisis sensorial de los vinos (Yabrudy E, 2014).

Conclusiones

- a. La extracción de las antocianinas desde los hollejos hacia el mosto durante la maceración se vio favorecida con el incremento de la temperatura. Este fenómeno pudo ser explicado con un modelo logarítmico.
- En el perfil de compuestos volátiles de los vinos predominaron aquéllos correspondientes a los aromas varietales propios de Cabernet Sauvignon, de los cuales 4 fueron alcoholes, 2 ácidos carboxílicos, 3 terpenos, 3 cetonas, 2 aldehídos y 4 ésteres.
- c. Con respecto a los aromas extraídos de los chips de roble blanco, únicamente pudo ser identificada en los vinos la cis-whisky lactona.
- d. Con las condiciones de vinificación y maduración trabajadas se obtienen vinos rosados libres de defectos y que cumplen con las especificaciones que dicta la norma NMX-V-012-NORMEX-2005.
- e. Empleando uvas de la variedad Cabernet Sauvignon, con una maceración de 3 horas a 10 °C, se obtuvo un vino de color rosado intenso con aromas afrutados, florales, con gusto ácido intenso y percepción baja de dulzor. Y, con relación a la maduración con los chips de madera, éstos aportan a los vinos rosados olores y gustos de especias y madera así como olor ahumado y gusto a vainilla.

Recomendaciones

- a. Se han realizado múltiples investigaciones respecto al efecto que tiene la temperatura sobre la extracción y difusión de las antocianinas durante el proceso de maceración; no obstante, no hay trabajos que reporten la forma en que este factor influye en la extracción durante el prensado. Por lo que resultaría acertado enfocar estudios sobre este punto.
- b. Para concluir de mejor manera acerca de las condiciones óptimas de extracción con la técnica de SPME, de entre las 2 temperaturas y tiempos empleados, es necesario llevar a cabo ésta a 30 °C durante 60 minutos y a 40 °C durante 30 minutos. Asimismo, para lograr una mejor separación de los compuestos volátiles en el cromatógrafo es necesario emplear una columna HP-INNOWAX de 60 metros, 0.25 mm de diámetro interno y 0.25 μm de espesor de la fase estacionaria. Lo cual, al mejorar la separación, también podría facilitar la identificación de los compuestos, siempre y cuando se cuente con un espectrómetro de masas.
- c. Para tener una mejor descripción del fenómeno de extracción y difusión de los pigmentos, desde los hollejos de la uva hacia el mosto, se puede modelar una ecuación matemática que incluya las variables involucradas con la transferencia de masa. De igual manera, se podría considerar una toma de muestra muy cercana al tiempo cero con el fin de tener una mejor explicación en la fase inicial de la maceración.
- d. Además del perfil sensorial obtenido de la evaluación de los vinos por el panel entrenado, sería importante realizar una prueba con consumidores para determinar la aceptación que podrían tener los productos en el mercado.

Referencias

Almela L, Javaloy S, Fernández-López JA, López-Roca JM. (1996). Varietal classification of young red wines in terms of chemical and colour parameters. J. Sci. Food Agric., 70, 173–180.

André V. (2008). Aprenda a conocer los vinos. España. Ed. MC. p 26.

Arapitsas P, Antonopoulos A, Stefanou E, Dourtoglou VG. (2003). Artificial aging of wines using oak chips. Food Chemistry 86. 563–570.

Arozarena I, Casp A, Marín R, Navarro M. (2000). Multivariate differentiation of Spanish red wines according to region and variety. J. Sci. Food Agric. *70*, 1909–1917.

Arozarena I, Ayesterán B, Cantalejo MJ, Navarro M, Vera M, Abril I, Casp A. (2002). Anthocyanin composition of Tempranillo, Garnacha and Cabernet Sauvignon grapes from high- and low quality vineyards over two years. Eur Food Res Technol 214:303–309

Bakker J, Clarke RJ. (2012). Wine flavor chemistry. Ed. Wiley-Blackwell. 2ª ed. 155-231

Barker SA. (2000). Cap. 3 Sorbent technologies en Residue analysis in food: Principles and Aplications. Holanda. Ed. Harwood academic publishers. p. 45.

Bautista-Ortín AB, Lencina AG, Cano-López M, Pardo-Mínguez F, López-Roca JM, Gómez-Plaza E. (2007). The use of oak chips during the ageing of a red wine in stainless steel tanks or used barrels: effect of the contact time and size of the oak chips on aroma compounds.

Berente B, De La Calle García D, Reichenbächer M, Danzer K. (2000). Method development for the determination of anthocyanins in red wines by high-performance liquid chromatography

- and classification of German red wines by means of multivariate statistical methods. J. Chromatogr. A, 871, 95–103.
- Bisson JB, Daulny B, Bertrand A. (1980). Influence de la témperature de fermentation sur la composition du vin blanc sec. Connaissance de la Vigne et du Vin, 14, 195–202.
- Boatright J, Negre F, Chen XL, Kish CM, Wood B, Peel G, Orlova I, Gang D, Rhodes D, Dudareva N. (2004). Understanding in vivo benzenoid metabolism in petunia petal tissue. Plant Physiol 135: 1993-2011.
- Boidron JN, Chatonnet P, Pons M. (1988) Effects of wood on aroma compounds of wine. Conn. Vigne Vin, 22, 275–294.
- Boulton, RB., Singleton, V.L., Bisson, L.F., & Kunkee, R.E. (1999). Principles and Practices of Winemaking. USA. Ed. Springer Science. pp. 382-385.
- Brouillard R, Dubois J. (1977) Mechanism of the structural transformations of anthocyanins in acidic media. *J. Am. Chem. Soc.*, *99*, 1359–1364
- Burns J, Mullen W, Landrault N, Teissedre P, Lean MEJ, Crozie A. (2002). Variations in the profile and content of anthocyanins in wines made from Cabernet Sauvignon and hybrid grapes. J Agric Food Chem 50:4096–4102.
- Cai J, Zhu BQ, Wang YH, Lu L, Lan YB, Reeves MJ, Duan CQ. (2014). Influence of pre-fermentation cold maceration treatment on aroma compounds of Cabernet Sauvignon wines fermented in different industrial scale fermenters. Food Chemistry 154. 217–229.
- Canuti V, Conversano M, Li Calzi M, Heymann Hildegarde, Matthews M, Ebeler S. (2009). Headspace solid-phase microextraction—gas chromatography—mass spectrometry for profiling free volatile compounds in Cabernet Sauvignon grapes and wines. Journal of Chromatography A., 3012-3022.

- Castagnino C. (1996). Castavinol, a new series of polyphenols from Bordeaux red wines. Tetrahedron Letters, 37, 7739-7742.
- Castañeda A, Hernández MLP, Hernández MEP, Rodríguez JA, Vidal CAG. (2009). Chemical studies of anthocyanins: a review. Food Chem 113:859-871.
- Castillo-Sánchez JJ, Mejuto JC, Garrido J, García-Falcón S. (2006). Influence of wine-making protocol and fining agents on the evolution of the anthocyanin content, colour and general organoleptic quality of Vinhão wines. Food Chem., *97*, 130–136.
- Clifford MN. (2000). Anthocyanins-nature, occurrence and dietary burden. J Sci Food Agric 80:1063-1072.
- Chatonnet P. (1998). Volatile and odoriferous compounds in barrelaged wines. Impact of cooperage techniques and aging conditions. In A.L. Waterhouse, S.E. Ebeler (Eds.), Chemistry of wine flavor (Vol. 714, pp. 180–208), ACS symposium series.
- Chira K, Telssedre PL. (2014). How extraction of oak volatiles and ellagitannin compounds affect sensory profile of wine aged with French winewoods. Practical Winery Vineyard. University of Bourdeaux. pp. 61-66.
- Chkaiban L, Botondi R, Bellicontro A, De Santis D, Kefalas P, Mencarelli F. (2007). Influence of postharvest water stress on lipoxygenase and alcohol dehydrogenase activities and on the composition of some volatile compounds of gewurztraminer grapes dehydrated under controlled and uncontrolled thermohygrometric conditions. Aust J Grape Wine Res 13:142-149.
- Cotea VV, Rotaru L, Nechita B, Mustea M, Zamfir CI. (2007) A model of traceability system in the viticultural sector of Romania for improving food safety. XXXth OIV World Congress, Budapest, 10–16 June, Section 1.3.: Viticulture.

- Damijanić K, et. al. (2011). Effects of maceration temperature on the anthocyanins composition of cv. Teran wine. Croat. J. Food Sci. Technol. pp 16-25.
- Díaz A. (2009). Diseño estadístico de experimentos. Colombia. Ed. Universidad de Antioquía. 2ª ed. pp 46-49.
- Dimitrovska M, Bocevska M, Dimitrovski D, Murkovic M. (2011). Anthocyanin composition of Vranec, Cabernet Sauvignon, Merlot an. d Pinot Noir grapes as indicator of their varietal differentiation. Eur Food Res Technol. 232:591–600.
- Dunlevy JD, Kalua CM, Keyzers RA, Boss PK. (2009). The production of flavour & Aroma compounds in grape berries. In Grapevine Molecular Physiology & Biotechnology. K.A. Roubelakis-Angelakis (ed.), 2nd edn. Springer Science+Business Media B.V. 293-340.
- Etiévant P, Schilich P. (1988). Varietal and geographic classification of french red wines in terms of pigments and flavanoid compounds. J. Sci. Food Agric. 42, 39–54.
- Esteban MA, Villanueva MJ, Lissarrague JR. (2001). Effect of irrigation on changes in the anthocyanin composition of the skin of cv Tempranillo (*Vitis vinifera* L) grape berries during ripening. J Sci Food Agric 81:409–420.
- Fieser LF, Fieser M. (1985). Química orgánica fundamental. España. Ed. Reverté. pp 112-113
- Fuentes X, Castiñeiras MJ, Queraltó JM. (1998). Bioquímica clínica y patología molecular. España. Ed. Reverté. Vol 1. 2ª ed. p 469.
- González-San José M, Santa María G, Diez C. (1990). Anthocyanins as parameters for differentiating wines by grape variety, wine-growing region and wine-making methods. *J. Food Comp. Anal.*, *3*, 54–66.

- Fauvet J, Guittard A. (2003). Cap. 17.3: La vinificación en rosado en Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos. España. Ed. Mundi-Prensa. 2ª ed. pp 454-461.
- García L, Trabes V. (2013). Determinación del extracto seco total densimétrico. Instituto Nacional de Vitivinicultura. Argentina. http://www.inv.gov.ar/inv contenidos/pdf/foro/2011/6-INV-DeterminacionDeExtractoSecoPorDensimetria09-06-11.pdf.
- Gardner HW. (1991). Recent investigations into the lipoxygenase pathway of plants. Biochim Biophys Acta 1084:221-239.
- George R. (2003). The wines of the South of France. Inglaterra, Ed. Octopus Publishing, p 1960.
- Girard G. (2004). Bases científicas y tecnológicas de la enología. España. Ed. Mundi-Prensa. p 115.
- Girón P. (2014). El Mercado del vino en México, Oficina Económica y Comercial de la Embajada de España en México.
- Gómez MA, Sánchez E, Hermosín I, González MA. (2015). Effect of Oak Chip Addition at Different Winemaking Stages on Phenolic Composition of Moravia Agria Red Wines. S. Afr. J. Enol. Vitic., Vol. 36, No. 1. pp 21-31.
- Gómez-Plaza E, Pérez-Prieto LJ, Fernández-Fernández JI, López-Roca JM. (2004). The effect of successive uses of oak barrels on the extraction of oak-related volatile compounds from wine. *Int. J. Food Sci. Technol.*, *39*, 1069–1078.
- González-San José M, Santa María G, Diez C. (1990). Anthocyanins as parameters for differentiating wines by grape variety, wine-growing region and wine-making methods. J. Food Comp. Anal., 3, 54–66.

- González JM. Curso de biomoléculas. Universidad del País Vasco. http://www.ehu.eus/biomoleculas/hc/sugar33c4.htm.
- Grimm CC, Champagne ET, Ohtsubo K. (2002). Analysis of volatile compounds in the head space of rice using SPME/GC/MS en Flavor, fragrance and odor analysis. USA. Ed. Marcel Dekker, Inc. p 238.
- Gutiérrez Alfonso VL. (2002). Sensory descriptive analysis between white wines fermented with oak chips and in barrels. J. Food Sci., 67, 2415–2419.
- Harbers LH. (1998). Ash analysis. In: SS Nielsen, ed. Food Analysis, 2nd ed. Gaithersburg, MD: Aspen. 141-149.

Harris DC. (2001). Análisis químico cuantitativo. España. Ed. Reverté. 2ª ed. p 147.

Henderson JP, Rex D. (2012) About wine, USA, Ed. Cengage Learning, pp 82-83

Hidalgo J. (2011). Tratado de enología, Vol I, España, Ed. Mundi-Prensa, p 880.

Hoffmann E, Stroobant V. (2007). Mass Spectrometry: Principles and applications. John Wiley & sons, Ltd. GB. 3ª ed. pp 1-3.

Humphreys JM, Chapple C. (2002). Rewriting the lignin roadmap. Curr Opin Plant Biol 5:224-229.

Iland P, Ewart A, Sitters J, Markides A, Bruer N. (2000). Techniques for Chemical

Analysis and Quality Monitoring During Winemaking, Patrick Iland Wine Promotions,

Campbelltown, Australia.

- Jackson RS. (2008). Wine Science: Principle and Applications, 3rd ed., Elsevier-Academic Press: Oxford, UK, pp. 287–295.
- Jacobson JL. (2006a). Introduction to wine laboratory practices and procedures. USA. Ed. Springer Science. pp 120-121.
- Jacobson JL. (2006b). Introduction to wine laboratory practices and procedures, USA, Ed. Springer Science. p 201.
- Jacobson JL. (2006c) Introduction to wine laboratory practices and procedures. USA. Ed. Springer Science. p 202.
- Jarauta I, Cacho J, Ferreira V. (2005). Concurrent phenomena contributing to the formation of the aroma of wine during aging in oak wood: An analytical study. J. Agric. Food Chem., 53, 4166–4177.
- Jiang B, Zhang Z. (2010). Volatile Compounds of Young Wines from Cabernet Sauvignon, Cabernet Gernischet and Chardonnay Varieties Grown in the Loess Plateau Region of China. Molecules 2010, 15, 9184-9196.
- Joslyn MA. (1970). Ash content and ashing procedures. In: Joslyn MA, ed. Methods in Food Analysis, 2nd ed. New York. Academic Press. 109-140.
- Joslyn MA, Little A. (1967). Relation of type and concentration of phenolics to the color and stability in rosé wines. Am J Enol Vitic 18:138–148.

- Kelebek H, et. al. (2007). HPLC-DAD-MS Analysis of anthocyanins in rose wine made from cv. Öküzgözü grapes, and effect of maceration time on anthocyanin content. Chromatographia, 66. 207-212.
- Kleiböhmer W. (2001). Handbook of analytical separations. Holanda. Ed. Elsevier Science. Vol. 3. p 311.
- Karasek FW, Clement RE. (1988). Gas chromatography-Mass spectrometry: principles and techniques. Holanda. Ed. Elsevier Science. p 5.
- Kerem Z, Bravdo B, Shoseyov O, Tugendhaft Y. (2004). Rapid liquid chromatography-ultraviolet determination of organic acids and phenolic compounds in red wine and must. J Chromatogr 1052:211–215.
- Koyama K, Goto-Yamamoto M, Hashisume K. (2007). Influence of maceration temperature in red wine vinification on straction of phenolics from berry skins and seeds of grape (*Vitis vinifera*). Bioscience Biotechnology and Biochemistry (71) 4, 958-965.
- Kuskoski M, Asuero AG, García MC, Troncoso AM, Fett R. (2004). Actividad antioxidante de pigmentos antociánicos. Ciênc. Tecnol. Aliment. vol.24 no.4.
- Lafon-Lafourcade, S., Geneix, C., & Ribereau-Gayon, P. (1984). Inhibition of alcoholic fermentation of grape must by fatty acids produced by yeasts and their elimination by yeast ghosts. *Appl. Environm. Microbiol.*, 47, 1246–1249.
- Lambrechts MG, Pretorius IS. (2000). Yeast and its importance to wine aroma a review. S Afr J Enol Vitic 21:97–129.

- Linsenmeier AW, Rauhut D, Sponholz WR. (2010). Ageing and flavor deterioration in wine en Managing wine quality: Oenology and wine quality. UK. Ed. Woodhead Publishing Limited. Vol 2. pp 469-475.
- Marais J. (2001). Effect of grape temperature and yeast strain on Sauvignon blanc wine aroma composition and quality. S Afr J Enol Vitic 22:47–51.
- Margalit, Y. (1997). *Concepts in Wine Chemistry* (Crum, J., ed.), The Wine Appreciation Guild, San Francisco, CA.
- Matteo JJ, Jiminez M. (2000). Monoterpenes in grape juice and wines. J Chromatogr A 881:557-567.
- Mazza G, Miniati E. (1993). Anthocyanins in Fruits, Vegetables and Grains. USA: CRC Press.
- Meng J, Fang Y, Gao J, Zhang A, Liu J, Guo Z, Zhang Z, Li H. (2011). Changes in aromatic compounds of Cabernet Sauvignon wines during ageing in stainless steel tanks. African Journal of Biotechnology Vol. 10(55), pp. 11640-11647.
- Meredit CP, Bowers JE. (1997). Winegrape origins revealed by DNA marker analysis en Encyclopedia of genetics. Ed. Roudtledge. pp 67-673.
- Monagas M, Bartolomé B. (2009). Wine chemistry and biochemistry, Cap 9: Anthocyanins and anthocyanin-derived compounds, 441.
- Mosedale JR, Puech JL y Feuillat F. (1999). The influence on wine flavor of the oak species and natural variation of heartwood components. Presented at International Symposium on Oak in Winemaking. American Journal of Enology and Viticulture, 50, 503–512.
- Mott RL. (1996). Mecánica de fluidos. México. Prentice- Hall. 4ª ed. 12-14

Mulinacci N, Santamaria AR, Giaccherini C, Innocenti M, Valletta A, Ciolfi G, Pasqua G. (2008)

Anthocyanins and flavan-3-ols from grapes and wines of Vitis vinifera cv. Cesanese d'Affile.

Nat. Prod. Res., 22, 1033–1039.

Murat ML, Tominaga T, Saucier C, Glories Y, Dubourdieu D. (2003). Am J Enol Vitic 54(2):135-138.

Nollet LM. (2004). Handbook of food analysis. USA. Marcel Dekker, Inc. Vol. 1. p 391.

Nollet LM y Toldrá F. (2010). Hanbook of dairy foods analysis. USA. CRC Press. p 141.

- NMX-V-012-NORMEX-2005. Bebidas alcohólicas-vino-especificaciones. Dirección general de normas. http://www.economia-nmx.gob.mx/normasmx/detallenorma.nmx?clave=NMX-V-012-NORMEX-2005.
- Ocampo R, Ríos LA, Betancur LA, Ocampo DM. (2008). Curso práctico de química orgánica; enfocado a biología y alimentos. Colombia. Ed. Universidad de Caldas. p 58
- Ough, C.S., (1964). Fermentation rates of juice.I. Effects of temperature and composition on white juice fermentation rates. Am. J. Enol. Vitic., 15, 167–177.
- Pérez-Coello MS, Sanz J y Cabezudo MD. (1999). Determination of volatile compounds in hydroalcoholic extracts of French and American oak wood. American Journal of Enology and Viticulture, 50, 162–165.

Pearson D. (1973). Laboratory Techniques in Food Analysis. New York. John Willey. pp 27-59.

- Pérez-Prieto LJ, Hera-Orts ML, López-Roca JM, Fernández-Fernández JI, Gómez-Plaza E. (2003).

 Oak-matured wines: Influence of the characteristics of the barrel on wine color and sensory characteristics. Journal of the Science of Food and Agriculture, 83, 1445–1450.
- Pollnitz AP, Jones GP y Sefton MA. (1999). Determination of oak lactones in barrel-aged wines and in oak extracts by stable isotope dilution analysis. Journal of Chromatography A, 857, 239–246.
- Pomeranz Y, Meloan CE. (1994). Food analysis: Theory and practice. 3rd ed. New York. Chapman and Hall. pp 575-624.
- Puech JL. (1987). Extraction of phenolic compounds from oak wood in model solutions and evolution of aromatic aldehydes in wines aged in oak barrels. *Am. J. Enol. Vitic., 38*, 236–238.
- Puertolas E, Saldana G, Alvarez I, Raso J. (2010). Experimental design approach for the evaluation of anthocyanin content of rose wines obtained by pulsed electric fields. Influence of temperature and time of maceration.
- Puglisi CJ, Daniel MA, Capone DL, Elsey GM, Prager RH, Sefton MA. (2005). Precursors to damascenone: Synthesis and hydrolysis of isomeric 3,9-dihydroxymegastigma-4,6,7-trienes. J Agric Food Chem 53:4895-4900.
- Puglisi C, J Elsey GM, Prager RH, Skouroumounis GK, Sefton MA. (2001). Identification of a precursor to naturally occurring β-damascenone. Tetrahedron Lett 42:6937-6939.
- Rapp A. (1998). Volatile flavour of wine: Correlation between instrumental analysis and sensory perception. Nahrung-Food 42:351-363.

- Reyes A, Escamilla M, Verde JR. (1997). Manual de prácticas de enología. Universidad Autónoma Metropolitana. México.
- Ribéreau-Gayon P, Glories Y, Maujean A, Dubourdieu D. (2005). Handbook of Enology Volume 2

 The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments, 2nd ed., John Wiley & Sons Ltd:

 Chichester, UK, pp 141–204.
- Ribéreau-Gayon P, Glories Y, Maujean A, Dubourdieu D. (2000). Handbook of Enology. Vol. 2. The chemistry of wine stabilization and treatments. London: John Wiley and Sons, Inc. pp 192-199.
- Ribéreau-Gayon P, Glories Y, Maujean A, Dubourdieu D. (2000). Handbook of Enology. Vol. 1. The chemistry of wine stabilization and treatments. London: John Wiley and Sons, Inc.
- Ribéreau-Gayon P, Dubourdieu D, Donechè B, Lonvaud A. (2006). Other winemaking methods en Handbook of Enology. Vol 1. Chichester: John Wiley & sons, Ltd. pp 445-449.
- Rodriguez-Concepcion M, Boronat A (2002) Elucidation of the methylerythritol phosphate pathway for isoprenoid biosynthesis in bacteria and plastids. A metabolic milestone achieved through genomics. Plant Physiol 130:1079-1089.
- Rojas V, Gil JV, Pinaga F, Manzanares P. (2003). Acetate ester formation in wine by mixed cultures in laboratory fermentations. Int J Food Microbiol 86:181–188.
- Romero-Cascales I, Fernández-Fernández JI, López-Roca JM, Gómez-Plaza. (2005). The maceration process during winemaking extraction of anthocyanins from grape skins into wine. Eur. Food Res. Technol., 221, 163–167.
- Ruiz M. (1994). Crianza y envejecimiento del vino tinto. España. Ed. Iragra. 1ª ed. pp 34-39.

- Salinas, M. R., Garijo, J., Pardo, F., Zalacain, A., & Alonso, G. L. (2003). Colour, polyphenol, and aroma compounds in rosé wines after prefermentativa maceration and enzymatic treatments. American Journal of Enology and Viticulture, 54, 195–202.
- s.a. (2013). El vino en México. El Economista. (3 de junio de 2013, 20:10). http://eleconomista.com.mx/entretenimiento/2013/06/03/vino-mexico.
- s.a. (2013). Crece demanda de vino en México, pero se estanca producción. (11 de noviembre de 2013). http://www.informador.com.mx/economia/2013/496320/6/crece-demanda-de-vino-en-mexico-pero-se-estanca-la-produccion.htm
- s.a. (2016). Cátedra de Enología I. Argentina. Facultad de Ciencias Agrarias. p 25. http://campus.fca.uncu.edu.ar/pluginfile.php/31171/mod_resource/content/0/Carpeta%20de%2 OTrabajos%20Pr%C3%A1cticos%202016.pdf.
- s. a.Chemical book. http://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty US CB0166670.aspx
- Sancho J, Bota E, De Castro JJ. (1999). Introducción al análisis sensorial de los alimentos. Ed. Universitat de Barcelona. España. 1ª ed. p 160.
- Sablayrolles JM, Barre P. (1986). Evaluation des besoins en oxygen de fermentations alcooliques en conditions oenologiques silées. Sci. Aliments, 6, 373–383.
- Salas JJ, Sanchez J, Ramli US, Manaf AM, Williams M, Harwood JL. (2000). Biochemistry of lipid metabolism in olive and other oil fruits. Prog Lipid Res 39:151-180.
- Seigler DS (1995) Plant Secondary Metabolism. Kluwer Academic Publishers, Boston
- Schreier P. (1979). Flavor composition of wines review. CRC Crit Rev Food Sci Nutr 12:59-111.

- Schwab W, Davidovich-Rikanati R, Lewinsohn E. (2008). Biosynthesis of plant-derived flavor compounds. Plant J 54:712-732.
- Spillman PJ. (1997). Oak wood contribution to wine aromas. Thesis, University of Adelaide.
- Spillman PJ, Iland PG y Sefton MA. (1998). Accumulation of volatile oak compounds in a model wine stored in American and Limousin oak barrels. Australian Journal of Grape and Wine Research, 4, 67–73.
- Spillman PJ, Pollnitz AP, Liacopoulos D, Pardon KH, Sefton MA. (1998). Formation and degradation of furfuryl alcohol, 5-methylfurfuryl alcohol, vanillyl alcohol, and their ethyl ethers in barrelaged wines. *J. Agric. Food Chem.*, *46*, 657–663.
- Thurston PA, Taylor R, Ahvenainen J. (1981). Effects of linoleic-acid supplements on the synthesis by yeast of lipids and acetate esters. J Inst Brew 87:92–95.
- Towey JP, Waterhouse AL. (1996). The extraction of volatile compounds from French and American oak barrels in Chardonnay during three successive vintages. Am. J. Enol. Vitic., 47, 163–172.
- Valencia F. (2010). Enología: vinos, aguardientes y licores. España. Ed. Vértice. p 9.
- Vasserot Y, Caillet S, Maujean A. (1997). Study of anthocyanin adsorption by yeast lees.

Effect of some physicochemical parameters. Am. J. Enol. Vitic. 48, 433–437.

- Vermerris W, Nicholson R. (2008) Phenolic compoun biochemistry. Springer Science, pp. 12-13.
- Vivas NG, Nonier MF, Guerra C, Vivas N. (2001) Anthocyanin in grape skins during maturation of *Vitis vinifera* L. cv. Caberent Sauvignon and Merlot Noir from different Bordeaux terroirs. *J.* Int. Sci. Vigne Vin 35, 149–156.

- Vivas N. (2005). Manual de tonelería. España. Ed. Mundi-Prensa. p 118
- Wilker KL, Gallander JF. (1988). Comparison of Seyval blanc wine aged in barrels and stainless steel tanks with oak chips. Am. J. Enol. Vitic., 39, 38–43.
- Wrolstad R. (1976). Color and pigment analyses in fruit products, USA, Station Bulletin 624, Agricultural Experiment Station Oregon State University, pp 1-8, 15.
- Xu Xiao-Qing, Liu Bin, Zhu Bao-Qing, Lan Yi-Bin, Gao Yuan, Dong Wang, Reeves MJ, Duan Chang-Qing. (2015). Differences in volatile profiles of Cabernet Sauvignon grapes grown in two distinct regions of China and their responses to weather conditions. Plant Physiology and Biochemistry. 123-133.
- Yabrudy E. (2014). Los vinos rosados. ¿Cómo saber qué comprar? https://elizabethyabrudy.wordpress.com/2014/05/20/los-vinos-rosados-como-saber-que-comprar-2/.
- Zamora F. (2009). Wine chemistry and biochemistry. Cap. 1.1: Biochemistry of alcoholic fermentation. USA. Springer Science. 3-22.
- Zamora F. (2013). La química del color del vino. Acenología. http://www.acenologia.com/cienciaytecnologia/quimica color vino cienc1213.htm
- Zhang M, Xu Q, Duan C, Qu W, Wu Y. (2007). Comparative study of aromatic compounds in Young red wines from Cabernet Sauvignon, Cabernet Franc and Cabernet Guernishet varieties in China. Journal of Food Cience. Vol. 72. pp 248-252.
- Zoecklein BW, Fugelsang KC, Gump BH, Nury FS. (2001). Análisis y producción de vino. España. Ed. Acribia. p 149.

Anexos

Tabla 19. Características fisicoquímicas de los vinos obtenidos con los diversos tratamientos.

TR	RP	рН	AT	AV	GE	ALC	ARD	SO₂L	SO ₂ T	EXT	CEN	ANT	PT
1	1	3.42	6.00	0.60	0.9834	12.55	6.23	23.59	52.14	23.20	2.10	64.33	0.3699
	2	3.38	5.77	0.65	0.9835	12.47	6.13	22.34	54.63	22.68	2.05	59.92	0.3781
2	1	3.35	5.55	0.71	0.9833	12.88	6.44	24.83	54.63	22.94	2.17	60.80	0.3722
	2	3.34	5.70	0.66	0.9834	12.55	6.23	23.59	57.11	22.42	2.06	60.80	0.3693
3	1	3.34	5.40	0.68	0.9833	12.88	6.33	26.07	52.14	21.90	2.17	58.16	0.3851
	2	3.35	5.62	0.72	0.9834	12.55	6.03	23.59	54.63	21.90	2.04	56.84	0.3851
4	1	3.45	6.08	0.61	0.9834	12.55	6.03	22.34	50.90	22.94	2.12	59.93	0.3810
	2	3.41	6.08	0.66	0.9833	12.88	5.84	22.34	52.14	22.94	2.07	60.80	0.3740
5	1	3.38	5.47	0.67	0.9834	12.55	6.55	22.34	52.14	22.16	2.20	56.40	0.4009
	2	3.34	5.47	0.65	0.9832	12.97	6.13	24.83	53.38	22.68	2.12	59.92	0.3875
6	1	3.4	5.32	0.73	0.9834	12.55	6.66	23.59	52.14	21.64	2.06	56.84	0.3810
	2	3.39	5.40	0.67	0.9835	12.47	6.33	2.34	50.90	21.38	2.13	55.07	0.3927
7	-	3.37	5.78	0.77	0.9835	12.47	6.33	29.79	61.46	22.68	2.12	62.79	0.3494

Nombre:	Fecha:

Frente a usted se encuentran algunas muestras de vino rosado. En ellos, evalúe cada uno de los atributos que abajo aparecen de acuerdo al grado de intensidad (de mínimo a máximo) en que los perciba en cada muestra. Si no percibe algún atributo marque exactamente en el comienzo de la línea.

Evaluación visual



En los recuadros que están abajo escriba el número de muestra. Y de la carta de colores elija el número que usted considere como el mejor para describir este atributo y escríbalo en el recuadro que se encuentra exactamente debajo del número de la muestra que está evaluando.

Muestra:			
Limpidez			
Brillo	Mínimo (Turbio)	Máximo (Traslúc	ido)
DIIIIO	Mínimo (Opaco)	Máximo (Brilla	nte
Presencia de burbujas			
	Mínimo	Máxim	no
Piernas			
	Mínimo	Máxim	no
Cuerpo			
	Mínimo (Acuoso)	Máximo (visco	oso)

Evaluación olfativa

Alcohol		
	Mínimo	Máximo
Almendra	Mínimo	Máximo
Café		
	Mínimo	Máximo
Ciruela pasa		
-4.	Mínimo	Máximo
Cítricos	Mínimo	•••
	Williamo	Máximo
Durazno		
	Mínimo	Máximo
Especias		
	Mínimo	Máximo
Levadura		
Levadara	Mínimo	Máximo
Tepache	Mínimo	Máximo
	Millimo	IVIAXIIIIO
Floral		
	Mínimo	Máximo
Herbáceo		
	Mínimo	Máximo
Humedad		
	Mínimo	Máximo
Ale seeds		
Ahumado		
	Mínimo	Máximo
Madera		
	Mínimo	Máximo

Mantequilla		
•	Mínimo	Máximo
Manzana	Mínimo	Máximo
Membrillo	Mínimo	
Pera		
	Mínimo	Máximo
Sulfuroso (Picor en la nariz)	Mínimo	Máximo
Pimiento verde	Mínimo	Máximo
Sidra	Mínimo	Máximo
Equilibrado (Integración de todos los aromas)	Mínimo	Máximo
Uva	Mínimo	Máximo
Vainilla	Mínimo	Máximo
Vinagre	Williamo	WIGAIITIO
	Mínimo	Máximo
Moras	Mínimo	Máximo
Frutos rojos		Máximo
Frambuesa		
		Máximo

Evaluación gustativa

Alcohol		
	Mínimo	Máximo
Ácido	Mínimo	Máximo
Dulce		
Salado	Mínimo	Máximo
Salado	Mínimo	Máximo
Amargo	Mínimo	Máximo
Agrio		
	Mínimo	Máximo
Cítricos	Mínimo	Máximo
Ahumado		
Ciruela fresca	Mínimo	Máximo
Cirdela iresca	Mínimo	Máximo
Ciruela pasa	Mínima	Mávima
Fermentado	Mínimo	Máximo
	Mínimo	Máximo
Floral	Mínimo	Máximo
Frutal	Williamo	IVIGAIIIIO
	Mínimo	Máximo
Herbáceo	Mínimo	Máximo

Mantequilla		
·	Mínimo	Máximo
Madera		
	Mínimo	Máximo
Manzana	Mínimo	Máximo
	Williamo	WIGAIITIO
Metálico		
	Mínimo	Máximo
Pera		
	Mínimo	Máximo
Especias		
	Mínimo	Máximo
Sulfuroso		
(Picor en la nariz)	Mínimo	Máximo
Uva		
	Mínimo	Máximo
Fresa		
TTC3u	Mínimo	Máximo
Equilibrado		
(Integración de todos los aromas)	Mínimo	Máximo
Sidra		
	Mínimo	Máximo
Vainilla		
vanima	Mínimo	Máximo
		Widalino
Vinagre		
	Mínimo	Máximo
Levadura		
-	Mínimo	Máximo
Zarzamora		
	Mínimo	Máximo

Frambuesa		
	Mínimo	Máximo
Miel		
	Mínimo	Máximo
Astringencia		
(Sensación de sequedad en la boca)	Mínimo	Máximo
Cuerpo		
(Sensación aterciopelad u oleosa)	Mínimo	Máximo
Efervescencia		
(Sensación de desprendimiento continuo de burbujas) Calidez en boca	Mínimo	Máximo
Calluez eli DOCa	Mínimo (cálido, agradable)	Máximo (quemante, agresivo)
	willing (cando, agradasie)	Maximo (quemante, agresivo)

