



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA  
CALIFORNIA**



**FACULTAD DE CIENCIAS**

**T E S I S**

**EVALUACIÓN DEL CONTENIDO FENÓLICO Y CARACTERÍSTICAS  
CROMÁTICAS DE *Vitis vinifera* L. cv. NEBBIOLO CULTIVADA EN EL VALLE  
DE GUADALUPE, BAJA CALIFORNIA, MÉXICO**

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**BIÓLOGO**

P R E S E N T A

**SOFÍA LEÓN MANCILLA**

DIRECTOR

**DR. RODRIGO ALONSO VILLEGAS**

CO DIRECTOR

**DR. ALEJANDRO SÁNCHEZ GONZÁLEZ**

MAYO 2021

**ENSENADA, B.C., MÉXICO**



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA  
CALIFORNIA  
FACULTAD DE CIENCIAS**



LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

**EVALUACIÓN DEL CONTENIDO FENÓLICO Y CARACTERÍSTICAS  
CROMÁTICAS DE *Vitis vinífera* L. cv. "NEBBIOLO" CULTIVADA EN EL VALLE  
DE GUADALUPE, BAJA CALIFORNIA, MÉXICO**

TESIS PROFESIONAL

PRESENTA

**SOFÍA LEÓN MANCILLA**

APROBADO POR:

Director Externo

Dr. Rodrigo Alonso Villegas

Director Interno

Dr. Alejandro Sánchez González

Sinodal

Dr. Alejandro Cabello Pasini

Sinodal

Dr. José Delgadillo Rodríguez

## Índice

<i>Resumen</i>	4
<i>Introducción general</i>	5
<i>Hipótesis</i>	7
<i>Objetivos</i>	8
<i>Capítulo I. Antecedentes</i>	9
<i>Importancia cultural del vino</i>	10
<i>El vino en el Valle de Guadalupe, Baja California</i>	11
<i>El proceso de maduración como factor de calidad</i>	12
<i>Los polifenoles y su importancia en el vino</i>	14
<i>Antocianinos</i>	14
<i>Taninos</i>	16
<i>La variedad nebbiolo como objeto de estudio</i>	17
<i>Capítulo II. Material y Métodos</i>	18
<i>Muestreo</i>	19
<i>Elaboración de curva de calibración de ácido gálico</i>	20
<i>Determinación de la concentración de polifenoles totales</i>	20
<i>Determinación de características cromáticas</i>	21
<i>Evaluación de parámetros fisicoquímicos de mostos y vinos</i>	22
<i>Determinación de °Brix y pH</i>	22
<i>Determinación de nitrógeno asimilable por levaduras</i>	22
<i>Determinación de acidez titulable</i>	23
<i>Determinación de acidez volátil</i>	24
<i>Análisis estadístico</i>	24
<i>Capítulo III. Resultados y discusión</i>	25
<i>Composición inicial del mosto</i>	26
<i>Concentración de polifenoles totales</i>	27
<i>Características cromáticas</i>	30
<i>Composición final del vino</i>	33
<i>Capítulo IV. Conclusiones</i>	34
	35
<i>Bibliografía</i>	37

## *Resumen*

El color y la astringencia del vino están determinados principalmente por la concentración de polifenoles presentes en los frutos (uva) de *Vitis vinifera*, el color proviene de los antocianos del hollejo y la astringencia es provocada por la solubilización de las procianidinas presentes hollejos y semillas. El propósito del presente trabajo es evaluar la concentración de polifenoles de la variedad de uva nebbiolo desde la maceración hasta el final de la fermentación, cuantificar el aporte fenólico de las semillas y describir sus propiedades cromáticas. Las uvas fueron obtenidas de tres vinícolas del Valle de Guadalupe (LNB, REL, PAS), y se dividieron en dos tratamientos, con semillas (TCS) y sin semillas (TSS). La concentración de polifenoles totales se calculó por el método Folin-Ciocalteu, el color fue determinado por el método del espacio *CIELab*, la intensidad colorante (IC) y tonalidad (TN) con el método de Glories. La concentración de polifenoles totales fue mayor en el TCS, LNB registró la mayor concentración 3.97 g/L, mientras que REL presentó 3.57 g/L y PAS 2.75 g/L. Por otra parte, en el TSS, LNB mostró una diferencia de 1.06 g/L en comparación con PAS (1.72 g/L) y REL (1.58 g/L). La IC de LNB (2.83) resultó significativamente diferente entre PAS (1.41) y REL (0.609). Sólo LNB registró en TN diferencias significativas entre TCS y TSS. En ambos tratamientos, REL mostró los valores mayores y PAS los menores. De acuerdo con los resultados obtenidos, las semillas tienen un aporte significativo en la concentración de polifenoles totales. Las diferencias pueden deberse principalmente al estado de madurez de las uvas en la cosecha, variable que está sujeta a las condiciones edafoclimáticas de cada subregión del valle de Guadalupe.

## *Introducción general*

El vino se define como la bebida obtenida de la fermentación parcial o completa del jugo de uvas (Haseeb *et al.*, 2018). A nivel molecular, es una matriz alimenticia que contiene una gran cantidad de compuestos químicos de concentración variable, la mayoría oscilan entre los  $10^{-1}$  y  $10^{-6}$  mg/L, y cuyo ensamble impacta significativamente en las características organolépticas como el color, aroma y sabor. El perfil aromático de un vino está determinado por numerosos compuestos, tales como alcoholes, aldehídos, ácidos, terpenos, lactonas, compuestos bencénicos, azufrados y nitrogenados, mientras que la percepción gustativa se encuentra determinadas por el etanol, glicerol, ácidos orgánicos, azúcar, y taninos (Soleas *et al.*, 1997; Stockley *et al.*, 2012; Mencarelli *et al.*, 2018). Por otra parte, el color del vino está determinado principalmente por los polifenoles, las antocianinas o antocianos, presentes los hollejos; además, depende de factores como el pH y factores de copigmentación, los cuales suelen ser unidades de flavon-3-oles, flavonoles o ácidos hidroxicinámicos.

Agua y etanol son los componentes principales del vino, mientras que el resto se constituye de azúcares, ácidos y polifenoles. Estos últimos, contribuyen de manera considerable a las acidez, color y astringencia de este (Jin *et al.*, 2017; Haseeb *et al.*, 2018). Las proantocianidinas, o taninos condensados, son compuestos poliméricos de unidades de flavan-3-oles y se encuentran presentes en las semillas y hollejos, dichas moléculas son incorporadas al vino durante el proceso de maceración (Kontoudakis *et al.*, 2010). Además, debido a la formación de complejos con las proteínas salivares, las proantocianidinas son responsables de la astringencia y las sensaciones gustativas de los vinos (Bordiga *et al.*, 2011; Gil *et al.*, 2015).

La composición fenólica de los vinos tintos es uno de los principales determinantes de su calidad debido a que los principales atributos sensoriales están directamente asociados a la composición de antocianinas y proantocianidinas (de Llaudy *et al.*, 2007). Los polifenoles están compuestos de varios anillos aromáticos fusionados y se clasifican en flavonoides y no flavonoides. Los flavonoides comprenden los flavonoles, protocianidinas y antocianinas, los no flavonoides están constituidos principalmente por taninos hidrolizables, entre otros (Haseeb *et al.*, 2018).

Durante la maduración ocurren un gran número de cambios bioquímicos y fisiológicos, los cuales determinan la calidad de la uva en cosecha (Coombe *et al.*, 1992; Robinson *et al.*, 2000). El conocimiento sobre los procesos bioquímicos y fisiológicos que la uva experimenta durante su maduración permite tener un mayor control del proceso para mejorar la calidad del fruto, modificar prácticas vitícolas o implementar el uso de ingeniería genética con el fin de explotar al máximo el potencial enológico (Robinson *et al.*, 2000).

En la práctica, la fecha de cosecha se establece con base a la cantidad de °Brix, pH y acidez de la uva, siendo evaluados con ayuda de un refractómetro, potenciómetro y una titulación ácido-base. Sin embargo, algunos estudios han demostrado que estas variables no expresan enteramente el potencial enológico de las uvas como es el caso de la madurez fenólica y aromática del fruto (Cagnasso *et al.*, 2008).

La variedad Nebbiolo es sensible a las condiciones edafoclimatológicas (*terroir*), se caracteriza por ser vigorosa y tener un color reducido. Los antocianos predominantes en el hollejo son la peonidina-3-glucósido seguido por maldivina-3-glucósido (Chorti *et al.*, 2010). Dichos antocianos se encuentran mayormente di y trisustituidos, los cuales se degradan durante el proceso de vinificación (Río Segade *et al.*, 2014). Por lo tanto, es importante realizar un monitoreo de los compuestos fenólicos en la variedad Nebbiolo para tener un control de calidad en el proceso de vinificación.

Este trabajo busca evaluar la madurez fenológica y el aporte de las semillas durante el proceso de vinificación y su impacto en las características organolépticas de los vinos de la variedad Nebbiolo cultivada en el Valle de Guadalupe. Además, el objetivo es estudiar la madurez fenólica de la variedad para determinar el potencial enológico de esta y contribuir a la comprensión del proceso de maduración de las uvas en la variedad.

### *Hipótesis*

Al remover las semillas de la uva durante las etapas de maceración y fermentación en la elaboración de vino, el aporte fenólico en los mostos será menor tanto en la concentración de polifenoles totales como en la astringencia sin afectar el color de los vinos resultantes.

Primero, se pretende evaluar la madurez fenológica y el aporte de las semillas a las uvas durante el proceso de vinificación para calcular la cantidad de polifenoles totales presentes en la semilla, con el fin de determinar las condiciones óptimas que los productores locales podrían establecer en su producción; y segundo, la comparación entre viñedos permitirá identificar si hay un cambio en las características organolépticas de los vinos variedad Nebbiolo.

## *Objetivos*

### *Objetivo general*

- Evaluar el contenido fenólico y características cromáticas en los mostos durante la etapa de maceración y fermentación de uvas de la variedad Nebbiolo cultivadas en el Valle de Guadalupe.

### *Objetivos específicos*

- Determinar la concentración de polifenoles totales y características cromáticas de los mostos de uvas de la variedad Nebbiolo de tres vinícolas.
- Comparar la concentración de polifenoles totales y características cromáticas entre mostos de la variedad Nebbiolo con dos tratamientos diferentes (con y semillas)
- Analizar los parámetros fisicoquímicos de los vinos producidos a partir de los mostos (de ambos tratamientos) de la variedad Nebbiolo para determinar sus parámetros de calidad.



## Capítulo I. Antecedentes

---

## *Antecedentes*

### *Importancia cultural del vino*

El término de vino se origina de la palabra en latín *vinum*, esta bebida alcohólica es producida por la fermentación del jugo de uva (Haseeb *et al.*, 2018). La evidencia más antigua del consumo del vino data de hace 5400-5000 años antes de nuestra era, localizada en la actualidad en Irán (Haseeb *et al.*, 2018). El proceso de vinificación fue difundido hacia Mesopotamia, Siria, Egipto y alrededor de la región Mediterránea. Cuando los romanos conquistaron Grecia determinaron que el vino fungiría como alimento base. Esto provocó que se estableciera como un producto conectado a Dionisio, y tras la conquista romana el consumo del vino se incrementó significativamente (Haseeb *et al.*, 2018).

Sin embargo, las prácticas vitivinícolas no tienen un origen único, en 2001 fueron hallados restos de ácido tartárico y sales de tartrato en vasijas que datan del periodo Neolítico (7,000-9,000 a.n.e.), en Jiahu, China (Li *et al.*, 2018). Esto pone las bases de un consumo muy arraigado en asentamientos humanos diversos que eventualmente fue ampliamente difundido, como en el caso del consumo en el continente americano, que fue importado como costumbre de Europa tras las diversas conquistas. Además de este componente cultural, la producción de vino ha tenido grandes impactos en la economía de las zonas productoras desde sus inicios. Tal es el caso de la civilización etrusca cuya economía dependía en gran medida del aporte monetario del comercio del vino (Aversano *et al.*, 2017). Cabe destacar que la importancia comercial de la uva y el vino es aún mayor en la actualidad, ya que se considera que la uva de vinificación tiene el fruto con mayor importancia económica en el mundo moderno.

Dado que en 2017, el área cosechada de uvas de acuerdo con los datos de la FAOSTAT estimó 6.9 mil hectáreas plantadas (Faostat, 2019; Bouby *et al.*, 2013). Mientras que el 2017, el área de cosecha en México alcanzó las 7000 hectáreas, las cuales producen 65 000 toneladas de uva, cuyo valor alcanza los 616 millones de pesos (SAGARPA, 2018).

### *El vino en el Valle de Guadalupe, Baja California*

Las prácticas vitícolas en Baja California comenzaron con las plantaciones realizadas por los jesuitas en sus respectivas misiones desde 1697 y posteriormente fueron reemplazados por los franciscanos cuando en 1797 se les expulsó de América. En una última instancia, los dominicos continuaron con esta actividad, incrementando el número de misiones y cultivos en el Valle de Guadalupe y Santo Tomás (López-Franco, 2012). De acuerdo a la investigación realizada por Leyva & Espejel (2013), el 25 de junio de 1843 el padre Félix Caballero, presidente de las misiones dominicas, fundó la misión de Nuestra Señora de Guadalupe del Norte o de la Frontera, constituyendo el último establecimiento misional de las Californias y que posteriormente dio origen a la comunidad de Guadalupe. La misión fue destruida en 1840 y en 1844 las propiedades de la misión de Guadalupe pasaron a Juan Bandini. Posteriormente fue propiedad de José Matías Moreno, a la muerte de este perteneció a sus sucesores, pero no fue sino hasta 1921 que Percy Barré cultiva vid para vender sus uvas a Bodegas de Santo Tomás (Leyva & Espejel, 2013).

A principio de la década de 1940 la colonia rusa, previamente establecida, se enfrenta a una crisis económica que los lleva a plantar vides y venderlas a Bodegas de Santo Tomás, cuyo enólogo, Esteban Ferro Binello, logra importar de Francia y Estado Unidos 800 mil plantas de vid para ser sembradas en el Valle de Guadalupe y Santo Tomás. Este importante crecimiento agronómico posiciona al Valle de Guadalupe como un importante exponente vitícola en todo el país (Leyva & Espejel, 2013; Araujo, F., 2012).

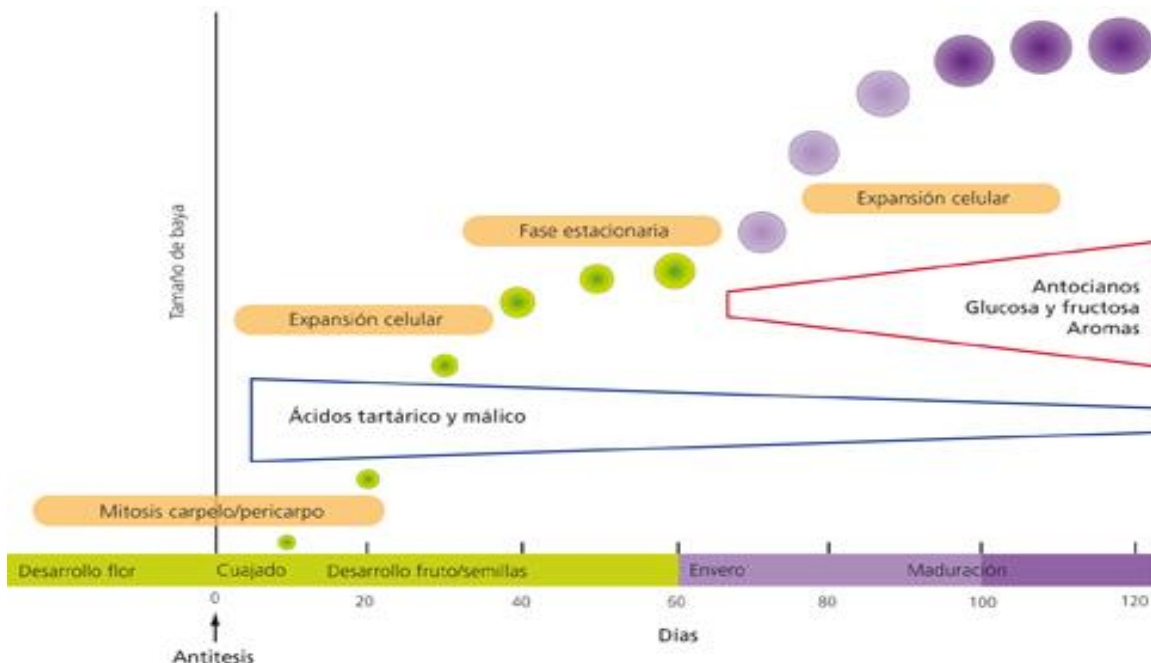
Progresivamente, el Valle de Guadalupe incrementa su superficie de vid y en 1990 experimentó un notable auge, con empresas como: Bibayoff, Monte Xanic, L.A. Cetto, Domecq, Château Camou, Xecué, Viñas de Liceága, Fratelli Pasini, Misiones de California, Relieve, Las Nubes, Alximia, Baron Balché, Vinisterra, Casa de Piedra, Adobe Guadalupe, entre muchas otras (Leyva & Espejel, 2013).

### *El proceso de maduración como factor de calidad*

Desde una perspectiva vitícola, la uva tiene partes importantes: pulpa, hollejo, semilla y racimo. El hollejo juega un papel importante, ya que aporta la mayor parte los polifenoles de extracción rápida al mosto en comparación con las semillas, cuya extracción es lenta y continua. A pesar de que las semillas representen entre el 2-5 % del peso de la uva, son una fuente importante de polifenoles (Ribéreau-Gayón *et al.*, 2000; Cadot *et al.*, 2006).

El crecimiento de la uva consiste en dos ciclos sigmoideos sucesivos con sus respectivas características (Coombe, 1992; Coombe & McCarthy, 2000). El primer ciclo comienza con un aumento de la división celular en el pericarpio, cuya cantidad y dirección determina la forma y el tamaño final de la uva. Este ciclo termina cuando gradualmente, las divisiones celulares del pericarpio se reducen, en este punto, la uva es dura, verde y con una tasa de crecimiento muy baja y su principal componente orgánico es el ácido málico. El segundo ciclo comienza con la acumulación de azúcares, el suavizamiento de la baya, el incremento de color púrpura y un nuevo aumento de tamaño, estos eventos constituyen el *envero* del francés *-véraison-* que marca el inicio del proceso de maduración (Coombe, 1992; Coombe & McCarthy, 2002).

El proceso de maduración de la uva implica numerosos cambios morfológicos y fisicoquímicos (Figura 1). El crecimiento de la baya se podría describir como un par de curvas sigmoideas continuas en cuyo lapso se experimenta una acumulación de azúcar, síntesis de antocianos y compuestos del sabor. Durante la primera fase de crecimiento, hay un periodo de expansión celular y una fase estacionaria posterior, en esta fase los compuestos mayoritarios son el ácido tartárico y el ácido málico. La fase de *envero* comienza con numerosos cambios bioquímicos en la baya, los cuales incluyen una segunda fase de expansión celular, acumulación de antocianos, glucosa, fructosa y el desarrollo de compuestos aromáticos que alcanzan su concentración máxima por la fase de maduración.



**Figura 1.** Diagrama del proceso de maduración de la uva desde el desarrollo en flor hasta cosecha, tomado de Carbonell & Martínez (2013).

A pesar de que todas las variedades de *Vitis vinifera* acumulan antocianinos en las células epidérmicas, la concentración depende principalmente de la genética, suelo, clima y factores asociados con la producción vitícola (Fanzone *et al.*, 2011). Existen 17 tipos de agliconas, y sólo seis se han reportado en las plantas de vid: maldivina, cianidina, peonidina, delfidina y petunidina, siendo maldivina-3-O-glucósido la antocianina más abundante en este género (Teixeira *et al.*, 2013).

Durante los últimos años, la brecha entre la maduración fenólica y la maduración de los polisacáridos en las uvas ha ido aumentando por causa de los cambios drásticos de temperatura (Quijada-Morín *et al.*, 2016). Actualmente, la madurez en un concepto global, incluye aspectos fenólicos y de acumulación de azúcar; por ende, se ha convertido en una necesidad importante en aquellos productores que buscan producir vinos de calidad.

## *Los polifenoles y su importancia en el vino*

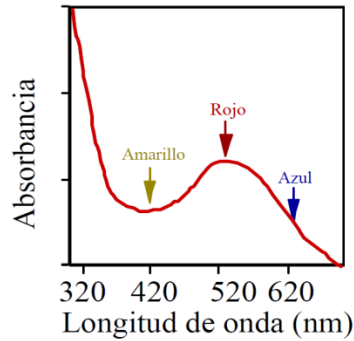
### *Antocianinos*

La síntesis, acumulación y maduración de estos pigmentos se localiza en la piel de la uva u hollejo (Fernández-López *et al.*, 1998). El hollejo está formada por tres capas: a) una cutícula compuesta de ácidos grasos hidroxilados y su cobertura de ceras hidrofóbicas; b) una epidermis conformada por células en arreglo de mosaico; y c) una membrana interna compuesta de numerosas capas celulares que contienen la mayoría de los compuestos fenólicos (Benucci *et al.*, 2017).

La acumulación de antocianinas comienza durante el envero y continúa hasta la maduración de la uva, acumulándose gradualmente en el hollejo; todas las antocianinas son derivados de la fenilalanina que sintetiza maldivina, cianidina, peonidina, delfidina y petunidina (Canals, *et al.*, 2005; Robinson & Davies., 2000). Las antocianinas son sintetizadas en el citosol de las células epidérmicas en las capas hipodermales y se almacenan en las vacuolas (Teixeira *et al.*, 2013).

El color característico de los vinos es obtenido por la extracción de dichas antocianinas durante la fermentación y maceración, y su liberación depende de factores como el pH y la presencia de factores de copigmentación, textura del hollejo, temperatura y concentración de etanol. (Gil *et al.*, 2015; Jin *et al.*, 2017). Por consiguiente, el espectro de absorción del vino presenta un máximo a una longitud de onda de 520 nm que corresponden al color rojo, mientras que la componente amarilla (420 nm) y azul (620 nm) muestran un ligero decrecimiento, lo cual forma un triángulo (Zamora, 2003, **Figura 2**).

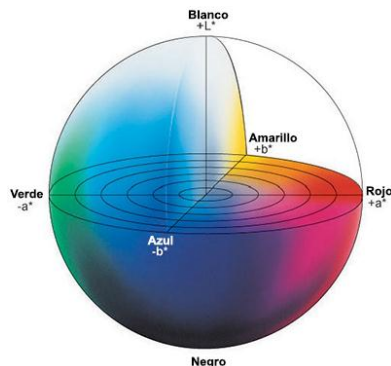
Dado que la preferencia del consumidor dependerá factores ajenos al productor, como la iluminación del sitio de compra o consumo, es necesario garantizar que el vino presenta las propiedades cromáticas óptimas para su consumo, y por ende se requiere estandarizar los parámetros cromáticos. Las variables consideradas como la intensidad colorante permiten dilucidar cuanto color tiene un vino al sumar las componentes roja, amarilla y azul. Así mismo, la variable tonalidad nos permite denotar la importancia relativa del amarillo sobre el rojo (Zamora, 2003).



**Figura 2.** Izq. Espectro de absorción del vino tinto, que exhibe una curva de incremento en la longitud de onda referente al rojo. Imagen tomada de Zamora (2003).

La *Commission Internationale de l'Éclairage* (CIE) en 1976, estableció normas que permiten la correcta definición del color utilizando las curvas espectrales de sensibilidad del ojo normal para tres estímulos luminosos convencionales denominados: X, Y y Z. Estos valores representan los tres colores base (X: rojo virtual, Y: verde virtual y Z: azul virtual) cuyas combinaciones en permiten reproducir la totalidad de los colores visibles para el ojo humano. La determinación de estos valores se realiza al analizar la lectura de cuatro transmitancias y aplicar las fórmulas correspondientes (Zamora, 2003). Con base a la proporción de las tres componentes principales, la CIE definió el espacio *CIElab*, donde se trata de representar en el espacio la tonalidad de los colores.

Las componentes  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  permiten definir un color en este espacio, estos ejes representan las graduaciones entre colores opuestos (Figura 3). Donde  $L^*$  hace referencia a la luminosidad, va desde el blanco hasta el negro,  $a^*$  de verde a rojo y  $b^*$  de amarillo a azul (Zamora, 2003). Dado que el espacio *CIElab* determina el color de forma precisa, se considera que es un método apropiado para la estandarización cromática.

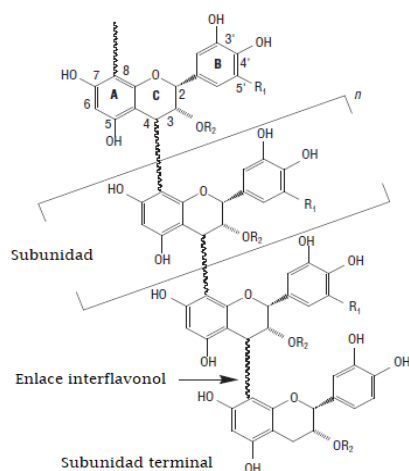


**Figura 3.** Izq. Esfera del espacio *CIELab*, tomada de Zamora (2003). Se hace referencia a los ejes utilizados para la determinación precisa de los colores.

## Taninos

El término tanino, hace referencia a un tipo de proantocianidina (Figura 4), este grupo está compuesto por oligómeros y polímeros de unidades de flavonol-3-ol, encontrándose en las semillas y el hollejo. (Downey *et al.*, 2003; Asproudi *et al.*, 2015). Las protocianidinas comparten la ruta de biosíntesis con las antocianinas y otros flavonoles que contribuyen a la sensación amarga y estabilidad cromática (Asproudi *et al.*, 2015). El grado de polimerización y el porcentaje de galoilación es directamente proporcional a la sensación de astringencia (de Llaudy *et al.*, 2008).

Las proantocianidinas presentes en la semilla están conformadas de (+)- catequina (-)-epicatequina y (-)-epicatequina-3-galato (Freitas & Glories, 1999, de Llaudy *et al.*, 2007; Bordiga *et al.*, 2011). Se ha reportado que las proantocianidinas presentes en las semillas tienen un menor grado de polimerización que las que se encuentran en el hollejo; sin embargo, el aporte tánico de las semillas al vino es aún mayor que el obtenido por los hollejos (Llaudy *et al.*, 2008; Downey *et al.*, 2003).



**Figura 4.** Izq. Estructura generalizada de un polímero de proantocianidina mostrando la subunidad terminal de flavon-3-ol y la subunidad derivada de flavan-3-4-dioles con un enlace interflavanol uniendo las subunidades poliméricas. Tomado de Downey M., *et al.*, (2003).

La concentración de proantocianidinas es mayor durante el envero y progresivamente decrece hasta que permanece constante durante todo el proceso de maduración (Downey *et al.*, 2003; Canals *et al.*, 2005). Uno de los factores que determina la extracción de polifenoles es la duración de la maceración ya que, durante la producción de vino, la concentración de etanol en el medio aumenta, así como la extracción de protocianidinas (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2000; Canals, *et al.*, 2005). Debido a esto, se considera que en una maceración prolongada, se podría extraer la mayor concentración de taninos que favorezcan la estabilización cromática a largo plazo como se utiliza en los vinos producidos con Nebbiolo.

### *La variedad Nebbiolo como objeto de estudio*

La variedad Nebbiolo (*Vitis vinífera* L. cv.) es de origen italiano y sus vinos suelen tener concentraciones bajas de antocianinas y un perfil organoléptico ampliamente caracterizado. En la región del Piamonte en Italia, la uva Nebbiolo se emplea para elaborar vinos Barolo y Barbaresco, los cuales son globalmente reconocidos por su gran balance entre la complejidad aromática y pronunciada acidez y astringencia (Asproudi *et al.*, 2016).

Una de las notas más recurridas por los expertos catadores es la del alquitrán, regaliz, violetas, cuero, chocolate, ciruelas e higos. Así mismo, esta variedad se caracteriza por tener taninos muy intensos, de acuerdo con su perfil genético, la cosecha tardía propiciada por climas fríos y el largo periodo de crianza en barricas de roble (MacNeil, 2001; La Iacona *et al.*, 2012).

A pesar de que es una variedad que se caracteriza por ser de difícil adaptación, debido a sus requerimientos edafoclimatológicos, esta variedad se cultiva en todos los valles de Baja California, produciendo vinos de excelente calidad (MacNeil, 2001; Asproudi *et al.*, 2016; Cabello-Pasini *et al.*, 2017). Por lo tanto, estudiar y caracterizar el perfil polifenólico de esta variedad durante el proceso de fermentación es de gran importancia para el sector vitivinícola que busca vinos jóvenes, aromáticos y con mucho color que determinan su gran calidad.



## Capítulo II. Material y Métodos

---

## *Muestreo*

Las uvas de la variedad Nebbiolo fueron obtenidas de tres viñedos de diferentes zonas localizados en el Valle de Guadalupe (LNB, PAS y REL). De acuerdo con Pasini-Cabello *et al.* (2017), el Valle de Guadalupe (32°03' N, 116°37' O) es una cuenca aproximadamente a 30 km al noreste de la ciudad de Ensenada, Baja California, México. La pluviometría media del valle oscila cerca de los 250 mm anuales. En la zona oeste del Valle, se encuentra San Antonio de las Minas a 10 km de la costa del océano Pacífico, en esta zona se encuentran las vinícolas PAS y REL, mientras que la vinícola LNB se sitúa en el poblado de el Porvenir (Pasini-Cabello *et al.*,2017).

Dado que los viñedos están distribuidas en subregiones dentro del Valle de Guadalupe, las uvas se cosecharon y analizaron de acuerdo con los parámetros establecidos de cada viñedo, así como tomadas las muestras aleatoriamente de acuerdo a lo permitido por los productores; se seleccionaron racimos de forma aleatoria de la sección alta, media y baja de la planta, y de ambas caras de la línea.

Se analizó pH, acidez titulable y °Brix antes del inicio del experimento, posteriormente las uvas se despalillaron y pesaron 500 g correspondientes de cada muestra, a las porciones respectivas se les retiró manualmente las semillas, donde cada tratamiento tuvo una réplica.

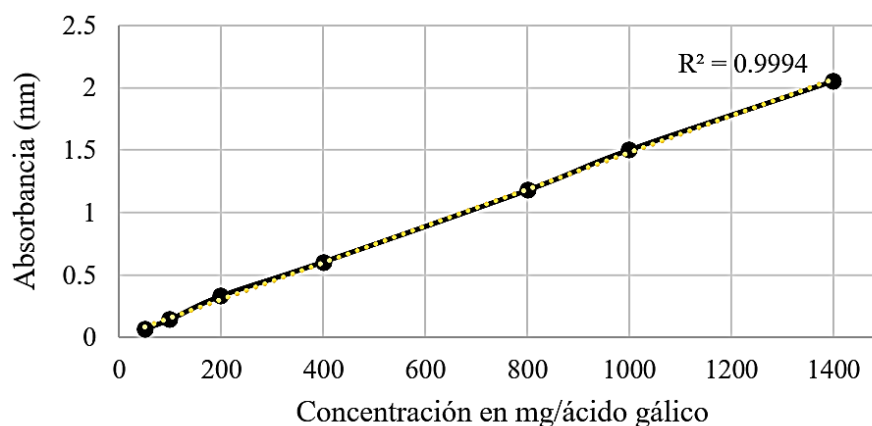
Finalmente, las uvas fueron homogenizadas y se mantuvieron en maceración por 24 horas, transcurrido ese tiempo se inició la fermentación mediante la inoculación de levadura *Saccharomyces cerevisiae cerevisiae*. La cuantificación de polifenoles totales, medición de color (parámetro CIE<sub>lab</sub>) y seguimiento de producción de alcohol será en el siguiente orden: iniciando desde la homogeneización, considerado como tiempo cero, y 2, 4, 6, 8, 24, 36 y 40 horas después (hd); a partir de entonces se tomó una muestra cada 24 horas y hasta 14 días después de la homogeneización. Una vez terminada la fermentación, se realizó una evaluación de pH, acidez titulable y acidez volátil de los vinos producidos.

### *Elaboración de curva de calibración de ácido gálico*

Con el fin de cuantificar la concentración de polifenoles totales presentes en las muestras se construyó la curva de calibración, expresada en mg de ácido gálico. Para ello, se prepararon diferentes soluciones con concentraciones de 50, 100, 200, 400, 800, 1000 y 1400 mg del estándar de ácido gálico. Posteriormente, se midió la absorbancia respectiva en un espectrofotómetro de UV-VIS.

### *Determinación de la concentración de polifenoles totales*

La concentración de polifenoles totales fue determinada por el método de Folin-Ciocalteu. Se colocaron 1 mL de agua destilada y 5  $\mu$ L de muestra después de una agitación corta, se agregaron 100  $\mu$ L de reactivo Folin-Ciocalteu, se agitó nuevamente y se dejó reaccionar durante un minuto. Posteriormente, se adicionaron 300  $\mu$ L de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 80% y se incubaron a 40°C por 30 minutos. Finalmente, se leyó la absorbancia de las muestras en un espectrofotómetro UV-VIS a 765 nm. Los resultados fueron calculados a partir de una curva de calibración expresada en mg de ácido gálico. Las gráficas con mayor correlación fueron promediadas para realizar el cálculo de concentración de polifenoles totales de las muestras (Figura 5).



**Figura 5.** Curva de calibración promedio de ácido gálico, la concentración está expresada en mg de ácido gálico/L. La curva promedio fue obtenida con un valor de R cuadrada 0.9994 (n = 3).

### *Determinación de características cromáticas*

Las propiedades cromáticas fueron determinadas a partir de los parámetros: intensidad colorante (IC), tonalidad (TN) de acuerdo con Glories (1984) y las modificaciones realizadas por Zamora (2003), a través de las siguientes fórmulas. En una celda de 1 mm de paso óptico, se midieron las absorbancias a 420, 520 y 620 nm, del mosto previamente centrifugando. Posteriormente, el resultado se multiplicaron por 10, para referirlo a la celda de 10 mm.

$$IC = A_{420} + A_{520} + A_{620}$$

Por otra parte, la tonalidad fue calculada con la siguiente fórmula, y se expresa en tanto por ciento.

$$TN = A_{420}/A_{520} * 100$$

Como se mencionó anteriormente, las componentes cromáticas  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  permiten definir un color dentro del espacio CIELAB, cada una presenta un gradiente colorimétrico diferente donde  $L^*$  va desde el blanco al negro,  $a^*$  va desde el verde al rojo y  $b^*$  desde el amarillo al azul. Previo al cálculo de componentes se deben determinar los valores de los tres colores base (X: rojo virtual, Y: verde virtual y Z: azul virtual), se realizaron lecturas de las absorbancias en las longitudes de onda a 450, 520, 570 y 630 nm y posteriormente se calcularon su valor de transmitancia donde se aplicaron las fórmulas siguientes.

$$X = 19.717 T_{450} + 1.884 T_{520} + 42.539 T_{570} + 32.474 T_{630} - 1.841$$

$$Y = 7.950 T_{450} + 34.764 T_{520} + 42.736 T_{570} + 15.759 T_{630} - 1.180$$

$$Z = 103.518 T_{450} + 4.190 T_{520} + 0.251 T_{570} - 1.831 T_{630} + 0.818$$

Así mismo, con el objetivo de calcular las componentes  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ , se aplicaron las siguientes fórmulas.

$$\begin{aligned}L^* &= 116 (Y/100)^{1/3} - 16 \\a^* &= 500 [(X/94.825)^{1/3} - (Y/100)^{1/3}] \\b^* &= 200 [(Y/100)^{1/3} - (Z/107.383)^{1/3}]\end{aligned}$$

#### *Evaluación de parámetros fisicoquímicos de mostos y vinos*

##### *Determinación de °Brix y pH*

La concentración de sólidos solubles totales del mosto fue determinada de acuerdo con el método propuesto por Ribera-Fonseca *et al.* (2016), utilizando un refractómetro calibrado con agua destilada y los resultados fueron expresados en grados Brix (°Brix). En cuanto a la determinación de pH se aplicó el método descrito por García-Barceló (1990), éste consiste en sumergir los electrodos en la muestra para que un electrodo adquiera el potencial en función del pH y el otro electrodo mida el potencial adquirido. Para ello, se requirió un potenciómetro calibrado con soluciones búfer de pH de 4, 7 y 10. Es importante resaltar que los autores antes mencionados desarrollaron los métodos adoptados por la AOAC (*Association of Official Analytical Chemists*), institución que regula las técnicas de análisis referentes a los alimentos en Estados Unidos.

##### *Determinación de Nitrógeno Asimilable por Levaduras*

Se determinó la concentración de nitrógeno asimilable por levaduras (NAL) presente en el mosto de acuerdo con el método desarrollado por Gump *et al.* (2001). La titulación en formol es un método simple y rápido, que mediante la reacción entre neutralización del mosto y la subsecuente adición de formaldehído neutralizado es posible retirar un protón de los aminoácidos y así, poder titular el nitrógeno disuelto. Se tomaron 3 mL de mosto y se diluyeron en 10 mL de agua destilada, mediante hidróxido de sodio (NaOH) al 1 N se neutralizó a un pH igual a 8. Posteriormente se añadieron 2 mL de formaldehído neutralizado y por medio del NaOH al 1 N se volvió a neutralizar a pH igual a 8, y finalmente se registró la cantidad de NaOH al 1 N utilizado con el fin de obtener la concentración de NAL a través de la siguiente fórmula:

cont. *Determinación de Nitrógeno Asimilable por Levaduras*

$$\text{mg N/L de mosto} = \frac{\text{mL de NaOH gastados} * \text{Normalidad de NaOH} * 14,000}{\text{Volumen de la muestra (mL)}}$$

*Determinación de Acidez titulable*

Se realizó la determinación de acidez titulable mediante el método oficial de la O.I.V. (2017). El método consiste en una titulación ácido-base con bureta, potenciómetro y reactivo NaOH 0.1 N. En un vaso de precipitado se agregan 5 mL de muestra, esta muestra se valoró con la solución de NaOH 0.1 N con agitación constante y medición del pH constante. La valoración terminó cuando la muestra ha alcanzado un pH de 8.2 de la reacción de neutralización del ácido. Para estimar la concentración de gramos de ácido tartárico por litro de mosto y/o vino, se aplicó la siguiente fórmula:

$$\text{g de ácido tartárico/L de vino} = \frac{\text{mL de NaOH gastados} * \text{Normalidad de NaOH} * \text{m eq de ácido tartárico/L}}{\text{Volumen de la muestra (mL)}}$$

### *Determinación de Acidez volátil*

Al término de la fermentación, se midió la acidez volátil a través del método descrito por García Barceló (1990). El método A.O.A.C. se basa en la destilación fraccionada del vino utilizando el vapor de agua para el arrastre de los ácidos. Se requiere de un equipo de destilación y reactivos como NaOH 0.01 N y un indicador (fenolftaleína al 1%). La muestra de vino se añadió en la cámara interna del destilador y en la externa se agrega el agua, esta hirvió por 3 minutos. Después, los ácidos presentes en la muestra son arrastrados con el vapor del agua hervido al matraz receptor. Se recogieron aproximadamente 150 mL, y al destilado se le agregaron dos gotas de fenolftaleína al 1% y se valoró con NaOH a 0.01 N hasta que se obtuvo una coloración rosa claro persistente.

El cálculo necesario para expresar los gramos de ácido acético por litro de vino es la siguiente:

$$\text{g de ácido acético/L vino} = \text{mL de NaOH 1.0 N gastados} * 0.006 * 40$$

### *Análisis estadístico*

Los resultados obtenidos de los parámetros fisicoquímicos antes mencionados fueron expresados en promedios y su desviación estándar obtenida, proveniente de tres réplicas y tratados estadísticamente a través de una prueba de ANOVA.



## Capítulo III. Resultados y Discusión

---

### Composición inicial del mosto

La cantidad de °Brix en mosto se debe principalmente a las diferencias del estado de maduración de la uva relacionada con las condiciones mesoclimáticas entre los tres viñedos (Tabla 1). Cabello-Pasini *et al.* (2017) registraron en la zona de San Antonio de las Minas, localidad donde se encuentran PAS y REL, se alcanzan los 25°C sólo 67 días al año, mientras que LNB situado en la localidad El Porvenir registró la misma temperatura 131 días.

El ácido tartárico es uno de los ácidos mayoritarios en uvas y su concentración oscila entre los 2-6 g/L (Ribéreau-Gayón *et al* 2006). Los resultados obtenidos coinciden con este intervalo a excepción de REL cuya concentración de ácido tartárico se excede 1.52 g/L de este intervalo, que además coincide con un pH más ácido. Esto puede deberse a ligeras variaciones genotípicas, dado que tanto REL como PAS se localizan en la zona de San Antonio de las Minas y no es posible atribuir esta diferencia a las condiciones mesoclimáticas pero sí a la maduración.

A pesar de que los valores de nitrógeno entre las vinícolas son bastantes dispares, se considera que se encuentran dentro del intervalo para vinos tintos (143-666 mg/L). La concentración de nitrógeno asimilable es muy variable año con año, pudiendo influir la región, el tipo de uva, las prácticas vitícolas y las condiciones ambientales (Ribéreau-Gayón *et al* 2006; Lee & Steenwerth, 2011). De igual forma la alta variación entre los datos de cada vinícola está asociada a la volatilidad del reactivo utilizado, lo que provoca una integración de error aleatorio al error sistemático.

**Tabla 1.** Composición inicial de los mostos (n=3).

	pH	°Brix	Acidez total*	NAL**
<b>LNB</b>	3.63 <sup>a</sup> (0.09)	24.9 <sup>a</sup> (0.59)	4.40 <sup>a</sup> (0.11)	179 <sup>a</sup> (4.43)
<b>PAS</b>	3.36 <sup>b</sup> (0.04)	18.7 <sup>b</sup> (0.23)	4.94 <sup>b</sup> (0.06)	85.8 <sup>b</sup> (2.80)
<b>REL</b>	3.07 <sup>c</sup> (0.06)	21.8 <sup>c</sup> (0.11)	7.52 <sup>c</sup> (0.02)	110 <sup>c</sup> (3.51)

\*g(H<sub>2</sub>T)/L, \*\*NAL (Nitrógeno Asimilable por Levaduras) en mg/L. Superíndices diferentes en la misma columna indican que de acuerdo con los resultados del test de Student Newman Keuls existen diferencias significativas entre los valores (n=3).

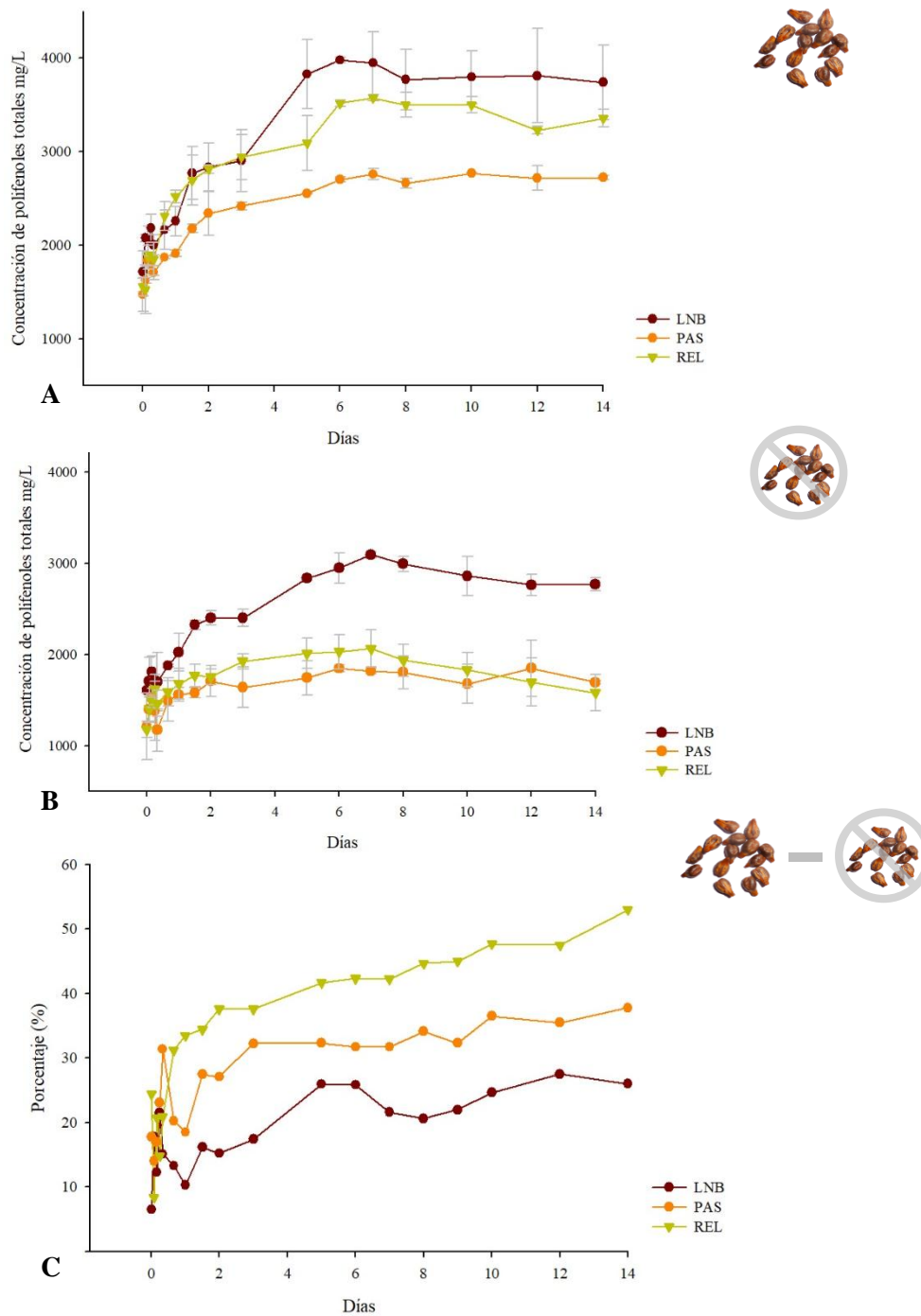
### *Concentración de polifenoles totales*

Durante el proceso de vinificación, el mosto procedente de LNB registró los valores máximos en ambos tratamientos TCS (3.98 g/L) y TSS (3.10 g/L) (Figura 6). El tratamiento estadístico de los datos indica que existen diferencias significativas ( $p < 0.50$ ) al comparar el TCS contra el TSS en todas las vinícolas. Por otra parte, en el TCS se encontraron diferencias significativas entre los valores obtenidos de cada vinícola.

Los valores máximos de las vinícolas fueron alcanzados después del sexto día y en el caso del TCS, la concentración permanece constante, mientras que en TSS la concentración de polifenoles, después de alcanzar su máximo comienza a disminuir gradualmente. Las concentraciones más bajas se observan en la vinícola PAS, tanto en el TCS (1.847g/L) y TSS (1.170g/L). Los valores obtenidos en el presente estudio se encuentran dentro del intervalo establecido 0.706 - 2.301g/L por otros estudios (Nicoletti *et al.* 2013; Locatelli *et al.* 2015; Allebrandt *et al.* 2017).

La concentración polifenoles totales es influenciada principalmente por el tiempo y temperatura de maceración, así como la concentración de taninos presentes en semillas y hollejos. Al evaluar la composición fenólica de la variedad Nebbiolo, Locatelli *et al.* (2015) reportaron que el contenido de taninos en semillas es mucho mayor que en el hollejo, aunque estos últimos presenten una mayor extractabilidad durante la maceración prefementativa. Lo que coincide con los resultados de este estudio porque en todas las vinícolas el TCS registró una mayor concentración de polifenoles totales en comparación con el TSS.

Al comparar el TCS entre vinícolas, LNB y REL presenta una tendencia creciente con respecto a la concentración, siendo PAS la vinícola con menor concentración de polifenoles totales. En el TSS, a partir del sexto día LNB, presenta al menos 1.00 g/L más que PAS y REL, esta diferencia se incrementó hasta 1.28 g/L al ser comparado con PAS el séptimo día de muestreo, este margen de diferencia mantiene a LNB separado de las demás vinícolas durante el resto del estudio.



**Figura 6.** Evolución de la concentración de polifenoles totales en las uvas de las tres vinícolas. Concentración expresada en mg/L de equivalentes de ácido gálico. En la Figura 6A se observa el tratamiento con semilla (TCS), y en 6B el tratamiento sin semilla (TSS). En la Figura 6C se observa el porcentaje de cambio entre ambos tratamientos. Resultados presentados son el promedio de 3 réplicas  $\pm$  desviación estándar.

En este caso, las diferencias en la concentración total de polifenoles entre vinícolas, se puede deber principalmente al estado de maduración de las uvas en el momento de la recolección (Tabla 1) y en segundo lugar a efectos microclimáticos de las subregiones. Con relación a la ubicación de PAS y REL están localizado a 10 km de la costa, mientras que LNB se encuentra a 30 km (Cabello-Pasini *et al.* 2017). Esto provoca que ambas vinícolas, PAS y REL, estén expuestas a mayor brisa marina que consecuentemente reduce la temperatura e incluso la irradiancia, mientras la humedad mantiene niveles altos, lo que lleva un efecto en la evapotranspiración de la planta de vid. Bergqvist *et al.* (2001) registraron que la concentración total de polifenoles incrementa gradualmente linealmente a la temperatura y la exposición solar en las uvas Cabernet Sauvignon y Grenache. Esto sustenta el hecho de que la vinícola LNB al encontrarse expuesta a mayores temperaturas y exposición solar, hace posible que las bayas desarrollen una mayor concentración de polifenoles tanto en el TCS como en el TSS.

Finalmente, la diferencia en el porcentaje de la concentración de polifenoles totales entre el TCS y TSS permite visualizar la concentración de polifenoles extraídos del hollejo (**Figura 6C**). A la vista de los resultados, se considera que en la muestra LNB, el aporte del hollejo es mayor que en REL, ya que esta última vinícola presentó una mayor diferencia entre ambas concentraciones de los tratamientos. De acuerdo con Gil *et al.* (2012), la maduración fenólica en Cabernet Sauvignon indica que la contribución fenólica de la hollejo en el vino aumenta linealmente con respecto de la madurez de la uva. Este resultado concuerda con la muestra LNB porque el aporte fenólico del hollejo fue mayor que en el resto de las vinícolas, y al momento de cosechar esta muestra presentó el valor más alto de °Brix (24.9), unidad íntimamente relacionada con el estado de la madurez de la uva.

### Características cromáticas

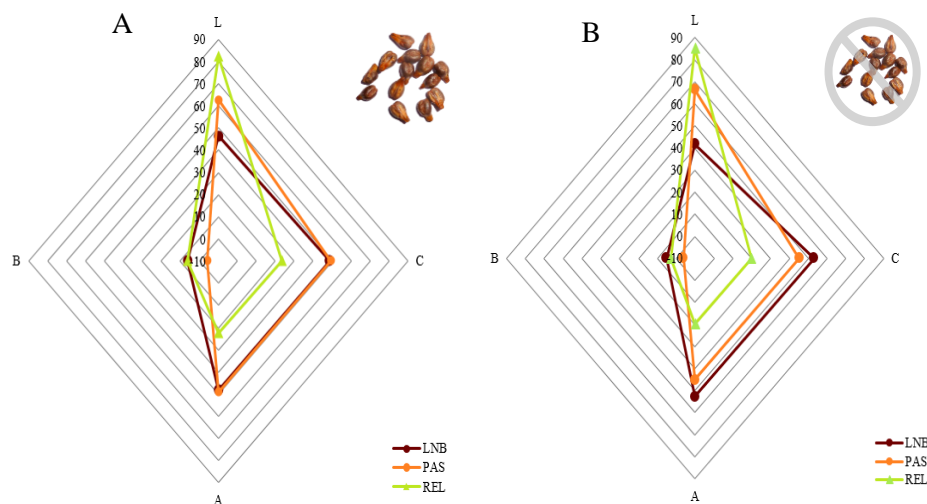
La componente  $L^*$ ,  $a^*$  y la IC mostraron diferencias significativas al ser comparadas entre tratamiento y vinícolas, mientras que la componente  $b^*$  sólo fue diferente en la muestra REL (**Tabla 2**). Así mismo, los valores de la componente  $a^*$  en LNB y PAS presentan valores muy similares, mientras que REL muestra valores menores (**Figura 7**). Los valores de  $L^*$ ,  $a^*$  e IC reportados por Torchio *et al.* (2016) son similares a los registrados en las vinícolas LNB y PAS. Considerando que en la vinícola REL  $L^*$  es notoriamente mayor y la IC significativamente menor.

**Tabla 2.** Características cromáticas de los vinos (n = 3).

	$L^*$	$a^*$	$b^*$	IC	TN
LNB TCS	44.7 <sup>a.1</sup> (0.989)	49.1 <sup>a.1</sup> (0.113)	6.70 (1.315)	2.60 <sup>a.1</sup> (0.093)	66.1 <sup>a.1</sup> (3.038)
LNB TSS	40.8 <sup>a.2</sup> (0.704)	53.4 <sup>a.2</sup> (0.055)	5.10 <sup>a</sup> (0.566)	2.83 <sup>a.2</sup> (0.071)	59.4 <sup>a.2</sup> (0.679)
PAS TCS	61.9 <sup>b.1</sup> (0.070)	50.6 <sup>a.1</sup> (2.623)	4.60 (0.975)	1.41 <sup>b.1</sup> (0.001)	44.3 <sup>b</sup> (3.542)
PAS TSS	66.2 <sup>b.2</sup> (1.979)	44.3 <sup>b.2</sup> (4.638)	3.30 <sup>b</sup> (1.223)	1.19 <sup>b.2</sup> (0.115)	46.8 <sup>b</sup> (5.187)
REL TCS	83.0 <sup>c.1</sup> (0.282)	21.1 <sup>b.1</sup> (0.311)	5.50 <sup>1</sup> (0.933)	0.60 <sup>c.1</sup> (0.001)	72.3 <sup>c</sup> (2.320)
REL TSS	86.4 <sup>c.2</sup> (0.707)	17.7 <sup>c.2</sup> (0.763)	3.00 <sup>c.2</sup> (0.190)	0.50 <sup>c.2</sup> (0.025)	71.7 <sup>c</sup> (0.856)

La abreviación IC corresponde a intensidad colorante y TN a tonalidad. Superíndices diferentes en la misma columna indican que de acuerdo con los resultados del test de Student-Newman-Keuls diferencias significativas entre los valores. Los superíndices numéricos indican diferencias entre tratamiento, mientras que los alfabéticos indican diferencias entre vinícola.

En el TCS sólo se encontraron diferencias estadísticas al comparar el parámetro  $L^*$  entre todas las vinícolas ( $p < 0.05$ ), mientras que la componente  $b^*$  no muestra diferencias. Por otro parte, en el TSS todos los parámetros resultaron ser estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ ); la componente  $L^*$  presentó diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) al compararse entre los dos tratamientos. Gil *et al.* (2012) registraron en Cabernet Sauvignon existe una relación directamente proporcional entre los °Brix y la intensidad colorante, la componente croma, e inversamente proporcional a los valores de  $L^*$ . Esto sustenta que en LNB registra más °Brix, más intensidad colorante, y menor luminosidad que el resto de las vinícolas, que presentaron una tendencia diferente.



**Figura 7.** Figura de las componentes del espacio *CIElab* en los uvas analizadas (n=3). Figura A muestra las características cromáticas del tratamiento con semillas (TCS) mientras que B muestra las del tratamiento sin semillas (TSS).

Mientras tanto, la componente  $b^*$  presenta diferencias en todas las vinícolas con respecto a los resultados presentados por Torchio *et al.* (2016), lo que deriva en que los vinos obtenidos presenten más tonalidad azul. La pérdida de color de REL puede deberse a que esta vinícola registró temperaturas más bajas que el resto. Esto se ha estudiado en otras variedades como Pinot Noir, Shiraz y Cabernet Sauvignon (Downey *et al.* 2006), donde indican que temperaturas bajas provocan una reducción de color. Así mismo, Lorrain *et al.* (2011) menciona que altas temperaturas pueden inducir daños en el hollejo, provocando un incremento en la extractabilidad de las antocianinos.

La muestra REL es la única vinícola que presenta diferencias significativas en la componente  $b^*$  al comparar el TCS y el TSS. Durante el crecimiento de la uva el color de las semillas cambia desde un tono verde hasta café oscuro, donde decrece la componente  $b^*$  (Ferrer-Gallego *et al.* 2010). Por lo tanto, es probable que las semillas de REL no llegaran a la maduración completa durante la cosecha y la concentración de flavonoles fue alta, elementos que incrementaron los valores de la componente  $b^*$  en el TCS.

La intensidad colorante muestra diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos y vinícolas, siendo el TCS, que presentó los valores más altos, pero menores en comparación con los resultados obtenidos por Torchio *et al.* (2012). Esto podría deberse a que las uvas utilizadas en el presente estudio registraron valores bajos de °Brix, medida intrínsecamente relacionada con la madurez, dado que, a menor maduración la concentración final de intensidad colorante disminuye (Kontoudakis *et al.* 2011).

La TN indica la relación entre la componente amarilla y la roja, donde el estado de madurez es inversamente proporcional a la tonalidad. A mayor maduración, la componente roja aumenta y la amarilla disminuye, por lo que mostos con tonalidad menor provienen de uvas con mayor madurez. Sin embargo, la transformación del color durante el proceso de vinificación puede cambiar en función de la oxidación, adición de aditivos y el almacenaje del vino. De acuerdo a los resultados, la vinícola LNB exhibe diferencias significativas entre el TCS y el TSS. Los resultados ponen de manifiesto que, en el Valle de Guadalupe la tonalidad de Nebbiolo oscila tiene un rango de 44.3-72.3, mientras que Locatelli *et al.* (2016) reportan un intervalo entre 58.6-98.0 en Nebbiolo cultivado en Piamonte, Italia. Esto demuestra que tanto como LNB y REL se mantienen dentro del intervalo, mientras que PAS presenta una mayor concentración de pigmentos, aunque este exceso de componente roja no se considera un defecto sino una singularidad que incrementa su valor agregado.

### Composición final del vino

Los valores de acidez volátil y pH entre vinícolas son similares y la diferencia es muy baja entre tratamientos (Tabla 3). Por otro lado, la acidez total presenta valores mayores en PAS, mientras que en LNB son menores.

**Tabla 3.** Composición final de los vinos (n=3).

	Acidez volátil*	Acidez total**	pH
<b>LNB TCS</b>	0.364 (0.068)	4.18 <sup>1</sup> (0.442)	3.55 (0.181)
<b>LNB TSS</b>	0.440 (0.006)	4.25 <sup>2</sup> (0.354)	3.57 (0.124)
<b>PAS TCS</b>	0.514 <sup>a,1</sup> (0.059)	6.22 <sup>a,1</sup> (0.383)	3.57 (0.479)
<b>PAS TSS</b>	0.308 <sup>b,2</sup> (0.322)	6.12 <sup>b,2</sup> (0.943)	3.64 (0.022)
<b>REL TCS</b>	0.329 (0.151)	5.62 <sup>a,1</sup> (0.059)	3.69 <sup>a,1</sup> (0.032)
<b>REL TSS</b>	0.428 (0.085)	5.14 <sup>b,2</sup> (0.029)	3.74 <sup>b,2</sup> (0.101)

Concentración g/L como equivalentes de ácido acético\* g(H<sub>2</sub>T)/L\*\*. Superíndices diferentes en la misma columna indican que de acuerdo con los resultados del test de Student-Newman-Keuls diferencias significativas entre los valores. Los superíndices numéricos indican diferencias entre tratamiento, mientras que los alfabéticos indican diferencias entre vinícola.

Los resultados indican que la acidez total presenta diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre vinícolas y tratamientos. Sin embargo, el intervalo de los resultados de los vinos es 4.25-6.22 gH<sub>2</sub>T/L, encontrándose en el intervalo de concentración promedio para vinos tintos (2-6 gH<sub>2</sub>T/L) de acuerdo con Ribéreau-Gayón *et al.* (2006). Además, Torchio *et al.* (2016) encontraron valores de acidez total entre 5.03-5.29 gH<sub>2</sub>T/L en vinos de la variedad Nebbiolo.

Con respecto de la acidez volátil, los resultados se encuentran dentro del rango reportados por García-Barceló (1990), quien propone que 0.3-0.8 g/L expresado en ácido acético se consideran aceptables; de igual forma, los vinos producidos por Torchio *et al.* (2016) están entre 0.68-0.56 g/L de ácido acético y un pH entre 4.05-4.13. Así mismo, el rango de pH óptimo en vinos oscila entre los 3.0-3.5 (Ribéreau-Gayón *et al.* 2006). Los registros obtenidos de pH son más similares a los propuestos por Torchio *et al.* (2016), lo que permite considerar que se mantienen dentro del pH de esta variedad Nebbiolo.



## Capítulo IV. Conclusiones

---

El estado de maduración de uvas de la variedad Nebbiolo previo a la recolección y análisis es el agente responsable de la variación en la concentración de polifenoles, así mismo de las características cromáticas. A su vez, éstas diferencias en la madurez está directamente relacionadas con la variación mesoclimática (golpe de calor y diferencias en la temperatura diaria y anual). Puesto que la vinícola LNB, registró una mayor temperatura e irradiancia durante el periodo de madurez, los mostos presentaron mayor concentración de °Brix, menor acidez, mientras que los mostos de PAS y REL mostraron valores más altos que LNB.

Al finalizar la fermentación, los vinos de LNB mostraron la mayor concentración de polifenoles, tanto en TCS y TSS; mientras que los valores más bajos se registraron en la vinícola PAS con ambos tratamientos. Al comparar estadísticamente la concentración de polifenoles entre el TCS y TSS, se observaron diferencias significativas ( $p < 0.50$ ), probablemente debido al estado de madurez de la uva semillas reflejado en el perfil fenólico de los vinos. Asimismo, se comparó el efecto de la localidad entre las tres vinícolas en función de la concentración de polifenoles totales, donde sólo el tratamiento con semilla (TCS) presenta diferencias significativas entre ellas ( $p < 0.50$ ); mientras que el tratamiento sin semilla (TSS), sólo presenta diferencias la vinícola LNB.

Las características cromáticas de los muestras de la vinícola REL presentan valores menores de la componente  $a^*$  e intensidad colorante (IC), y valores mayores de la componente  $L^*$  y tonalidad (Tn), dando como resultado vinos con un color rojo menos intenso y más brillantes. Mientras que LNB y PAS tienen una mayor intensidad colorante y menor tonalidad; y por lo tanto, vinos con un color rojo más intenso y opaco. A pesar de que existen diferencias significativas en la IC entre ambos tratamientos, es importante destacar que los taninos no ejercen una influencia en el color del vino, dado que éste es influenciado por la concentración de los antocianos presentes en el hollejo. En la composición final Nebbiolose observó que en los valores de acidez volátil, acidez total y pH existen diferencias significativas entre vinícolas y tratamientos.

En general, se concluye que el estado de madurez de las uvas influye en el potencial enológico y, por lo tanto, en la concentración de polifenoles desde la cosecha, durante la elaboración (maceración y fermentación alcohólica) y maduración del vino. Al evaluar el perfil polifenólico de las muestras, se demuestra que estas no aportan en las características cromáticas de los vinos, son influenciadas por los antocianos, mientras que los taninos modifican la percepción sensorial de la astringencia.

Este estudio es el inicio de una propuesta para ampliar el estudio y caracterización de los componentes de la uva que son afectados por el estado de madurez y tienen un impacto químico y organoléptico positivo en los vinos elaborados a partir de la variedad Nebbiolo en el Valle de Guadalupe.



Literatura citada

---

- Araujo Cota, F. (2012). Don Esteban Ferro Binello. Retrieved 21 August 2020, from <https://www.elvigia.net/general/2012/7/29/esteban-ferro-binello-88982.html>
- Asproudi, A., Petrozziello, M., Cavalletto, S., & Guidoni, S. (2016). Grape aroma precursors in cv. Nebbiolo as affected by vine microclimate. *Food Chemistry*, 211: 947-956. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.05.070.
- Asproudi, A., Piano, F., Anselmi, G., Di Stefano, R., Bertolone, E., & Borsa, D. (2015). Proanthocyanidin composition and evolution during grape ripening as affected by variety: nNebbiolo and Barbera cv. *OENO One*, 49(1), 59. doi: 10.20870/oeno-one.2015.49.1.93.
- Allebrandt, R., Marcon Filho, J., Würz, D., Bem, B., Kretschmar, A., & Rufato, L. (2017). Pruning methods on the yield performance and oenological potential of 'Nebbiolo' grapevine. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 52(11):1017-1022. doi: 10.1590/s0100-204x2017001100007
- Aversano, R., Basile, B., Buonincontri, M., Carucci, F., Carputo, D., Frusciante, L., & Di Pasquale, G. (2017). Dating the beginning of the Roman viticultural model in the western Mediterranean: the case study of Chianti (Central Italy). *PLOS ONE*, 12(11): e0186298. doi: 10.1371/journal.pone.0186298.
- Benucci, I., Río Segade, S., Cerreti, M., Giacosa, S., Pissoni, M., & Liburdi, K. et al. (2017). Application of enzyme preparations for extraction of berry skin phenolics in withered winegrapes. *Food Chemistry*, 237: 756-765. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.06.003.
- Bergqvist, J., N. Dokoozlian, and N. Ebisuda. 2001. Sunlight exposure and temperature effects on berry growth and composition of Cabernet Sauvignon and Grenache in the central San Joaquin Valley of California. *Am. J. Enol. Vitic.*, 52:1-7.
- Bordiga, M., Travaglia, F., Locatelli, M., Coisson, J., & Arlorio, M. (2011). Characterisation of polymeric skin and seed proanthocyanidins during ripening in six *Vitis vinifera* L. cv. *Food Chemistry*, 127(1): 180-187. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.12.141.
- Bouby, L., Figueiral, I., Bouchette, A., Rovira, N., Ivorra, S., Lacombe, T., & et al. (2013). Bioarchaeological insights into the process of domestication of grapevine (*Vitis vinifera* L.) during roman times in southern France. *Plos ONE*, 8(5): e63195. doi: 10.1371/journal.pone.0063195.
- Cabello-Pasini, A., Macias-Carranza, V. & Mejía-Trejo, A. (2017). The effect of mesoclimate on the ripening of Nebbiolo grapes (*Vitis vinifera*) in Valle de Guadalupe Baja California, Mexico. *Agrociencia*, 51(6): 617-633.
- Cadot, Y., Miñana-Castelló, M., & Chevalier, M. (2006). Anatomical, Histological, and Histochemical Changes in Grape Seeds from *Vitis vinifera* L. cv Cabernet franc during fruit development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(24), 9206-9215. doi: 10.1021/jf061326f.
- Cagnasso, E., Rolle, L., Caudana, A., & Gerbi, V. (2008). Relationship between grape phenolic maturity and red wine phenolic composition. *Italian Journal of Food Science*, 20(3): 365-382.

- Canals, R., Llaudy, M., Valls, J., Canals, J., & Zamora, F. (2005). Influence of Ethanol Concentration on the Extraction of Color and Phenolic Compounds from the Skin and Seeds of Tempranillo Grapes at Different Stages of Ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10): 4019-4025. doi: 10.1021/jf047872v.
- Carbonell, P., & Martínez Zapater, J. (2013). Estructura y composición de la uva y su contribución al vino. *Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular*, 176(1): 5-9.
- Chorti, E., Guidoni, S., Ferrandino, A., & Novello, V. (2010). Effect of different cluster sunlight exposure levels on ripening and anthocyanin accumulation in Nebbiolo Ggapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, 61: 23-30. Disponible en: <https://www.ajevonline.org/content/61/1/23>.
- Coombe, B., & McCarthy, M. (2000). Dynamics of grape berry growth and physiology of ripening. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 6(2): 131-135. doi: 10.1111/j.1755-0238.2000.tb00171.x.
- Coombe, B. (1992). Research on development and ripening of the grape berry. *Am J Enol Vitic*, 43: 101-110.
- de Llaudy, M., Canals, R., Canals, J., & Zamora, F. (2007). Influence of ripening stage and maceration length on the contribution of grape skins, seeds and stems to phenolic composition and astringency in wine-simulated macerations. *European Food Research and Technology*, 226(3):337-344. doi: 10.1007/s00217-006-0542-3.
- Downey, M., Harvey, J., & Robinson, S. (2003). Analysis of tannins in seeds and skins of Shiraz grapes throughout berry development. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 9(1): 15-27. doi: 10.1111/j.1755-0238.2003.tb00228.x.
- Downey, M., Dokoozlian, N., & Krstic, M. (2006). Cultural Practice and Environmental Impacts on the Flavonoid Composition of Grapes and Wine: A Review of Recent Research. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(3): 257-268.
- Fanzone, M., Zamora, F., Jofré, V., Assof, M., & Peña-Neira, A. (2011). Phenolic composition of malbec grape skins and seeds from Valle de Uco (Mendoza, Argentina) during ripening effect of cluster thinning. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(11): 6120-6136. doi: 10.1021/jf200073k.
- FAOSTAT. (2019). Recuperado de <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC> (10 de Mayo 2019).
- Fernández-López, J., Almela, L., Muñoz, J., Hidalgo, V., & Carreño, J. (1998). Dependence between colour and individual anthocyanin content in ripening grapes. *Food Research International*, 31(9): 667-672. doi: 10.1016/s0963-9969(99)00043-5.
- Ferrer-Gallego, R., García-Marino, M., Miguel Hernández-Hierro, J., Rivas-Gonzalo, J., & Teresa Escribano-Bailón, M. (2010). Statistical correlation between flavanolic composition, colour and sensorial parameters in grape seed during ripening. *Analytica Chimica Acta*, 660(1-2): 22-28.

- Freitas, V., & Glories, Y. (1999). Concentration and compositional changes of procyanidins in grape seeds and skin of white *Vitis vinifera* varieties. *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 79(12): 1601-1606. doi: 10.1002/(sici)1097-0010(199909)79:12<1601::aid-jsfa407>3.0.co;2-1.
- García Barceló, J. (1990). *Técnicas analíticas para vinos*. Moja-Olèrdola: Gab. Pp.15-18.
- Gil, M., Pascual, O., Gómez-Alonso, S., García-Romero, E., Hermosín-Gutiérrez, I., Zamora, F., & Canals, J. (2015). Influence of berry size on red wine colour and composition. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 21(2): 200-212. doi: 10.1111/ajgw.12123.
- Glories, Y. (1984). La couleur des vins rouges. 2e partie: mesure, origine et interprétation. *OENO One*, 18(4): 253. doi: 10.20870/oenone.1984.18.4.1744.
- Gump, B., Zoecklein, B., & Fugelsang, K. Prediction of prefermentation nutritional status of grape juice: the formol method. *Food Microbiology Protocols*, (14): 283-296. doi: 10.1385/1-59259-029-2:283
- Haseeb, S., Alexander, B., Santi, R., Liprandi, A., & Baranchuk, A. (2018). What's in wine? a clinician's perspective. *Trends in Cardiovascular Medicine*, 3-19. doi: 10.1016/j.tcm.2018.06.010.
- Jin, X., Wu, X., Liu, X., & Liao, M. (2017). Varietal heterogeneity of textural characteristics and their relationship with phenolic ripeness of wine grapes. *Scientia Horticulturae*, 216: 205-214. doi: 10.1016/j.scienta.2017.01.010.
- Kontoudakis, N., Esteruelas, M., Fort, F., Canals, J., & Zamora, F. (2010). Comparison of methods for estimating phenolic maturity in grapes: correlation between predicted and obtained parameters. *Analytica Chimica Acta*, 660(1-2): 127-133. doi: 10.1016/j.aca.2009.10.067.
- La Iacona, T., Sanna, M., Spanna, F., & Schubert, A. (2012). Berry polyphenols and climatic variability in 'Nebbiolo' grapes. *Acta Horticulturae*, (931): 287-298. doi: 10.17660/actahortic.2012.931.32.
- Lee, J., & Steenwerth, K. (2011). Rootstock and vineyard floor management influence on 'Cabernet sauvignon' grape yeast assimilable nitrogen (YAN). *Food Chemistry*, 127(3): 926-933. doi: 10.1016/j.foodchem.2011.01.060
- Leyva -Aguilera, J., & I. Espejel-Carbajal. (2013). *El Valle de Guadalupe, conjugando tiempos* (1ra. ed.). Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, Baja California, México. pp 19-37.
- Li, H., Wang, H., Li, H., Goodman, S., van der Lee, P., Xu, Z. & et al. (2018). The worlds of wine: old, new and ancient. *Wine Economics and Policy*, 7(2): 178-182. doi: 10.1016/j.wep.2018.10.002.
- Locatelli, M., Travaglia, F., Coisson, J., Bordiga, M., & Arlorio, M. (2015). Phenolic composition of Nebbiolo grape (*Vitis vinifera* L.) from Piedmont: characterization during ripening of grapes selected in different geographic areas and comparison with uva rRara and Vespolina cv. *European Food Research And Technology*, 242(7): 1057-1068. doi: 10.1007/s00217-015-2610-z

- López Franco, Fermín (2012). *Los vitivinicultores de la región de Baja California: un acercamiento a su comportamiento informativo*. Biblioteca Universitaria, 15(1),49-61.[fecha de Consulta 24 de Febrero de 2020]. ISSN: 0187-750X. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=285/28528264005>
- Lorrain, B., Chira, K., & Teissedre, P. (2011). Phenolic composition of Merlot and Cabernet-Sauvignon grapes from Bordeaux vineyard for the 2009-vintage: Comparison to 2006, 2007 and 2008 vintages. *Food Chemistry*, 126(4):1991-1999. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.12.062
- MacNeil, K. (2001). *The Wine Bible* (first edition). New York: Workman Pub. Pp. 333-348.
- Mencarelli, F., & Bellincontro, A. (2018). Recent advances in postharvest technology of the wine grape to improve the wine aroma. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. doi: 10.1002/jsfa.8910.
- Nicoletti, I., Bellincontro, A., De Rossi, A., De Sanctis, F., Tiberi, D., Pietromarchi, P. & et al. (2013). Postharvest dehydration of Nebbiolo grapes grown at altitude is affected by time of defoliation. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, n/a-n/a. doi: 10.1111/ajgw.12042
- O.I.V., (2017). *Compendium of international methods of wine and must analysis* Paris, Francia. pp. 366-368.
- Quijada-Morín, N., García-Estévez, I., Nogales-Bueno, J., Rodríguez-Pulido, F., Heredia, F., & Rivas-Gonzalo, J. et al. (2019). Trying to set up the flavanolic phases during grape seed ripening: a spectral and chemical approach. *Talanta*, 160: 556-561. doi: [10.1016/j.talanta.2016.07.064](https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.07.064).
- Ribera-Fonseca, A., Noferini, M., Jorquera-Fontena, E., & D. Rombola, A. (2016). Assessment of technological maturity parameters and anthocyanins in berries of cv. Sangiovese (*Vitis vinifera* L.) by a portable vis/NIR device. *Scientia Horticulturae*, 209(1): 229-235. doi:10.1016/j.scienta.2016.06.004.
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., & Dubourdieu, D. (2000). *Handbook of enology: the chemistry of wine and stabilisation and Treatments* (2<sup>nd</sup>. ed.). Chichester, John Wiley and Sons.
- Río Segade, S., Torchio, F., Giacosa, S., Ricauda Aimonino, D., Gay, P., Lambri, M. & et al. (2014). Impact of several pre-treatments on the extraction of phenolic compounds in winegrape varieties with different anthocyanin profiles and skin mechanical properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(33): 8437-8451. doi: 10.1021/jf502656d.
- Robinson, S., & Davies, C. (2000). Molecular biology of grape berry ripening. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 6(2): 175-188. doi: 10.1111/j.1755-0238.2000.tb00177.x.
- Secretaría De Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación*. (2018). Atlas Agroalimentario de México. SAGARPA, Mexico. 1, 158.
- Soleas, G., Diamandis, E., & Goldberg, D. (1997). Wine as a biological fluid: History, production, and role in disease prevention. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 11(5): 287-313. doi: 10.1002/(sici)1098-2825(1997)11:5<287::aid-jcla6>3.0.co;2-4.

- Stockley, C., Teissedre, P., Boban, M., Di Lorenzo, C., & Restani, P. (2012). Bioavailability of wine-derived phenolic compounds in humans: a review. *Food & Function*, 3(10): 995. doi: 10.1039/c2fo10208k.
- Teixeira, A., Eiras-Dias, J., Castellarin, S., & Gerós, H. (2013). Berry Phenolics of grapevine under challenging environments. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(9); 18711-18739. doi: 10.3390/ijms140918711.
- Torchio, F., Urcan, D., Lin, L., Gerbi, V., Giacosa, S., & Río Segade, S. et al. (2016). Influence of different withering conditions on phenolic composition of Avanà, Chatus and Nebbiolo grapes for the production of 'Reinforced' wines. *Food Chemistry*, 194: 247-256. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.08.009
- Zamora Marín, F. (2003). *Elaboración y crianza del vino tinto*. Antonio Madrid Vicente. Madrid. pp. 43-56