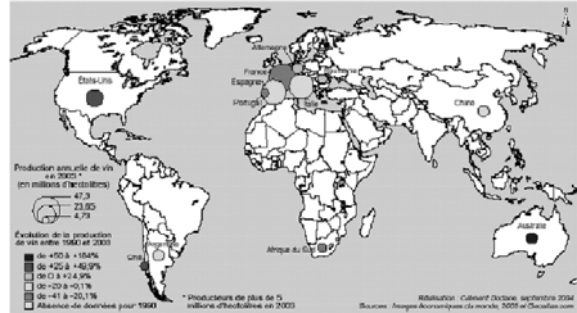


Plutarco (45-125 AC), un sacerdote del Oráculo de Delfos, escribía que el vino era la más útil de todas las bebidas, la más agradable de las medicinas, el alimento mas agradable. En la edad media se creía que beber un vino, en el que se había sumergido el hueso de un santo, podía curar la locura.
 Louis Pasteur (1822-1895) llamaba al vino "la más higiénica y más saludable de las bebidas".
 La medicina moderna reconoce los efectos benéficos del consumo moderado del vino, aún cuando la evidencia cuantitativa y sistemática se encuentra en desarrollo.
 Sin embargo, existe evidencia documentada acerca del impacto negativo del consumo excesivo o a largo plazo sobre los consumidores



La producción de los principales países vitícolas y su evolución



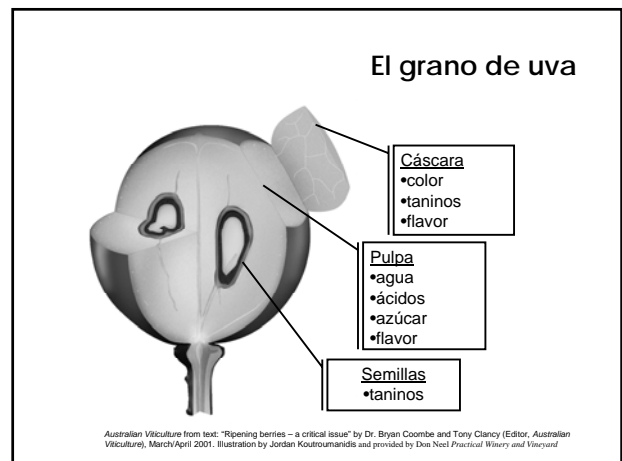
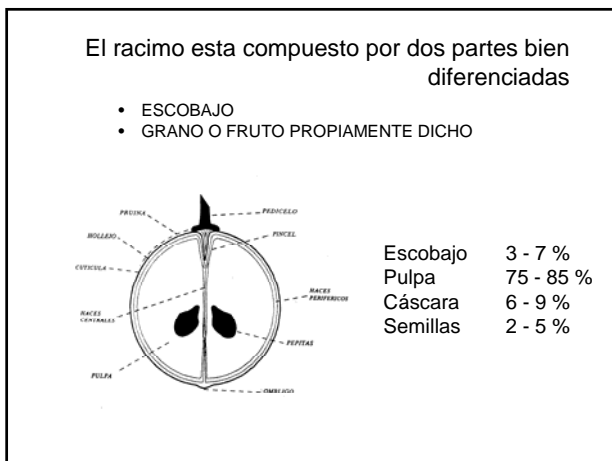
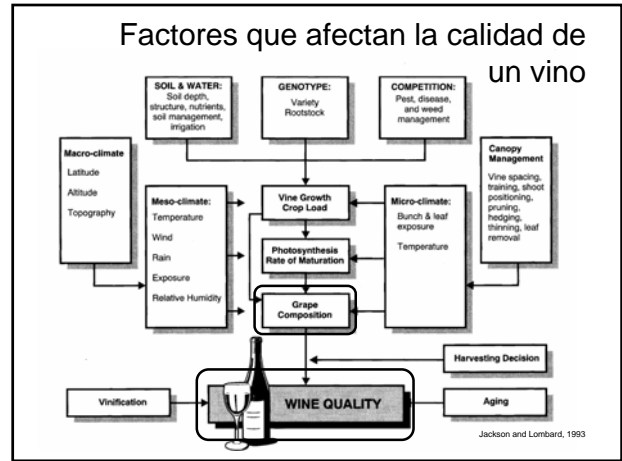
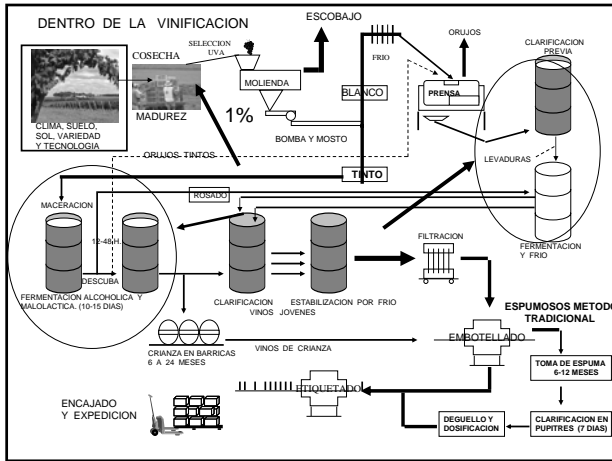
Evolución de la producción vitícola anual en el mundo entre 1990 y 2003 (www.gcoatlans.com)




Aspectos relacionados con la calidad del vino



- Color
- Flavor
- Aroma
- Cuerpo
- Textura






Escobajo

escobajo


- Agua 70 - 80 %
- Pobre en azúcares 1 %
- Riqueza media en ác. salificados 1 %
- Menor cantidad de ác. libres 0.3-0.6 %
- Rico en sust. minerales 2 - 2.5 %
- Rico en polifenoles 2 %
- Sust. nitrogenadas 1 - 1.5 %



PALPA
ESCOBAJO
MOLLEJO SEMILLAS

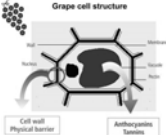
semillas

- Agua 25 - 45 %
- Gran cantidad de azúcares 34 - 36 %
- Aceites (ácido oleico y linoleico) 13 - 20 %
- Alto contenido de polifenoles 4 - 6 %
- Sust. minerales 2 - 4 %
- Sust. nitrogenadas 4 - 6 %
- Sust. aromáticas (vainillina)



cáscara


- Agua 70 - 80 %
- Pequeña cantidad de azúcares 1 %
- Ácidos 1 %
- Sust. minerales 1.5 - 2 %
- Gran cantidad de comp. polifenólicos 2.5 %
- Gran cantidad de sust. Aromáticas
- Sust. nitrogenadas (proteínas) 10 - 15 %
- Rica en celulosa y pectinas 2 - 2.5 %



Grape cell structure

Cell wall
Physical barrier

Amblyocytes
Tannins



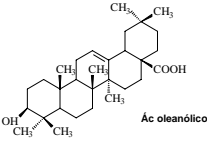
Terpenes
Sesquiterpene
Germacrene
Caryophyllene
Sesquiphellene
Hemifellene

Phenols
p-Coumaroyl
p-Coumaroyl
p-Coumaroyl
p-Coumaroyl

Organic acids
Malic
Succinic
Citric
Fumaric

pruina

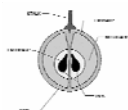
- Sustancia cerosa que recubre al grano
- Al microscopio electrónico tiene aspecto de pequeñas hojas superpuestas
- Composición:
 - 2/3 ácido oleanólico
 - 1/3 alcoholes, ésteres, ác. grasos y aldehídos



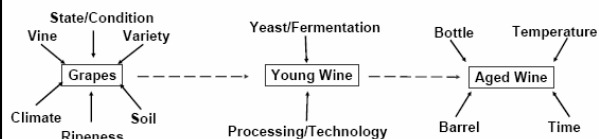
Ác oleanólico

pulpa

- Agua 70 - 78 %
- Azúcares 12 - 25 %
- Ác. orgánicos libres 0.3 - 0.6 %
- Ác. salificados 0.3 - 1.0 %
- Sustancias minerales 0.2 - 0.3 %
- Sust. nitrogenadas (20 a 25 % del N del grano) 0.1%
- Pectinas en poca cantidad 0.05 - 0.1 %
- Pocas sustancias aromáticas
- Pocos compuestos polifenólicos



Resumen



Susan E. Ebeler. Wine and grape flavor. Composition, Analysis, Recent Research

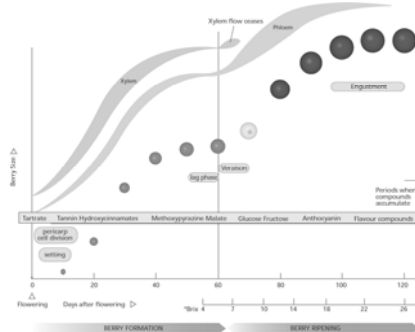
Subproductos de la industria del vino

- Orujos
- Borrás
- Tartratos (transformados a tartratos de calcio para obtener ácido tartárico)
- Aceite de semillas de uvas
- Enocianina
- Destilados
- Alcohol vínico
- Otros (compost, alimento para ganado, etc.)

De los procesos a los que se someten los orujos se obtienen diversos subproductos que aparecen expresados en la siguiente tabla

Subproducto	Cantidad por 100 Kg de Orujos
Alcohol	5 litros
Ácido tartárico	2,5 kg
Biomasa para combustión propia	15 - 17 Kg
Biomasa otros usos (compost, piensos, etc.)	15 - 17 Kg
Pepitas secas	16 - 20 Kg

Desarrollo del grano y formación de los distintos compuestos

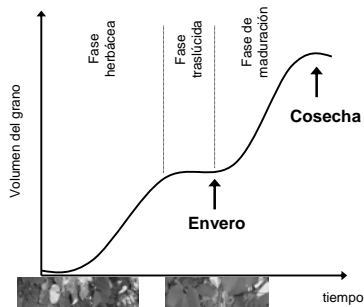


Australian Viticulture from text: "Ripening berries – a critical issue" by Dr. Bryan Coombe and Tony Clancy (Editor, Australian Viticulture), March/April 2001. Illustration by Jordan Koutroumanidis and provided by Don Neal Practical Winery and Viticulturist

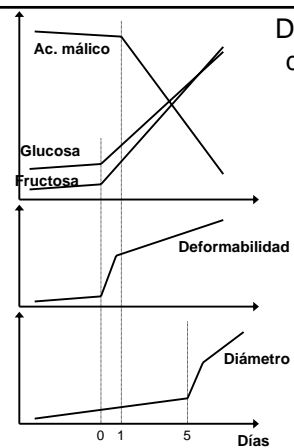
Fenómenos que comienzan en el envero

- Crecimiento del grano
- Modificación de la consistencia de los tejidos y ablandamiento del grano
- Acumulación de azúcares
- Disminución de ácidos
- Modificaciones en los elementos minerales
- Variaciones en la composición y contenido de sustancias nitrogenadas
- Desaparición de clorofila y acumulación de pigmentos colorantes en el hollejo, incremento de los polifenoles
- Síntesis de sustancias aromáticas

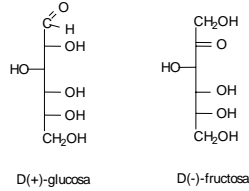
Desarrollo del grano



Desarrollo del grano



azúcares



Azúcares reductores (150 a 200 g/L)

En la madurez relación G/F = 0.92 a 0.95

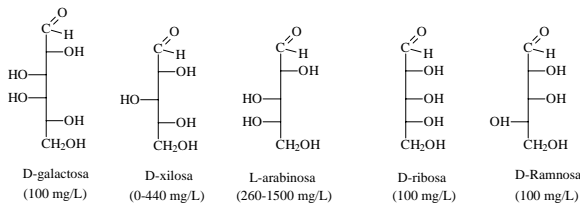
Vestigios de sacarosa (1 a 3 g/L). La migración del azúcar de las hojas al grano es solo en esta forma.

Evolución de la glucosa y la fructosa en la maduración

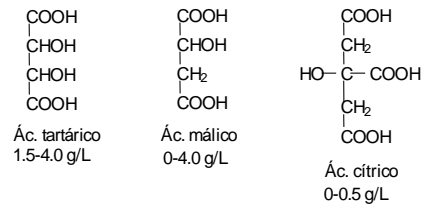
Días antes de la cosecha	Azúcares reductores (g/L)	Glucosa (g/L)	Fructosa (g/L)	G/F
50	12.1	8.1	4.0	2.02
40	55	31.5	23.5	1.35
30	132	68.2	63.8	1.07
20	179	88.5	90.5	0.98
10	192	93.5	98.4	0.95
0	210	101	109	0.93

Fructosa : síntesis celular
Glucosa: respiración

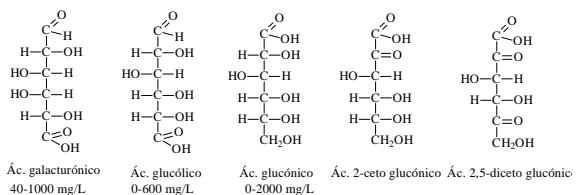
Otras azúcares presentes en el mosto



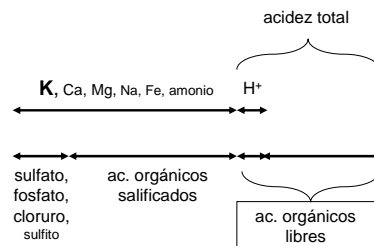
Ácidos presentes en el mosto



Otros ácidos presentes en el mosto



Balace de aniones y cationes en el mosto



Compuestos nitrogenados

- Amonio (NH₄⁺)
- Aminoácidos
- Polipéptidos
- Proteínas
- Amidas
- Nitrógeno nucleico (bases púricas y pirimidínicas, nucleósidos, nucleótidos)

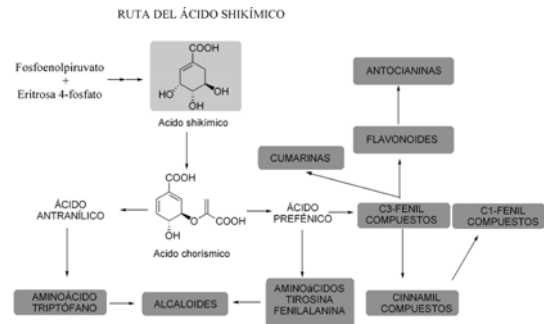
Principales vitaminas en el mosto y su variación en la vinificación

Vitamina (µg/L)	Mosto	Vino
Tiamina (B ₁)	200-500	5-40
Riboflavina (B ₂)	10-60	60-360
Ac. pantoténico	500-700	500-1200
Nicotinamida (PP)	1200-3000	800-1900
Biotina (H)	1.5-4	0.6-4.6
Meso-inositol	2.7 x 10 ⁵	2.7 x 10 ⁵
Piridoxal (B ₆)	100-450	100-450
Ac. ascórbico C	6 x 10 ⁴	1-15

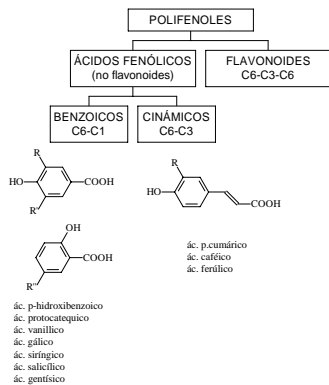
Coloides del mosto

- Proteínas
- Poliósidos
 - Pectina
 - Gomas (anhídridos de azúcares polimerizados), arabanos y galactanos.
 - En uvas con *Botrytis*, se producen glucanos (polímeros de glucosa).

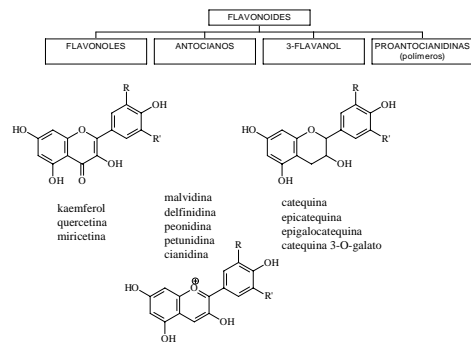
Derivados del ácido shikímico biosíntesis



Polifenoles

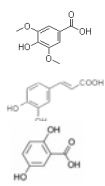


Polifenoles

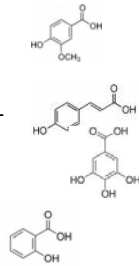


Ácidos fenólicos

- Se encuentran en el escobajo, hollejo, pulpa y semilla
- Contenidos:

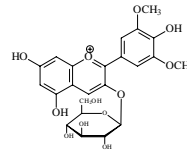


- Ác. vainílico 15 mg/L
- Ác. siríngico 30 mg/L
- Ác. p-cumárico 30 mg/L
- Ác. cafeico 15 mg/L
- Ác. gálico 12 mg/L
- Ác. gentísico 7 mg/L
- Ac. salicílico <5 mg/L

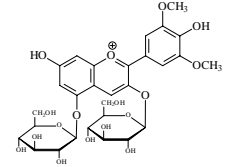


Antocianos

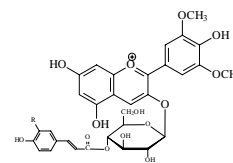
presentes en cáscara (y pulpa de uvas tintoreras)



3-glucósido malvosido



3,5-diglucósido malvosido
(variedades americanas)

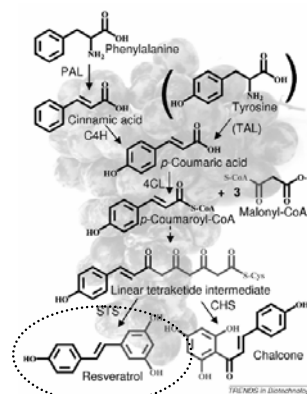


antociano acilado

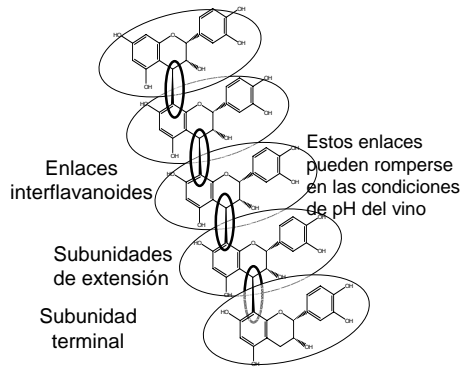
Contenido de antocianos depende de la variedad

ANTOCIANIDINAS %	MALBEC	MERLOT	CABERNET SAUVIGNON
DELFINIDINA	0.39	0.30	5.00
CIANIDINA	0.10	0.18	0.35
PETUNIDINA	3.93	7.90	8.80
PEONIDINA	1.39	10.29	2.52
MALVIDINA	94.19	81.33	83.33

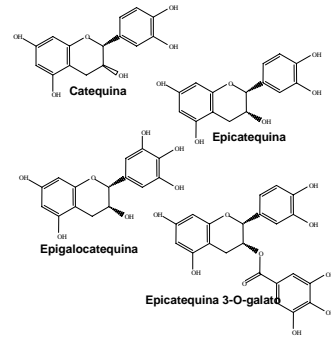
Las relaciones entre los distintos antocianos pueden utilizarse como un criterio quimiotaconómico



Taninos en uvas



Subunidades de los taninos

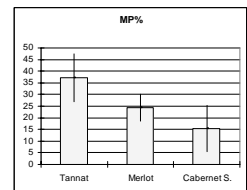
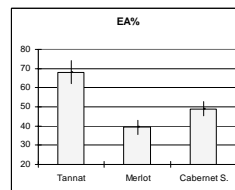
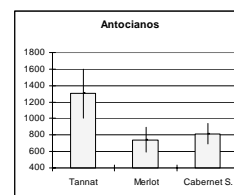


Determinación de la madurez fenólica

- Se trituran 50 granos de muestra por duplicado, una parte se recoge con una solución de pH 1 (logra liberar contenido vacuolar y extraer todos los antocianos), y la otra con una solución de pH 3.2 (extracción similar a la vinificación)
- Se miden antocianos a las dos soluciones (A_{pH_1} y $A_{pH_{3.2}}$) y A_{280} de la primer solución
- El potencial de antocianos lo tenemos con A_{pH_1}
- La extractibilidad de los antocianos esta dada por:

$$-EA(\%) = (A_{pH_1} - A_{pH_{3.2}}) / A_{pH_1} \times 100$$
- La contribución de los taninos de la similla al contenido polifenólico total es:

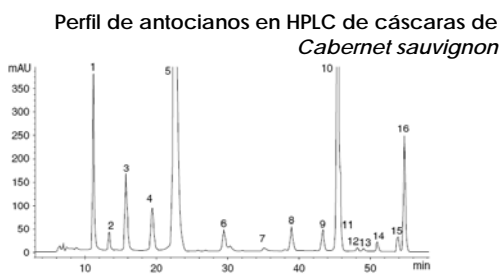
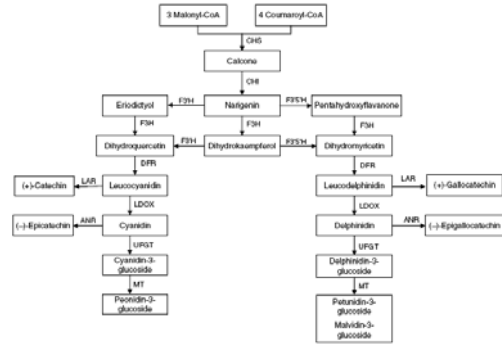
$$-MP(\%) = A_{280} - (A_{pH_{3.2}} \times 40) / A_{280} \times 100$$
- Debe medirse además la relación orujo/jugo



- La evolución del color durante la crianza de los vinos tintos es un proceso complejo
- Se producen cambios con aumento de las tonalidades rojo ladrillo
- Existe una importante disminución de los antocianos totales, pero la intensidad colorante es más estable
- ¿Cómo puede explicarse estas observaciones?
 - Fenómenos de copigmentación
 - **Formación de nuevos pigmentos**

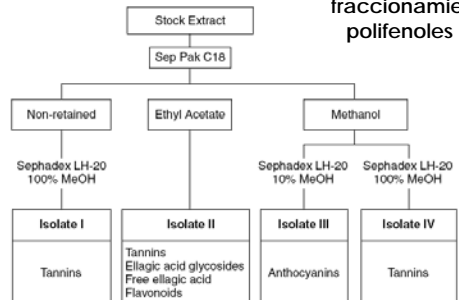
Resulta fundamental el estudio de identificación de estos pigmentos para comprender el color de los vinos.

Rutas biosintéticas de los compuestos fenólicos en la uva

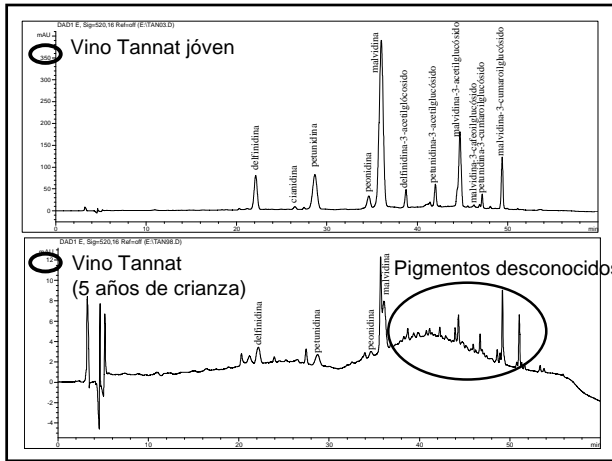


1. delphinidin-3-glucósido (glu), 2. cianidin-3-glu, 3. petunidin-3-glu, 4. peonidin-3-glu, 5. malvidin-3-glu, 6. acetato de delphinidin-3-glu (ac.), 7. cianidin-3-glu-ac., 8. petunidin-3-glu-ac., 9. peonidin-3-glu-ac., 10. malvidin-3-glu-ac., 11. delphinidin-3-glu-p-coumarato (p-coum.), 12. malvidin-3-glu-cafeato, 13. cianidin-3-p-coum., 14. petunidin-3-p-coum., 15. peonidin-3-p-coum., 16. malvidin-3-pcoum

Procedimiento para el fraccionamiento de polifenoles en uva



Lee et al. J. Agric. Food Chem. 2005, 53, 6003-6010



Objetivos

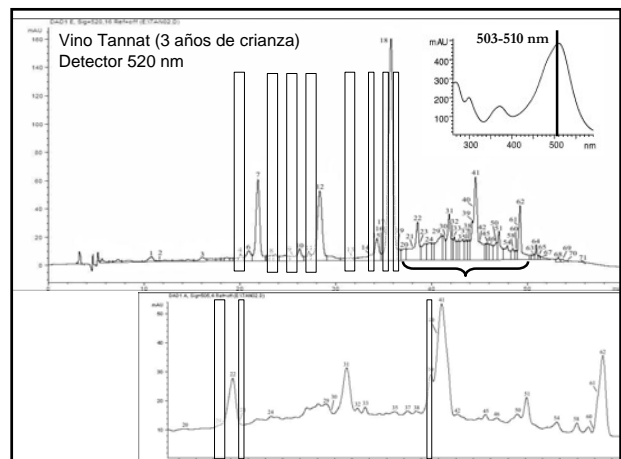
Identificar derivados de antocianos, formados en la vinificación y crianza de vinos Tannat, mediante técnica HPLC-DAD-MS/MS

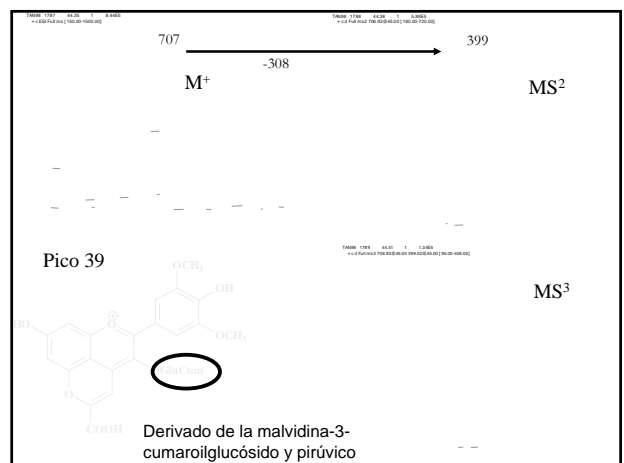
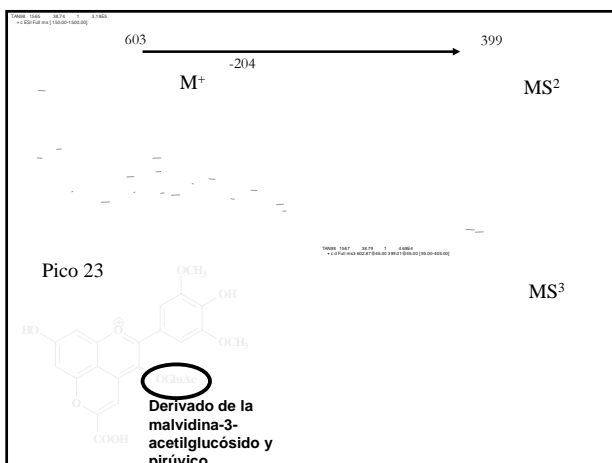
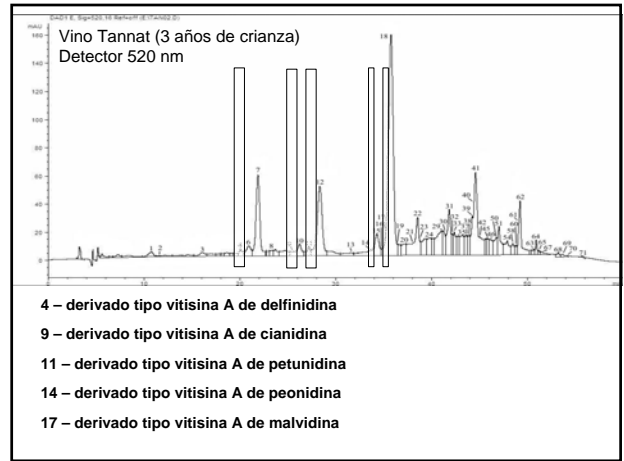
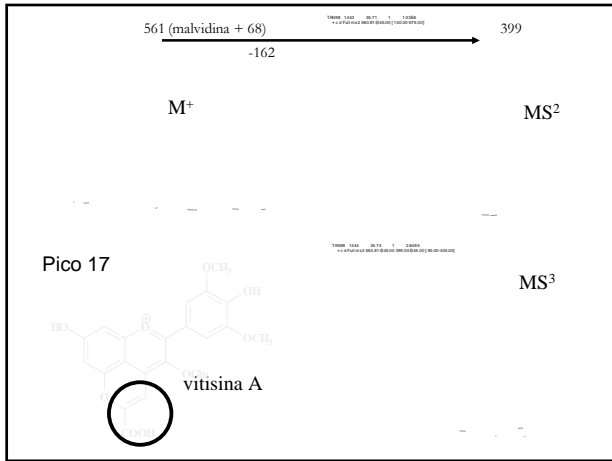
C. Alcalde-Eon
J.C. Rivas-Gonzalo
Unidad de Nutrición y Bromatología, Facultad de Farmacia,
Universidad de Salamanca

E. Boido
L. Fariña
K. Medina
F. Carrau
E. Dellacassa
Sección Enología-Cátedra de Farmacognosia y Productos Naturales,
Facultad de Química, Universidad de la República

Materiales y Métodos – Análisis HPLC-MS/MS

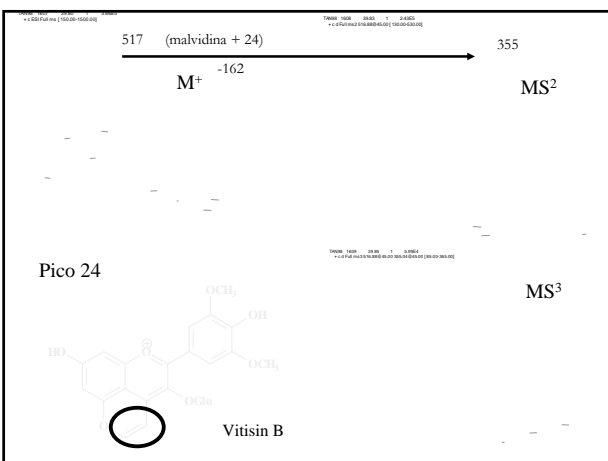
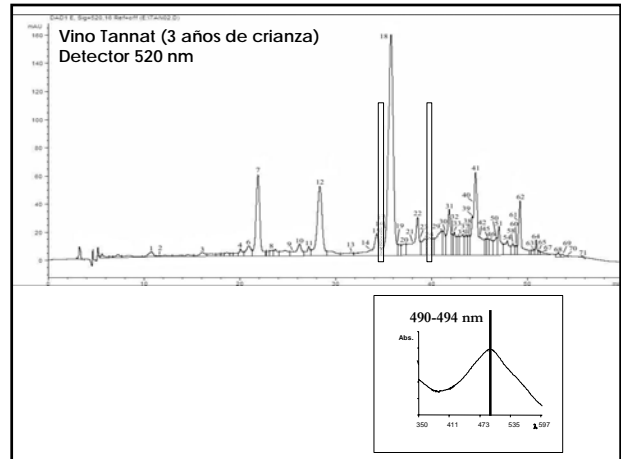
- El análisis por HPLC-MS/MS se realizó con un equipo Finnigan™ LCQ “ion trap”, equipado con interface de ionización electrospray (ESI)
- Se trabajó en modo positivo, obteniéndose el espectro entre m/z 120 y 1500
- Se buscaron:
 - M⁺
 - MS² del ion más abundante
 - MS³ del ion más abundante en el MS²





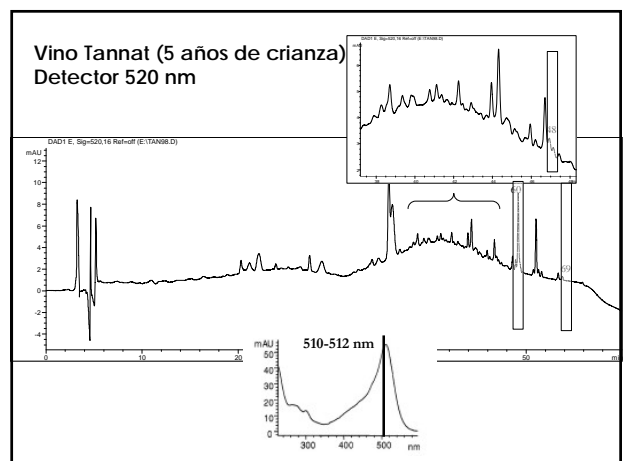
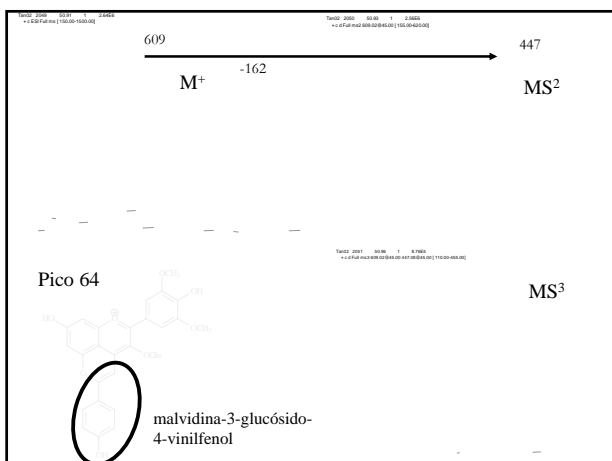
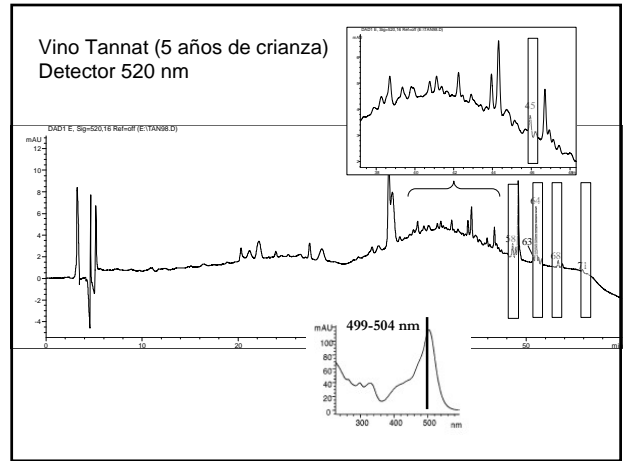
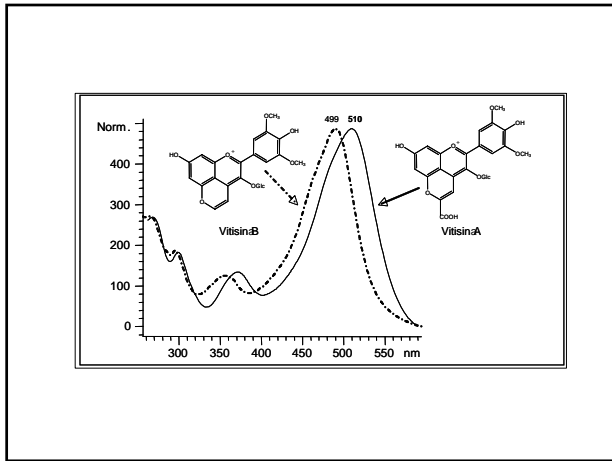
Derivados pirúvicos identificados

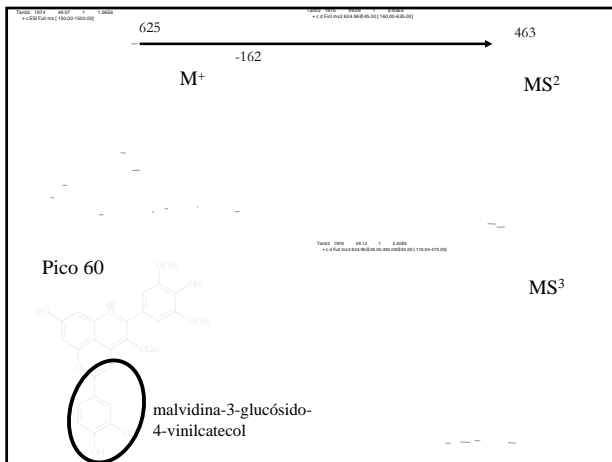
RT	M+	ms2	Compuesto
20.23	533	371	derivado de delphinidina-3-glucósido
25.17	517		derivado de cianidina-3-glucósido
27.44	547	385	derivado de petunidina-3-glucósido
33.98	531		derivado de peonidina-3-glucósido
35.61	561	399	derivado de malvidina-3-glucósido (Vitisina A)
23.14	575	371	derivado de delphinidina-3-acetilglucósido
31.98	589	385	derivado de petunidina-3-acetilglucósido
38.37	573		derivado de peonidina-3-acetilglucósido
38.74	603	399	derivado de malvidina-3-acetilglucósido
36.82	679	371	derivado de delphinidina-3- <i>p</i> -cumaroilglucósido
41.17	693		derivado de petunidina-3- <i>p</i> -cumaroilglucósido
44.38	707	399	derivado de malvidina-3- <i>p</i> -cumaroilglucósido



Vinil aductos identificados

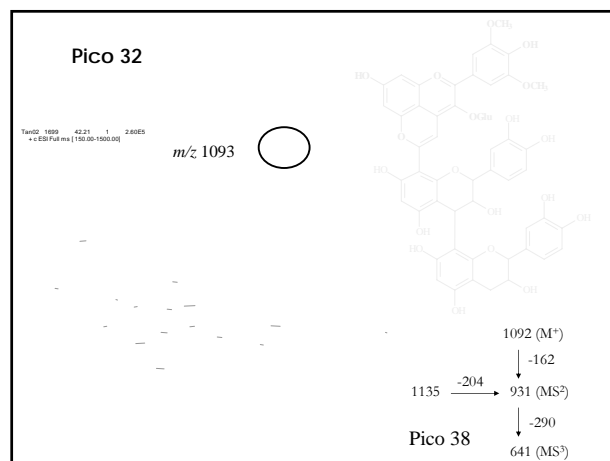
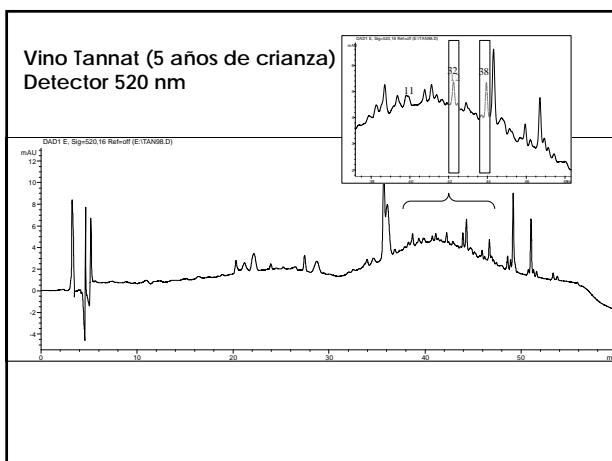
RT	M+	ms2	Compuesto
34.9	503		derivado de petunidina-3-glucósido
39.8	517	355	derivado de malvidina-3-glucósido (Vitisin B)
42.7	559	355	derivado de malvidina-3-acetilglucósido





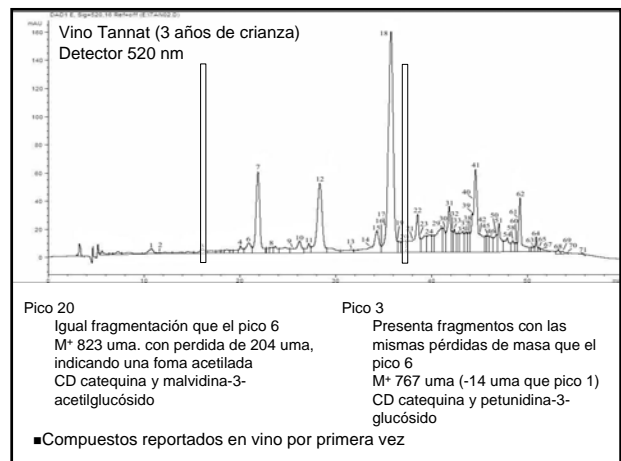
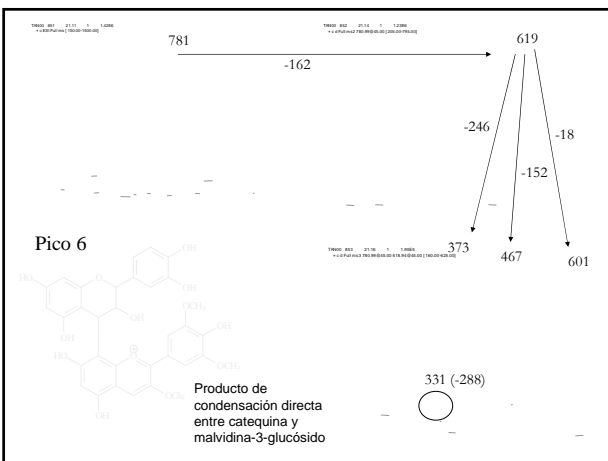
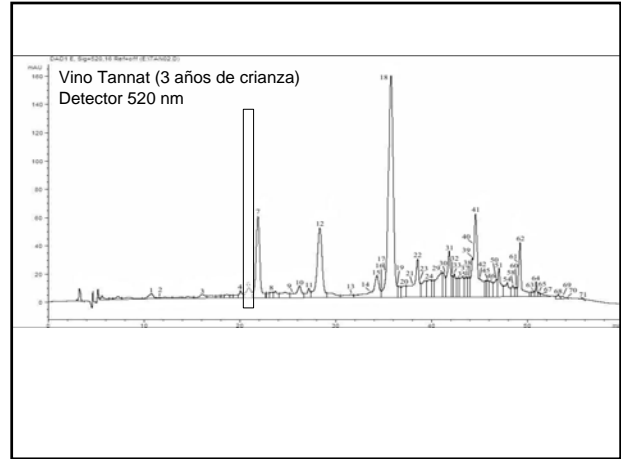
Vinilfenol aductos identificados

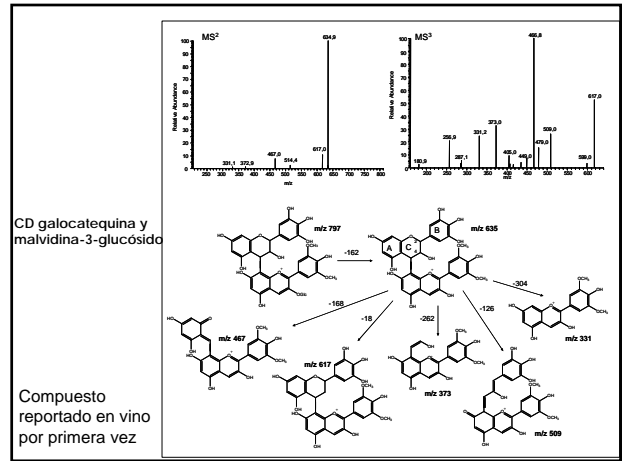
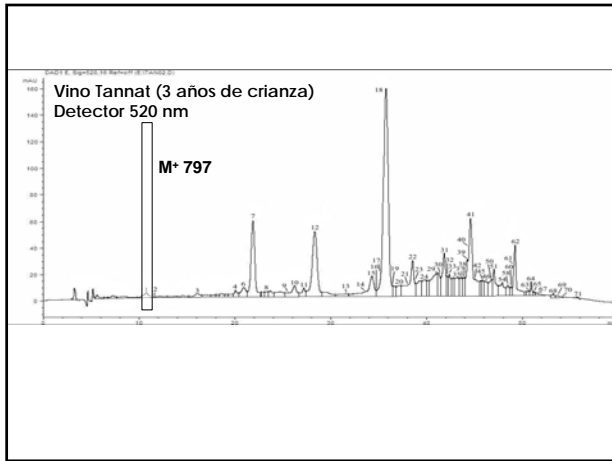
RT	M+	ms2	Compuesto
46.16	581	419, 400, 383	Delfinidina-3-glucosido-4-vinilfenol
48.63	595	433	Petunidina-3-glucosido-4-vinilfenol
50.80	579	417	Peonidina-3-glucosido-4-vinilfenol
51.09	609	447	Malvidina-3-glucosido-4-vinilfenol
53.41	651	447	Malvidina-3-acetilglucosido-4-vinilfenol
51.26	609		Peonidina-3-glucosido-4-vinilguaiacol
51.64	639	477	Malvidina-3-glucosido-4-vinilguaiacol
46.69	611	449, 531	Petunidina-3-glucosido-4-vinilcatecol
49.21	625	463	Malvidina-3-glucosido-4-vinilcatecol
53.81	771		Malvidina-3-p-cumaroilglucosido-4-vinilcatecol



Derivados vinilcatequina identificados

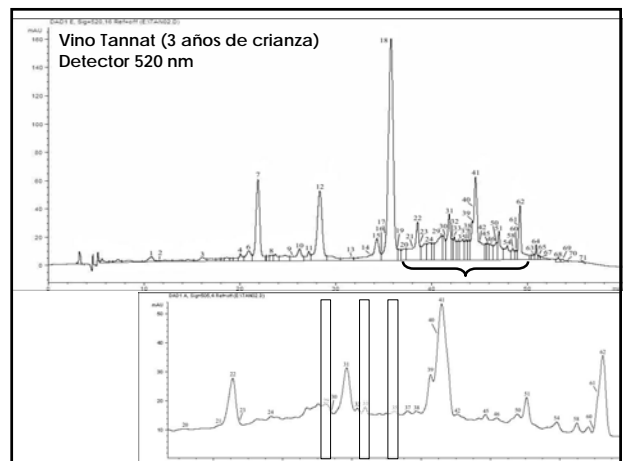
RT	M+	ms2	ms3	Compuesto
42.3	1033	837, 641	636, 641, 395	Malvidina-3-glucosido-4-vinilproclanidina dímera
44.1	1135	931, 983, 845, 641, 503	595	Malvidina-3-acetilglucosido-4-vinilproclanidina dímera
47.0	805			Malvidina-3-glucosido-4-vinilcatequina
48.9	805			Malvidina-3-glucosido-4-vinilcatequina





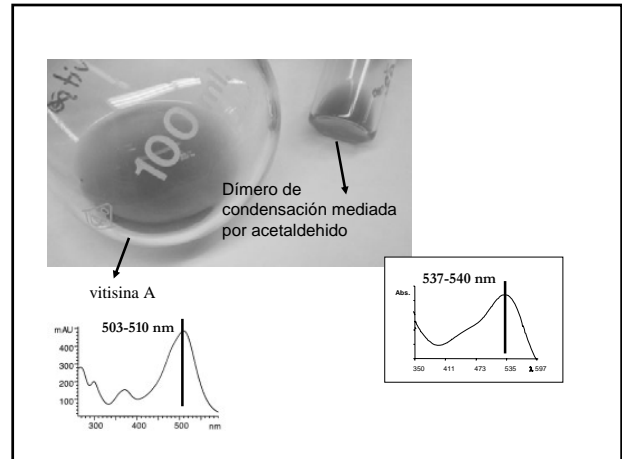
Productos de condensación directa antociano-flavanol identificados

RT	M ⁺	ms2	ms3	Compuesto
10.7	797	635, 467, 373, 617	373, 617, 467, 509, 285, 331	CD galocatequina y malvidina-3-glucósido
11.0	753			CD catequina y delphinidina-3-glucósido
16.2	767	605, 453, 359, 587	359, 587, 453, 329, 252	CD catequina y petunidina-3-glucósido
20.4	751			CD catequina y peonidina-3-glucósido
21.0	781	619, 601, 373	373, 467, 601	CD catequina y malvidina-3-glucósido
37.3	623	619, 601, 467, 373	467, 373, 285, 331	CD catequina y malvidina-3-acetilglucósido
43.7	927	619, 467, 373	373, 467, 493, 451, 331, 257	CD catequina y malvidina-3-p-cumarilglucósido



Productos de condensación mediada por acetaldehído antociano-flavanol identificados

RT	M+	ms2	λ_{max} (nm)	Compuesto
39.9	795	343, 505, 633, 481, 435	283, 336, 475, 537	Petunidina-3-glucosido-8-etilcatequina
41.0	825		278, 342, 454, 538	Malvidina-3-glucosido-8-etil-galocatequina
41.4	809	357, 519, 647, 657	282, 336, 424, 454, 538	Malvidina-3-glucosido-8-etilcatequina
41.5	825			Malvidina-3-glucosido-8-etilgalocatequina
42.5	809	357, 519, 647, 495		Malvidina-3-glucosido-8-etilcatequina
43.4	809	357, 519, 495, 647	284, 325, 474, 540	Malvidina-3-glucosido-8-etilcatequina
48.1	955	357, 665, 647, 803	280, 481, 538	Malvidina-3-p-cumarilglucosido-8-etilcatequina



Conclusiones

- En vinos y uvas, se determinan 5 antocianos y 11 formas aciladas de los mismos.
- Sin embargo, mediante la aplicación de HPLC-DAD-MS/MS fue posible identificar 55 compuestos derivados de antocianos en vinos Tannat.
- Entre los compuestos identificados se encuentran derivados tipo vitisina, vinil aductos con vinilfenol y flavanoles, dímeros antociano-flavano de condensación directa y mediada por acetaldehído.
- Se identificaron 3 productos de condensación directa no reportados anteriormente en vinos, catequina - petunidina-3-glucósido y malvidina-3-acetilglucósido, y galocatequina - malvidina-3-glucósido.
- Estos compuestos se encuentran en baja concentración, pero pueden presentar gran importancia en la conservación del color de los vinos en la crianza, debido:
 - bajo contenido de antocianos
 - menor influencia de factores como el pH y el SO₂ en su coloración.

Degustación del vino



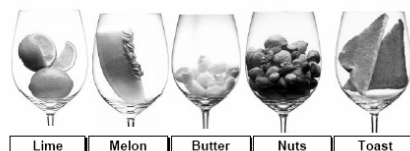
Ilustración que muestra el flujo de un vino en una copa (flechas inferiores) y la formación de "lágrimas".

Este fenómeno comienza con el flujo hacia abajo a medida que el etanol se desprende de el film delgado de vino adherido al vidrio (flechas superiores). Lo que provoca en un aumento de la tensión superficial del agua remanente

Los compuestos responsables del aroma y flavor en el vino

- el metabolismo de la propia uva (**varietal**), influenciado por la cepa, pero también por el clima y las prácticas vitícolas
- los fenómenos bioquímicos **prefermentativos** (oxidaciones, hidrólisis), desencadenados durante la extracción del jugo (mosto) y durante la maceración
- los metabolismos **fermentativos** de los microorganismos responsables de las fermentaciones alcohólica y maloláctica
- las reacciones químicas o enzimáticas **post fermentativas**, que intervienen en el transcurso de la conservación del vino y de su envejecimiento en botella

El aroma del vino es complejo



Cientos de compuestos volátiles han sido identificados en el aroma del vino. No todos contribuyen al aroma

El rango de concentraciones es de ng/L a mg/L

Aplicación del GCO a los vinos Tannat



Tannat (1 año)



Tannat (5 años)

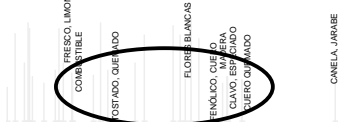
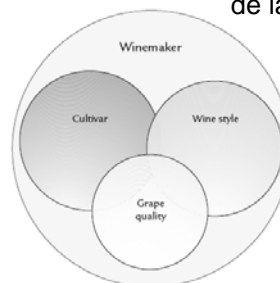
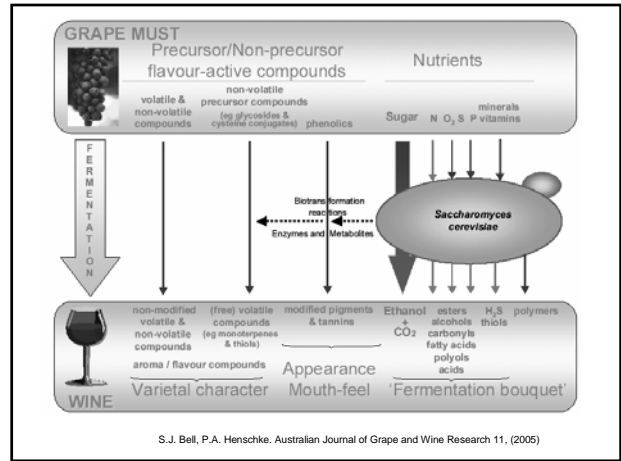
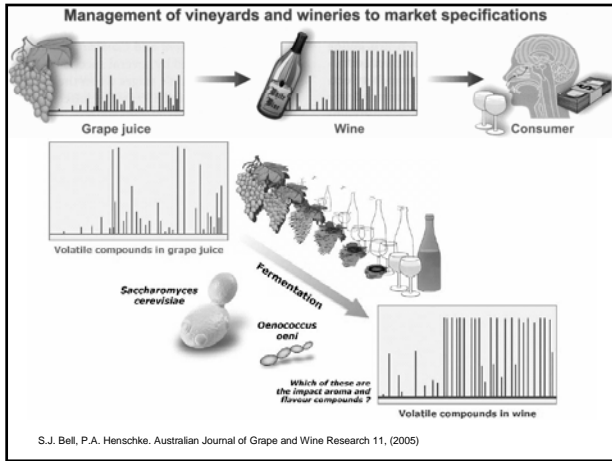


Diagrama de los factores principales determinantes de la calidad de un vino





Aromas en el vino

- Varietales
- Prefermentativos
- Fermentativos
- De crianza

Aromas varietales

- Terpenos
- Metoxipirazinas
- Aromas de especies americanas (antranilato de metilo y furanona)
- Aromas glicosidados
 - Terpenos
 - Norisoprenoides
 - Compuestos del metabolismo del ácido shikimico
- Compuestos azufrados S-conjugados con cisteína)