

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

Técnicas Espectroscópicas Aplicadas al Análisis de Adulteración en Vino.

**Monografía previa a la obtención del título de Licenciado en Ciencias Químicas
con mención en Química Analítica**

BECKER ANDRÉS ANASI CASTILLO

QUITO, 2016

CERTIFICACIÓN

Certifico que la Monografía en Ciencias Químicas con mención en Química Analítica, del Sr. Becker Andrés Anasi Castillo ha sido concluida con conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Mtr. Augusto Oviedo

Director de la Monografía

Quito, 09 de mayo de 2016.

AGRADECIMIENTO

“No hay nada en la vida que no contenga sus lecciones. Si estás vivo, siempre tendrás algo para aprender”.

Benjamin Franklin.

Gracias principalmente a Dios por derramar sobre mí tantas bendiciones, mismas que me llevan a culminar una etapa importante en mi vida que será el inicio a su vez de muchos logros y nuevas experiencias.

Gracias a mis padres por haberme guiado desde temprana edad por el camino adecuado, lo cual me ha convertido en un hombre de bien y me ha enseñado que cuanto más largo y difícil sea el camino mayor será la recompensa, recompensa que se verá reflejada en todos los éxitos venideros en mi vida profesional.

Agradezco a mis abuelos por no permitir que desmaye en los momentos más difíciles, es una verdadera bendición tenerlos en mi vida y con mucha alegría y honor les dedico este logro a ustedes que han sido mi pilar y ejemplo durante esta travesía que se culmina de manera exitosa gracias a su apoyo.

A mis hermanos por estar junto a mí incondicionalmente demostrándome siempre que en ellos tengo verdaderos amigos y que por grande que sea la adversidad siempre podremos salir adelante juntos.

A mis tíos Claudio, Rocío, Lore y Byron que han estado presentes en todos los acontecimientos importantes de mi vida. Gracias a ustedes por compartir mis alegrías y tristezas y por empujarme a seguir adelante y conseguir mis más grandes sueños siempre con optimismo.

Gracias a mis maestros, que han compartido sus conocimientos conmigo a lo largo de mi paso por la escuela de Química. Por darme las bases necesarias para poder desempeñarme exitosamente en el campo profesional. Gracias por ser exigentes y firmes muchas veces, eso me ayudó a desarrollar responsabilidad para cumplir con mis obligaciones académicas y poder ahora culminar una etapa más en mi vida.

Un especial agradecimiento al Mtr. Augusto Oviedo, Dra. Lorena Meneses, MsC. Ma. Fernanda Pilaquina, Mtr. Pablo Pozo, MsC. Eliza Jara y MsC. Isabel Cipriani, por su acertada guía en la elaboración de este trabajo de investigación.

A mis amigos muchas gracias por caminar junto a mí este sendero de aprendizaje que seguro quedará grabado en nuestras memorias como una experiencia única y enriquecedora.

Finalmente, gracias a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, pues en sus aulas fui adquiriendo conocimiento y acrecentando mi gusto por la Química; en sus laboratorios pude experimentar y conocer la razón de ser de muchos fenómenos que hasta hace unos años atrás eran una gran incógnita para mí. Gracias PUCE.

CONTENIDO

1. RESUMEN	1
2. ABSTRACT	2
3. INTRODUCCIÓN	3
4. MARCO TEÓRICO.....	5
4.1. EL VINO.....	5
4.1.1. HISTORIA.....	5
4.1.2. ANTECEDENTES ECONÓMICOS Y GASTRONÓMICOS	7
4.1.3. ELABORACIÓN.....	8
4.1.4. COMPOSICIÓN.....	8
4.1.5. CALIDAD	17
4.1.6. ADULTERACIÓN.....	18
4.2. ESPECTROSCOPIA.....	21
4.2.1. INTRODUCCIÓN.....	21
4.2.2. ESPECTRO ELECTROMAGNÉTICO.....	22
4.2.3. INSTRUMENTACIÓN.....	22
4.3. TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS APLICADAS AL ANÁLISIS DE ADULTERACIÓN EN VINO.	29
4.3.1. ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA VISIBLE (UV-vis)	29
4.3.2. ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO CERCANO (NIRS).....	38

4.3.3. ESPECTROSCOPIA DE RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR (RMN)	
.....	47
5. CONCLUSIONES.....	58
6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	61
7. FIGURAS	69
8. TABLAS.....	76
9. ANEXOS	77

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Proceso de elaboración del vino	69
Figura 2. Espectro Electromagnético	69
Figura 3. Espectro UV-vis de muestras de vino Cabernet Sauvignon a diferentes pH para el monitoreo de antocianos	70
Figura 4. Mecanismo de reacción Folin-Ciocalteu.....	70
Figura 5. Reacción de formación de antocianos sulfónicos.....	71
Figura 6. Reacción colorimétrica para taninos	71
Figura 7. Contenido de fenoles, antocianos y taninos totales en tres diferentes vinos Cabernet Sauvignon y Malbec	72
Figura 8. Espectro NIR de vino Viura y Chardonnay	72
Figura 9. Espectro ^1H -RMN de etanol.	73
Figura 10. Desplazamiento químico de ^1H de diferentes grupos funcionales.....	73
Figura 11. Intensidades de pico relativas de multipletes simétricos	74
Figura 12. Espectro de ^1H -RMN de vino	74
Figura 13. Contenido promedio de etanol, ácidos orgánicos y polifenoles de las cinco muestras de vino analizadas por RMN.....	75

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Límites legales establecidos por el Codex Enológico Internacional para Vino	76
Tabla 2. Colores absorbidos y observados a diferentes longitudes de onda en la región visible	76

1. RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue demostrar la aplicabilidad de la espectroscopía en el análisis de adulteración en vino, quien por sus ventajas permite la identificación y cuantificación de manera no destructiva de compuestos de importancia en la determinación de la autenticidad de la bebida en mención.

Las técnicas que permiten realizar la determinación de estos compuestos son: la espectroscopía ultravioleta visible (UV-vis) para compuestos fenólicos, la espectroscopía de infrarrojo cercano (NIRS) para azúcares y alcoholes; y la resonancia magnética nuclear (RMN) para azúcares, ácidos orgánicos, alcoholes y agua. La aplicabilidad de estas tres técnicas fue corroborada en base a la revisión de publicaciones científicas, concluyendo que son técnicas adecuadas y de alta eficiencia para el fin requerido.

Finalmente, en base a las ventajas que las técnicas espectroscópicas ofrecen se recomienda que los laboratorios de análisis químico en el Ecuador consideren implementarlas para análisis de adulteración de alimentos, pues en nuestro país se utiliza solamente una de las técnicas descritas (UV-vis) debido principalmente al costo que representa la adquisición de equipos de RMN y NIRS.

Palabras clave: Adulteración, análisis, espectroscopía, no destructivo, vino.

2. ABSTRACT

The aim of this document was demonstrating spectroscopy's applicability in wine adulteration analysis, which allows the identification and quantification of important compounds in the authenticity determination of the mentioned drink on a non-destructive way.

The techniques which allow the determination of these compounds are: the ultraviolet-visible spectroscopy (UV-vis) for phenolic compounds, near infrared spectroscopy (NIRS) for sugars and nuclear magnetic resonance (NMR) for sugars, organic acids, alcohols and water. The applicability of these techniques was corroborated by reviewing scientific publications concluding that they are suitable and highly efficient for the required purpose.

Finally, due to the advantages offered by spectroscopic techniques, it is recommended that Ecuadorian chemical laboratories should consider implementing these techniques for food adulteration analysis, because in our country we only use one of them (UV-vis), mainly due to the cost involved on getting the equipment for NMR and NIR spectroscopy.

Keywords: Adulteration, analysis, non-destructive, spectroscopy, wine.

3. INTRODUCCIÓN

El vino es considerado una bebida natural obtenida del proceso de fermentación alcohólica del mosto de uva (Parreño *et al.*, 1998), compuesta por distintos componentes procedentes de la actividad biológica o de reacciones químicas. La acción metabólica de las levaduras transforma los azúcares en etanol y dióxido de carbono, el desarrollo de este proceso puede ser influenciado por aspectos climáticos, altitud y tiempo de exposición a la luz (Fálder, 2003).

El mercado del vino está evolucionando de forma rápida como consecuencia de la globalización, dinamismo de sus empresas y nuevos consumidores. Sin embargo, la importancia de la industria del vino va más allá del aspecto económico, pues tiene un impacto social relacionado con actividades turísticas y gastronómicas también. Por lo cual resulta importante disponer de tecnologías que permitan la innovación permanente no solo del producto, sino de su proceso productivo, así como la identificación de adulteraciones en el mismo (Núñez y Pereda, 2011).

La adulteración es un proceso en el que un producto sufre una alteración, ya sea por adición, sustitución, sustracción o disimulación de uno o varios de sus componentes característicos. Este proceso representa un riesgo considerable para la inocuidad del alimento, así como para la salud del consumidor y en la actualidad es una práctica frecuente en la elaboración de bebidas alcohólicas.

En el documento se detallan y explican los fundamentos, ventajas, desventajas y aplicaciones de tres técnicas espectroscópicas (espectroscopía ultravioleta visible, de infrarrojo cercano y de resonancia magnética nuclear), que se basan en la interacción de la radiación electromagnética con la materia, radiación que a su vez es una combinación de campos eléctricos y magnéticos alternos que viajan por el espacio con un movimiento de onda generando el espectro electromagnético (Lourenco *et al.*, 2012).

El objetivo del presente trabajo es resaltar el potencial que la espectroscopía ofrece para identificar adulteraciones en el vino de manera rápida y no destructiva en base a determinaciones analíticas para monitorear procesos de maduración, fermentación y envejecimiento, logrando así clasificar a los vinos en función a su composición y corroborar su autenticidad.

El presente documento pretende demostrar la eficiencia de las técnicas espectroscópicas (UV-vis, NIRS y RMN) utilizadas para la identificación de adulteraciones en vino en base una revisión bibliográfica de documentos científicos, en los cuales se monitorean procesos críticos para la calidad final del vino, tales como: maduración de uvas vendimiadas, fermentación y envejecimiento de la bebida, a través del análisis de parámetros como: contenido de azúcares, índice de polifenoles, grado alcohólico, acidez y contenido de agua, parámetros que permiten determinar la autenticidad del vino y garantizar su calidad.

4. MARCO TEÓRICO

4.1. EL VINO

El vino por definición es una bebida alcohólica obtenida naturalmente del proceso fermentativo del mosto de uva. La enología es la disciplina que se encarga del estudio del vino, y señala que el proceso de producción está directamente influenciado por factores como la temperatura, estado de maduración de la uva, acidez, contenido de azúcar y levaduras de fermentación, factores que influyen significativamente en la calidad final de la bebida (Flanzy, 2003).

4.1.1. HISTORIA

Hace aproximadamente 8.000 a. C. *Vitis vinífera sylvestris* eran cultivadas en la zona del Cáucaso ruso con el fin de producir vino, y si nos trasladamos al año 4.000 a. C. en Armenia y Georgia también encontramos vestigios de vinos elaborados a partir de *Vitis vinífera sylvestris*, mismas que por un fenómeno de mutación originaron a la *Vitis vinífera sativa* que fue la variedad que se expandió por todo el Mediterráneo, territorio donde los griegos se encargaron de la elaboración y comercio del vino llegando incluso hasta el continente africano y asiático (Fálder, 2003).

La expansión de la vitivinicultura en América del Sur se dio en la etapa de colonización española. Para los españoles el vino era considerado un elemento indispensable en la alimentación, por lo tanto consideraron de importancia el

cultivo de la vid en sus nuevas colonias. Es así, que la elaboración del vino comenzó a desarrollarse en países como Chile, Argentina, Bolivia, Perú, Colombia y Ecuador, siendo en Argentina y Chile la expansión más representativa de la industria vitivinícola (Cacho, 2012).

Más adelante, aproximadamente a mediados del siglo XIX, Pasteur descubrió el papel de las levaduras en la fermentación de los vinos, sentando así las bases de la enología moderna. La mayor parte de los vinos eran dulces y los recipientes destinados para su almacenaje eran fabricados de barro con tapones hechos a base de materiales céreos (Álvarez, 2006).

Poco después, la industria vitivinícola europea tuvo que sobrevivir a una fuerte plaga ocasionada por una bacteria denominada filoxera (*Dactylospheera vitifoliae*) accidentalmente importada del continente americano, esta bacteria provocó la muerte de muchas viñas en la región mediterránea, y fue hasta finales del siglo XIX que lograron recuperarse con el descubrimiento de una técnica para injertar vides europeas en portainjertos americanos con el fin de ganar resistencia a la enfermedad (Clarke y Bakker, 2004).

Ya en el siglo XX y con el apareamiento del vino espumoso, se comienzan a fabricar botellas de vidrio y tapones de corcho para el almacenaje y envejecimiento, de esta manera se facilitó también mantener una temperatura medianamente constante de la bebida, lo cual es importante para el aseguramiento de la calidad de la misma (Collombet y Paireault, 2009).

Ecuador actualmente cuenta con pocas empresas dedicadas a la producción del vino, en su mayoría, la bebida es importada de Chile, Argentina y España, debido a la calidad y el buen sabor de sus vinos, que tienen reconocimiento de orden mundial (Ortega, 2011).

4.1.2. ANTECEDENTES ECONÓMICOS Y GASTRONÓMICOS

La producción del vino es una actividad económica esencial para muchos países del mundo, principalmente España, Chile y Argentina. Lugares en los cuales la actividad vitivinícola supera el 25% de su producción anual. La dimensión socioeconómica del vino no solo tiene que ver con la actividad agrícola, productiva y comercial, pues muchos de los países productores tienen como actividades turísticas principales visitas a las industrias vitivinícolas, actividad conocida como enoturismo (Rivrel, 2012).

La relación entre el vino y la gastronomía (conocida como maridaje) no es nueva, pues desde hace siglos, el vino ha ocupado un lugar preferencial al momento de escoger la bebida para acompañar varias comidas, más aún si se trata de comidas gourmet. Además, el también es usado como ingrediente en la preparación tanto de platillos dulces como salados. La elección del vino a utilizar en la preparación de comida es crucial, puesto que no todos los vinos confieren el mismo sabor (Francie, 2011).

El vino blanco es excelente para combinar con pollo y otras carnes blancas; el vino tinto por su parte es utilizado para acompañar y marinar carnes

rojas y también es popular al momento de degustar quesos curados. El vino rosado en cambio, es combinado con comidas ligeras y ciertas veces con mariscos y los vinos más dulces son especiales para los postres (Filippi, 2014).

4.1.3. ELABORACIÓN

El vino es una bebida resultante de un proceso de fermentación total o parcial del azúcar de la uva, por efecto de levaduras que están presentes de manera natural en la misma, este proceso provoca una transformación del azúcar en etanol y dióxido de carbono. El proceso de elaboración comprende cuatro etapas: vendimia (cosecha), elaboración del mosto, proceso fermentativo y envejecimiento (ver Figura 1).

4.1.4. COMPOSICIÓN

El vino puede ser catalogado como una mezcla hidroalcohólica, donde el componente mayoritario es el agua (86 - 87%), el componente secundario es el etanol que varía entre un vino y otro entre el 10 y 14%, siendo el contenido restante proveniente del extracto seco de la uva (20 – 30 g/L), adicionalmente existe un aporte mínimo (mg/L) de sustancias volátiles que confieren el aroma (Ferrer-Gallego *et al.*, 2013).

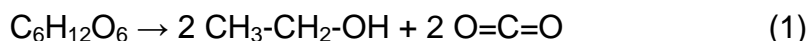
Su composición está relacionada con procesos bioquímicos que experimenta el mosto de uva, además de factores climáticos, tipo de suelo de cultivo y condiciones sanitarias (Villamor y Ross, 2013).

Dentro de los componentes del vino se encuentran: alcoholes (etanol principalmente), azúcares, ácidos orgánicos, sales y sustancias minerales, sustancias nitrogenadas, compuestos fenólicos, compuestos aromáticos volátiles y componentes minoritarios como pectinas, gomas y mucílagos. Estos aportan en diferentes proporciones a las características organolépticas, estabilidad y propiedades químicas de la bebida (Cetó *et al.*, 2012).

ALCOHOLES

Las moléculas de alcohol formadas en el proceso de fermentación del vino se obtienen específicamente por una reacción oxidativa de los azúcares. En el vino están presentes monoalcoholes como el etanol y polialcoholes como el glicerol y el etilenglicol (Zoecklein y Macarrón, 2010).

El etanol es el componente mayoritario del vino después del agua, y es uno de los más importantes para la determinación de la calidad de la bebida. Su contenido final se predice en base al contenido de azúcares del mosto; asumiendo que la fermentación tenga lugar de forma completa, dicho proceso se resume en la siguiente ecuación química:



Los polialcoholes, como su nombre lo indica presentan varios radicales hidroxilo en su estructura, esto les confiere un mayor punto de ebullición que los monoalcoholes debido principalmente al gran número de enlaces por puentes de hidrógeno, por ende su viscosidad es mayor también (Restani *et al.*, 2007).

En el vino, el glicerol es el tercer componente mayoritario. Su concentración se encuentra entre 6 y 10 g/L y debido a su sabor azucarado su principal contribución es el dulzor (Jackson, 2008). Además, es catalogado como un aditivo estabilizante y emulsificante, gracias a estas propiedades, junto con la glucosa y el etanol, le confieren el cuerpo del vino; parámetro que es de gran importancia en la valoración de la calidad de la bebida, ya que se refiere particularmente al grado de intensidad de las sensaciones sápidas (sabor agradable) y trigeminales (sabor picoso) en la boca y se relaciona directamente con la densidad del producto (De Souza *et al.*, 2013).

El butilenglicol es un polialcohol también proveniente de un proceso fermentativo, y su composición en el vino oscila entre 0.3 y 1.5 g/L. Este alcohol tiene un sabor entre dulce y amargo, por lo cual además de contribuir con el dulzor del vino, le confiere cierto amargor que puede ser confundido con astringencia (sensación de sequedad), propiedad atribuida al contenido de polifenoles del vino (Yanniotis *et al.*, 2007).

La graduación alcohólica del vino está estrechamente ligada a la temperatura con la que se lleve a cabo el proceso fermentativo. La fermentación a temperaturas elevadas producirá vinos con un grado alcohólico bajo, mientras que a temperaturas bajas sucederá lo contrario. Cabe recalcar que la acción de las levaduras de fermentación se ve afectada también por la temperatura, por lo cual no se puede trabajar a temperaturas fuera de los límites inferiores ni superiores establecidos de la misma (13 – 30 °C) (Friedel *et al.*, 2013).

CARBOHIDRATOS

Los carbohidratos son compuestos muy importantes para la elaboración del vino, pues representan a los azúcares fermentables contenidos en la uva (glucosa y fructosa), además de una mínima cantidad de azúcares simples no fermentables. Cuando el proceso fermentativo es incompleto, es decir, la transformación de los azúcares en alcohol y dióxido de carbono es parcial; los azúcares residuales son los principales responsables del dulzor del vino. Generalmente, estos corresponden a hexosas (glucosa y fructosa) y pentosas (arabinosa y xilosa) (Benavent, 2009).

Al inicio de la fermentación, el contenido de glucosa y fructosa es prácticamente el mismo, por lo tanto el cociente glucosa/fructosa es muy cercano a uno. Sin embargo, las moléculas de glucosa son fermentadas de manera preferencial, y el cociente disminuye durante la fermentación; es así que la cantidad de fructosa correspondiente a azúcares residuales es superior en relación a la glucosa y por ende el dulzor final del vino se lo atribuye mayormente a la fructosa.

La presencia de las pentosas en el vino es minoritaria, esto se debe principalmente a que las mismas no son utilizadas por las levaduras fermentativas durante el proceso. Sin embargo, existe un tipo de fermentación conocida como malo láctica, donde las bacterias lácticas presentes en la uva transforman al ácido málico en láctico con el fin de eliminar la acidez excesiva, puesto que parte del ácido málico se puede transformar en ácido carbónico

espontáneamente. En este proceso en particular, los azúcares consumidos son precisamente pentosas, por tanto los vinos que experimentan este tipo de fermentación (generalmente tintos) no presentan estos azúcares (Regmi *et al.*, 2012).

En cuanto a la sacarosa, su presencia en el vino es muy improbable, pues como sabemos la misma está formada por glucosa y fructosa, y en caso de que se encuentre presente en la etapa inicial de la fermentación, ésta será desdoblada por las levaduras en sus moléculas constitutivas durante el proceso fermentativo (Regmi *et al.*, 2012).

El contenido de azúcares de la uva utilizada en la industria vitivinícola está estrechamente relacionado con el grado de maduración de la misma durante la vendimia (cosecha). Este proceso de maduración varía considerablemente en función del clima, siendo un clima cálido el más adecuado para la producción de vino, pues la uva cultivada en este clima en particular tiene un mayor contenido de azúcar y su acidez es menor, mientras que en las regiones frías ocurre lo opuesto (Byass, 2011).

ÁCIDOS ORGÁNICOS

Los ácidos orgánicos evidentemente tienen un impacto directo en la acidez del vino, que es un factor crítico para mantener la estabilidad del color, además, contribuyen en la solubilización de hierro y cobre, evitando el enturbiamiento en los vinos. Influyen también en las propiedades sensoriales, ya que intervienen en

la precipitación de pectinas y proteínas que pueden afectar a la calidad y composición final al retener el agua del mosto (Izcara *et al.*, 2011).

La uva naturalmente contiene ácidos orgánicos (tartárico, málico y cítrico), sin embargo, durante el proceso de fermentación otros (succínico, láctico y acético) son formados, de todos ellos el ácido acético contribuye a la acidez volátil del vino y los cinco restantes son responsables de la acidez fija del mismo (Mato *et al.*, 2005).

El ácido tartárico es el que se encuentra en mayor proporción en el vino y cumple un papel importante en la fermentación, pues es el ácido orgánico más resistente al ataque bacteriano, sin embargo, no es totalmente inmune a la acción de las bacterias lácticas, con las cuales puede llegar a formar productos como el ácido láctico, acético y dióxido de carbono (Bakker y Timberlake, 2006).

El ácido málico es un ácido fácilmente metabolizable y es eliminado progresivamente, mientras la fermentación se lleva a cabo por efecto de las bacterias lácticas, que lo transforman en ácido láctico por un proceso denominado fermentación malo láctica (Regmi *et al.*, 2012).

El ácido cítrico al igual que el málico y el tartárico se encuentra naturalmente en la uva y su principal función en el vino es la conservación del mismo, además es útil en la prevención de la quiebra férrica (precipitación de compuestos férricos) ya que solubiliza los iones Fe^{3+} (Xie *et al.*, 2011).

La presencia de los ácidos de origen fermentativo en el producto final es mínima (1 a 2 g/L) y de ellos el más importante es el acético, pues le confiere la acidez volátil al vino, sin embargo, hay que tener especial cuidado en la atmósfera donde se realiza el proceso fermentativo, pues las bacterias lácticas en condiciones anaeróbicas pueden valerse de otros compuestos del vino para producir gran cantidad de ácido acético, lo cual representan un defecto en la calidad de la bebida (Regmi *et al.*, 2012).

SALES Y SUSTANCIAS MINERALES

Las sales y compuestos minerales presentes en el vino proceden principalmente de los ácidos tartárico, málico, láctico y algunos ácidos minerales. Su función principal es mantener la frescura del vino, y su composición generalmente se encuentra entre 2 y 4 g/L.

Las sustancias minerales también pueden estar presentes en sus formas catiónicas (K^+ , Na^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Al^{3+} , Cu^{2+}), donde la más abundante es el potasio que aparece en cantidades de 1 g/L (Dutra *et al.*, 2013).

Los oligoelementos (F, Si, I, Br, B, Zn, Pb, Co, Cr, Ni, entre otros) por su parte, son compuestos minerales que se encuentran a niveles traza en el vino, y su presencia está relacionada con su disponibilidad en el suelo utilizado para el cultivo de la vid (Álvarez *et al.*, 2012).

COMPUESTOS FENÓLICOS

Los compuestos fenólicos son los responsables del color del vino, además de contribuir a la astringencia y acidez de la bebida, por lo cual son un factor muy importante en la determinación de la calidad de la misma (Basha *et al.*, 2005; Lutz *et al.*, 2012).

Los compuestos fenólicos se encuentran en los tejidos de la fruta y su importancia radica en las propiedades antioxidantes que los caracteriza, además tienen la propiedad de coagular proteínas, clarificar los vinos y actúan como bactericidas (Díaz-García *et al.*, 2013; Yu y Ahmedna, 2013).

Los polifenoles presentes en el vino se clasifican según su estructura en dos grupos: flavonoides y no flavonoides (Belajova, 2012; Cotea *et al.*, 2012). Los flavonoides son los más estudiados y están presentes en la cáscara, tallo y semillas de la uva y según su estructura molecular se dividen en antocianos, taninos, flavonoles, flavononas y flavonas. Estos compuestos son los principales responsables del color del vino pues proporcionan pigmentos anaranjados, rojos, rosas, purpuras y azules (Gürbüz *et al.*, 2007).

Gracias a la gama de colores de estos compuestos son capaces de absorber luz a diferentes longitudes de onda, razón por la cual se emplea la espectroscopía ultravioleta visible para determinar su presencia en el vino y evaluar la calidad del mismo (Boggia *et al.*, 2013; Mulero *et al.*, 2013).

Los polifenoles no flavonoides abarcan a los ácidos fenólicos y estilbenos. Los primeros se caracterizan por tener un grupo carboxilo en su estructura, y a pesar de ser incoloros, pueden tornarse de color amarillo por procesos oxidativos (Stalikas, 2007). Los estilbenos en cambio son sustancias no flavonoides que actúan en respuesta a ataques patógenos y reaccionan ante factores abióticos como la luz ultravioleta (Belajova, 2012).

SUSTANCIAS NITROGENADAS

Las sustancias nitrogenadas presentes en el vino corresponden a aminoácidos, polipéptidos y proteínas, que junto con las levaduras intervienen en la cinética de la fermentación. Su contenido oscila entre 1-3 g/L de vino y su influencia en la calidad del vino es netamente de carácter nutricional (Valdés *et al.*, 2011).

COMPUESTOS AROMÁTICOS VOLÁTILES

Los compuestos aromáticos volátiles son los responsables del buqué del vino, que no es más que el aroma adquirido por el vino durante su proceso de envejecimiento. Este aroma está constituido por seiscientos a ochocientos compuestos y está dividido en aromas primarios, secundarios y terciarios.

Los aromas primarios proceden de las células de la vid y son principalmente compuestos terpenoides (compuestos orgánicos derivados del isopreno por acción de enzimas) formados durante la fermentación (Vilanova *et al.*, 2011).

Los secundarios en cambio, provienen de alcoholes, ácidos volátiles, ésteres y aldehídos; son los principales responsables del aroma del mosto (Villamor y Ross, 2013).

Finalmente, los terciarios se forman durante la maduración y conservación del vino (envejecimiento), son en su mayoría compuestos provenientes de acetaldehídos y compuestos heterocíclicos (furfural). Se ven influenciados por los perfiles aromáticos que proporcionan las barricas de roble (Veverka *et al.*, 2012).

OTROS COMPONENTES

En el vino también se encuentran ciertos polisacáridos sedimentados como pectinas, gomas y mucílagos, que producen el oscurecimiento del mosto, sin embargo, para contrarrestar este efecto se añaden agentes clarificantes, que pueden ocasionar a su vez efectos adversos en la fermentación por efecto de la eliminación excesiva de nitrógeno (Valdés *et al.*, 2011).

4.1.5. CALIDAD

En la actualidad, el control de calidad de los procesos de vinificación es un requisito de vital importancia, que busca conseguir un uso más eficiente de los recursos disponibles, cumpliendo con las especificaciones legales. Es por eso que la industria del vino se ha enfocado en el diseño de metodologías de análisis eficientes, rápidas y de bajo coste, para evaluar la calidad de la uva, el mosto y el vino (Di Egidio *et al.*, 2010).

PARÁMETROS

La autenticidad del vino es un criterio muy importante y requiere de un monitoreo riguroso antes, durante y después del proceso de elaboración, es decir, desde el control de la materia prima hasta el control del producto terminado (Caligiani *et al.*, 2014).

Entre los parámetros de calidad de vino se encuentran: contenido de azúcares, índice de polifenoles, acidez, grado alcohólico y contenido de agua. El análisis de estos parámetros permite garantizar la calidad del producto final en base a los límites legales permitidos establecidos por el Codex Enológico Internacional (ver Tabla 1) (Hidalgo, 2006).

4.1.6. ADULTERACIÓN

La adulteración del vino se practica antes, durante o después de la fermentación, y uno de sus principales efectos es la modificación del contenido natural del etanol en el producto final y por ende su valor en el mercado, esto claramente sugiere un engaño directo al consumidor, además de representar un potencial riesgo para su salud. (Ogrinc *et al.*, 2003).

En las regiones con climas fríos es donde la adulteración del vino es practicada en mayor cantidad, pues el contenido de azúcar de las uvas es considerablemente bajo en comparación con las uvas vendimiadas en climas cálidos. Éste procedimiento es conocido como chaptalización, y consiste en añadir sacarosa (generalmente obtenida de remolacha y caña) al mosto para

augmentar su concentración de glucosa/fructosa; su práctica genera mucha controversia, pues según los expertos no se consigue el mismo sabor que un vino sin alteraciones en su composición (Jackson, 2008).

Con el fin de evitar que los productores de vino alteren excesivamente su composición alcohólica final, existen restricciones legales que regulan la práctica de la chaptalización, misma que es permitida solamente si el contenido alcohólico es inferior al 10% v/v y éste puede ser incrementado en un 2% v/v como máximo (Jackson, 2008). Además, según la Organización Internacional del Vino (OIV), la tolerancia del grado alcohólico volumétrico (% v/v) reportado en la etiqueta es de $\pm 0,5$ % para vinos con un tiempo de envejecimiento de hasta tres años y $\pm 0,8$ % cuando se superan los tres años de envejecimiento (OIV, 2016).

Comúnmente la composición química de las sustancias adulterantes es parecida a las contenidas en el producto auténtico, por lo cual es importante contar con métodos analíticos rápidos y de alta precisión que permitan la identificación y diferenciación de dichas sustancias. Hoy en día las técnicas tradicionales utilizadas para este fin, tales como: refractometría, potenciometría, conductimetría, gravimetría, entre otras, resultan insuficientes debido principalmente a la sofisticación que han alcanzado las adulteraciones, por lo cual se han desarrollado innovadoras técnicas que siguen directrices de organismos reguladores tales como la Organización Internacional del Vino (OIV) y el CODEX Enológico Internacional (Mondragón y Ulloa, 2008).

Dentro de las técnicas en mención se encuentran: la cromatografía de gases y líquidos, la espectroscopía ultravioleta visible (UV-vis), de infrarrojo cercano (NIRS) y de resonancia magnética nuclear (RMN) (Mondragón y Ulloa, 2008).

4.2. ESPECTROSCOPIA

Existe una amplia variedad de técnicas analíticas aplicadas al análisis de la calidad de vino. El nivel de complejidad de las mismas así como su eficiencia es variable, sin embargo, las técnicas más utilizadas son: la cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC, por sus siglas en inglés) y la de gases acoplada a masas (GC-MS, por sus siglas en inglés), pues son menos costosas en comparación con las espectroscópicas, sin embargo, en los últimos años, la utilización de las técnicas espectroscópicas ha ganado popularidad en el análisis de vino, debido principalmente a sus características no destructivas (Boido *et al.*, 2013; Kallithraka *et al.*, 2011).

4.2.1. INTRODUCCIÓN

El conjunto de técnicas instrumentales basadas en la interacción de la radiación electromagnética con la materia se conoce como espectroscopía, que permite obtener información estructural de una molécula (Morcillo, 2005). El principio fundamental de la espectroscopía radica en la medición de la cantidad de luz absorbida por una molécula, en función de la longitud de onda de dicha luz. Cada molécula posee dos estados de energía diferentes (uno mayor y uno menor); cuando la radiación electromagnética incide sobre dicha molécula, el estado menos energético absorbe una frecuencia igual a la diferencia de energía entre los dos estados, provocando un salto de partículas (fotones) del estado de menor energía al de mayor energía (Lourenco *et al.*, 2012).

4.2.2. ESPECTRO ELECTROMAGNÉTICO

El espectro electromagnético es el conjunto de radiaciones electromagnéticas ordenadas según su longitud de onda, frecuencia o energía y abarca desde ondas de radio con baja frecuencia hasta los rayos gamma de alta frecuencia (ver Figura 2) (Skoog *et al.*, 2008).

Los espectros en la región ultravioleta y visible son espectros electrónicos y se emplean para la detección de compuestos con enlaces conjugados. Los espectros infrarrojos son vibracionales y se emplean para la identificación y cuantificación de compuestos orgánicos; y los espectros de resonancia magnética nuclear son espectros relacionados con la electronegatividad de las especies enlazadas a los núcleos resonantes (Walton, 2012).

4.2.3. INSTRUMENTACIÓN

Los instrumentos empleados en espectroscopía son conocidos como espectrofotómetros (UV-vis e IR) o espectrómetros (RMN), que presentan pequeñas diferencias en cuanto a componentes específicos. Las partes esenciales de estos instrumentos son: fuente de energía radiante, monocromador (UV-vis y NIRS), bobinas de radiofrecuencia (RMN), recipiente de muestra, detector de radiación electromagnética, amplificador de señal y sistema de lectura (Orozco, 2007).

FUENTES DE ENERGÍA RADIANTE

Consiste de materiales capaces de excitarse a niveles de energía mayores por medio de descargas eléctricas de alto voltaje o calentamiento. Cuando los electrones del material en mención regresan al estado basal emiten energías específicas que corresponden a la diferencia de energía entre el estado basal y excitado. Una fuente de radiación ideal permite obtener un espectro con la misma intensidad que la región de interés, sin embargo, ésta varía en función de la longitud de onda (Orozco, 2007).

La estabilidad de la fuente es un aspecto importante, porque las fluctuaciones de voltaje alteran la intensidad de radiación emitida, por lo cual generalmente se utiliza un regulador de voltaje. Los instrumentos de doble haz permiten compensar los efectos de la variación de voltaje, ya que divide en dos la radiación emitida, teniendo así un haz de referencia y uno de la muestra (Skoog *et al.*, 2008).

La fuente de radiación utilizada en espectroscopía ultravioleta es generalmente una lámpara de hidrógeno o deuterio, éstas son fabricadas en vidrio con ventanas de cuarzo y poseen hidrógeno o deuterio gaseoso en su interior (Olsen, 2009). En la región visible e infrarroja las fuentes de radiación son comúnmente las lámparas de tungsteno, que constan de un filamento que se calienta por una fuente de corriente directa o por una batería, estos filamentos pueden alcanzar los 2900°C aproximadamente. Finalmente, en RMN la fuente de radiación electromagnética es básicamente un cristal oscilador que emite

radiaciones no ionizantes, es decir, las ondas electromagnéticas no son capaces de arrancar electrones de la molécula (Stermitz y Weininger, 2008).

MONOCROMADORES

Los monocromadores son componentes muy importantes, pues permiten seleccionar un grupo continuo y limitado de longitudes de onda estrechas denominadas bandas, mismas que pasan al detector posteriormente. Este dispositivo cuenta con redes de difracción, que son un compendio de líneas reflectoras paralelas y equidistantes, de alta o baja resolución; las primeras son útiles para resolver picos muy cercanos y las otras son de un uso más general. En ocasiones las bandas angostas pueden presentar haces policromáticos, es decir, de varias longitudes de onda, para resolver esto se utilizan filtros que se colocan antes de que la luz dispersada pase por el monocromador, esto permite eliminar señales que no resultan de interés para el análisis (Agulló, 2001).

Luego de que la radiación atraviesa el monocromador pasa por unos lentes colimadores (espejos) para producir un haz paralelo, luego continúan hacia un prisma que separa la radiación policromática en bandas angostas y a diferentes ángulos, lo cual permite proyectar una serie de imágenes sobre una superficie plana (plano focal). El material de fabricación del prisma debe ser transparente a la radiación y un excelente medio de dispersión. Los prismas utilizados para UV generalmente son de sílice o cuarzo, mientras que para el visible y el infrarrojo cercano el vidrio común con plomo muestra buenas cualidades (Burriel *et al.*, 2008).

BOBINAS DE RADIOFRECUENCIA (RF)

En RMN no se cuenta con monocromadores, pues después de que el electroimán superconductor genera el campo magnético y la fuente de radiación electromagnética genera la radiofrecuencia, se requiere de bobinas de radiofrecuencia que emitan pulsos de RF en una de las dos direcciones del plano sobre el que se encuentran los núcleos, para que se produzca la resonancia, estas bobinas se encuentran rodeando a la sonda y están fabricadas de materiales superconductores (generalmente aleaciones con níquel) (Silverstein y Bassler, 2014).

RECIPIENTES DE MUESTRA

Los recipientes para muestra utilizados en las técnicas espectroscópicas se conocen como celdas (UV-vis e IR) o tubos (RMN) que pueden tener diferente geometría pero deberán ser de material transparente a la radiación que se emplea.

Para ultravioleta se suelen utilizar celdas de cuarzo, ya que el vidrio absorbe este tipo de radiación; en la región visible e infrarrojo cercano además de las celdas de cuarzo se pueden utilizar las de vidrio (sílice fundido) también. Los tubos de RMN por su parte, son generalmente fabricados de vidrio de borosilicato y tienen forma cilíndrica (Silverstein y Bassler, 2014).

DETECTOR DE RADIACIÓN ELECTROMAGNÉTICA

Los detectores son dispositivos que generan una señal en base a los fotones que chocan con él, esta señal activa a un microprocesador que transforma la señal digital en un gráfico (espectro). En espectroscopía los detectores comúnmente utilizados son tubos fotomultiplicadores, células fotovoltaicas, fotodiodos, fotoconductores y bobinas receptoras de radiofrecuencia (Skoog *et al.*, 2008).

Los tubos fotomultiplicadores son dispositivos ópticos de vacío que aprovechan la emisión secundaria de electrones. Constan de un fotocátodo sobre el cual incide la luz que es convertida en fotoelectrones, quienes son acelerados por un campo eléctrico que los dirige hacia el ánodo (dínodo), estos a su vez provocan la emisión de electrones secundarios que son dirigidos a un segundo dínodo, produciéndose así la señal (Skoog *et al.*, 2008).

Las células fotovoltaicas son dispositivos fabricados de materiales superconductores (generalmente silicio), en los cuales se insertan átomos de boro y fósforo (dopaje), y estos son responsables de generar el campo eléctrico para que se dé la transformación de energía solar en eléctrica por la incidencia de la radiación, esto es conocido como efecto fotovoltaico (Gessi, 2012).

Los fotodiodos son semiconductores fabricados en base a una unión P – N, es decir, un semiconductor de la zona P que recepta impurezas de un semiconductor de la zona N en sus espacios libres. Esta unión P – N es

polarizada de manera inversa permitiendo un flujo de corriente que genera la señal (Cirovic, 2005).

Los fotoconductores constan de una película de sulfuro de plomo depositada sobre una superficie de vidrio no conductora y sellada al vacío. Cuando la radiación incide se impulsan electrones de valencia a estados de mayor energía, disminuyendo la resistencia eléctrica del semiconductor (Cirovic, 2005).

Finalmente, las bobinas receptoras de radiofrecuencia están fabricadas de materiales superconductores (generalmente aleaciones con níquel) y como su nombre lo indica son las encargadas de recibir la señal correspondiente a la absorción de energía por los núcleos en resonancia (Walton, 2012).

Para la región ultravioleta y visible generalmente se utilizan como detectores a los tubos fotomultiplicadores, celdas fotovoltaicas y fotodiodos. En la región infrarroja cercana en cambio son utilizados los fotoconductores de sulfuro de plomo y en RMN las bobinas receptoras de RF, también conocidas como detectores de radiofrecuencia (Walton, 2012).

AMPLIFICADOR DE SEÑAL Y SISTEMA DE LECTURA

El detector de radiación electromagnética genera una señal electrónica, que debe ser transformada a una señal de fácil lectura e interpretación para el operador del equipo. Este proceso se lleva a cabo con amplificadores de señal,

que toman la señal de entrada del detector y empleando una serie de procesos electrónicos se genera una señal de salida mucho mayor a la de entrada, generalmente estas señales son voltajes. Una vez que la señal electrónica ha sido transformada y amplificada, ésta pasa a un sistema de lectura, que permite obtener resultados expresados en magnitudes como absorbancia, transmitancia y concentración (Skoog *et al.*, 2008).

4.3. TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS APLICADAS AL ANÁLISIS DE ADULTERACIÓN EN VINO.

Existe una amplia variedad de técnicas analíticas aplicadas al análisis de la calidad de vino. El uso de técnicas espectroscópicas ha ganado popularidad en la determinación de adulteraciones, pues son técnicas no destructivas y rápidas que permiten obtener información estructural de los compuestos de interés, además otra ventaja es su poca o nula preparación de muestra.

4.3.1. ESPECTROSCOPÍA ULTRAVIOLETA VISIBLE (UV-vis)

La espectroscopía UV-vis detecta las transiciones electrónicas de la molécula y brinda información sobre el tamaño y estructura de las regiones conjugadas de ésta, en base a la absorción de la radiación ultravioleta visible en la región entre 200 y 780 nm del espectro electromagnético (Sirajuddin *et al.*, 2013).

Los compuestos con dobles enlaces, triples enlaces, enlaces peptídicos y moléculas con grupos aromáticos y carbonilos poseen su máxima absorbancia en la región ultravioleta. En la región visible en cambio, se detecta el color (grupos cromóforos) complementario al que se absorbe, por lo cual se trabaja en la modalidad transmitancia. En la Tabla 2 se detallan los colores complementarios a los absorbidos en la región visible, es decir, los transmitidos (Harris, 2003).

Generalmente un compuesto tiene su longitud de onda máxima en la región ultravioleta, sin embargo si la conjugación comprende un número suficiente de dobles enlaces, la absorción se extiende hacia la región visible, por tanto el compuesto pasa a ser coloreado (Skoog *et al.*, 2008).

PRINCIPIO

La absorción de la radiación en la región UV-vis se da por la excitación de los electrones del orbital enlazante “HOMO” (Highest Occupied Molecular Orbital, por sus siglas en inglés), mismos que migran al orbital antienlazante “LUMO” (Lowest Unoccupied Molecular Orbital, por sus siglas en inglés) produciéndose así las transiciones de tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ o $n \rightarrow \pi^*$. La diferencia de energía HOMO-LUMO y por ende la longitud de onda máxima para la transición varía en función de los sustituyentes y el grado de conjugación, lo cual produce desplazamientos de longitudes de onda más largas. Esta diferencia disminuye cuando el grado de conjugación aumenta (Requena, 2004).

La fuente de luz ultravioleta es generalmente una lámpara de deuterio, y emite todas las frecuencias de esta luz (mayores a 200 nm) que atraviesan un monocromador con un prisma que dispersa la luz y la descompone en un amplio espectro, que permite seleccionar una longitud de onda característica, esto se traduce a un gráfico de la absorbancia de la muestra en función de su longitud de onda, lo cual se explica con la ley de Lambert-Beer:

$$A = \log \left(\frac{I_r}{I_m} \right) = \epsilon cl \quad (2)$$

Donde la absorbancia es equivalente al logaritmo de la relación entre la intensidad del haz de referencia y de la muestra, esto a su vez es igual al producto de la absorptividad molar (ϵ) por la concentración de la muestra (c) por la longitud del paso óptico (l) (Walton, 2012).

PREPARACIÓN DE MUESTRA

La muestra debe ser disuelta en un solvente que no absorba por encima de 200 nm (generalmente etanol), que servirá también como referencia (blanco) en la medición. Las celdas que el espectrofotómetro requiere son de cuarzo, pues este material es transparente a la luz ultravioleta y permite que el haz de luz pase a través de la muestra y del blanco, de tal manera que comparando la cantidad de luz transmitida a través de la muestra, con la transmitida a través del blanco, se logre medir la relación de intensidad entre el haz de referencia y el haz de la muestra (Skoog *et al.*, 2008)

ESPECTROS

El espectro UV-vis muestra información no específica y bandas amplias debido a la superposición de las rotaciones vibracionales en las transiciones electrónicas. La información espectral se presenta en función a los valores de longitud de onda máxima y su respectiva absorbancia (ver Figura 3) (Kumirska *et al.*, 2010).

VENTAJAS Y DESVENTAJAS

La espectroscopía ultravioleta visible es una técnica de gran utilidad en la identificación de compuestos químicos orgánicos y la medición de sus concentraciones, incluso es posible medir trazas (concentraciones hasta 10^{-5} M) de una sustancia de manera simple y rápida, lo cual no se puede lograr con los métodos convencionales como la gravimetría o la volumetría. Además es una técnica no destructiva y requiere de una nula o mínima preparación de muestra. Otras ventajas de la técnica son su rápida obtención de espectros (menor a 5 min), elevada sensibilidad y también es susceptible a la automatización (Skoog *et al.*, 2008).

Por otra parte, sus desventajas radican en el hecho de que las fuentes de radiación ultravioleta y visible no son las mismas, por lo cual se requiere de cambio de lámparas dependiendo de la longitud de onda requerida para la absorción, si bien este procedimiento es muy simple, alarga el tiempo operacional de la técnica.

Además, los espectrofotómetros UV-vis requieren de frecuentes calibraciones para garantizar precisión y exactitud. Otro aspecto importante que resulta ser una limitación de la técnica es que las especies químicas necesitan ser coloreadas (poseer grupos cromóforos) para que la medición sea posible en la región visible, por lo cual en ocasiones es necesario utilizar reactivos específicos que formen el complejo coloreado, sin embargo, este procedimiento es muy simple y no toma mayor tiempo (Pérez, 2003).

MÉTODOS DE ANÁLISIS DE COMPUESTOS FENÓLICOS EN VINO POR ESPECTROSCOPIA UV-vis

Los pigmentos responsables de las características de color del vino son los compuestos fenólicos flavonoides, principalmente antocianos y taninos, que gracias a sus características antioxidantes contribuyen a la conservación de la bebida y son precisamente estos compuestos los que son identificados por espectroscopía UV-vis. Su determinación está influenciada por factores como acidez, temperatura, cantidad de sales, azúcares y el rango de absorción del solvente extractante.

Los compuestos fenólicos totales en el vino son determinados por el método de Folin-Ciocalteu, que consiste en disolver la muestra en una solución alcohólica o cetónica con el fin de extraer los compuestos en mención, posteriormente se añade a la muestra un volumen pequeño del reactivo de Folin-Ciocalteu y carbonato de sodio al 20% (medio básico), con agitaciones posteriores a cada adición, esto da lugar a la formación de un complejo verde azulado (ver Figura 4) que puede ser detectado a una longitud de onda de 730 nm. La cuantificación es realizada en base a una curva de calibración de ácido gálico y los resultados son expresados en miligramos equivalentes de ácido gálico por litro de vino (mg EAG/L) (Fleschhut *et al.*, 2006).

Los antocianos son moléculas polares responsables de colores rojos, azules y violetas del vino, su acción antioxidante es mayor en antocianos poliméricos (formados durante la fermentación) que en antocianos libres. La

estabilidad del color se favorece por las reacciones de polimerización entre los antocianos y otros compuestos fenólicos que ocurren durante la etapa de envejecimiento. Estos pigmentos son caracterizados por el método de Giusti y Wrolstad, conocido como el método de pH diferencial, debido a la transformación estructural de los antocianos en función a la acidez del medio, los resultados son expresados en mg/L de malvidin-3-glucosido (Bridle y Timberlake, 2006).

El método consiste en la medición de la absorbancia a un pH de 1.0, donde predomina el color oxonio (rojo intenso) y a un pH de 4.5 donde predomina la forma incolora. Estos pH son alcanzados gracias a soluciones buffer de cloruro de potasio (pH=1.0) y acetato de sodio (pH=4.5) y la decoloración de los antocianos se da por la formación de antocianos sulfónicos al aplicar agentes blanqueadores como el metabisulfito de sodio/potasio o el peróxido de hidrógeno (ver Figura 5). La absorbancia máxima se dará en un rango entre 420 y 700 nm (Giusti y Wrolstad, 2011).

Los taninos son pigmentos responsables del color amarillo del vino así como de su astringencia, su determinación se lleva a cabo por el método de Harberston, basado en la capacidad de los taninos para precipitar proteínas en albumina de suero bobino en solución, este precipitado a su vez es puesto en contacto con cloruro férrico, formado así un complejo violeta que absorbe a una longitud de onda de 510 nm (ver Figura 6). La cuantificación es realizada en base a una curva de calibración de ácido tánico, catequina o epicatequina y los resultados son expresados en miligramos equivalentes de ácido tánico,

catequina o epicatequina por litro de vino (mg E (AT, C o EC)/L) (Singleton y Trouslade, 2012).

CASOS DE ESTUDIO

Esta sección comprende aspectos importantes y datos relevantes obtenidos de trabajos desarrollados por varios autores, donde en base a determinaciones de compuestos fenólicos (polifenoles totales, antocianos y taninos) en diferentes muestras de vino, se logra demostrar la aplicabilidad de la espectroscopía UV-vis en el control de calidad e identificación de adulteraciones.

El trabajo desarrollado por Burín *et al.* (2011) es una investigación aplicada a vino Cabernet Sauvignon, y dos réplicas de éste en su etapa de envejecimiento, en la cual se llevó a cabo la determinación del índice de polifenoles y antocianos totales mediante la aplicación de los métodos UV-vis descritos en la sección anterior, identificando así las variaciones entre las réplicas y el producto auténtico (Burín *et al.*, 2011).

La curva de calibración para la determinación del índice de polifenoles fue elaborada a partir de un estándar de ácido gálico, el cual por ser el principal ácido fenólico presente en el vino permite determinar la concentración de polifenoles en éste de manera adecuada; los resultados obtenidos reflejaron valores más elevados de polifenoles para las réplicas que para el vino original. Para la determinación de antocianos se empleó metabisulfito de sodio como agente decolorante y un patrón de malvidin-3-glucósido (antociano presente

mayoritariamente en el vino) para la curva de calibración; los resultados en este caso indicaron que la cantidad de antocianos monoméricos disminuyó tanto en las réplicas como en el vino original, debido a la formación de polímeros con otros compuestos flavonoides, proceso común del envejecimiento del vino. Los valores de malvidin-3-glucósido difirieron entre las réplicas y el vino original, siendo mayores para las réplicas, es decir, que efectivamente existió una alteración en la composición del producto auténtico, la cual es satisfactoriamente identificada empleando los métodos UV-vis descritos (Burín *et al.*, 2011).

La dispersión de los datos obtenidos fue baja (alta precisión) y el coeficiente de correlación de las curvas fue próximo a uno (buena linealidad), es así que la espectroscopía UV-vis, además de permitir identificar con éxito adulteraciones relacionadas con el contenido polifenólico en el vino puede ser catalogada como una técnica confiable para determinar la autenticidad de éste (Burín *et al.*, 2011).

El artículo publicado por Mercurio y Smith (2008) se centra en la identificación y cuantificación de taninos por el método de precipitación de proteínas en dos variedades diferentes de vino: Cabernet Sauvignon y Merlot.

Para la medición de la absorbancia, la longitud de onda seleccionada fue 510 nm, tanto para el blanco (etanol 20%) como las muestras, y los ensayos se realizaron por triplicado. La curva de calibración en este caso fue elaborada a partir de un estándar de catequina, pues los taninos de carácter catéquico son

los que se encuentran en mayor porcentaje en el vino. Los resultados obtenidos mostraron valores superiores de taninos para el vino Cabernet Sauvignon, ya que es un vino de cuerpo completo de características astringentes superiores y de color más intenso, mientras que el Merlot tiene un cuerpo medio lo cual le da características de sabor y color más discretas. Además, el coeficiente de correlación fue muy cercano a uno, por lo cual la linealidad es buena, esto permite concluir que el método aplicado a la determinación de taninos en vino por espectroscopía ultravioleta visible es adecuado, y por tanto puede ser de utilidad para identificar adulteraciones en la bebida (Mercurio y Smith, 2010).

Se revisó también una tesis desarrollada por Bravo (2012) en Chile, donde se realiza una comparación del contenido fenólico (fenoles totales, antocianos totales y taninos totales) de tres diferentes vinos Cabernet Sauvignon y Malbec, esto con el fin de relacionar la diferencia entre sus precios de venta con su contenido, y en base a ello determinar posibles incumplimientos con los límites legales establecidos por el CODEX Enológico Internacional (ver Tabla 1), y por ende adulteraciones en los mencionados productos (Bravo, 2012).

Las determinaciones se llevaron a cabo aplicando los métodos UV-vis ya descritos, los cuales permitieron obtener resultados que reflejan tanto para el vino Cabernet Sauvignon como para el Merlot, concentraciones fenólicas mayores en los vinos de alto costo, seguidos por los de medio y bajo costo (ver Figura 7). Si bien estos valores no superan en ninguno de los casos los límites legales establecidos, la calidad evidentemente se ve afectada, pues en el caso

de los vinos de bajo costo, la concentración fenólica es significativamente diferente a los otros dos por lo cual sus características antioxidantes, de color y astringentes son inferiores. Estos resultados permiten una vez más demostrar la aplicabilidad de la espectroscopía UV-vis en el control de calidad e identificación de adulteraciones en vino (Bravo, 2012).

4.3.2. ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO CERCANO (NIRS)

La radiación electromagnética en la región infrarroja es absorbida por una molécula, cuando la energía radiante es igual a la diferencia energética entre dos niveles vibracionales mientras se produce un cambio en el momento dipolar de la molécula, provocándose así una transferencia neta de energía que da lugar a un cambio de amplitud de la vibración (Skoog *et al.*, 2008).

La espectroscopía NIR particularmente mide intensidad de la radiación absorbida por la molécula en región infrarroja cercana (780 nm a 2500 nm), con lo cual permite realizar determinaciones cuantitativas de grupos funcionales. El átomo de hidrógeno es el más ligero por lo cual sus vibraciones son más grandes y como consecuencia de ello las principales bandas observadas en la región NIR son concretamente las correspondientes a los enlaces C-H, N-H y O-H y generalmente las bandas de los enlaces C=O, C-C y C-Cl son muy débiles o incluso ausentes (Dufour, 2009).

PRINCIPIO

La espectroscopía NIR se basa en la emisión de un haz de luz proveniente de una lámpara de tungsteno hacia la muestra a analizar, esto provoca que parte de los fotones se transmitan a través de ella, mientras que el resto se absorbe por enlaces covalentes que actúan a manera de resortes oscilantes acoplados a la longitud de onda exacta de la radiación lumínica (Cajarville *et al.* 2003). Cuando la energía es absorbida, los enlaces moleculares pueden vibrar de dos maneras: se extienden (tensión) o se doblan (flexión). Cuando se extienden la distancia interatómica aumenta, esto ocurre a frecuencias altas o longitudes de onda menores; y cuando se doblan el ángulo de enlace cambia, esto en cambio ocurre a frecuencias bajas o longitudes de onda mayores (Fuchslocher, 2008).

La absorción en la región infrarroja cercana se da por tres mecanismos diferentes: sobretonos, bandas de combinación o absorciones electrónicas. Los sobretonos se generan debido a que las moléculas siguen un modelo oscilador anarmónico, es decir, los niveles de energía no están espaciados homogéneamente; esta anarmonicidad de las moléculas da lugar a transiciones entre estados de energía vibracional, mismas que son responsables de los sobretonos. Las bandas de combinación en cambio se producen en moléculas poliatómicas que presentan vibraciones diferentes, que pueden interactuar entre sí y generar cambios simultáneos de energía. Finalmente, las absorciones electrónicas se deben al movimiento de los electrones hacia órbitas de mayor energía (Blanco *et al.*, 2012).

PREPARACIÓN DE MUESTRA

Una de las mayores ventajas que proporciona la espectroscopía de infrarrojo cercano es su poca o casi nula preparación de muestra. Se pueden analizar muestras líquidas, en polvo, granulados, etc. sin ninguna preparación previa y seleccionando la modalidad de operación: reflectancia (sólidos), transmitancia (líquidos) o transflectancia (emulsiones). Sin embargo, se pueden presentar interferencias que provoquen la dispersión de la radiación, debidas principalmente al tamaño de partícula, lo cual es fácilmente solucionable con la molienda de la muestra, en caso de muestras sólidas, mientras que para muestras líquidas esto se puede solucionar con un proceso de filtración (Hagrasy *et al.*, 2011).

ESPECTROS

El espectro NIRS es único para cada muestra y corresponde a sobretonos (bandas superpuestas), bandas de combinación de las vibraciones moleculares y absorciones electrónicas por esta razón la interpretación se vuelve compleja, lo cual es contrarrestado con el uso de aplicaciones quimiométricas, principalmente la Transformada de Fourier, que no es más que un modelo matemático que permite transformar datos en el dominio del tiempo a datos en el dominio de la frecuencia, lo cual permite mejorar la relación señal/ruido y optimiza el tiempo de obtención del espectro (Dufour, 2009).

En la espectroscopía NIR la radiación penetra en la capa superficial de las partículas excitándolas y luego se dispersa en todas las direcciones, es decir,

algunos rayos serán absorbidos por uniones químicas específicas, mientras que otros rayos serán diseminados y reflejados por otras uniones químicas (éste proceso es conocido como reflectancia NIR). Sin embargo, algunos de los rayos pasarán a través de la muestra, lo cual es denominado Transmisión NIR (a menudo referida como NIT). Debido a ello el espectro NIRS es un gráfico donde la ordenada es el logaritmo de la inversa de la reflectancia o transmitancia ($\log 1/R$ o $1/T$), donde R o T a su vez corresponde a la intensidad de radiación reflejada o transmitida respectivamente, y la abscisa por su parte, corresponde a la longitud de onda (ver Figura 8) (Cuesta, 2014).

VENTAJAS Y DESVENTAJAS

La espectroscopía NIR ofrece una gran cantidad de ventajas en la industria química, entre las más destacadas se encuentra la factibilidad que tiene la técnica para su automatización, lo cual a su vez permite realizar análisis in situ y descartar el proceso de muestreo. La versatilidad de la técnica resulta ser una ventaja también pues permite trabajar con muestras sólidas, líquidas o gaseosas (Mindel, 2007).

Por otra parte, las desventajas de la técnica radican principalmente en su costo, además requiere de una calibración adecuada para evitar la transferencia de errores. También se debe tener cuidado con la humedad residual de la muestra, pues en ocasiones puede interferir en la absorción y por ende la precisión. Otra de las desventajas de la técnica radica en el hecho de que el espectro NIR corresponde a sobretonos (bandas superpuestas), bandas de

combinación de las vibraciones moleculares, por lo cual la interpretación se vuelve compleja. Sin embargo, con el uso aplicaciones quimiométricas como la Transformada de Fourier se puede interpretar los espectros fácilmente (Fuchslocher, 2008).

MÉTODOS DE ANÁLISIS DE AZÚCARES Y ALCOHOLES EN VINO POR ESPECTROSCOPIA NIR

En la industria vitivinícola el monitoreo del proceso de transformación del mosto en vino es de gran importancia para la calidad final de la bebida, pues en éste se determina la cantidad de azúcares que serán responsables de la fermentación y por ende del grado alcohólico final del vino, estos azúcares a su vez serán responsables de la densidad del mosto, misma que es monitoreada con el fin de prevenir que la fermentación se detenga y genere procesos de re fermentación posteriores que afectan significativamente el dulzor final del vino, lo cual es determinado por espectroscopía de infrarrojo cercano (Caballero *et al.*, 2011).

El método utilizado para la determinación de azúcares por NIRS se basa precisamente en la densidad de la muestra, para lo cual es necesario una centrifugación y filtración previa al análisis (eliminación de sólidos suspendidos), luego de lo cual se determina la densidad por medio de aerómetros para finalmente llevar a cabo las mediciones espectrofotométricas en un rango de longitudes de onda entre 780 y 2500 nm (Caballero *et al.*, 2011). Para la determinación del grado alcohólico del vino por espectroscopía NIR el método

consiste básicamente en seleccionar la longitud de onda adecuada, que se encuentra en el rango entre 1150 y 1200 nm. En este intervalo, no existen interferentes y el cálculo respectivo lo realiza directamente el software del equipo con la aplicación de algoritmos simples (OIV, 2016).

CASOS DE ESTUDIO

Los artículos revisados incluyen investigaciones enfocadas al análisis del contenido de azúcares y grado alcohólico de diferentes muestras de vino por espectroscopía NIR con el fin de mostrar la aplicabilidad y simplicidad de la técnica en el control de calidad e identificación de adulteraciones.

El trabajo de Fernández *et al.* (2011) detalla el análisis del contenido de azúcar en seis mostos diferentes y los respectivos productos terminados, obtenidos en viñedos de Córdoba, España con el fin de evaluar la composición del producto antes y después de su elaboración, y así determinar cualquier tipo de alteración, y monitorear además el proceso de fermentación. (Fernández *et al.*, 2011).

El porcentaje de azúcares fue preliminarmente determinado por refractometría (grados brix) con el fin de comparar los resultados con los obtenidos por espectroscopía UV-vis y así determinar cuál técnica es la más adecuada para la determinación de este parámetro de gran importancia en la calidad del vino. Las mediciones espectrofotométricas se realizaron por

triplicado, para lo cual se seleccionó el rango de longitud de onda del espectrofotómetro NIR que fue de 800 a 1100 nm (Fernández *et al.*, 2011).

Los espectros fueron obtenidos de manera rápida y con una buena resolución gracias a la aplicación de la Transformada de Fourier; los azúcares se lograron identificar en base a una banda característica del enlace O-H a 953 nm, además, se observó una banda a los 970 nm correspondiente a la absorción del agua, ya que ésta representa del 86 al 87% de la composición del vino. En base a estas bandas se logró cuantificar el contenido de azúcares en las respectivas muestras, y los valores obtenidos permitieron verificar que las muestras analizadas no presentaban alteración alguna en su composición al compararlas con los correspondientes valores legales establecidos (Fernández *et al.*, 2011).

En base a lo expuesto se puede concluir que la espectroscopía NIR es una técnica adecuada para la determinación de adulteraciones o mezclas fraudulentas en vinos y mostos con resultados obtenidos en tiempo reducido y con una resolución adecuada (Fernández *et al.*, 2011).

Otro de los trabajos revisados fue el desarrollado por Lachenmeier *et al.* (2010), éste se enfocó en el monitoreo del grado alcohólico en vino durante y después del proceso de fermentación, utilizando sensores con tecnología NIR, con el fin de demostrar la efectividad de la técnica en la identificación de adulteraciones, pues el fin específico de la investigación apunta a la

determinación de alcohol no reportado por el fabricante (Lachenmeier *et al.*, 2010).

Además, se hace una comparación con el procedimiento de referencia típico utilizado para éste análisis en particular (destilación seguido de picnometría), fundamentado en la densimetría, que permite conocer el grado alcohólico de la bebida, pero no brinda información específica acerca del alcohol al cual se le confiere este porcentaje, por lo cual en el resultado obtenido por densimetría se incluirá el aporte mínimo de otros alcoholes diferentes al etanol (metanol principalmente), además, al requerir una destilación previa a la medición de la densidad para prevenir falsos positivos, el procedimiento resulta largo e involucra mayor gasto operativo (Lachenmeier *et al.*, 2010).

Como se indicó en la sección anterior, el análisis del contenido alcohólico en vino por espectroscopía NIR requiere simplemente la selección de una longitud de onda apropiada, en este caso de 1200 nm. La exactitud fue asegurada mediante el análisis de doscientas sesenta muestras, arrojando resultados con coeficientes de correlación superiores a 0,999 y un error promedio del 0,279 %. Resultados que permiten concluir que la espectroscopía NIR es una técnica rápida y eficiente para la determinación del grado alcohólico en vino y la identificación de adulteraciones referentes a este parámetro (Lachenmeier *et al.*, 2010).

El artículo publicado por Cozzolino *et al.* (2011) también fue revisado en esta sección, éste resalta las ventajas de la espectroscopía NIR para el análisis de vino, en la determinación del contenido de azúcares y etanol, lo cual permite corroborar el cumplimiento de los estándares de calidad establecidos para la bebida. Además, explica como la aplicación de la Quimiometría ayuda sustancialmente en la obtención de espectros de manera rápida y en la cuantificación de los analitos de interés, esto mediante la aplicación de algoritmos sencillos a través de la Transformada de Fourier (Cozzolino *et al.*, 2011).

El artículo contiene también información acerca de la aplicabilidad de la espectroscopía NIR en el monitoreo de procesos de fermentación del vino y maduración de uvas vendimiadas. Además, menciona la complementariedad que presenta con la espectroscopía de infrarrojo medio (MIR) para la determinación de azúcares y alcoholes, y con la espectroscopía UV-vis para la determinación de compuestos fenólicos (Cozzolino *et al.*, 2011).

Finalmente, describe la sofisticación que las adulteraciones en el área alimenticia han alcanzado, adulteraciones que en la industria vitivinícola son atribuidas a factores mayormente climáticos, lo cual desencadena la práctica de procedimientos como la chaptalización por parte de las industrias dedicadas a la elaboración de vino, y esto a su vez repercute en el contenido alcohólico del producto final. Es así, que la verificación de la autenticidad del vino se ha

convertido en una potencial aplicación para las técnicas espectroscópicas, entre ellas la espectroscopía NIR (Cozzolino *et al.*, 2011).

4.3.3. ESPECTROSCOPIA DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN)

La RMN es una técnica espectroscópica utilizada para analizar núcleos atómicos con un número impar de protones como el ^1H , ^{13}C , ^{19}F , ^{31}P , entre otros, lo cual les confiere una propiedad mecano-cuántica denominada espín nuclear, es decir, sus cargas giran rotacionalmente sobre un eje generando un campo magnético, esto es conocido como momento magnético. La espectroscopía de RMN de ^1H y ^{13}C se utiliza mayormente, ya que estos son los componentes principales de los compuestos orgánicos y su abundancia es superior en comparación con los otros núcleos atómicos mencionados (Silverstein y Bassler, 2014).

PRINCIPIO

Cuando no existe un campo magnético, los espines nucleares se orientan al azar, mientras que cuando se aplica un campo magnético los núcleos con espín positivo se orientan en la misma dirección del campo aplicado y tienen una energía mínima (estado de espín α), y los núcleos con espín negativo se orientan en dirección opuesta al campo y poseen mayor energía (estado de espín β). La diferencia de energía entre estos dos estados energéticos depende de la intensidad del campo magnético, ésta diferencia es equivalente a la energía que absorbe el núcleo del espín α cuando es sometido a la radiación

electromagnética, provocando que el núcleo salte al espín β y entonces se dice que está en resonancia con el campo magnético (Chamberlain, 2005)

El efecto de resonancia sigue la teoría de la mecánica cuántica, donde la diferencia entre los niveles energéticos es proporcional a la intensidad del campo magnético (B_0) y la relación giromagnética (γ), esta diferencia es igual al producto de la frecuencia de la radiación electromagnética (ν) y la constante de Plank (h). Esto se resume en las siguientes ecuaciones (Fernández, 2014):

$$\Delta E = \gamma \frac{h}{2\pi} B_0 = h \nu \quad (3)$$

$$\nu = \gamma B_0 \frac{1}{2\pi} \quad (4)$$

PREPARACIÓN DE MUESTRA

Para efectuar análisis por RMN la muestra requiere de poca o nula preparación, sin embargo, pueden presentarse interferencias relacionadas con partículas suspendidas, formación de emulsiones y muestras con más de una fase, estas pueden ser eliminadas con sencillos procesos tales como aumento de temperatura, centrifugación y filtración con lana de vidrio; cuando se trata de partículas magnéticas son eliminadas empleando imanes. El solvente utilizado también tiene que cumplir con ciertos criterios específicos, tales como bajo punto de fusión y alto punto de ebullición, lo cual permite mejorar la relación señal/ruido y por ende la resolución de los picos. Éste no debe contener protones (deuterado), porque generará un espectro saturado con señales provenientes del solvente entorpeciendo así la lectura (Chamberlain, 2005).

ESPECTROS

El espectro de RMN brinda información de gran utilidad para la determinación de la estructura molecular de un compuesto. Es un gráfico donde la ordenada corresponde a la intensidad del campo magnético y la abscisa representa el desplazamiento químico de los núcleos en resonancia, en este eje siempre se tendrá una señal de desplazamiento mínimo que corresponde a la absorción de referencia generada por el tetrametilsilano (TMS), el cual al presentar un apantallamiento superlativo de sus protones no se desplace y absorbe a su vez intensidades de campo mayores (Silverstein y Bassler, 2014).

El desplazamiento químico tiene que ver con el entorno electrónico de los núcleos que originan la señal, y está relacionado con la electronegatividad de las especies enlazadas a los núcleos y la cantidad de sustituciones de la molécula, que por efecto inductivo atraen la densidad electrónica de los átomos vecinos. La señal de los núcleos en resonancia siempre aparecerá a la izquierda de la señal del TMS, pues éste representa el cero de la escala de desplazamiento, que aumenta de derecha a izquierda y se expresa en unidades de ppm. Cuanto menor sea el apantallamiento del núcleo mayor será el desplazamiento químico y la señal se ubicará al lado izquierdo del gráfico (campos bajos), mientras que con núcleos más apantallados ocurrirá lo contrario (ver Figura 9) (Fernández, 2014).

RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE HIDRÓGENO (^1H -RMN)

En ^1H -RMN se debe tener en cuenta que cada hidrógeno tiene su propio entorno electrónico por lo cual su absorción es única, sin embargo, pueden existir protones que ocupen entornos electrónicos idénticos a los que se los denomina químicamente equivalentes, y presentaran una misma señal en el espectro. Por lo tanto, el número de señales de espectro representa el número de tipos diferentes de protones que la molécula posee (Klein, 2014).

La señal en el espectro ^1H -RMN se ubica en el rango entre 0 y 10 ppm (desplazamiento), éste se divide en regiones que dependen del grupo funcional (Ver Figura 10). Los hidrógenos ubicados sobre cadenas alifáticas presentan desplazamientos químicos cercanos a uno, y éste aumenta gradualmente al pasar de carbonos primarios a secundarios o terciarios. Los sustituyentes electronegativos retiran densidad electrónica, desapantallando los núcleos resonantes y aumentando su desplazamiento químico (Fernández, 2014).

El área debajo de cada señal del espectro ^1H -RMN indica la cantidad de protones que originan la señal, mientras que la forma del pico indica la cantidad de protones vecinos a los que originaron la señal al producirse un acoplamiento entre sus espines, lo cual es conocido como multiplicidad. La multiplicidad de la señal se basa particularmente en la regla $n+1$, donde n representa el número de protones vecinos, de tal manera que la cantidad de picos será mayor en una unidad a n , y la forma e intensidad de estos se obtendrá en base al triángulo de pascal (ver Figura 11) (Garro, 2011).

RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE CARBONO (^{13}C -RMN)

A pesar de que la abundancia del ^{13}C (1.1%) es mínima en relación a la del ^{12}C , es utilizado en RMN debido a que es el único isótopo natural del carbono que posee un espín nuclear. La problemática relacionada con la abundancia de este isótopo se resuelve utilizando la Transformada de Fourier, que genera el desacoplamiento de bandas anchas del espín, por lo cual cada carbono distinto químicamente presentará una señal sencilla (un solo pico) (Skoog *et al.*, 2008).

Sin la utilización de la Transformada de Fourier se obtendrían señales muy débiles y fácilmente confundibles con el ruido de fondo. Con este modelo matemático se registran todas las señales simultáneamente en un intervalo de frecuencias adecuado, es decir, todos los núcleos resuenan a la vez obteniendo una señal compleja que puede ser promediada con el fin de reducir el ruido de fondo y amplificar los picos requeridos, aumentando la precisión del instrumento y optimizando el tiempo de obtención del espectro (Olsen, 2009).

Las señal en un espectro ^{13}C -RMN se ubica en el rango entre 0 y 220 ppm y a diferencia de la espectroscopía de ^1H -RMN, en la de carbono solo se da importancia al desplazamiento químico, pues al ser picos simples desacoplados la multiplicidad no interviene, simplificando la interpretación (Gómez y Sierra, 2009).

VENTAJAS Y DESVENTAJAS

La espectroscopía de RMN ofrece varias ventajas tales como ser una técnica rápida, no destructiva y sensible, requerir una preparación de muestra mínima o incluso nula y brindar información estructural específica de las especies de interés. Otra de sus ventajas es la capacidad de analizar muestras amorfas, que no pueden ser estudiadas por difracción de rayos X, y permite trabajar en rangos de temperatura entre -150 y 200 °C (McGeorge *et al.*, 2011).

La técnica incorpora también modelos matemáticos como la Transformada de Fourier que reduce el tiempo de obtención de espectros y el ruido de fondo, por lo cual la interpretación es sencilla. Permite también realizar un análisis multinuclear, logrando identificar un amplio rango de elementos en una molécula en base a su entorno químico, y además contribuye con la elucidación estructural de macromoléculas (Meejo *et al.*, 2003).

Dado que la eficiencia de la técnica es alta, las desventajas de la misma son mínimas, la principal radica en el costo de instrumentación y operación. En cuanto a la instalación, se debe tener en cuenta la estabilidad del área destinada para el equipo de RMN así como la ausencia de campos magnéticos cercanos que puedan interferir con el imán superconductor. Además, al momento de trabajar con el equipo de RMN, se deben considerar aspectos de importancia tales como la temperatura óptima de trabajo (20°C), la humedad relativa (20-80%), presión de aire (6,14 atm), sin embargo son parámetros fácilmente controlables mediante el software del equipo (Amero, 2011).

MÉTODOS DE ANÁLISIS DE AZÚCARES, ÁCIDOS ORGÁNICOS, ALCOHOLES, POLIFENOLES Y AGUA POR RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR.

La resonancia magnética nuclear es una técnica espectroscópica destacada en el control de calidad, determinación de autenticidad y caracterización de productos alimenticios. Su naturaleza no destructiva es una de sus características más atractivas, permitiendo así un análisis no invasivo de las muestras en corto tiempo y con una preparación mínima o casi nula de las muestras (Coronel y Piedra, 2014).

La utilización de esta técnica en el análisis de bebidas ha incrementado de manera significativa, principalmente en zumos de fruta, vinos y cerveza. En el vino particularmente se realiza la identificación y cuantificación de ácidos orgánicos (tartárico, málico, cítrico, succínico, láctico y acético), azúcares, alcoholes (etanol y glicerol), agua y componentes minoritarios como aminoácidos. También es posible identificar pigmentos, sin embargo la técnica más utilizada para este fin es la espectroscopía UV-vis debido principalmente a su bajo costo (Coronel y Piedra, 2014).

CASOS DE ESTUDIO

Los casos de estudio revisados en esta sección permitieron corroborar que la resonancia magnética nuclear permite identificar adulteraciones en vino mediante el monitoreo de varios procesos involucrados en su elaboración y

envejecimiento. Lo cual a su vez involucra a la técnica espectroscópica en el control de calidad de la bebida.

El estudio de López *et al.* (2009) tuvo como objetivo identificar y cuantificar los metabolitos presentes en el vino (agua, etanol, azúcares y ácidos orgánicos) después de la fermentación alcohólica y maloláctica, con el fin de supervisar los procesos fermentativos mencionados para descartar adulteraciones en el producto final (López *et al.*, 2009).

Para el análisis se requirió la adición de mínimos volúmenes de HCl 1M con el fin de ajustar el pH a 3, pues al trabajar a un pH diferente el desplazamiento químico se ve afectado, provocando solapamiento de picos. Las muestras ajustadas se disolvieron con agua deuterada (D_2O) en proporción 9:1 para el análisis correspondiente (López *et al.*, 2009).

Los espectros obtenidos mostraron una alta resolución, pues se puede observar claramente la señal de cada componente y en base a la aplicación de la Transformada de Fourier se logra integrar estas señales y obtener resultados cuantitativos confiables (ver Figura 12). En base a estos resultados se concluye que la RMN es una potente técnica en la determinación de componentes presentes en el vino con el fin de detectar su autenticidad (López *et al.*, 2009).

Finalmente, el artículo incluye como información adicional una técnica específica de RMN denominada de Fragmentación Isotópica Natural Específica

(SNIF, por sus siglas en inglés) la cual se basa en la medición de la relación deuterio/hidrógeno (D/H) en sitios específicos de la molécula de etanol (radicales metil y metileno) con el fin de identificar la adición de azúcares ajenos a la composición original del vino, logrando también determinar el origen y contenido alcohólico verdadero del vino analizado (López *et al.*, 2009).

El artículo publicado por Todasca *et al.* (2011) formó parte también de los artículos revisados en esta sección, en el documento se evalúan los cambios en la composición de algunos vinos producidos de *Vitis Vinífera* empleando diferentes técnicas de cultivo, con el fin de determinar las condiciones a las cuales se obtiene un producto de mejor calidad, y que cumpla con todas las normas legales pertinentes (Todasca *et al.*, 2011).

Se describe como la resonancia magnética nuclear fue aplicada para el monitoreo de las diferentes etapas de elaboración del vino, tales como la maduración de las uvas vendimiadas, fermentación y envejecimiento del vino. Los parámetros determinados por la técnica espectroscópica fueron: contenido de etanol, ácidos orgánicos y polifenoles (Todasca *et al.*, 2011).

Los parámetros mencionados permitieron determinar que de las cinco muestras analizadas por triplicado, la número cuatro fue la que cumplía con los todos los parámetros de calidad establecidos, sin embargo, sus niveles de acidez, si bien no superaron los límites legales permitidos, presentaron valores bajos (ver Figura 13), por lo cual se llegó a la conclusión de que se deben

emplear procedimientos fitosanitarios (empleados para la muestra tres que tuvo niveles óptimos de acidez) y seguir todas las demás características de cultivo empleadas para la obtención de la muestra cuatro (Todasca *et al.*, 2011).

Con esto se demostró nuevamente que la resonancia magnética nuclear es una técnica adecuada y muy eficiente para la determinación de variaciones en la composición de vinos y diferenciación de los mismos con el fin de asegurar su calidad y corroborar su autenticidad (Todasca *et al.*, 2011).

Otro de los artículos revisados en esta sección fue el publicado por Fotakis *et al.* (2013), el cual se enfoca en el análisis de productos derivados de la uva por resonancia magnética nuclear. Uno de esos productos corresponde al vino, y los parámetros determinados en éste son nuevamente el contenido de azúcares, alcoholes (etanol y glicerol), ácidos orgánicos (tartárico, succínico y cítrico) y compuestos fenólicos (antocianos y taninos). Parámetros que fueron determinados sin preparación previa de la muestra y en tiempos reducidos (Fotakis *et al.*, 2013).

El objetivo de analizar estos parámetros en el vino fue diferenciar las muestras según su origen geográfico y verificar que la composición de las mismas sea la correcta y cumpla las normas legales establecidas para cada parámetro. Además, se resalta la aplicación de la técnica espectroscópica en el monitoreo de procesos fermentativos y de envejecimiento del vino, con el fin de asegurar la calidad de la bebida (Fotakis *et al.*, 2013).

Los resultados obtenidos permitieron determinar los orígenes de las muestras en mención, los cuales correspondían a: diferentes zonas de Corea del Norte y España. De esta manera se corrobora la aplicabilidad de la RMN para la clasificación de vinos en función de su origen, así como para el aseguramiento de la calidad de los mismos, factor relacionado en definitiva con la verificación de la autenticidad (Fotakis *et al.*, 2013).

5. CONCLUSIONES

Como conclusiones de la presente investigación bibliográfica se ha establecido que:

1. En el vino, la mayor parte de adulteraciones están relacionadas con el contenido de azúcares, por lo cual la práctica de la chaptalización es frecuente en la industria vitivinícola, principalmente en zonas con climas fríos, pues el contenido de azúcar de sus uvas muchas veces resulta insuficiente para lograr el grado alcohólico requerido.
2. El uso de la espectroscopía ha ganado popularidad en el análisis de adulteraciones alimenticias, debido a la sofisticación que éstas han alcanzado, tal es así, que muchas de las técnicas convencionales empleadas para la identificación de adulteraciones resultan insuficientes.
3. La información proporcionada por las técnicas espectroscópicas descritas en el presente documento permiten determinar la adulteración en muestras de vino mediante el estudio de la composición química de estas bebidas.
4. La espectroscopía ultravioleta visible es una técnica que detecta las transiciones electrónicas de los enlaces conjugados de una molécula, es adecuada para la determinación de compuestos fenólicos en el vino, ya que

éstos son los responsables del color y son capaces de absorber radiación en la región comprendida entre 200 y 780 nm del espectro electromagnético.

5. La espectroscopía ultravioleta visible puede actuar como una técnica complementaria, o ser complementada por la espectroscopía de infrarrojo cercano o de resonancia magnética nuclear. Como el caso del contenido de azúcares que puede ser determinado por NIRS y RMN; o los compuestos fenólicos que pueden ser determinados por las tres técnicas mencionadas.
6. La espectroscopía de infrarrojo cercano, al ser una técnica rápida, con preparación de muestra prácticamente nula y resultados con una confiabilidad analítica aceptable es útil para la determinación del contenido de azúcares y grado alcohólico en el vino, y por su predisposición a la portabilidad permite realizar análisis in-situ. Además, permite reemplazar a las técnicas convencionales utilizadas para el análisis de los parámetros mencionados como la refractometría (grados Brix) y la densimetría (grado alcohólico).
7. La espectroscopía de infrarrojo cercano es utilizada mayormente en la modalidad reflectancia para la determinación de adulteraciones en vino, pues la modalidad transmitancia es útil solamente para líquidos transparentes que no son demasiado densos ópticamente,
8. La espectroscopía de resonancia magnética nuclear tiene un enorme potencial en el monitoreo de procesos de importancia para la calidad del vino,

como maduración de uvas vendimiadas, fermentación y envejecimiento del vino, en base a la determinación de parámetros como el contenido de azúcares, polifenoles, ácidos orgánicos, agua y componentes minoritarios.

9. Las principales ventajas de las técnicas espectroscópicas estudiadas radican en su capacidad para elucidar estructuras de manera no destructiva y con una mínima o nula preparación de muestra, además de permitir la realización de análisis en corto tiempo con resultados satisfactorios, por lo cual se concluye que son técnicas adecuadas y de gran utilidad para el análisis de adulteraciones en vino a partir de determinaciones de: compuestos fenólicos (antocianos y taninos) por UV-vis, azúcares (glucosa, fructosa) por NIRS y RMN, ácidos orgánicos (tartárico, succínico, cítrico, málico, láctico, acético), alcoholes (etanol principalmente), agua y otros componentes minoritarios (aminoácidos) por RMN.

10. A pesar de las ventajas que las técnicas espectroscópicas ofrecen, en el país se utiliza solamente una de ellas (UV-vis) debido principalmente al costo de adquisición de equipos de RMN y NIRS, siendo la cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC, por sus siglas en inglés) la técnica más utilizada, sin embargo, esta técnica no iguala en eficiencia y simplicidad a la espectroscopía NIR y RMN que además son técnicas no destructivas.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agulló, F. **Espectroscopia Óptica. Ciencia e ingeniería de la superficie de los materiales metálicos**. 1a ed. Madrid: CSIC Press, 2001. 561-572 p.
- Álvarez, C. **Vinos gallegos, edad de oro**. 2a ed. Galicia: MG Press, 2006. 32-34 p.
- Álvarez, M., Moreno, I. M., Pichardo, S., Camean, A. M., y Gonzalez, A.G. Mineral profile of "fino" wines using inductively coupled plasma optical emission spectrometry methods. **Food Chemistry**. 135(1): 309-313, 2012.
- Amero, C. Aplicaciones de resonancia magnética nuclear en el estudio de proteínas. **Mensaje Bioquímico [en línea]**. 35(1): 159-172, 2011.
- Arévalo, M. **Antología de Enología: Proceso de elaboración del Vino**. 1a ed. Madrid: Yllsc Press, 2014. 35-50 p.
- Bakker, J. y Timberlake, C.F. The mechanism of color changes in ageing port wine. **American Journal of Enology**. 37 (1): 288- 292, 2006.
- Basha, S.M., Musingo, M., y Colova, V.S. Compositional differences in the phenolics compounds of muscadine and bunch grape wines. **African Journal of Biotechnology**. 3 (10): 523-528, 2005.
- Belajova, E. Determination of selected wine phenolic constituents as possible markers for differentiation of wines. **Journal of Food and Nutrition Research**. 51(2): 117-122, 2012.
- Benavent, J. **Vinos y bebidas alcohólicas**. 2a ed. Valencia: UPV Press, 2009. 125-128 p.
- Blanco, L., González, R. y Conde, C. Blend uniformity analysis using near infrared spectroscopy. **AAPS Pharmaceutical Scientific**. 25 (1): 28-31, 2012.
- Boggia, R., Casolino, M.C., Hysenaj, V., Oliveri, P., y Zunin, P. A screening method based on UV–Visible Spectroscopy and multivariate analysis to assess addition of filler juices and water to pomegranate juices. **Food Chemistry**. 140 (4): 735-741, 2013.
- Boido, E., Farina, L., Carrau, F., Dellacassa, E. y Cozzolino, D. Characterization of glycosylated aroma compounds in Tannat grapes and feasibility of the Near Infrared Spectroscopy application for their prediction. **Food Analytical Methods**. 6 (1): 100-111, 2013.

- Bravo, B. **Caracterización de la Fracción Flavánica de Vinos Argentinos de los Cultivares Malbec y Cabernet Sauvignon con Distinto Precio de Mercado.** Memoria de título (Ingeniería en Agronomía). Santiago, Chile, Universidad de Chile, 2012, 38 p.
- Bridle, P. y Timberlake, C. Anthocyanins as natural food colors-selected aspects. **Food Chemistry.** 58 (2): 103-109, 2006.
- Burín, V., Freitas, L., Rosier, J. y Boringdon M. Cabernet Sauvignon wines from two different clones, characterization and evolution during bottle ageing. **Food Science and Technology.** 44 (2): 1931-1938, 2011.
- Burriel, F., Lucena, F., Arribas, S., Hernández, J. **Química Analítica Cuantitativa.** 1a ed. Madrid: Ed. Paraninfo, 2008. 318 p.
- Byass, J. Como afecta el clima al desarrollo y crecimiento de la vid. **Vinetur: La revista del vino.** 12 (6): 92-95, 2011.
- Caballero, V., Ramírez, P. y Sánchez, M. Feasibility of using a miniature NIR spectrometer to measure volumic mass during alcoholic fermentation. **International Journal of Food Sciences and Nutrition.** 62 (4): 353-359, 2011.
- Cacho, J. Vitivinicultura en el Cono Sur: Un universo de particularidades. **ACE, Revista de Enología.** 66 (2): 69-73, 2012.
- Cajarville, C., Repetto, J., Curbelo, A., Soto, C. y Cozzolino, D. Determination of dry matter (DM) and nitrogen (N) degradability in forages by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS). **Proceedings British Society of Animal Science.** 46 (3): 154-161, 2003.
- Caligiani, A., Coisson, J. D., Travaglia, F., Acquotti, D., Palla, G., Palla, L., y Arlorio, M. Application of ¹H NMR for the characterization and authentication of "Tonda Gentile Trilobata" Hazelnuts. **Food Chemistry.** 148 (3): 77-85, 2014.
- Cetó, X., Gutiérrez, J.M., Gutiérrez, M., Céspedes, F., Capdevila, J., Mínguez, S., Jiménez-Jorquera, C., Del Valle, M. Determination of total polyphenol index in wines employing a voltammetric electronic tongue. **Analytical Chemistry Acta.** 732 (2): 172-179, 2012.
- Chamberlain, N. **The practice of NMR Spectroscopy.** 6a ed. Texas: Plenum Press, 2005. 3-25 p.
- Cirovic, M. **Electrónica Fundamental: Dispositivos, Circuitos y Sistemas.** 1a ed. Barcelona: Ed. Reverté S.A., 2005. 145-147 p.
- Clarkke, R, Bakker, J. **Química del flavor del vino.** 2a ed. Zaragoza: ACRIBIA S.A., 2004. 1-14 p.

- Collombet, F. y Paireault, J. **Le vins du monde**. 2a ed. Barcelona: Ed. Iberlibro, 2009. 6-14 p.
- Coronel, I. y Piedra, J. **Resonancia Magnética Nuclear**. 3a ed. Barcelona: Reverté S. A., 2014. 112-146 p.
- Cotea, V.V., Luchian, C.E., Bilba, N. y Niculaua, M. Mesoporous silica SBA-15, a new adsorbent for bioactive polyphenols from red wine. **Analytical Chemistry Acta**. 732 (2): 180-185, 2012.
- Cozzolino, D., Cynkar, W., Shah, N. y Smith, P. Technical solutions for analysis of grape, must and wine: the role of infrared spectroscopy and chemometrics. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**. 401 (1): 1475-1484, 2011.
- Cuesta, J. **NIR: Quimiometría**. 1a ed. Buenos Aires: Ed. Burneed, 2014. 56-58 p.
- De Souza, F., de Vasconcellos Jr, F., Cabral, R., Fernández, T. y D'Elia, E. Simple enzymatic methods for glycerol analysis in commercial beverages. **CyTA Journal of Food**. 11 (3): 270-276, 2013.
- Díaz-García, M., Obón, J., Castellar, M., Collado, J. y Alacid, M. Quantification of total individual polyphenols in fruit juices by UHPLC. **Food Chemistry**. 138 (3): 938-949, 2013.
- Di Egidio, V., Sinelli, N., Giovanelli, G., Moles, A. y Casiraghi, E. NIR and MIR spectroscopy as rapid methods to monitor red wine fermentation. **European Food Research and Technology**. 230 (6): 947-955, 2010.
- Dufour, E. **Principles of infrared spectroscopy: Near infrared spectroscopy for food quality analysis and control**. 1a ed. New York: Academy Press, 2009. 1-27 p.
- Dutra, S., Adami, L., Marcon, A., Carnieli, G., Roani, C., Spinelli, F., Leonardelli, S. y Vanderlinde, R. Characterization of wines according the Geographical Origin by analysis of isotopes and minerals and the influence of harvest on the isotope values. **Food Chemistry**. 141 (3): 2148- 2153, 2013.
- Fálder, A. **Enciclopedia de los alimentos: Vinos y productos vínicos**. 2a ed. New York: DYC Press, 2003. 107 p.
- Fernández, G. **Determinación Estructural de Compuestos Orgánicos**. Oviedo: Academia Minas Press, 2014. 67-88 p.
- Fernández, J., López, M., González, V., Ramírez, P. y Sánchez M. Feasibility of using a miniature NIR spectrometer to measure volumic mass during alcoholic fermentation. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**. 62 (4): 353-359, 2011.

- Ferrer-Gallego, R., Hernández-Hierro, J., Rivas-Gonzalo, J. y Escribano-Bailón, M. A comparative study to distinguish the vineyard of origin by NIRS using entire grapes, skins and seeds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. 93 (4): 967-972, 2013.
- Filippi, G. El vino y la gastronomía. **El mundo del vino**. 1 (8): 57-62, 2014.
- Flanzy, C. **Enología: Fundamentos Científicos y Tecnológicos**. 1a ed. Madrid: AMV ediciones, 2003. 396-399 p.
- Fleschhut, J., Kartzner, F., Rechkemmer, G. y Kulling S. Stability and biotransformation of various dietary anthocyanins in vitro. **European Journal of Nutrition**. 45 (2): 7-18, 2006.
- Folin, C. y Ciocalteau, V. Phenols determination in Wines. **Journal of Biological Chemistry**. 73 (4): 627-650, 1997.
- Fotakis, C., Kokkotou, K., Zoumpoulakis, P. y Zervou, M. NMR metabolite fingerprinting in grape derived products: An overview. **Food Research International**. 54 (1): 1184-1194, 2013.
- Francie, L. **Maridaje, enología y cata de vinos**. 3a ed. Málaga: ICE Press, 2011. 29 p.
- Friedel, M., Patz, C., y Dietrich, H. Comparison of different measurement techniques and variable selection methods for FT-MIR in wine analysis. **Food Chemistry**. 141 (4): 4200-4207, 2013.
- Fuchslocher, R., Alomar, D. y De Pablo, M. Effect of preparation method on composition and NIR spectra of forage samples. **Animal Feed Science Technology**. 107 (3):193-197, 2008.
- Gauche, C., Da Silva, E., Bordigon, M. Effect of pH on the copigmentation of anthocyanins from Cabernet Sauvignon grape extracts with organic acids. **Food Science and Technology**. 67 (1): 41-46, 2010.
- García, J. **La Química y las otras luces**. 2a ed. Zaragoza: ISQCH Press, 2015. 47-52 p.
- Garro, Y. **Caracterización por resonancia magnética nuclear compuestos farmacéuticos sólidos**. 2a. ed. Córdoba: FaFAM Press, 2011. 19-65 p.
- Gessi, O. **Sistemas solares fotovoltaicos**. 1a ed. Madrid: Ed. Fonius IG, 2012. 117-118 p.
- Giusti, M. y Wrolstad, R. Anthocyanins characterization and measurement with UV-vis spectroscopy. **Food Analytical Chemistry** 23 (3): 423-427, 2011.

- Gómez, S., Sierra, M. **Análisis Instrumental**. 1a ed. Coruña: NetBiblio S. L., 2009. 102-119 p.
- Gürbüz, O., Göçmen, D., Dagdelen, F., Gürsoy, M., Aydın, S., Şahin, I, Buyukuysal, L. y Usta, M. Determination of flavan-3-ols and transresveratrol in wine using HPLC with fluorescence detection. **Food Chemistry**. 100 (2): 518-525, 2007.
- Harris, D. **Análisis Químico Cuantitativo**. 3a ed. Barcelona: Ed. Reverté S.A., 2003. 413 p.
- Hagrasy, A., Morris, H., Lodder, R. y Drennen J. Near infrared spectroscopy and imaging for the monitoring of powder blend homogeneity. **Pharmaceutical Journal Sci**. 90 (9): 1298-1307, 2011.
- Hidalgo, J. **La calidad del vino desde el viñedo**. 1a ed. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa, 2006. 365 p.
- Izcarra, E., Revilla, I., Pérez-Magariño, S. y González-SanJosé, M. Efecto del tratamiento pectinolítico sobre la calidad de mostos y vinos rosados. **Actas de las XXII Jornadas de Viticultura y Enología**. 11 (3): 253-263, 2011.
- Jackson, R.S. **Wine science: Principles and applications**. 3a ed. India: Academy Press, 2008. 74-77 p.
- Kallithraka, S., Arvanitoyannis, I.S., Kefalas, P., El-Zajouli, A., Soufleros, E. y Psarra, E. Instrumental and sensory analysis of Greek wines; implementation of Principal Component Analysis (PCA) for classification according to Geographical Origin. **Food Chemistry**. 73 (4): 501-514, 2011
- Klein, D. **Química Orgánica**. 2a ed. Madrid: Ed. Médica Panamericana, 2014. 718-759 p.
- Kumirska, J., Czerwicka, M., Kaczynski, Z., Bychowska, A., Brzozowski, K., Thoeming, J. y Stepnowski, P. Application of spectroscopic methods for structural analysis of chitin and chitosan. **Marine Drugs**. 8 (5): 1567-1636, 2010.
- Lachenmeier, D., Godelmann, R., Steiner, M., Ansay, B., Weigel, J. y Krieg, G. Rapid and mobile determination of alcoholic strength in wine, beer and spirits using a flow-through infrared sensor. **Chemistry Central Journal**. 4 (5): 75-85, 2010.
- López, E., Cabredo, S., López, A., Busto, J y Peregrina, J. A Thorough Study on the Use of Quantitative ¹H NMR in Rioja Red Wine Fermentation Processes. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. 57 (1): 2212-2218, 2009.
- Lourenco, N., López, J., Almeida, C., Sarraguca, M. y Pinheiro, H. Bioreactor monitoring with Spectroscopy and chemometrics. **Analytical and Bioanalytical Chemistry Review**. 404 (4): 1211-1237, 2012.

- Lutz, M., Cajas, Y. y Enríquez, C. Phenolics content and antioxidant capacity of Chilean grapes cv. Pais and Cabernet Sauvignon. **CyTA Journal of Food**. 10 (4): 251-257, 2012.
- Mato, I., Suárez-Luque, S. y Huidobro, J. A review of the analytical methods to determine organic acids in grape juices and wines. **Food Research International**. 38 (10): 1175-1188, 2005.
- Manley, M. y Wolf, E. The evaluation of the applicability of Fourier transform near-infrared (FTNIR) spectroscopy in the measurement of analytical parameters in must and wine. **South African Journal of Enology**. 22 (2): 93-100, 2011.
- McGeorge, G., Harris, R., Chippendale, A. y Bullock, J. **Solid state NMR Spectroscopy**. 1a ed. Londres: Perkin Trans, 2011. 111-121 p.
- Meejo, S., Kariuki, B., Kitchin, S. y Cheung, Y. **Principles of Magnetic Resonance**. 2a. ed. New York: Pergamon Press, 2003. 67-86 p.
- Mercurio, M. y Smith P. Tannin Quantification in Red Grapes and Wine: Comparison of Polysaccharide- and Protein-Based Tannin Precipitation Techniques and Their Ability to Model Wine Astringency. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. 56 (1): 5528–5537, 2008.
- Mindel, B. Process interfacing of on-line NIR spectrophotometers. **Process, Control and Quality**. 9 (4): 173-178. 2007.
- Mondragón, P. y Ulloa, J. Identificación de alimentos adulterados mediante espectroscopia de infrarrojo. **Artículos de divulgación**. 20 (6): 6-9, 2008.
- Morcillo, J. **Espectroscopía: Estructura y espectros atómicos**. 4a ed. Madrid: Alhambra ediciones, 2005. 1-10 p.
- Mulero, J., Pardo, F. y Zafrilla, P. Antioxidant activity and phenolic compounds in conventional and organic red grapes (var. Monastrell). **CyTA Journal of Food**. 8 (3): 185-191, 2013.
- Núñez, Y. y Pereda, L. Gestión integral de residuos y análisis del ciclo de vida del sector vinícola. **Life HAProWINE**. 43 (1): 11-20, 2011.
- Ogrinc, N., Košir, I., Spangenberg, J. y Kidrič, J. The application of NMR and MS methods for detection of adulteration of wine, fruit juices, and olive oil. **Analytical Bioanalysis Chem Review**. 376 (11): 424–430, 2003.
- Olsen, D. **Métodos ópticos de análisis**. 2a ed. Barcelona: Ed. Reverté S.A., 2009. 508-530 p.

- Organización Internacional del Vino. **CODEX Enológico Internacional**. 13a ed. Paris: OIV, 2016. 1-27 p.
- Orozco, R. **Análisis Instrumental: Espectroscopía Óptica**. 1a ed. Madrid: Ed. SCIC, 2007. 345-347 p.
- Ortega, M. **Enología**. 1a ed. Zaragoza: Ed. INCYT-UNIB, 2011. 2-4 p.
- Parreño, M., Izurieta, W., Jara, H., Reyes, F., Riofrío, J., Jara, C., Freire, F. y Arteaga G. **Norma Técnica Ecuatoriana INEN 371: Bebidas Alcohólicas. Vinos. Clasificación y definiciones**. 2a revisión. Quito: Registro oficial n°321, 1998. 1 p.
- Pérez, F. **Análisis de elementos-traza por espectrofotometría de absorción molecular ultravioleta visible**. 1a ed. Murcia: Ed. San Pablo, 2003. 240-243 p.
- Regmi, U., Palma, M. y Barroso, C. Direct determination of organic acids in wine and wine-derived products by Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy and chemometric techniques. **Analytical Chemistry Acta**. 732 (1): 137-144, 2012.
- Requena, A. y Zúñiga, J. **Espectroscopía**. 3a ed. New Jersey: Ed. Pearson Education S.L., 2004. 79-85 p.
- Restani, P., Persico, A., Ballabio, C., Fuggetta, D. y Moro, E. Simultaneous determination of glycerol, fructose and glucose for quality control wines. **Proceedings of the XXX OIV World Congress Milán**. 45 (2): 36-43, 2007.
- Rivrel, W. El vino como recurso: Un sector vital, un recurso ecológico, un estilo de vida. **Wine in Moderation**. 17 (2): 35-41, 2012.
- Silverstein y Bassler. **Spectrometric Identification of Organic Compounds**. 8a ed. New York: John Wiley and sons, Inc., 2014. 64-155 p.
- Singleton, V. y Trouslade, E. Anthocyanin-Tannin interactions explaining differences in polymeric Phenols between White and Red wines. **American Journal of Enology and Viticulture**. 43 (2): 63-70, 2012.
- Sirajuddin, M., Ali, S. y Badshah, A. Drug–DNA interactions and their study by UV–Visible, Fluorescence Spectroscopies and Cyclic Voltammetry. **Journal of Photochemistry and Photobiology**. 124 (1): 1-19, 2013.
- Skoog, D., Crouch, S. y Holler, F. **Principios de análisis instrumental**. 5a ed. Madrid: McGraw Hill, 2008. 536-553 p.
- Stalikas, C. Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. **Journal of Separation Science**. 30 (18): 3268-3295, 2007.

- Stermitz, F. y Weininger, S. **Química Orgánica**. 3a ed. Barcelona: Ed. Reverté S.A., 2008. 302-305 p.
- Todasca, M., Fotescu, L., Chira, N., Deleanu, C. y Rosca, S. Composition Changes in Wines Produced by Different Growing Techniques Examined Through $^1\text{H-NMR}$ Spectroscopy. **Revista de Chimie**. 62 (2): 131-134, 2011.
- Valdés, E., Vilanova, M., Sabio, E. y Benalte, M. Clarifying agent's effect on the nitrogen composition in must and wine during fermentation. **Food Chemistry**. 125 (2): 430-437, 2011.
- Veverka, L., Jelinkova, M., Hron, K., Balik, J., Stavek, J. y Bartak, P. Chemical markers in the aroma profiles of South Moravian red wine distillates. **Czech Journal of Food Sciences**. 30 (4): 369-376, 2012.
- Vilanova, M., Campo, E., Escudero, A., Grana, M., Masa, A. y Cacho, J. Volatile composition of *Vitis vinifera* from North West Spain: Correlation between sensory and instrumental analysis. **Analytical Chemistry Acta**. 720 (2): 104-111, 2011
- Villamor, R. y Ross, C. Wine matrix compounds affect perception of wine aromas. **Annual Review of Food Science and Technology**. 4 (1): 118-126, 2013.
- Walton, H. **Análisis Químico e Instrumental moderno**. 2a ed. Barcelona: Editorial Reverté S.A., 2012. 141-160 p.
- Wrolstad, R., Durst, R. y Lee, J. Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. **Trends in Foods Science and Technology**. 16 (2): 423-428, 2005.
- Xie, L., Ye, X., Liu, D. y Ying, Y. Prediction of titratable acidity, malic acid, and citric acid in bayberry fruit by Near-Infrared spectroscopy. **Food Research International**. 44 (7): 2198-2204. 2011.
- Yanniotis, S., Kotseridis, G., Orfanidou, A. y Petraki, A. Effect of ethanol, dry extract and glycerol on the viscosity of wine. **Journal of Food Engineering**. 81 (2): 399-403, 2007.
- Yu, J. y Ahmedna, M. Functional components of grape pomace: Their composition, biological properties and potential applications. **International Journal of Food Science and Technology**. 48 (2): 221-237, 2013.
- Zoecklein, B. y Macarrón, E. **Análisis y producción de vino**. 2a ed. Zaragoza: Acribia Press, 2010. 234-242 p.

7. FIGURAS



Figura 1. Proceso de elaboración del vino (Arévalo, 2014).

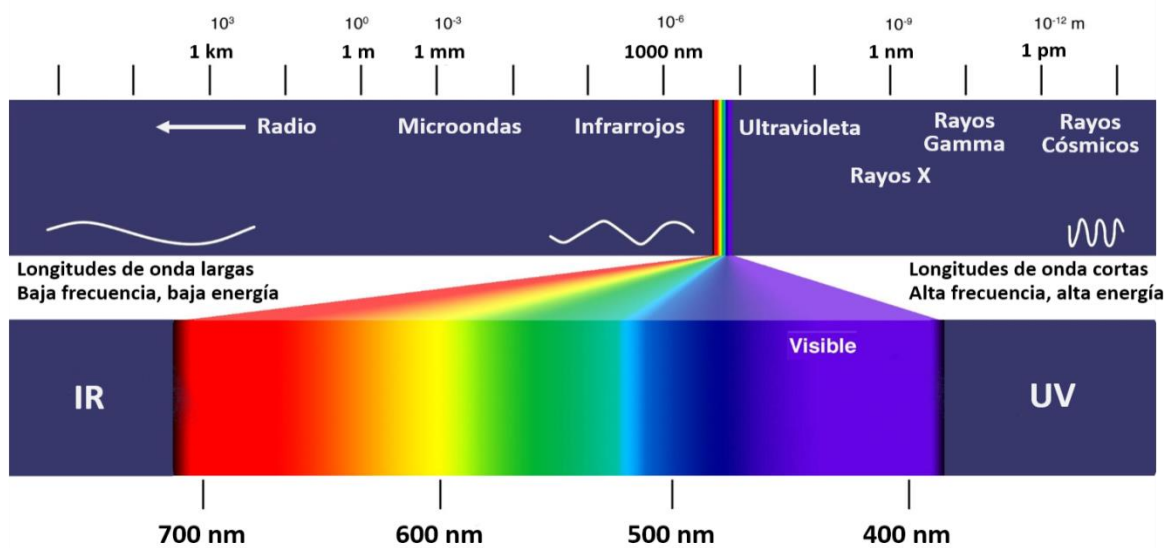


Figura 2. Espectro Electromagnético (García, 2015).

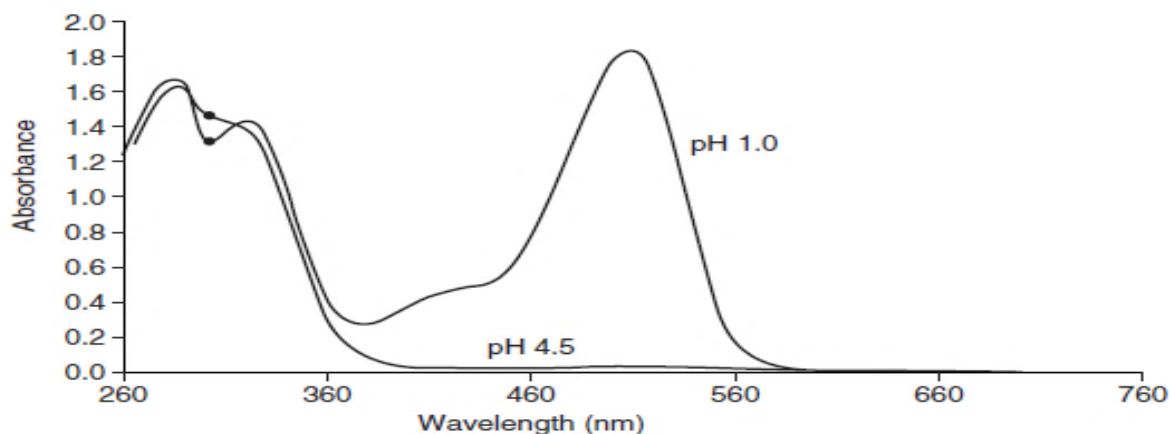
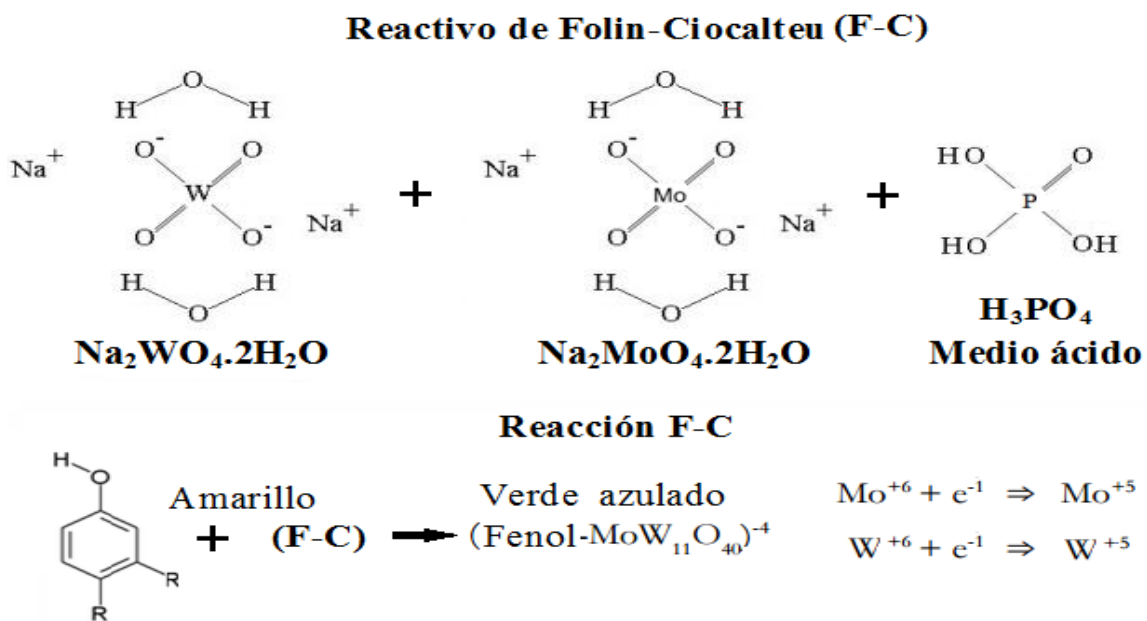


Figura 3. Espectro UV-vis de muestras de vino Cabernet Sauvignon a diferentes pH para el monitoreo de antocianos (Gauche *et al.*, 2010).



Fenol

Figura 4. Mecanismo de reacción Folin-Ciocalteu. El reactivo es una mezcla de tungstato sódico y molibdato sódico en medio ácido. El ácido fosfomolibdotúngstico formado por las dos sales es reducido por los grupos fenólicos y pasa de color amarillo a verde azulado (Folin y Ciocalteu, 1997).

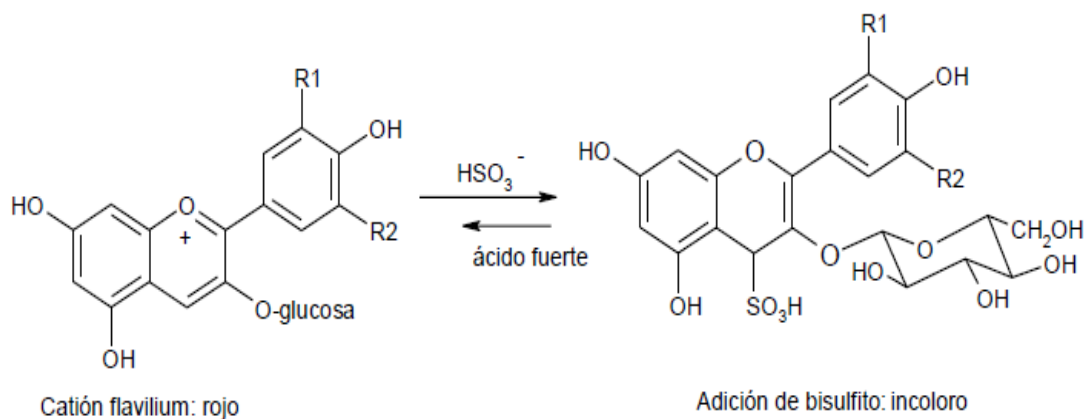


Figura 5. Reacci3n de formaci3n de antocianos sulf3nicos. La reacci3n se lleva a cabo por la adici3n del metabisulfito a la muestra de pH 4.5, pues con este nivel de acidez los antocianos son susceptibles a decolorarse (Wrolstad *et al.*, 2005).

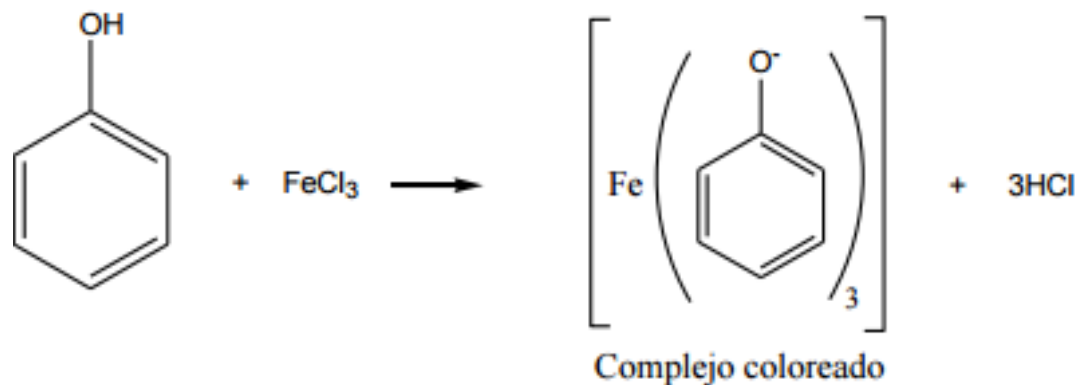


Figura 6. Reacci3n colorim3trica para taninos. El cloruro f3rrico utilizado se encuentra en medio 3cido (HCl), lo cual produce el rompimiento de los aniones, de tal manera que se liberan los taninos y precipitan (Calle y Jim3nez, 2012).

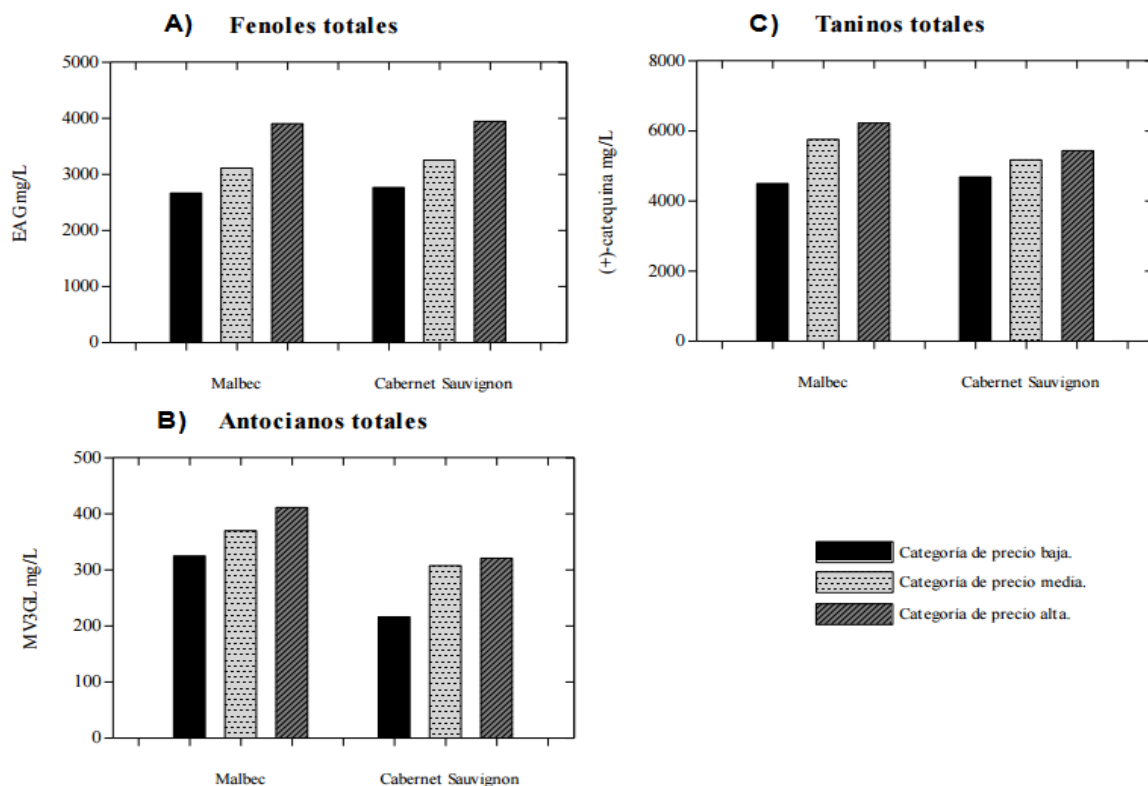


Figura 7. Contenido de fenoles (A), antocianos(B) y taninos totales (C) en 3 diferentes vinos Cabernet Sauvignon y Malbec (Bravo, 2012).

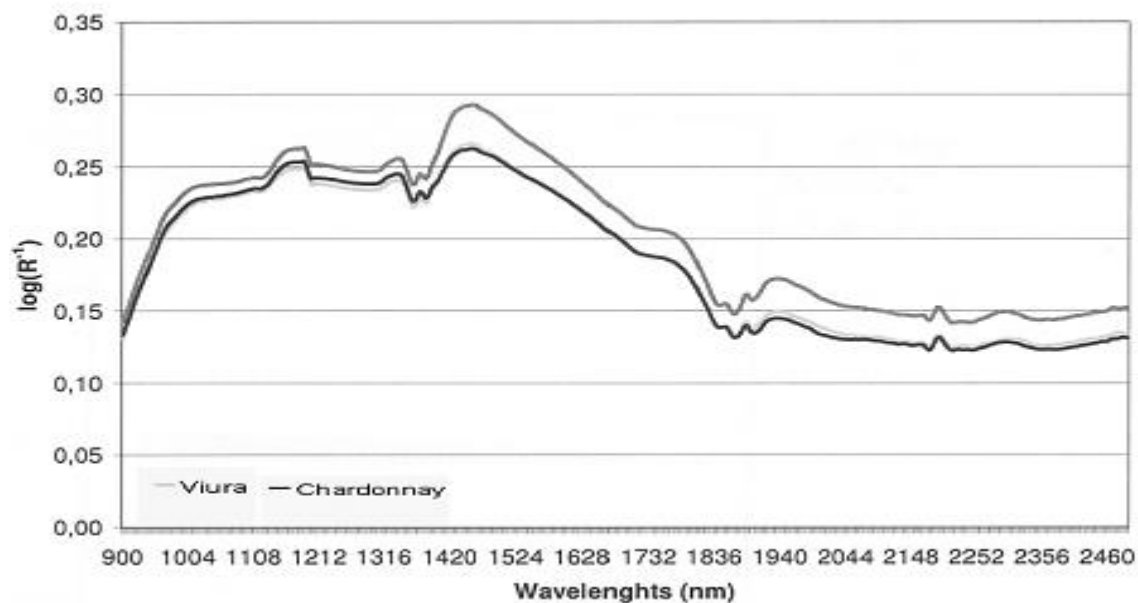


Figura 8. Espectro NIR de vino Viura y Chardonnay (Manley y Wolf, 2011).

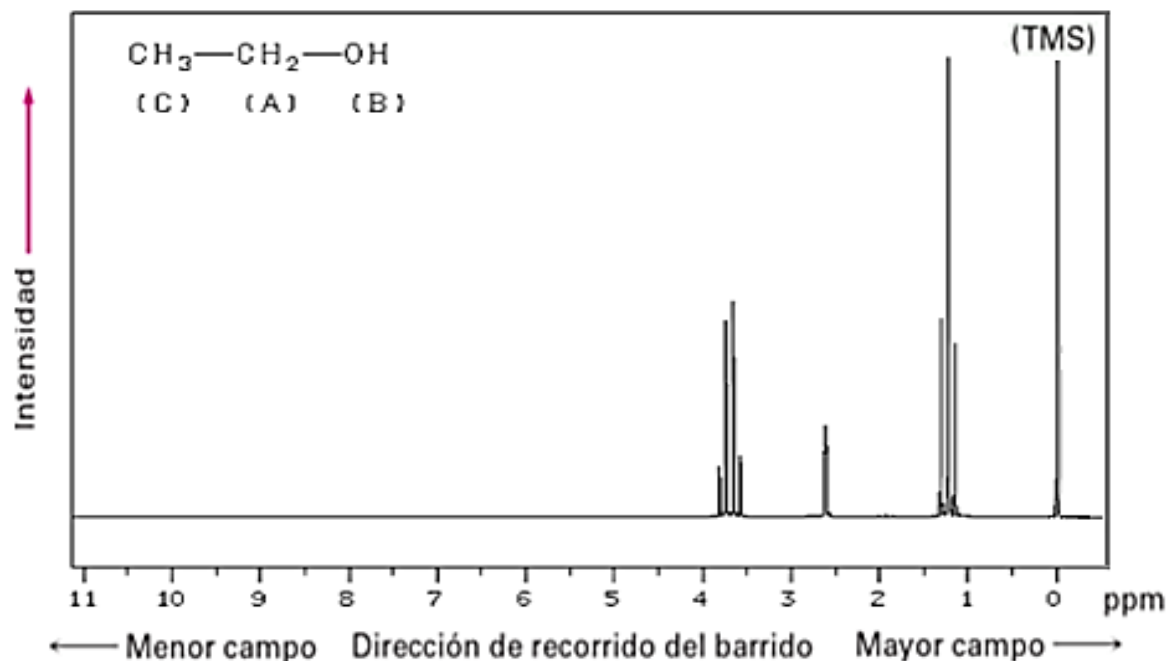


Figura 9. Espectro ¹H-RMN de etanol.

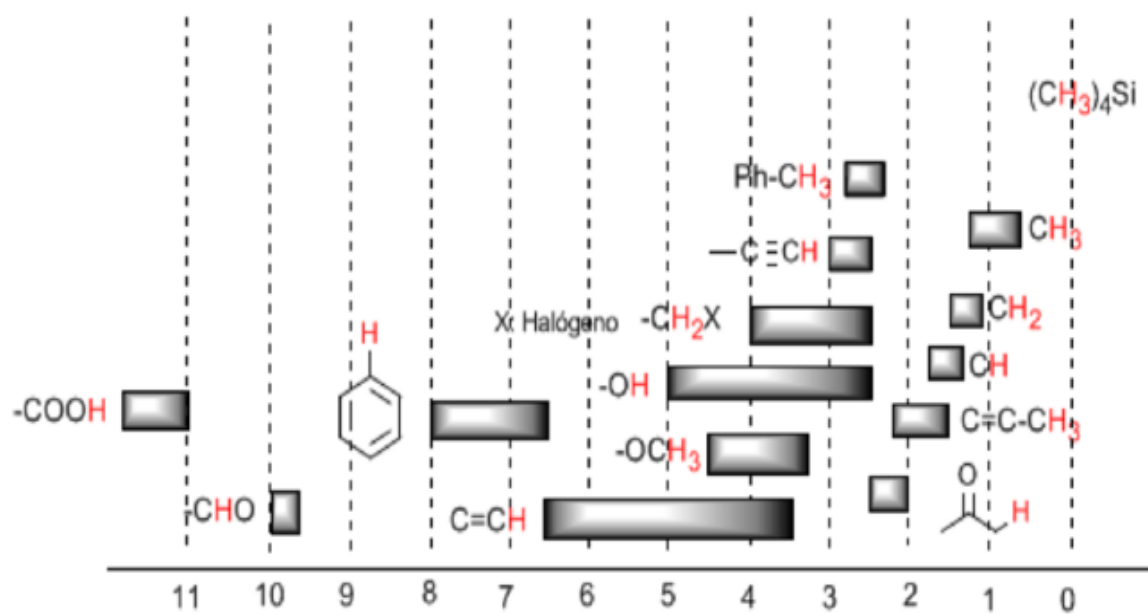


Figura 10. Desplazamiento químico de ¹H de diferentes grupos funcionales. (Fernández, 2014).

Nº de protones equivalentes en carbonos adyacentes	Nº de picos ($n + 1$) (multiplicidad)	Relaciones en intensidad (integral)
0	1 (singlete)	1
1	2 (doblete)	1 1
2	3 (triplete)	1 2 1
3	4 (cuadruplete)	1 3 3 1
4	5 (quintuplete)	1 4 6 4 1
5	6 (sextuplete)	1 5 10 10 5 1
6	7 (septuplete)	1 6 15 20 15 6 1

Figura 11. Intensidades de pico relativas de multipletes simétricos. Aquí se puede observar la multiplicidad de los espines comunes en resonancia magnética nuclear de hidrógeno (Gómez y Sierra, 2009).

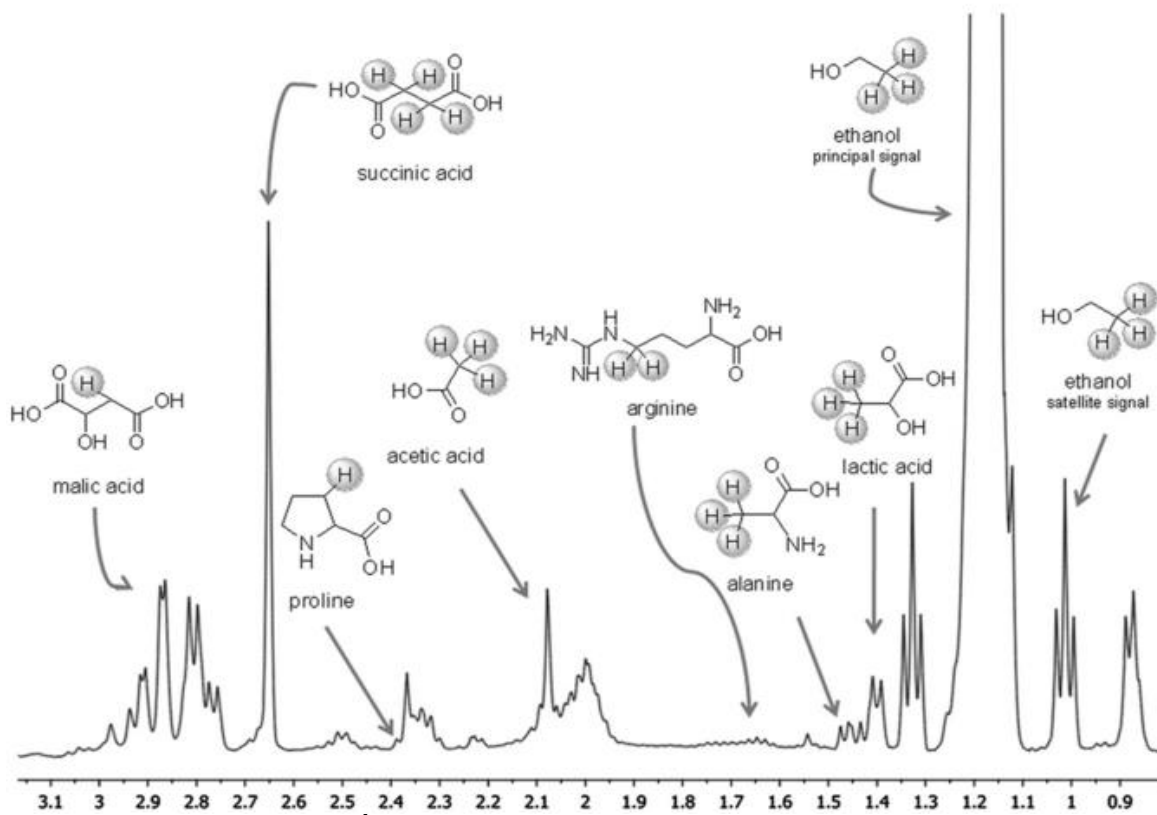


Figura 12. Espectro de ¹H-RMN de vino. (López *et al.*, 2009).

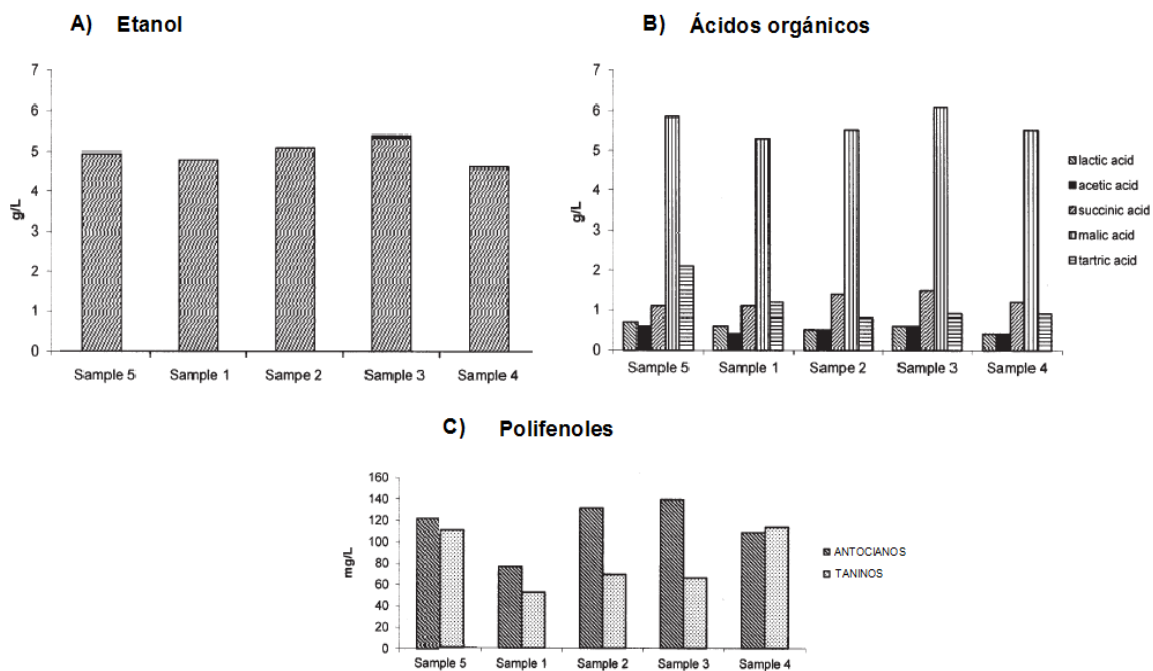


Figura 13. Contenido promedio de etanol (A), ácidos orgánicos (B) y polifenoles (C) de las 5 muestras de vino analizadas por RMN. (Todasca et al., 2011)

8. TABLAS

Tabla 1. Límites legales establecidos por el Codex Enológico Internacional para Vino.

Parámetro	Mosto	Vino Tinto	Vino Blanco	Vino Rosado
Contenido de azúcares	>160 g/L	200 mg/L	260 mg/L	300 mg/L
Índice de polifenoles	2-5 g/L	200-500 mg/L	5-6 mg/L	7-50 mg/L
Acidez (g de ác. tartárico)	4.5 – 4.7 g/L	1.2 g/L	0.6 g/L	0.8 g/L
Grado alcohólico	1.0 % v/v	14.0 % v/v	10.5 % v/v	10.0 % v/v
Contenido de agua	80.0 % v/v	86-87 % v/v	86-87 % v/v	86-87 % v/v

(CODEX Enológico Internacional, 2016).

Tabla 2. Colores absorbidos y observados a diferentes longitudes de onda en la región visible.

Longitud de onda de máxima absorbancia (nm)	Color absorbido	Color observado
380-420	Violeta	Amarillo verdoso
420-440	Azul violáceo	Amarillo
440-470	Azul	Naranja
470-500	Verde azulado	Rojo
500-520	Verde	Púrpura
520-550	Verde amarillento	Violeta
550-580	Amarillo	Azul violáceo
580-620	Naranja	Azul
620-680	Rojo	Azul verdoso
680-780	Púrpura	Verde azulado

Aquí se detallan los colores complementarios a los absorbidos en la región visible, es decir el color transmitido (Harris, 2003).

9. ANEXOS

LWT - Food Science and Technology 44 (2011) 1931–1938



Contents lists available at ScienceDirect

LWT - Food Science and Technology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/lwt

Cabernet Sauvignon wines from two different clones, characterization and evolution during bottle ageing

Vívian Maria Burin^a, Léa Luzia Freitas Costa^b, Jean Pierre Rosier^c, Marilde T. Bordignon-Luiz^{a,*}^a Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos CAL/CCA, Universidade Federal de Santa Catarina, Rodovia Admar Gonzaga, 1346, CEP: 88034-001, Itacorubi, Florianópolis, SC, Brazil^b Laboratório Central de Saúde Pública – LACEN, Santa Catarina, Brazil^c Empresa de Pesquisa e Extensão Agropecuária de Santa Catarina (EPAGRI-SC) Estação, Experimental de Videira SC, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:
Received 24 September 2010
Received in revised form
2 May 2011
Accepted 3 May 2011

Keywords:
Red wine
Clones
Bottle ageing
Phenolic compounds
Antioxidant activity

ABSTRACT

Phenolic compounds constitute important quality parameters of wines. Wines produced from different clones of the same grape variety show differences in relation to their chemical composition. The aim of this study was to characterize and differentiate Cabernet Sauvignon wines from two clones in relation to their chemical composition and to examine changes in the phenolic composition and antioxidant activity during wine ageing in the bottle. All wines were produced with Cabernet Sauvignon grapes, clones 685 and 169, from two vineyards, under the same microvinification conditions. The wines were characterized in relation to phenolic composition and antioxidant activity, as well as monitored over 11 months of bottle ageing. A significant difference was observed between the chemical compositions of the wines produced from clones 169 and 685, clone 169 showing the highest phenolic content while clone 685 had better color characteristics. The wines showed high antioxidant activity. Principal components and cluster analyses demonstrated separation of the wine according to the clone. In relation to wine bottle ageing, for both clones evaluated was observed a decrease in all phenolic compound, except of quercetin, and the antioxidant activity of these wines increased during storage.

© 2011 Elsevier Ltd. All rights reserved.

5528 *J. Agric. Food Chem.* 2008, 56, 5528–5537

JOURNAL OF
AGRICULTURAL AND
FOOD CHEMISTRY

Tannin Quantification in Red Grapes and Wine: Comparison of Polysaccharide- and Protein-Based Tannin Precipitation Techniques and Their Ability to Model Wine Astringency

MEAGAN D. MERCURIO AND PAUL A. SMITH*

The Australian Wine Research Institute, P.O. Box 197, Glen Osmond, South Australia 5064, Australia

Quantification of red grape tannin and red wine tannin using the methyl cellulose precipitable (MCP) tannin assay and the Adams–Harbertson (A-H) tannin assay were investigated. The study allowed for direct comparison between the repeatability of the assays and for the assessment of other practical considerations such as time efficiency, ease of practice, and throughput, and assessed the relationships between tannin quantification by both analytical techniques. A strong correlation between the two analytical techniques was observed when quantifying grape tannin ($r^2 = 0.96$), and a good correlation was observed for wine tannins ($r^2 = 0.80$). However, significant differences in the reported tannin values for the analytical techniques were observed (approximately 3-fold). To explore potential reasons for the difference, investigations were undertaken to determine how several variables influenced the final tannin quantification for both assays. These variables included differences in the amount of tannin precipitated (monitored by HPLC), assay matrix variables, and the monomers used to report the final values. The relationship between tannin quantification and wine astringency was assessed for the MCP and A-H tannin assays, and both showed strong correlations with perceived wine astringency ($r^2 = 0.83$ and $r^2 = 0.90$, respectively). The work described here gives guidance to those wanting to understand how the values between the two assays relate; however, a conclusive explanation for the differences in values between the MCP and A-H tannin assays remains unclear, and further work in this area is required.

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

MEMORIA DE TÍTULO

CARACTERIZACIÓN DE LA FRACCIÓN FLAVÁNICA DE VINOS
ARGENTINOS DE LOS CULTIVARES MALBEC Y CABERNET SAUVIGNON
CON DISTINTO PRECIO DE MERCADO

FLAVANIC FRACTION CHARACTERIZATION OF ARGENTINEAN MALBEC
AND CABERNET SAUVIGNON WINES WITH DIFFERENT PRICE SEGMENTS

BASTIÁN MATÍAS BRAVO CUADRA

SANTIAGO – CHILE
2012

International Journal of Food Sciences and Nutrition,
June 2011; 62(4): 353–359

informa
healthcare

Feasibility of using a miniature NIR spectrometer to measure volumic mass during alcoholic fermentation

JUAN FERNÁNDEZ-NOVALES¹, MARÍA-ISABEL LÓPEZ¹,
VIRGINIA GONZÁLEZ-CABALLERO¹, PILAR RAMÍREZ¹, & MARÍA-TERESA SÁNCHEZ²

¹Centro de Investigación y Formación Agraria de Cabra-Priego, Instituto Andaluz de Investigación y Formación Agraria, Pesquera, Alimentaria y de la Producción Ecológica, Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía, Cabra (Córdoba), Spain, and ²Department of Bromatology and Food Technology, University of Córdoba, Campus of Rabanales, Córdoba, Spain

Abstract

Volumic mass—a key component of must quality control tests during alcoholic fermentation—is of great interest to the winemaking industry. Transmittance near-infrared (NIR) spectra of 124 must samples over the range of 200–1,100 nm were obtained using a miniature spectrometer. The performance of this instrument to predict volumic mass was evaluated using partial least squares (PLS) regression and multiple linear regression (MLR). The validation statistics coefficient of determination (r^2) and the standard error of prediction (SEP) were $r^2 = 0.98$, $n = 31$ and $r^2 = 0.96$, $n = 31$, and SEP = 5.85 and 7.49 g/dm³ for PLS and MLR equations developed to fit reference data for volumic mass and spectral data. Comparison of results from MLR and PLS demonstrates that a MLR model with six significant wavelengths ($P < 0.05$) fit volumic mass data to transmittance (1/T) data slightly worse than a more sophisticated PLS model using the full scanning range. The results suggest that NIR spectroscopy is a suitable technique for predicting volumic mass during alcoholic fermentation, and that a low-cost NIR instrument can be used for this purpose.

Keywords: NIR spectroscopy, wine, volumic mass, partial least squares, multiple linear regression, miniature NIR spectrometer

RESEARCH ARTICLE

Rapid and mobile determination of alcoholic strength in wine, beer and spirits using a flow-through infrared sensor

Dirk W Lachenmeier^{*1}, Rolf Godelmann¹, Markus Steiner², Bob Ansay², Jürgen Weigel² and Gunther Krieg²**Abstract**

Background: Ever since Gay-Lussac's time, the alcoholic strength by volume (% vol) has been determined by using densimetric measurements. The typical reference procedure involves distillation followed by pycnometry, which is comparably labour-intensive and therefore expensive. At present, infrared (IR) spectroscopy in combination with multivariate regression is widely applied as a screening procedure, which allows one to determine alcoholic strength in less than 2 min without any sample preparation. The disadvantage is the relatively large investment for Fourier transform (FT) IR or near-IR instruments, and the need for matrix-dependent calibration. In this study, we apply a much simpler device consisting of a patented multiple-beam infrared sensor in combination with a flow-through cell for automated alcohol analysis, which is available in a portable version that allows for on-site measurements.

Results: During method validation, the precision of the infrared sensor was found to be equal to or better than densimetric or FTIR methods. For example, the average repeatability, as determined in 6 different wine samples, was 0.05% vol and the relative standard deviation was below 0.2%. Accuracy was ensured by analyzing 260 different alcoholic beverages in comparison to densimetric or FTIR results. The correlation was linear over the entire range from alcohol-free beers up to high-proof spirits, and the results were in substantial agreement ($R = 0.99981$, $p < 0.0001$, $RMSE = 0.279\%$ vol). The applicability of the device was further proven for the analysis of wines during fermentation, and for the determination of unrecorded alcohol (i.e. non-commercial or illicit products).

Conclusions: The flow-through infrared device is much easier to handle than typical reference procedures, while time-consuming sample preparation steps such as distillation are not necessary. Therefore, the alcoholic strength can be economically and quickly controlled (requiring less than 60 s per sample). The device also gives the opportunity for mobile on-site control in the context of labelling control of wine, beer and spirits, the process monitoring of fermentations, or the evaluation of unrecorded alcohols.

Anal Bioanal Chem (2011) 401:1475–1484
DOI 10.1007/s00216-011-4946-y

REVIEW

Technical solutions for analysis of grape juice, must, and wine: the role of infrared spectroscopy and chemometrics

D. Cozzolino · W. Cynkar · N. Shah · P. Smith

Received: 26 January 2011 / Revised: 15 March 2011 / Accepted: 22 March 2011 / Published online: 5 April 2011
© Springer-Verlag 2011

Abstract Information about constituents of grape juice, must, and wine can be used for management and decision support systems in order to improve, monitor, and adapt grape and wine production to new challenges. Numerous sensors that gather this information are either currently available or in development. Nevertheless there is still a need to adapt these sensors to special requirements, for example robustness, calibration and maintenance, operating costs, duration, sensitivity, and specificity to a particular application. The sensors commonly used by the wine industry are those that are based on mid-infrared (MIR), near-infrared (NIR), visible (VIS) and ultraviolet (UV) spectroscopy. This article reviews some recent technical solutions for analysis of juice, must and wine based on the combination of infrared spectroscopy and chemometrics.

Keywords Vibrational spectroscopy · Wine · Must · Near-infrared · Mid-infrared · Authentication · Composition

chains [1]. Demand for high levels of quality and safety in food production obviously requires high standards in quality assurance and process control; satisfying this demand in turn requires appropriate analytical tools for food analysis both during and after production. Desirable features of such tools include speed, ease-of-use, minimal or no sample preparation, and the avoidance of sample destruction. These features are characteristic of a range of spectroscopic methods including mid-infrared (MIR) and near-infrared (NIR) spectroscopy [1, 2].

Food products are mainly composed of water, carbohydrates, proteins, fats, and other constituents that are present at low (mg/100 g) concentrations, for example vitamins and minerals. All of these components may contribute to the shape of the absorbance spectrum obtained in the MIR and NIR regions, although, in practice, the major components (water, carbohydrates, proteins, fats) dominate because constituents present at concentrations below approximately 0.1% w/w are difficult to detect in water-rich systems [1, 2].

A Thorough Study on the Use of Quantitative ^1H NMR in Rioja Red Wine Fermentation Processes

EVA LÓPEZ-RITUERTO,[†] SUSANA CABREDO,[‡] MARTINA LÓPEZ,[§]
 ALBERTO AVENOZA,[†] JESÚS H. BUSTO,^{*†} AND JESÚS M. PEREGRINA^{*†}

Departamento de Química, Universidad de La Rioja, Grupo de Síntesis Química de La Rioja, U.A.-C.S.I.C., E-26006 Logroño, Spain, Departamento de Química, Universidad de La Rioja, E-26006 Logroño, Spain, and Bodegas Patrocinio S.C.L., Carretera Cenicero s/n, E-26313 Uruñuela, Spain

In this study, we focused our attention on monitoring the levels of important metabolites of wine during the alcoholic and malolactic fermentation processes by quantitative nuclear magnetic resonance (qNMR). Therefore, using ^1H NMR, the method allows the simultaneous quantification of ethanol, acetic, malic, lactic, and succinic acids, and the amino acids proline and alanine, besides the ratio proline/arginine through fermentation of must of grapes corresponding to the Tempranillo variety. Each ^1H NMR spectrum gives direct and visual information concerning these metabolites, and the effectiveness of each process was assessed and compared by carrying out analyses using infrared spectroscopy to ethanol and acetic acid. The quantitative data were explained with the aid of chemometric algorithms.

KEYWORDS: Wine; fermentations; nuclear magnetic resonance; PCA

Composition Changes in Wines Produced by Different Growing Techniques Examined Through ^1H -NMR Spectroscopy

MARIA-CRISTINA TODASCA^{1*}, LAURA FOTESCU², NICOLETA-AURELIA CHIRA¹, CALIN DELEANU³, SORIN ROSCA¹

¹University Politehnica Bucharest, Faculty of Applied Chemistry and Material Science, „C. Nenițescu” Organic Chemistry Department, 1-7 Polizu St., 011061, Bucharest, Romania

²Researches and Development Institute for Viticulture and Vineyard, Valea Călugărească, Romania

³Romanian Academy, Center of Organic Chemistry “C. D. Nenițescu”, 202B Spl. Independentei, 060023, Bucharest, Romania

*This paper examines the composition of some wines produced from *Vitis vinifera* in different technological conditions (during cultivation, the vines were subject to different technological sequences). This study becomes necessary in order to improve the management of the current practices, finally obtaining a superior wine and similar crops from one year to the next. In the meanwhile this study offers important compositional information by connecting various technological procedures with wine composition changes.*

Keywords: wine, composition, ^1H -NMR, integrated wine production system



Contents lists available at ScienceDirect

Food Research International

journal homepage: www.elsevier.com/locate/foodres



Review

NMR metabolite fingerprinting in grape derived products: An overview

Charalambos Fotakis, Katerina Kokkotou, Panagiotis Zoumpoulakis, Maria Zervou *

Institute of Biology, Medicinal Chemistry and Biotechnology, National Hellenic Research Foundation, Vas. Constantinou 48, Athens 11635, Greece

ARTICLE INFO

Article history:
Received 1 October 2012
Accepted 16 March 2013

Keywords:
NMR based metabolomics
Chemometrics
Metabolomics
Grape derived products

ABSTRACT

This review surveys NMR based metabolomic studies on *grape* derived products, such as berry, must, wine, vinegar, and grape marc distillates. The complex matrix of these food items includes compounds: of high nutritional value; that bear the role of a biomarker; that shape their organoleptic characteristics and therefore contribute to the product's quality characteristics. HR-NMR has been established as a robust and reproducible screening platform able to capture a snapshot of the primary and secondary metabolites that comprise grape derived products and further, relate them to geographic, varietal, organoleptic, environmental, production process and fermentation factors by applying advanced chemometrics. On these grounds this review article demonstrates all the up-to-date information and aspires to assist future wineomics studies. The main objective was to survey the necessary information referring to sample pre-treatment depending on the grape substrate, NMR experimental schemes, statistical approaches and the discriminant power of identified metabolites. The genotype, the provenance, the vintage year and the vinification process are factors that alter the metabolic profile of *Vitis* derived products and are extensively discussed. Identified biomarkers related to each of the above factors are reported. Lastly current trends in NMR metabolic profiling of vine extracts and vinified products are surveyed as a tool for the monitoring of pathogen response-related compounds and genetic engineering issues.

© 2013 Elsevier Ltd. All rights reserved.



Pontificia Universidad Católica del Ecuador

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
SECRETARÍA

Av. 12 de Octubre 1076 y Roca
E-mail: fceen@puce.edu.ec
Telf.: PBX 2991-575
Fax: (593-2) 2991-725
Apartado 17-01-2184
Quito-Ecuador

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, Becker Andrés Anasi Castillo, con CC.171699931-1, autor del trabajo de graduación intitulado: “Técnicas Espectroscópicas aplicadas al análisis de adulteración en vino.”, previa la obtención del grado académico de LICENCIADO EN CIENCIAS QUÍMICAS CON MENCIÓN EN QUÍMICA ANALÍTICA en la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través del sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de la Universidad.

Quito, _____

f) _____

C.C. _____