



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

Implementación de herramientas analíticas basadas en potencial reductor y electroforesis capilar para la diferenciación de vinos tintos de Querétaro y Aguascalientes

Tesis

Que como parte de los requisitos para
obtener el Grado de

Doctor en Ciencias de los Alimentos

Presenta

M. en C. Castañeda Moreno Raquel

Dirigido por:

Dra. Sandra Olimpia Mendoza Díaz

Querétaro, Qro. a junio de 2024

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química
Doctorado en Ciencia de los Alimentos

**Implementación de herramientas analíticas basadas en potencial
reductor y electroforesis capilar para la diferenciación de vinos
tintos de Querétaro y Aguascalientes**

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de

Doctor en Ciencias de los Alimentos

Presenta:

M en C. Castañeda Moreno Raquel

Dirigido por:

Dra. Sandra Olimpia Mendoza Díaz

Dra. Sandra Olimpia Mendoza Díaz
Presidente

Dra. Dalia Elizabeth Miranda Castilleja
Secretario

Dra. Janet Ledesma García
Vocal

Dr. Jesús Alberto Escarpa Miguel
Suplente

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.
Junio de 2024
México

A mis seres queridos, en el cielo y en la tierra

*Cuando más sientas que la vida está en tu contra
vuélvele una sonrisa, esfuérzate más cada día
y el conocimiento adquirido valdrá la pena.*

DEDICATORIAS

*A **Dios**, por las bendiciones recibidas y por brindarme la entereza para concluir esta etapa.*

*A **mis padres**, por su gran amor y apoyo incondicional, por afrontar las adversidades a mi lado y mostrarme que las limitaciones no existen a menos que yo las imponga. **Los amo.***

*A **mis amigos Jorge Armando, Carmen y Adolfo**, por brindarme su amistad y tiempo, por siempre estar en los buenos y en los malos momentos. **Los quiero mucho.***

*A **Joge Vargas**, por recordarme tanto a mi versión de estudiante, siempre entusiasta, ávido por aprender y compartir. "Por brindándome siempre una sonrisa y una palabra de aliento. **Mil gracias por tú apoyo y amistad.***

*A **mis compañeros Claudio, Stolislnaya, Bere y Armando**, por llenar de alegría los días de arduo trabajo. **Gracias por su apoyo.***

*A **mis chiquitos Yoyis, Ilse, Laila, Gil, Carlos, Kevyn, Artur, Mane, Paco y Fer**, por ser la alegría de mis días, por recordarme que el amor por la investigación y la enseñanza siempre están conmigo. Por ser mi fuerza y mis deseos de seguir adelante. **Siempre están en mi corazón.***

*A la **Dra. Sandra Mendoza**, por su apoyo y paciencia. **Muchas gracias***

*Al **Dr. Peniche**, por sus palabras de aliento, por ser mi apoyo y mentor. **Un abrazo al cielo, le extraño.***

*A **mi familia**, por su gran apoyo durante todos mis proyectos, por ser el pilar que me impulsa a seguir en este camino. **Gracias.***

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada durante el doctorado para la realización de este proyecto (CVU: 323997).

A la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro por el financiamiento otorgado en la convocatoria “Química somos todos”, 2021.

Al Posgrado de Alimentos de la Universidad Autónoma de Querétaro por abrir sus puertas a todos aquellos que buscan la sabiduría y crecimiento profesional.

Al Enólogo Mauricio y la empresa Vinos del Marqués, Querétaro, por brindar muestras para la realización de este proyecto.

Al Dr. Pedro Vázquez Landaverde y al laboratorio de Investigación en Sabores y Fragancias del Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada, por el análisis de muestras.

A mi Directora de tesis Sandra O. Mendoza Díaz, por su tiempo y apoyo, por ayudarme a crecer académica, profesional y personalmente, pero sobre todo por no perder la fé en mí.

A los miembros de mi comité de titulación: la Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña, la Dra. Janet Ledesma García, la Dra. Dalia Miranda Castilleja y el Dr. Jesús Alberto Escarpa Miguel, por su tiempo y dedicación para la realización y mejora de este proyecto.

A todos y cada uno de mis amigos por estar en los momentos más importantes de mi carrera, por siempre tener una palabra de aliento, por brindarme su tiempo, su cariño y su comprensión.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIAS	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
ÍNDICE GENERAL	iv
ÍNDICE DE TABLAS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DE ESTUDIANTE	xv
RESUMEN	xvi
SUMMARY	xvii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	5
II.1 La vid y el vino	5
II.1.1 La industria vitivinícola en México	7
II.1.2 Zonas productoras de uva para vino en México	10
II.1.3 Cultivares tintos más empleados en México	12
II.1.2 Importancia de la huella química de la vid y el vino	15
II.1.3 Adulteración, autenticación, tipificación y trazabilidad de la uva y el vino	16
II.1.3.1 Adulteración	16
II.1.3.2 Autenticación	17
II.1.3.3 Tipicidad	17
II.1.3.4 Trazabilidad	18
II.2 Importancia de los compuestos fenólicos en la uva y el vino	19
II.2.1 Biosíntesis de compuestos fenólicos	20
II.2.2 Compuestos fenólicos no volátiles presentes en la uva y vino	23
II.2.2.1 Ácidos fenólicos	23
II.2.2.2 Flavonoides	25
II.2.2.3 Taninos	27
II.2.2.4 Estilbenos	28

II.2.3 Factores que influyen en el contenido y composición de compuestos fenólicos en el vino	29
II.2.4 Modificación química de la composición de compuestos fenólicos de los vinos	31
II.2.5 Ácidos orgánicos presentes en la uva y vino	33
II.3 Métodos para determinación de compuestos fenólicos totales en vino tinto	35
II.3.1 Métodos espectrofotométricos	35
II.3.2 Técnicas cromatográficas para la caracterización de compuestos fenólicos en vinos tintos	36
II.3.3 Nuevas metodologías	42
II.3.3.1 Lengua electrónica (Sensores electroquímicos)	42
II.3.3.2 Síntesis verde de nanopartículas de oro (AuNPs)	46
II.3.3.3 Microsistemas de electroforesis capilar	47
II.4 Métodos quimiométricos para el análisis de datos	50
III. HIPÓTESIS	53
IV. OBJETIVOS	54
IV.1 General	54
IV.2 Particulares	54
V. METODOLOGÍA	55
V.1 Material de estudio	55
V.2 MÉTODOS	55
V.2.1 Preparación de muestras	55
V.2.1. Compuestos fenólicos volátiles en vinos comerciales	55
V.2.2 Determinación del índice de Folin-Ciocalteu (IFC)	56
V.2.3 Determinación de antocianinas totales (pH-diferencial)	56
V.2.4 Cuantificación de compuestos fenólicos mediante UPLC-DAD-EM	57
V.2.5 Determinación de compuestos volátiles mediante CG-EM	58
V.2.6 Voltamperometría de Pulso Diferencial (DVP) y	59

V.2.7 Formación de nanopartículas de oro (AuNPs)	60
V.2.7.1 Capacidad antioxidante	60
V.2.7.2 Potencial Z	61
V.2.8 Determinación de compuestos fenólicos mediante microsistemas analíticos (MEC-DE)	62
V.2.8.1 Fabricación y pruebas de viabilidad del MEC-DE	62
V.2.8.2 Evaluación de la celda electroquímica del MEC-ED	65
V.2.9 Análisis estadístico	65
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	66
V.1 Contenido de antocianinas monoméricas totales	66
V.2 Contenido de fenoles totales por Folin-Ciocalteu (IFC)	67
VI.3 Perfil de compuestos fenólicos en vinos tintos mediante UPLC-DAD-MSe	69
VI.4 Actividad antioxidante mediante los ensayos de ABTS y DPPH	78
VI.5 Perfil de compuestos volátiles mediante CG-EM	92
VI.6 Contenido de compuestos fenólicos en vinos tintos mediante Voltamperometría de Pulso Diferencial (DVP)	109
VI.6.1 Optimización del método	109
VI.6.2 Integración manual	124
VI.6.3 Modelo-deconvolución	125
VI.6.4 Contenido polifenólico y comparación de métodos	129
VI.7 Diferenciación de los vinos evaluados mediante la síntesis verde de nanopartículas de oro (AuNPs)	132
VI.8 Contenido de compuestos fenólicos mediante microsistemas analíticos (MEC-DE)	137
VI.8.1 Evaluación del diseño del microsistema de electroforesis Capilar	137
VI.8.2 Evaluación de la celda electroquímica mediante VDP en celda convencional	139

VI.8.2.1 Electrodo de trabajo: puntilla de microcarbón (Staedtler) e hilo de platino	140
VI.8.2.2 Electrodo de trabajo: puntilla de microcarbón (Staedtler) e hilo de platino	143
VI.8.2.3 Electrodo de trabajo: puntilla de microcarbón (Staedtler), hilo de plata, e hilo de platino	150
VI.8.3 Evaluación de la celda electroquímica del micrositio de electroforesis capilar (MEC)	152
VI.8.3.1 Electrodo móvil	152
VI.8.3.2 Electrodo fijo: trabajo y referencia de platino, puntilla de microcarbón (Staedtler) o hilo de platino como auxiliar	159
VII. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS	164
VIII. REFERENCIAS	167
ANEXO I	186
ANEXO II	199
ANEXO III	206

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla		Pág.
1	Investigaciones realizadas para la caracterización fenólica de uva y vino a nivel internacional	39
2	Investigaciones a nivel nacional realizadas para la caracterización fenólica de uva y vino mexicanos	40
3	Investigaciones realizadas para el análisis de uva y vino a nivel internacional empleando sensores electroquímicos	43
4	Investigaciones realizadas para el análisis de vino empleando microsistemas de electroforesis capilar (EMC)	50
5	Gradiente para la cuantificación de ácidos fenólicos, flavonoides y taninos	58
6	Lista de electrodos serigrafiados empleados	60
7	Contenido total e individual de los polifenoles identificados en vino tinto	80
8	Datos de los compuestos identificados mediante UPLC-DAD-MSe	84
9	Datos de los compuestos identificados mediante GC-HS-SPME-MS/MS	94
10	Contenido total e individual de los compuestos volátiles identificados mediante GC-HS-SPME-MS/MS [†]	101
11	Contenidos fenólicos totales mediante el método electroquímico (mg STD/L)	130
12	Listado de vinos con sus respectivos valores de k	135
13	Potencial z y tamaño de las nanopartículas	136

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Pág.
1 Fruto y hoja del cultivar Cabernet Sauvignon	12
2 Fruto y hoja del cultivar Merlot	13
3 Fruto y hoja del cultivar Syrah	14
4 Fruto y hoja del cultivar Tempranillo	14
5 Síntesis de compuestos fenólicos (Wattemberg,1983)	22
6 (A) Estructura difenilpropano. (B) Estructura base de un flavonoide (Verhoeven <i>et al.</i> , 1997)	23
7 1) Fotografía; 2) esquema y 3) dimensiones del microchip	62
8 A) Equipo portátil MicruxFluidics (Oviedo, España); 1) Microchip UPON SU-8 pyrex; 2) fuente de alto y bipotenciostato (Micrux HVStat); 3) porta-microchip	63
9 Diagrama de ensamblaje del microchip	63
10 Curva de calibración del ácido gálico por el método de Folin-Ciocalteu	68
11 Histograma del contenido total de fenoles en los vinos evaluados	69
12 Perfil cromatográfico en modo de ionización ESI (-)	70
13 Voltamperograma de quercetina 20 μ M en MES (25 mM, pH 5.0), electrodo S1PE usado	110
14 Voltamperograma de pelargonidina 100 μ M en MES (25 mM, pH 5.0), electrodo S1PE usado	110
15 Voltamperograma del ácido elágico 70 μ M en MES (25 mM, pH 5.0), electrodo S1PE usado	111
16 Mezcla de estándares (MSTD4: 20 μ M de quercetina, 30 μ M de ác. elágico y 40 μ M de pelargonidina) y compuestos individuales en MES (25 mM, pH 5.0) para el electrodo S1PE	111
17 Voltamperogramas para la mezcla de estándares en MES (25 mM, pH 5.0)	113

18	Voltamperogramas de la MSTD4 en MES (25 mM, pH 5.0) para electrodos S1PE	114
19	Voltamperogramas de la solución modelo en MES 25 mM (pH 8.0) para electrodos S1PE (nuevos y usados)	115
20	Voltamperogramas para la evaluación de la recuperación de censado en los electrodos SD150	116
21	Voltamperogramas de la solución modelo en MES 25 mM Electrodo MWCNT nuevo (DropSens).	117
22	Voltamperogramas de la solución modelo en MES 25 mM	118
23	Voltamperogramas de la solución modelo en MES 25 mM para electrodos SD150	119
24	Voltamperogramas de la solución modelo en MES 25 mM electrodos S1PE (nuevos y usados)	119
25	Voltamperogramas de la solución modelo en MES 25 mM (pH 8.0) para electrodos S1PE (nuevos y usados)	120
26	Voltamperogramas de la solución modelo en fosfatos 10 mM	121
27	Voltamperogramas obtenidos con los electrodos SD150 y S1PE para la medición de muestras	122
28	Voltamperogramas de las muestras M20 y M23 en MES 25 mM, pH 5.0 (1:10), empleando electrodos serigrafiados SD150	123
29	Voltamperogramas para MSTD4: Electrodo serigrafiado DRP-110 (Negro); Electrodo serigrafiado SD150 (Rojo). En MES (25 mM, pH 5.0)	124
30	Voltamperometría de pulso diferencial para la MSTD4 y los diferentes vinos evaluados. J : joven; C : crianza. En MES (25 mM, pH 5.0). Electrodo serigrafiado DRP-110	125
31	Deconvolución. MSTD4 (Negro); Quercetina, 20 mM (Rojo); Ácido elágico, 70 mM (Verde); Pelargonidina 100 mM (Azul). En MES (25 mM, pH 5.0). Electrodo serigrafiado DRP-110	126
32	Deconvolución. Muestra Tempranillo crianza (Negro); Quercetina,	

	20 mM (Rojo); Ácido elágico, 70 mM (Verde); Pelargonidina 100 mM (Azul). En MES (25 mM, pH 5.0). Electrodo serigrafado DRP-110	127
33	Deconvolución de los diferentes puntos de la curva de pelargonidina	128
34	Curva de pelargonidina	128
35	Sigmoidal para las AuNPs formadas mediante el incremento de la concentración de los polifenoles	133
36	Sigmoidales de A) estándares; B) C. Sauvignon joven; C) Merlot joven; D) Tempranillo Joven (J) y crianza (C); E) Merlot Joven (J) y crianza (C); F) Vinos crianza (C); G) Vinos jóvenes; H) Vinos crianza (C) y jóvenes (J) Del Marqués.	134
37	Fotografía del microsistema prototipo 4	137
38	Fotografía de la fuga al costado del electrodo de platino colocado en el reservorio C	138
39	Simulación de inyección	139
40	A) Limpieza de los capilares (1000 V, 3 min $A \rightarrow B$); B) Salida de la alícuota de solución colorida MES desde el capilar de separación al reservorio B	139
41	Voltamperogramas para MSTD4 (Negro); Quercetina, 20 mM (Rojo); Ácido elágico, 70 mM (Azul); Pelargonidina 100 mM (Rosa)	140
42	Voltamperogramas para M16: Electrodo convencional carbón (Negro); Electrodo convencional platino (Rojo)	141
43	Voltamperogramas para M16 R1 (Negro); M16 R2 (Rojo); M16 R3 (Azul), M16 R4 (Rosa). Electrodo carbón vítreo	142
44	Voltamperogramas para M16 R1 (Negro); M16 R2 (Rojo); M16 R3 (Azul), M16 R4 (Rosa). Electrodo de platino	142
45	Voltamperogramas para MSTD4 R1 (Negro); MSTD4 R2 (Rojo); MSTD4 R3 (Azul). Puntilla de micro carbón Staedtler (0.5 mm)	143
46	Voltamperogramas para M16 R1 (Negro); M16 R2 (Rojo); M16 R3	

	(Azul). Puntilla de micro carbón Staedtler (0.5 mm)	144
47	Voltamperogramas para M16 R1 (Negro); M16 con limpieza en KCl 0.1 M (Rojo); M16 con limpieza en H ₂ SO ₄ , 0.5 M (Azul). En MES (25 mM, pH 5.0)	144
48	Voltamperogramas para M16 R1 puntilla de micro carbón Staedtler (0.5 mm (Negro); Hilo de platino R1 (Rojo)	145
49	Voltamperogramas para M16 R1 (Negro); M16 R2 seguida sin Limpieza (Rojo); M16 R3 con limpieza en KCl, 0.1 M (Azul), M16 R4 con limpieza en KCl 0.1 M (Rosa)	146
50	Voltamperogramas de M17: después de limpieza con H ₂ SO ₄ (Negro); después de limpieza con KCl (Rojo); Después de limpieza a la flama con soplete (Azul)	147
51	Voltamperogramas para M17 R1 (Negro); M17 R2 (Rojo); M17 R3 (Azul). Con 50 ciclos de limpieza (KCl, 0.01 M)	148
52	Voltamperogramas para M17 R1 (Negro); M17 R2 (Rojo); M17 R3 (Azul). Con 70 ciclos de limpieza (KCl, 0.01 M)	148
53	Voltamperogramas para M20 R1 (Negro); M20 R2 (Rojo); M20 R3 (Azul).	149
54	Voltamperogramas para M17 R1 (Negro); M17 R2 (Rojo); M17 R3 (Azul).	149
55	Voltamperogramas de la solución ferro/ferricianuro de potasio con. diferentes configuraciones de electrodos en celda convencional	151
56	Voltamperogramas de la solución ferro/ferricianuro de potasio en: Celda convencional CC (Negro), celda del microchip (Rojo).	153
57	Voltamperogramas de la solución ferro/ferricianuro de potasio con incremento de la concentración. Sin flujo electroosmótico	153
58	Voltamperogramas a diferentes tiempos de infusión de la solución ferro/ferri diluida en MES 25 mM, pH 5.0	154
59	Voltamperogramas de: 20 mL MES 25 mM, pH 5.0 (Negro); M20C3 1:20 (Rojo); M20C3 3:20 (Rojo) y M20C3 5:20 (Azul).	155

60	Fotografía del microsistema prototipo 6.	156
61	Voltamperometrías cíclica de la solución ferro/ferri cianuro de potasio empleando el hilo de platino sin doblez (Negro) y con doblez (Rojo).	157
62	Voltamperometrías cíclica de la solución ferro/ferri cianuro de potasio empleando las diferentes formas del electrodo de trabajo (Pt).	158
63	Fotografía del microsistema prototipo 7.	159
64	Voltamperometría cíclica de la solución Ferro/ferri cianuro de potasio en celda chip con electrodo de trabajo y referencia fijos de Pt; Puntilla de micro carbón como auxiliar; Sin limpieza entre mediciones	160
65	Voltamperometría cíclica de la solución Ferro/ferri cianuro de potasio en celda chip con electrodo de trabajo y referencia fijos de Pt; Puntilla de micro carbón como auxiliar. 100 ciclos de limpieza en KCl	161
66	Voltamperometría cíclica de la solución Ferro/ferri cianuro de potasio en celda chip con electrodo de trabajo y referencia fijos de Pt; Hilo de Pt como auxiliar. Sin limpieza entre mediciones	161
67	Voltamperometría cíclica de la solución Ferro/ferri cianuro de potasio en celda chip con electrodo de trabajo y referencia fijos de Pt; Hilo de Pt como auxiliar. 100 ciclos de limpieza en KCl	162
68	Fotografía de la celda electroquímica mostrando el desprendimiento del electrodo de trabajo.	163

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DE ESTUDIANTE:

Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que reporto detalles necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras. Finalmente, este manuscrito de tesis es un trabajo original en el cual se declaró y dio reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentadas en el documento.

Castro de Moreno Rague

RESUMEN

El vino posee un alto valor económico y agregado lo cual ha conducido a su caracterización química para mejorar su calidad y autenticación. Sin embargo, la investigación respecto a la huella química y actividad antioxidante de vinos mexicanos es escasa. Aunado a lo anterior, los métodos cromatográficos son costosos y con largos periodos de análisis. Como alternativa, los métodos electroquímicos y los microsistemas de electroforesis capilar son capaces de analizar muestras con gran desempeño analítico en corto tiempo; son económicos, portátiles y ecológicos. En el presente proyecto se llevó a cabo el estudio de algunos vinos comerciales de las variedades Cabernet Sauvignon, Tempranillo, y Merlot de Querétaro y Aguascalientes. Los contenidos de polifenoles y antocianinas totales se evaluaron mediante métodos espectrofotométricos. La variedad Tempranillo mostro los más altos contenidos. La cromatografía de líquidos acoplada detector de arreglo de diodos-espectrometría de masas y cromatografía de gases-espectrometría de masas condujo a la detección de 78 compuestos no volátiles y 89 volátiles. Tres principales familias de polifenoles en vino (flavonoles, elagitaninos y antocianinas) fueron cuantificados mediante Voltamperometría de Pulso Diferencial (VPD) usando Electroodos Serigrafiados de carbón (SPE DRP-110). Se logró diferenciar a los vinos de crianza mediante la síntesis verde de nanopartículas de oro (AuNPs). La evaluación de 7 prototipos de microsistema permitió seleccionar las dimensiones adecuadas mejorando el diseño y la generación de flujo electroosmótico. Se realizaron evaluaciones de la configuración de la celda electroquímica. Sin embargo, se requieren más estudios para mejorar la detección. El análisis de muestras de vino mexicano comercial es valioso, dado que, representa lo que se encuentra al alcance del consumidor.

(Palabras clave: Vino, huella química, actividad antioxidante, síntesis verde, AuNPs, microsistemas, electroquímica.

SUMMARY

The wine has a high economic and aggregate value which has led to its chemical characterization to enhance its quality and authentication. However, research regarding the chemical fingerprints and antioxidant activity of Mexican wines is scarce. In addition, the chromatographic methods are expensive and time-consuming. Alternatively, the electrochemical methods and the capillary electrophoresis microsystems can analyze samples with great performance in a short time; they are also economical, portable, and ecological. In this project, the study of some commercial wines from Cabernet Sauvignon, Tempranillo, and Merlot varieties from Queretaro and Aguascalientes was carried out. The phenolic and anthocyanin total contents were evaluated by spectrophotometric methods. The Tempranillo variety showed the highest contents. The Liquid Chromatography-Photodiode Array/Mass Spectrometry and Gas Chromatography-Mass Spectrometry led to the identification of 78 nonvolatile and 89 volatile compounds. Three principal families of polyphenols in wine (flavonols, ellagitannins, and anthocyanins) were quantified by Differential Pulse Voltammetry (DPV) using carbon Screen Printed electrodes (SPE DRP-110). It was possible to differentiate the aged wines through the green synthesis of gold nanoparticles (AuNPs). The evaluation of 7 microsystem prototypes made it possible to select the appropriate dimensions, improving the design and generation of electroosmotic flow. The configuration evaluations of the electrochemical cell were carried out. However, further studies are required to improve detection. The analysis of commercial Mexican wine samples is valuable since it represents what is available to the consumer.

Key words: Wine, fingerprint, antioxidant activity, green Synthesis, AuNPs, microsystems, electrochemistry.

I. INTRODUCCIÓN

La vid (*Vitis vinífera* L.) es uno de los principales cultivos frutícolas a nivel mundial. En 2018 la producción global de uva fue de 77.8 millones de toneladas de las cuales 57 % se destinó para la elaboración de vinos, principalmente tintos. Con un valor de la producción mundial de 64 millones de euros, el vino ocupa un lugar importante en la economía alimentaria, siendo los principales países productores los que se encuentran en la franja latitudinal vinícola, como Italia (18%), Francia (16%), España (13%), E.E.U.U. (9%), Argentina (5%), entre otros (OIV, 2020a).

A nivel nacional, la uva se produce en 14 estados de la República, siendo los más importantes Sonora, Zacatecas, Baja California, Aguascalientes, Coahuila y Querétaro. Durante la última década se estima que, en promedio, 74% de la producción nacional se empleó como uva de mesa y 21 % fue para uso industrial (SIAP, 2019). En 2016 México ocupó el 29º lugar a nivel mundial, con una producción de uva valuada en 7.093 millones de pesos, destinándose 90 % de la uva industrial para elaboración de vino. Las variedades de vino más empleadas son Cabernet Sauvignon (20%), Chardonnay (8%), Merlot (8%), y Syrah (5%) (SAGARPA, 2016).

La relevancia económica en la producción de vino recae en el incremento de la demanda del consumidor por productos con mayor calidad y seguridad, lo que ha llevado a los productores a mejorar los estándares de calidad y control de los procesos desde la molienda de la uva hasta el embotellado (Zanuttin *et al.*, 2019; Croce *et al.*, 2020). La evaluación de la calidad del vino generalmente se basa en análisis sensoriales que dependen de la percepción del experto o del consumidor, por lo tanto, son subjetivos. Lo anterior, ha llevado a implementar métodos de análisis instrumental que puedan relacionar, de manera cualitativa y

cuantitativa, la descripción sensorial del vino, evaluar su estabilidad, origen y autenticidad (Croce *et al.*, 2020).

Dentro de los componentes críticos que definen la calidad de la uva y el vino, particularmente en los tintos, se encuentran los compuestos fenólicos ya que éstos contribuyen a las características organolépticas como color, astringencia y sabor (amargor) (Lingua *et al.*, 2016). Su abundancia en el vino depende de numerosos factores, como el cultivar o cepaje, portainjerto, edad del viñedo, estado de madurez y sanidad de la uva; factores ambientales (clima, suelo, insolación, localización geográfica, pendiente del terreno), manejo del viñedo, procesos tecnológicos empleados durante la vinificación (operaciones prefermentativas, fermentación y envejecimiento) (Lingua *et al.*, 2016; Valentin *et al.*, 2020). El análisis de la constitución de compuestos fenólicos, además de ser importante para seguir la maduración de la uva, determinar la evolución del vino durante su fermentación y conservación, entre otros, ha tomado relevancia para la diferenciación de vinos por la variedad de uva y origen geográfico en el contexto de la autenticación alimentaria (Versari *et al.*, 2014). El análisis de los contenidos totales de compuestos fenólicos (ácidos hidroxicinámicos y sus derivados) y flavonoides, (antocianinas y procianidinas) ha sido empleado para distinguir entre variedades de uva (Garrido y Borges, 2013).

De igual manera, la huella química (*fingerprint*) de antocianinas y otros flavonoides en vinos varietales, por ejemplo, se ha propuesto como una herramienta analítica para la certificación de autenticidad, protegiendo al consumidor de fraudes. De tal manera que el estudio de la composición fenólica permitirá establecer uno o más biomarcadores específicos para un tipo particular de uva (Garrido y Borges, 2013). Sin embargo, en el caso de México, las investigaciones relacionadas con la caracterización de compuestos para la

identificación de la diversidad de variedades de uva y vinos mexicanos, son escasas. Diversas metodologías han sido establecidas para determinar, a *grosso modo* los compuestos fenólicos en el vino, podemos mencionar índices como el de Folin-Ciocalteu, el de permanganato de potasio o el de polifenoles totales, así como la separación en capa fina (cromatografía en papel) o por cromatografía en columna (Monteiro de Lima *et al.*, 2020; Valentin *et al.*, 2020).

Recientemente se han desarrollado sistemas cromatográficos acoplados a detectores de fluorescencia, arreglo de diodos (DAD) o de espectrometría de masas (EM), que permiten una mejor caracterización de los componentes individuales presentes en muestras complejas. Sin embargo, este tipo de técnicas requieren de instrumentos voluminosos y de personal altamente capacitado, lo que las convierte en metodologías costosas, con largos periodos de análisis y poco amigables con el medio ambiente (Zanuttin *et al.*, 2019).

Por su parte, la microfluídica y los métodos de miniaturización ofrecen nuevas herramientas analíticas como los microsistemas de electroforesis capilar (MEC) o también conocidos como Lab-on-a-chip. Éstos permiten analizar muestras con gran desempeño en muy corto tiempo, empleando muy bajos volúmenes de muestra y reactivos, por ende, generan cantidades despreciables de residuos tóxicos, lo que los categoriza como dispositivos de tecnología verde. Además, son de bajo costo y al ser sistemas integrados y automatizados pueden llegar a ser portátiles e incluso desechables (Acunha *et al.*, 2015; Sierra *et al.*, 2017). Desde que el concepto de microsistema nació (90's), los detectores han ido cambiando debido a las dimensiones y el volumen tan pequeño de muestra que los MEC requieren. Gracias a su inherente miniaturización y su alta compatibilidad con las técnicas de microfabricación, la detección electroquímica (DE) se ha convertido en una alternativa muy valiosa y, en la actualidad, es ampliamente

usada como sistema de detección acoplada a los MEC (Escarpa., 2014). Sin embargo, no es tan sensible como los métodos de detección por fluorescencia y espectrometría de masas. A este respecto, la nanotecnología ha revolucionado los sistemas de detección electroquímica, ya que permite la modificación de la superficie de los electrodos que conforman la celda electroquímica, empleando nanomateriales brindando al sensor una más alta sensibilidad, selectividad y reproducibilidad (Sierra *et al.*, 2019).

Con base en lo anterior, el objetivo de este proyecto fue diferenciar químicamente algunos vinos tintos comerciales de Querétaro y Aguascalientes mediante la determinación del contenido de compuestos fenólicos, potencial antioxidante y su capacidad para la formación de nanopartículas de oro (AuNPs) mediante un proceso de síntesis verde.

II. ANTECEDENTES

II.1 La vid y el vino

La uva, no sólo es uno de los cultivos frutícolas más importantes del mundo, también, se relaciona históricamente con el desarrollo de la cultura humana. Lo anterior, debido a que el principal producto de este fruto es el vino (This *et al.*, 2006). Muchos investigadores creen que la vinificación se descubrió o desarrolló en el Cáucaso meridional, zona que hoy conforma el norte y sureste de Turquía, norte de Irak, Azerbaiyán y Georgia. Debido a los vestigios encontrados en el pueblo neolítico, en la región transcaucásica de Georgia, se cree que la domesticación de *Vitis vinífera* se llevó a cabo en dicha región (This *et al.*, 2006., Jackson, 2020).

Entre la familia *Vitaceae*, el género *Vitis* es el de mayor importancia agronómica. Consiste de alrededor de 60 especies, entre éstas, *Vitis vinífera* es la especie más ampliamente empleada en la industria mundial del vino. También es la única especie del género nativa de Eurasia y se sugiere que apareció por primera vez hace 65 millones de años (This *et al.*, 2006; Terral *et al.*, 2010).

La producción de vino se encuentra restringida a la llamada “franja del vino”. Ésta se aproxima a una banda entre las isothermas anuales de 10 y 20 °C, conformada por regiones climáticas similares a la zona autóctona de la *V. vinífera* europea en las que crece de manera silvestre entre 30 y 50 ° de latitud, en ambos hemisferios (Jackson, 2020). La temperatura tiende a disminuir 5 °C por cada 100 metros de elevación, por lo que en algunas microrregiones fuera de la “franja del vino” es posible realizar el cultivo de la vid, sobre todo en latitudes bajas donde las temperaturas suelen ser altas (zonas templadas) y con la altitud se puede compensar el efecto de las altas temperaturas promoviendo diferenciales térmicos que favorecen el crecimiento de la vid (CMV, 2020; Jackson, 2020).

Existen miles de variedades (cepajes) de *V. vinífera*, sin embargo, el mercado mundial del vino emplea solo unos cuantos cultivares. Éstos se clasifican generalmente de acuerdo a su producto final en: uvas de vinificación (industrial), uvas de mesa y uva para pasa (Bouby *et al.*, 2013). En los últimos 50 años, la globalización de empresas y mercados vinícolas ha dado lugar a la expansión de cultivares, actualmente muy conocidos, como Chardonnay, Cabernet Sauvignon, Syrah y Merlot, dando como resultado una reducción drástica de la diversidad debido a la desaparición de variedades locales (This *et al.*, 2006).

La uva (*V. vinífera* L.), es uno de los frutos más cultivados en el mundo. La producción mundial de uva en el año 2011 fue de 69 millones de toneladas métricas (69×10^9 kg) equiparable a la producción de naranja, plátano, manzana y jitomate con 62, 80, 70 y 136 millones de toneladas métricas, respectivamente (Jackson, 2020). Aproximadamente, 7.5 millones de hectáreas fueron cultivadas en el 2016 de las cuales casi 50 % fue destinado a la producción de vino (Canizo *et al.*, 2019) En 2018 la producción global de uva fue de 77.8 millones de toneladas, de las cuales 57 % se destinó para la elaboración de vinos, principalmente tintos (OIV, 2019). Para el 2019 la Organización Internacional de la uva y el vino (OIV) reportó la superficie vitícola mundial, para todo tipo de uva, se estimó en 7.4 millones de hectáreas, siendo los principales productores España (13%), China (11%), Francia (11%), Italia (10%) y Turquía (10%) (OIV, 2020a).

Con un valor de la producción mundial de 64 millones de euros, el vino ocupa un lugar importante en la economía alimentaria. La OIV, estima que 280 millones de hectolitros de vino fueron producidos en la cosecha 2018, de los cuales 140 millones de hectolitros fueron producidos en Europa. Para finales del 2020 la OIV estimó que la producción mundial de vino (excluyendo jugos y mostos) fue de alrededor de 260 millones de hectolitros, siendo los principales países productores Italia (18%), Francia (16%), España (13%), EE.UU. (9%), Argentina (5%), entre otros (OIV, 2020a; OIV, 2020b). Los principales

consumidores de vino son EE.UU. junto con Italia y Francia, con un consumo anual promedio de 240 mhl (Croce *et al.*, 2020).

La relevancia económica en la producción y distribución del vino, recae en el incremento en la demanda de altos niveles de calidad y seguridad de los consumidores, para lo cual, se requieren altos estándares de calidad y control de procesos desde la molienda de uva hasta el embotellado. Lo anterior implica que es necesario realizar análisis químicos, microbiológicos y sensoriales para determinar de manera cualitativa y cuantitativa las características del vino (Zanuttin *et al.*, 2019; Croce *et al.*, 2020).

II.1.1 La industria vitivinícola en México

La viticultura en México se remonta al siglo XVI. Diversos grupos religiosos fundaron misiones a lo largo del territorio, expandiendo el cultivo de la vid y la producción del vino a partir de la capital del virreinato hacia regiones como Querétaro, Guanajuato y San Luís Potosí, posteriormente se desarrolló en gran manera en el Valle de Parras y en Baja California (López, 2016; CMV, 2018a; Cosío, 2020).

Durante décadas, la vid se cultivó extensivamente, sin embargo, en 1595 el rey Felipe II de España, prohibió la producción de vino y se destruyeron los viñedos existentes, con la excepción de aquellos que se dedicaban a la producción de vino con fines eclesiásticos (CMV, 2018b; Cosío, 2020). La primera vinícola en América se fundó en Parras Coahuila con el nombre de Hacienda San Lorenzo. En 1893 fue comprada por Evaristo Madero y nombrada como Casa Madero hasta la actualidad (López, 2016). En tanto que la bodega de Santo Tomás fue fundada a finales del siglo XVIII por los dominicos (Cosío, 2020).

Alrededor del año 1900, con diseminación de filoxera y los problemas políticos del país, gran parte de los viñedos fueron destruidos. En 1920, después de la Revolución, la producción de vino comenzó a incrementarse. Sin embargo,

carecía de calidad debido a la falta de conocimiento en viticultura, el uso de equipo defectuoso y una mala selección de variedades (Nava, 2004).

En 1930 el General Abelardo L. Rodríguez compró la bodega de Santo Tomás que, en colaboración con el enólogo Italiano Esteban Ferro, impulsó el cultivo de vid y la elaboración de vinos con la introducción de variedades de uva italianas como la Barbera. Posteriormente, el enólogo ruso Dimitri Tchelistcheff introdujo variedades francesas como Cabernet Sauvignon, Chardonnay, Sauvignon Blanc, entre otras. A principios del siglo XX se inicia el cultivo de la vid y la producción del vino en el Valle de Guadalupe por los rusos Molokanes. Más tarde, el enólogo mexicano Hugo D'Acosta, buscó una identidad propia en los vinos de la región, introduciendo variedades españolas como Tempranillo y Grenache. Posteriormente, la enóloga Laura Zamora desarrolló un vino más accesible para el consumidor e introdujo mezclas más económicas, con la finalidad de que el vino dejara de ser un producto de consumo para las élites. La bodega Santo Tomás cuenta con 130 años de historia y es una de las bodegas más antiguas de esa región (Cosío, 2020).

En 1948 se funda la Asociación Nacional de Vitivinicultores. Los emprendedores del ramo pulieron los y para finales de los 80's, se inicia la producción de vinos de alta gama en el país (Nava, 2004; CMV, 2018b).

Después de la crisis de los años 80's y 90's, la industria vitivinícola queretana mostró un incremento en la superficie establecida para el cultivo de la vid, que para el 2011 fue de 212 ha de viñedos, así como en el mejoramiento de la calidad de sus uvas y sus vinos, principalmente tintos. Se han establecido nuevas plantaciones con cultivares como Merlot, Cabernet Sauvignon, Syrah, Tempranillo, entre otros (de la Cruz-de Aquino *et al.*, 2012).

El primero de noviembre del 2016 la OIV anuncio, a través de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), la reincorporación de México como integrante activo de este organismo internacional.

Para ese año, México se posicionó en el 29° lugar en la producción de uva (para todos los usos) a nivel mundial. A nivel nacional, la uva es producida en 14 estados de la República siendo Sonora y Zacatecas los mayores productores de uva de mesa (SAGARPA, 2016).

Entre 2017 y 2018 México produjo 387 mil hectolitros de vino y amplió el territorio de viñedos para uva de mesa a 24 mil hectáreas (375 mil toneladas producidas (SECTUR, 2018; SIAP, 2019).

En 2019 las exportaciones nacionales de uva para mesa presentaron un máximo histórico de venta (219,463 toneladas por 219,463 mil dólares), debido al incremento en la cosecha de la uva para mesa en México y la disminución en la de EE.UU. En tanto que la producción de uva industrial reportó una producción de 65,576 toneladas, empleadas principalmente para la elaboración de productos agroindustriales como jugos, vinos y destilados. El estado con mayor producción de uva industrial fue Zacatecas (22,925 ton). A la lista le siguen los estados de Aguascalientes con 6,528 toneladas, Coahuila con 4,126 toneladas y Querétaro en el 5° lugar con una producción de 1,545 toneladas (SIAP, 2020).

Entre 2021 y 2022 la producción de uva industrial en México fue de 75 mil toneladas, con un intercambio comercial con otros países de 87.6 millones de litros (jugo, mosto y vino de uva). Siendo los principales estados productores Zacatecas (28,677 ton), Baja California (24,748 ton) y Aguascalientes (8,573 ton), en tanto que Querétaro se colocó en el 6° lugar con 2,851 ton (SIAP, 2022).

En la actualidad México destina 37 mil hectáreas del territorio para la producción de uva, de las cuales se generan cerca de 400 mil toneladas de uva de mesa y 73 mil toneladas de uva industrial, provenientes de 15 estados vitivinícolas. (CMV, 2023; Diaz-Lara *et al.*, 2023; SAGARPA, 2023). En la última década, el consumo per cápita de vino en México se ha incrementado a 1 L/persona (Castro-Palafox *et al.*, 2023). Se estima que el 34 % del vino consumido

en el país es de producción nacional con alta calidad, por lo que ha sido merecedor de 40 medallas a nivel mundial (SAGARPA, 2023).

Recientemente se conformó el primer clúster vitivinícola del país empleando al turismo como plataforma para dar a conocer los vinos queretanos destacando la participación de instituciones públicas a través de las Secretarías de Desarrollo Sustentable, Turismo y Desarrollo Agropecuario, así como la participación de instituciones de educación e investigación (Arévalo, 2018; AVQ, 2023).

II.1.2 Zonas productoras de uva para vino en México

De acuerdo al CMV (2018a) los estados que destacan en la producción de vinos mexicanos son los siguientes:

Baja California, es la zona que va desde Mexicali hasta Ensenada, se encuentra dentro de la franja mundial del vino, posee un clima mediterráneo que permite cosechas de gran calidad, y con sabor único. Los inviernos son húmedos mientras que los veranos son secos y templados. Las zonas de viticultura son Valle de Guadalupe, Calafia, Santo Tomas, San Vicente y San Antonio de las Minas. Las variedades tintas que se producen en esta zona son Cabernet Sauvignon, Merlot, mientras que las variedades blancas son Chardonnay, Chenin Blanc y Sauvignon Blanc.

Coahuila, presenta un clima extremadamente caluroso durante el verano (largo), con cambios bruscos de temperatura durante el invierno (corto). Las regiones de cultivo son Parras, Arteaga y Saltillo. En esta zona se producen variedades blancas como Chardonnay, Chenin Blanc, Semillon, y Colombard, mientras que las tintas son Cabernet Sauvignon, Merlot, Syrah, Tempranillo y uva Lenoir.

Querétaro, es una zona de tierra fértil ubicada a 2,000 m sobre el nivel del mar, presenta características climáticas óptimas para la vid, su clima es templado sub húmedo, con veranos muy cálidos y abundantes lluvias de junio a septiembre. Presenta condiciones climáticas extremas que oscilan entre los 25 °C durante el día y 0 °C por la noche. El suelo es profundo y areno-arcilloso. Las regiones de viticultura son San Juan del Rio, Ezequiel Montes y Tequisquiapan, este último tiene un microclima que favorece el cultivo de la vid. Las variedades tintas producidas en esta región son Cabernet Sauvignon, Merlot, Pinot Noir, Gamay, Pinot Gris, Malbec y Tempranillo, mientras que las variedades blancas son Chenin blanc y Macabeu.

Aguascalientes, se sitúa en la región occidental de la altiplanicie mexicana, la zona de cosecha se encuentra entre dos cadenas montañosas y su suelo es de textura ligera con gran cantidad de sales solubles y bajo contenido de materia orgánica. Las regiones de viticultura son Calvillo, Paredón y Los Romo. Presenta clima templado a menos de 2000 m y frío a mayores altitudes, con lluvias en el verano. Las variedades blancas cultivadas son Chardonnay, Muscat Blanc y French Colombard, mientras que las tintas son Cabernet Sauvignon, Merlot y Ruby Cabernet.

Zacatecas, se sitúa en la porción meridional de la mesa del norte. La zona de cosecha se sitúa a 2000 m de altitud. Las regiones de viticultura son Ojo Caliente y Valle de la Macarena. El clima es seco y árido en los grandes llanos mientras que, en el resto de la zona, el clima es templado, semi-húmedo, extremoso y con lluvias en verano. Presenta condiciones climáticas que favorecen la producción de variedades finas de uva ricas en azúcar por lo que maduran rápidamente. Las variedades tintas producidas son Ruby Cabernet y Petite Syrah, mientras que las blancas son French Colombard, Chenin Blanc, Ugni Blanc, Traminer y Malaga.

Chihuahua, presenta clima semiárido frío con lluvias escasas y suelo arcilloso-gravoso. Las zonas potenciales para el cultivo son Bachíniva, Delicias, Sacramento, Encinillas y Chihuahua capital. Las variedades tintas cultivadas son Cabernet Sauvignon, Cabernet Franc, Merlot, Syrah, Petit Verdot y Tempranillo, mientras que Chardonnay es la variedad blanca cultivada en esta zona.

II.1.3 Cultivares tintos más empleados en México

Cabernet Sauvignon es uno de los cultivares más conocidos debido a que se le relaciona con uno de los mejores vinos tintos europeos (Bordeaux) y debido a que, con este cultivar se producen excelentes vinos alrededor del mundo. Su fruto es pequeño, ácido, la cascara es dura y presenta una coloración muy oscura (Figura 1). Debe podarse frecuentemente para acentuar la producción y para que los brotes tengan una mejor exposición al sol. La separación del fruto del racimo permite que la cosecha pueda realizarse de manera mecánica. Es sensible a varias enfermedades fúngicas como *Eutypa*, mildiu, entre otros. En *Bordeaux* así como en otras partes del mundo, los vinos elaborados con este cultivar son mezclados con otros cultivares como Cabernet Franc y Merlot. Ruby cabernet es una cruce entre Cabernet Sauvignon y Carignan, posee el aroma del Cabernet, pero se desarrolla mejor en climas cálidos que C. Sauvignon (Jackson, 2020).



Figura 1. Fruto y hoja del cultivar Cabernet Sauvignon

Merlot es un cultivar que tiene la ventaja de tolerar suelos más fríos y secos que C. Sauvignon pero es más susceptible a sufrir *coulure* (corrimiento de la flor e inmadurez del fruto). Se relaciona con C. Sauvignon e incluso uno de sus parientes es Cabernet Franc y debido a que tiende a madurar más rápido, se emplea como sustituto de C. Sauvignon, con la mayoría de sus características de sabor (Figura 2) (Jackson, 2020).



Figura 2. Fruto y hoja del cultivar Merlot

Syrah también conocido como Shiraz, es el cultivar francés más renombrado procedente del valle de Ródano. Difícilmente se cultiva fuera de Francia, con excepción de Australia donde recientemente su cultivo ha ganado fama. El cultivar es particularmente propenso a la sequía, la podredumbre del racimo y la infestación de las polillas de la uva. La planta crece vigorosamente y los racimos son alargados con bayas pequeñas que pueden ser desde redondas hasta ovals (Figura 3). Se producen vinos de color profundo y sabor agradable con aspectos que recuerdan a violetas, frambuesas y grosella (Jackson, 2020).



Figura 3. Fruto y hoja del cultivar Syrah

Tempranillo (Figura 4) es la uva tinta española más fina y renombrada, y bajo condiciones favorables, esta produce un vino sutil y fino que envejece bien. La vid, es relativamente vigorosa y produce brotes verticales, mientras que la baya es pequeña, con piel gruesa. Crece de manera extensiva en la mayor parte de España y es uno de los cultivares más importantes de La Rioja. También es cultivada en Argentina y en California se le conoce como Valdepeñas (Jackson, 2020).



Figura 4. Fruto y hoja del cultivar Tempranillo

II.1.2 Importancia de la huella química de la vid y el vino

La calidad del vino es fundamentalmente influenciada por la agudeza sensorial, ésta a su vez, se relaciona con los compuestos químicos presentes y su equilibrio (Miranda-Castilleja *et al.*, 2015). Sin embargo, este concepto es subjetivo, debido a que lo que constituye la calidad del vino es un reflejo de percepciones culturales, capacitación y experiencia, que depende del criterio personal del experto o del consumidor. Se puede evaluar en términos de sutileza y complejidad, potencial de envejecimiento, expresión varietal, prestigio, clasificación de expertos o aceptación del consumidor (Jackson, 2020).

Se puede generar una aproximación prometedora para relacionar de manera cualitativa y cuantitativa, la descripción sensorial del vino, evaluar su estabilidad, origen y autenticidad, mediante la identificación y cuantificación de componentes químicos minoritarios. De tal manera que la relación entre la evaluación sensorial y la composición química de un vino es un tema crítico para la enología. Diversas investigaciones han evaluado la influencia de la composición volátil sobre las características organolépticas del vino, así como, la relación entre el contenido de compuestos fenólicos y los atributos sensoriales. La composición de compuestos fenólicos es una característica de calidad importante en los vinos tintos (Fanzone *et al.*, 2012).

Diversos estudios indican que existe una estrecha relación entre la alta calidad del vino y una alta composición de compuestos fenólicos dado que, contribuyen a las características organolépticas del vino como olor, color, sabor, astringencia y amargor (Lingua *et al.*, 2016). Por otra parte, los compuestos fenólicos presentes en la uva y el vino pueden ser empleados como marcadores para la clasificación de vinos. La composición de compuestos fenólicos no volátiles de la uva, el orujo y el vino, depende de numerosos factores como el cultivar o cepaje, portainjerto, estado de madurez y sanidad de la uva, factores ambientales en el viñedo (clima, suelo, insolación, localización geográfica), procesos

tecnológicos empleados durante la vinificación (proceso de fermentación y envejecimiento), así como la edad del viñedo. Sin embargo, el efecto del genotipo del cultivar de uva sobre el contenido de compuestos fenólicos es más importante que los factores ambientales (Garrido y Borges, 2013; Lingua *et al.*, 2016). Aun cuando el perfil químico del vino puede cambiar de acuerdo a los factores mencionados anteriormente, suponemos que, hay un grupo de constituyentes químicos que siempre se encuentran presentes en algunas combinaciones de variedad de uva y región, a pesar de dichos factores (Valentin *et al.*, 2020).

El estudio del contenido de compuestos fenólicos en la uva y el vino, permitiría el establecimiento de uno o más biomarcadores específicos para un tipo particular de uva permitiendo evaluar su evolución química durante el crecimiento y maduración, así como, desarrollar métodos nuevos y mejorados de manera cualitativa como cuantitativa para monitorear esos procesos (Garrido y Borges, 2013).

II.1.3 Adulteración, autenticación, tipificación y trazabilidad de la uva y el vino

II.1.3.1 Adulteración

La producción de alimentos y bebidas ocupa un lugar importante en la economía mundial, debido a ello, la autenticidad y origen de productos alimentarios es un tema de gran importancia en la industria alimentaria, no sólo para los consumidores, sino también para los productores y distribuidores (Monteiro de Lima *et al.*, 2020). Una parte muy importante del valor comercial de un vino recae en variables relacionados con la historia y procedencia del producto, por lo que la evaluación química y sensorial es fundamental (Versari *et al.*, 2014). Cuando la etiqueta de un producto incluye especificaciones de calidad, tiene como resultado un alto valor agregado en el producto, con lo cual productos, tales como los vinos, a menudo son blanco de adulteración, falsificación y etiquetado incorrecto (Herrero-Latorre *et al.*, 2019). El termino general de “**adulteración**” se

refiere a los diferentes tipos de fraude a los que puede ser sujeto un vino, entre los cuales se encuentran dilución del vino con agua, adición de alcohol, azúcar o sustancias prohibidas (colorantes y saborizantes), métodos prohibidos de crianza, uso de variedades de uva no autorizadas, reemplazo o mezcla con vinos de denominación con menor calidad, así como la declaración fraudulenta del cultivar y origen geográfico (Versari *et al.*, 2014; Herrero-Latorre *et al.*, 2019).

II.1.3.2 Autenticación

Debido a la compleja cadena de producción y su alto valor comercial, el vino es un producto que a menudo es adulterado (Bronzi *et al.*, 2020). En los vinos univarietales, por ejemplo, puede ocurrir la adición ocasional de otras variedades de vid, por encima del porcentaje permitido por la ley, y se consideran ilegales, a menos que se indique lo contrario, bajo la legislación de etiquetado. Debido a ello, la **autenticación** del vino se ha convertido en un tema de gran preocupación ya que el etiquetado incorrecto representa un fraude comercial (Pereira *et al.*, 2017). Por lo tanto, la identificación precisa de la composición varietal y el origen geográfico es de importancia fundamental al proporcionar criterios para rastrear la cadena de producción mediante marcadores químicos (Bronzi *et al.*, 2020). Otra forma de fraude se relaciona con la declaración falsa en cuanto a la edad del vino (tiempo de crianza), dicha práctica puede engañar al consumidor quien carece de la experiencia del enólogo para detectarlo (Monteiro de Lima *et al.*, 2020). El sistema de denominación de origen controlado (DOC) es aplicado en muchos países para controlar y garantizar el origen y prevenir fraudes. La caracterización química es uno de los requisitos para obtener la certificación DOC (Di Paola-Naranjo *et al.*, 2011).

II.1.3.3 Tipicidad

La **tipicidad** varietal puede describirse como un concepto basado en el supuesto de que la combinación de características sensoriales de un vino puede atribuirse a su origen varietal, haciendo posible reconocer e identificar una

muestra de vino como originaria de una variedad de uva particular y una región específica, y diferenciarlo de los vinos de otras variedades y regiones (Lukić *et al.*, 2019). La tipicidad de la uva y el vino está definida por el llamado **terroir o terruño**, término empleado para describir la relación de una uva o vino con su lugar de origen, lo cual es esencial en la conceptualización de su calidad. En dicha relación influyen diversos factores como la luminosidad, altitud, latitud, pendiente, orientación, tipo de suelo, temperatura de noche y de día, distribución de lluvia, horas de sol y drenaje del suelo, entre otros. Todos estos factores actúan entre sí para formar en el viñedo el terruño que se ve reflejado en el contenido de azúcar, acidez, color y aroma, entre otros (de la Cruz-de Aquino *et al.*, 2012; CMV, 2020).

II.1.3.4 Trazabilidad

De acuerdo al reglamento CE 178/2002 la **trazabilidad** se define como la habilidad de rastrear y seguir un alimento, comida o sustancia que se pretende incorporar a un alimento o comida, a través de todas las etapas de producción, procesamiento y distribución. La trazabilidad tiene como objetivo vincular un alimento con el suelo del que se originaron sus materias primas (Pasvanka, *et al.*, 2019; Aceto, *et al.*, 2013).

Actualmente, se han desarrollado diversas técnicas de análisis instrumental que involucran la quimiometría para la caracterización, por ende, la autenticación de vinos (Monteiro de Lima *et al.*, 2020). Los métodos más establecidos se basan en el perfil de la composición elemental, compuestos fenólicos, compuestos volátiles y la proporción de isótopos, que pueden ser determinados mediante la implementación de métodos cromatográficos y espectroscópicos. De manera general, el contenido de compuestos volátiles se emplea para la caracterización de variedades y la composición elemental ayuda a determinar la zona geográfica, en tanto que el contenido de compuestos fenólicos además de ser importante para seguir la maduración de la uva, determinar la evolución del vino durante su fermentación y conservación (**trazabilidad**), puede emplearse para determinar

ambas características (Versari *et al.*, 2014). Debido a lo anterior, el contenido fenólico ha tomado relevancia para la diferenciación de vinos por la variedad de uva y origen geográfico, en el contexto de la **autenticación alimentaria** (Pereira *et al.*, 2017).

El contenido de compuestos fenólicos se emplea para la diferenciación entre vinos con base en la presencia, intensidad o proporción de algunos de estos compuestos. La ausencia de antocianinas diglucosiladas en variedades de *Vitis vinífera* L., por ejemplo, ha permitido diferenciar entre vinos elaborados con variedades no *vinífera* o aquellos que contienen variedades híbridadas con especies americanas (Ribéreau-Gayon, 2006; Cheynier *et al.*, 2010). Los contenidos totales de compuestos fenólicos (ácidos hidroxicinámicos y sus derivados) y flavonoides, (antocianinas y procianidinas), ha sido empleado para distinguir entre variedades de uva. La huella dactilar “fingerprint” de antocianinas en vinos varietales, por ejemplo, se ha propuesto como una herramienta analítica para la certificación de autenticidad (Garrido y Borges, 2013). Por otra parte, además de los análisis dirigidos, los estudios metabolómicos no dirigidos permiten determinar perfiles químicos únicos que pueden aplicarse para la evaluación de la autenticidad del vino (Versari *et al.*, 2014).

II.2 Importancia de los compuestos fenólicos en la uva y el vino

Los compuestos fenólicos tienen varias funciones en las plantas, entre las que se encuentran protección de los rayos UV, defensa contra patógenos y predadores, pigmentación y atracción de polinizadores (Liang *et al.*, 2013). Además, participan en procesos bioquímicos y tienen efectos nutracéuticos en la salud humana, así como propiedades antimicrobianas, anticancerígenas y antioxidantes (Fanzone *et al.*, 2012).

La gran diversidad de compuestos fenólicos en la uva y el vino, no solo se debe a la variedad de la uva, sino también, al hecho de que cada componte se encuentra tanto libre como conjugado (Garrido y Borges, 2013). Los compuestos fenólicos son responsables de las diferencias entre vinos blancos y tintos, especialmente en el color y el sabor (Ali *et al.*, 2010). Éstos compuestos pueden provenir del fruto (piel y semilla) y los tallos de la vid, son extraídos a partir de éstos durante los procesos de vinificación o pueden ser producto del metabolismo de las levaduras (Ribéreau-Gayon, 2006).

La concentración de los compuestos fenólicos en el vino se incrementa durante la fermentación, pero posteriormente comienza a decaer y precipitan con las proteínas o las lías de levaduras. Durante la maduración, su concentración sigue disminuyendo, sufriendo una dramática caída durante la etapa de añejamiento (Ali *et al.*, 2010). Dependiendo las condiciones de crianza, la estructura de los compuestos fenólicos varía mucho cuando el vino es criado en la barrica o en el tanque, así como en la botella (Lingua *et al.*, 2016).

Los compuestos fenólicos se pueden clasificar en *flavonoides* con estructura base común $C_6C_3C_6$ y *no-flavonoides* (ácidos fenólicos) que presentan estructuras C_6C_1 , C_6C_3 , ó $C_6C_2C_6$ (Liang *et al.*, 2013). Los flavonoides se componen principalmente de antocianinas, flavanoles, flavonoles y dihidroflavonoles (Teixeira *et al.*, 2018). La mayoría de los no-flavonoides se componen de ácidos hidroxicinámicos, ácidos hidroxibenzoicos y estilbenos, que se localizan tanto en la piel como en la pulpa, en ésta última son considerados como los principales constituyentes (Liang *et al.*, 2013).

II.2.1 Biosíntesis de compuestos fenólicos

El metabolismo de las plantas se divide principalmente en dos tipos: metabolismo primario y secundario. El metabolismo primario se relaciona directamente con el crecimiento, desarrollo y reproducción de las especies vegetales, mientras que el metabolismo secundario no se encuentra directamente

relacionado con dichos procesos, sin embargo, usualmente tiene importancia para las funciones ecológicas (Ali *et al.*, 2010).

Dependiendo de la vía biosintética, los compuestos naturales se pueden clasificar en dos grupos principales: metabolitos primarios y secundarios. En general los metabolitos secundarios juegan un papel clave para la fisiología de las plantas. En particular, la diversidad química de las uvas se ve afectada principalmente por los metabolitos secundarios, los cuales están constituidos por una amplia gama de especies químicas pertenecientes a diferentes grupos fitoquímicos, los tres grupos principales son: terpenoides, alcaloides y compuestos fenólicos. Éstos últimos, son por mucho, los más importantes tanto en cuestiones enológicas como para la salud humana (Ali *et al.*, 2010; Corso *et al.*, 2020).

Los principales compuestos fenólicos presentes en la uva y el vino son los ácidos fenólicos, flavonoides y estilbenos. Los ácidos fenólicos se pueden clasificar de acuerdo a su estructura en derivados del ácido hidroxibenzoico (HBA) y derivados del ácido hidroxicinámico (HCA) (Ali *et al.*, 2010). Los ácidos hidroxicinámicos, también conocidos como fenilpropanoides, son sintetizados vía la ruta metabólica del ácido siquímico, en la cual, el aminoácido fenilalanina es transformado en ácido cinámico mediante la enzima fenilalanino amonio liasa (PAL) (Figura 5). Los ácidos cinámicos son considerados precursores de diversas clases de compuestos fenólicos presentes en la uva y el vino (Ali *et al.*, 2010; Gomez-Cano *et al.*, 2020).

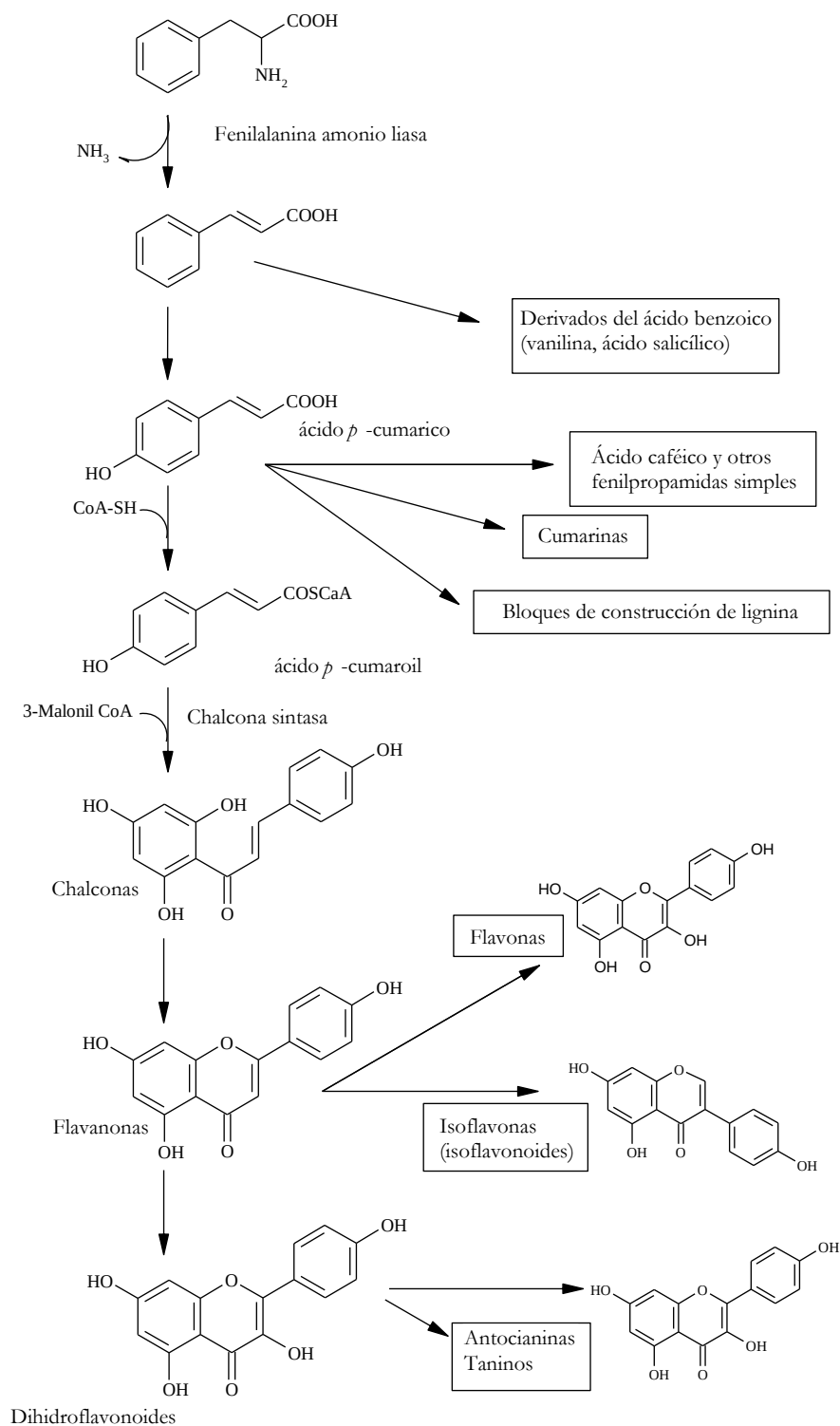


Figura 5. Síntesis de compuestos fenólicos (Watttemberg, 1983).

Los flavonoides son polifenoles con esqueletos difenilpropano ($C_6-C_3-C_6$), formados de dos anillos aromáticos (A y B) unidos mediante un anillo pirano (C), son subclasificados con base en la posición y las modificaciones de dichos anillos (Gomez-Cano *et al.*, 2020). La síntesis de los flavonoides se realiza por integración de la vía del ácido siquímico (anillo B) y la vía del ácido malónico (anillo A), de manera que el anillo C se forma como resultado de esta integración (Figura 6). El primer paso en la síntesis de los fenilpropanoides (posteriormente flavonoides), es la transformación del aminoácido fenilalanina en ácido *trans*-cinámico mediante la enzima fenilalanino amonio liasa (PAL) (Gomez-Cano *et al.*, 2020; Corso *et al.*, 2020), posteriormente el primer paso para la síntesis de los flavonoides es catalizado por la enzima chalcona sintasa. Cascada abajo en la síntesis, intervienen diferentes enzimas entre las que se encuentran la chalcona isómera, la favanona 3-hidroxisasa y la flavonoide 3'-hidroxisasa, que están involucradas en la formación de naringenina, di-hidrokaemferol y di-hidroquercetina, respectivamente (Corso *et al.*, 2020).

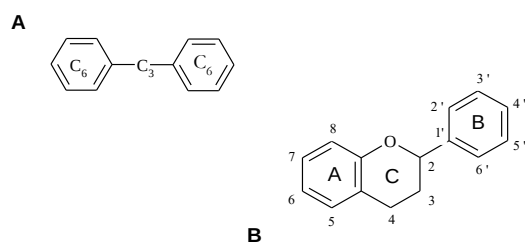


Figura 6. (A) Estructura difenilpropano. (B) Estructura base de un flavonoide (Verhoeven *et al.*, 1997).

II.2.2 Compuestos fenólicos no volátiles presentes en la uva y vino

II.2.2.1 Ácidos fenólicos

Los ácidos fenólicos se encuentran almacenados en las vacuolas de la piel y las células de la pulpa del fruto y pueden ser fácilmente liberados mediante el estrujado (Ali *et al.*, 2010). Alrededor de un 20 a 25 % de los ácidos fenólicos se

encuentran en su forma libre y, la mayoría de ellos se presentan como esteres enlazados a glucósidos o ácidos orgánicos. Los ácidos hidroxicinámicos (HCA) e hidroxibenzoicos (HBA) han adquirido importancia debido a su actividad antibacteriana y antiinflamatoria (Liang *et al.*, 2013).

Se han determinado varios tipos de ácidos hidroxibenzoicos tanto en la uva como en el vino, entre los más abundantes podemos mencionar a los ácidos *p*-hidroxibenzoico, protocatecuico, vanílico, gálico y sirínico (Garrido y Borges, 2013). El ácido gálico se describe como el más representativo en la uva, debido a que es precursor de todos los taninos hidrolizables y forma parte de la estructura de los taninos condensados (Cheynier *et al.*, 2010; Garrido y Borges, 2013). En diversos estudios se han reportado concentraciones de ácido gálico que oscilan entre 0.3 a 4.8 mg/l de vino. Los ácidos vanílico, protocatecuico y sirínico se han encontrado en dicha bebida (Ej. en el vino Riesling), sin embargo no se conocen reportes de su presencia en el fruto, por lo que, se sugiere que podrían ser resultado de la degradación de flavonoides (Ali *et al.*, 2010; Cheynier *et al.*, 2010).

Los ácidos hidroxicinámicos son los compuestos más representativos de la uva y vino. Algunos de los más reportados son el ácido cafeico, *p*-cumárico, ferúlico y sinápico (Ali *et al.*, 2010). Se asocian con el proceso de pardeamiento de los vinos, son precursores de compuestos fenólicos volátiles y se sabe son parcialmente responsables de las propiedades astringentes en la uva y el vino (Garrido y Borges, 2013). El ácido *trans*-caftárico siempre es el más abundante en la uva (arriba del 50% del total de HCA), seguido del ácido *trans-p*-cumárico y el ácido *trans*-fertárico presente solo en bajas concentraciones (Ali *et al.*, 2010). Los isómeros *cis* y *trans* del ácido *p*-cumárico son menos extraíbles dado que se encuentran en la piel de la uva. Es posible distinguir entre variedades del género *Vitis* a través del contenido de los esteres *p*-cumaroilo y cafeoiltartarico, por lo que se consideran marcadores taxonómicos. Los vinos blancos presentan menor concentración de compuestos fenólicos comparada con los vinos tintos (Garrido y

Borges, 2013). Los vinos presentan mayor concentración de HCA en comparación con los HBA (Ali *et al.*, 2010).

II.2.2.2 Flavonoides

Los flavonoides generalmente se agrupan en diversas clases que difieren principalmente en el grado de oxidación del anillo pirano central (flavonas, flavonoles, dihidroflavonoles, flavanoles y antocianinas) (Garrido y Borges, 2013). Los principales flavonoides presentes en el vino, se clasifican en flavonoles, flavan-3-oles y antocianinas (Liang *et al.*, 2013). El mayor contenido de flavonoides se presenta durante la floración, seguido de una disminución conforme el fruto aumenta de tamaño. Se observa un nivel significativo de su biosíntesis durante el desarrollo de la baya y, el mayor contenido se presenta de 3 a 4 semanas después al envero (Garrido y Borges, 2013; Zerbib *et al.*, 2018). Durante la vinificación y crianza, los flavonoides interactúan entre ellos y con otros constituyentes del vino (proteínas o polisacáridos), contribuyendo a la estabilidad química y modificando la percepción sensorial de los vinos (Fanzone *et al.*, 2012).

Los flavonoles son pigmentos amarillos presentes en la piel de uvas tintas y blancas. En las uvas se encuentran en forma de glucósidos y en vinos como agliconas (Ribéreau-Gayon, 2006). Diferentes azúcares pueden unirse a los flavonoles formando glucósidos, glucurónidos, galactósidos y diglucósidos. (Garrido y Borges, 2013). Los flavonoles que predominan en la uva son los 3-glucosidos de quercetina y en menor proporción de miricetina. También se han reportado derivados del kaempferol, isorhamnetina, laricitrina y siringetina. Los últimos tres grupos así como los derivados de miricetina son específicos de cultivares tintos (Ali *et al.*, 2010). El contenido de flavonoles es relativamente mayor en cultivares tintos que en blancos. Se han detectado simultáneamente las agliconas kempferol, quercetina, isorhamnetina, miricetina, laricitrina y siringetina, en diferentes tipos de vino tinto. En vinos blancos solo se han determinado

quercetina, kaempferol e isorhamnetina (Ribéreau-Gayon, 2006; Garrido y Borges, 2013).

Las flavonas se caracterizan por la presencia de un doble enlace entre los carbonos C2 y C3 y por la ausencia de un grupo hidroxilo en la posición C3. Estos compuestos son importantes por su actividad farmacológica así como por su relevancia quimiotaxonómica. A excepción de la luteolina, las agliconas o glucósidos de flavonas se encuentran en cantidades insignificantes en la uva. Las isoflavonas, son isómeros de flavonas que presentan el anillo aromático B unido en la posición C3. La genisteína es una isoflavona que ha sido identificada en uva y vino (Garrido y Borges, 2013).

Las antocianinas solo se encuentran en la piel de la uva e imparten el color rojo, púrpura y negro a la uva, característica determinada por su grado de hidroxilación, metilación y/o glucosilación (Ribéreau-Gayon, 2006; Garrido y Borges, 2013). Las antocianinas son sintetizadas mediante dos vías. La primera mediada por la enzima flavonoide 3'-hidrolasa (F3'H) y se sintetizan antocianinas tipo cianidina. La segunda mediada por la enzima flavonoide 3',5'-hidroxilasa (F3'5'H), generándose las antocianinas tipo delphinidina (Liang *et al.*, 2013). Las antocianinas se conforman por 3-O-monoglucósidos y 3,5-O-diglucósidos (en algunas variedades no *vinífera*) (Garrido y Borges, 2013; Liang *et al.*, 2013). En uva tinta y vino tinto se han identificado cianidina (rojo naranja), pelargonidina (naranja), delphinidina (rojo azulado), peonidina (rojo) petunidina y malvidina (rojo azulado). Malvidina es el compuesto más representativo en la uva (*V. vinífera* L.) (Garrido y Borges, 2013).

La cantidad extraída de antocianinas durante la vinificación depende de la duración del proceso y de las condiciones bajo las cuales toma lugar el proceso, así como la temperatura o el grado de ruptura de las uvas (Garrido y Borges, 2013). Pueden ser degradadas a moléculas de bajo peso molecular o bien, transformadas en pigmentos más estables durante la vinificación y crianza (Liang

et al., 2013). Los estudios relacionados a la co-pigmentación son importantes para entender la relación entre la composición de la uva y el color del vino. Los perfiles de antocianinas para cada variedad de uva son relativamente estables, mientras que concentraciones absolutas pueden variar entre diferentes cosechas debido a factores ambientales y agronómicos (Garrido y Borges, 2013). El perfil de antocianinas ha sido propuesto como característica quimiotaxonómica para la clasificación de vinos tintos de las variedades *V. vinífera* L. (Cheynier *et al.*, 2010).

II.2.2.3 Taninos

Los taninos son compuestos polifenólicos que poseen propiedades astringentes, son capaces de provocar la precipitación de proteínas y tienen la capacidad de agregarse e interactuar con polisacáridos jugando un papel importante en la estabilidad coloidal del vino (Ribéreau-Gayon, 2006; Garrido y Borges, 2013). Se componen de unidades base denominados Flavan-3-oles que forman monómeros y oligómeros de flavan-3-oles. Contribuyen al amargor del vino, mientras que sus polímeros contribuyen a la astringencia (Liang *et al.*, 2013). Usualmente se dividen en hidrolizables y no hidrolizables (taninos condensados), estos últimos son los que predominan en uva y vino. En vinos jóvenes los taninos se encuentran principalmente como dímeros o trímeros. Sin embargo, la concentración de estos compuestos disminuye con el envejecimiento debido a los procesos de oxidación y precipitación (Garrido y Borges, 2013).

Los taninos hidrolizables no se encuentran de manera natural en la uva, sin embargo, son los principales taninos comerciales autorizados como aditivos para vino. A los taninos hidrolizables del tipo poliéster también se les conoce como galotaninos (libera ácido gálico al hidrolizarse) o elagitaninos (libera ácido elágico al hidrolizarse) (Ribéreau-Gayon, 2006). La crianza en barricas de madera promueve la extracción de elagitaninos hacia el vino. El ácido elágico ha sido propuesto como un marcador de la madurez del vino dado que se considera un

compuesto característico formado durante la crianza de vinos en barrica (Garrido y Borges, 2013).

Los taninos condensados, también llamados protoantocianidinas, son compuestos poliméricos que dan lugar a las antocianidinas (Cheynier *et al.*, 2010). Se encuentran en cantidades residuales en los componentes sólidos de la uva y en la pulpa. Durante las operaciones de vinificación, estos compuestos son transferidos hacia el mosto (Garrido y Borges, 2013). Las protoantocianidinas identificadas en uvas de *V. vinífera* L. son oligómeros y polímeros de (+)-catequina y (-)-epicatequina (Cheynier *et al.*, 2010). Los taninos condensados más abundantes en uva y vino son procianidinas y prodelfinidinas que hidrolizan a cianidina y delfinidina, respectivamente (Cheynier *et al.*, 2010; Garrido y Borges, 2013). Los taninos de la semilla son polímeros de catequina y epicatequina, así como monómeros de (-)-epicatequina. Los taninos presentes en la piel de la uva contienen (-)-epigallocatequina, trazas de (+)-galocatequina y (-)-epigallocatequina galato. El estudio de las propiedades fisicoquímicas de las proantocianidinas, es muy importante dado que son responsables de las características sensoriales del vino, además juegan un papel importante en los procesos de envejecimiento debido a su oxidación, condensación y polimerización (Garrido y Borges, 2013).

II.2.2.4 Estilbenos

Los estilbenos se localizan principalmente en la piel de la uva, sin embargo, también se han reportado en las semillas y en el tallo de la vid (Ali *et al.*, 2010). El resveratrol es el estilbeno más reportado en la piel y en el vino. Su concentración disminuye significativamente conforme avanza la maduración de la uva (Garrido y Borges, 2013). Es considerado una fitoalexina debido a que es producido por efecto de infecciones por hongos como *B. cinerea*, debido a estrés por antibióticos o bien, estrés abiótico como lo es la irradiación UV (Cheynier *et al.*, 2010). El *cis*-resveratrol se encuentra en altas concentraciones en vinos, debido a la isomerización fotoquímica del *trans*-resveratrol a *cis*-resveratrol durante la

vinificación, mientras que en la uva solo se encuentra en trazas (Cheynier *et al.*, 2010). Los estilbenos también pueden encontrarse en formas oligoméricas y poliméricas conocidas como viniferinas. Entre las viniferinas reportadas se encuentran las ϵ , δ y α -viniferinas, resveratrol dimerico y trimerico (Ali *et al.*, 2010). También se han identificado piceid, astringina, pterostilbeno, palidol, partenocisina y ameuensina. Los vinos que llevan largos procesos de maduración presentan mayor contenido de resveratrol (Garrido y Borges, 2013). Los vinos tintos presentan mayor contenido de estilbenos que los rosados y los blancos (Ali *et al.*, 2010). Las investigaciones con respecto al análisis de estilbenos en el vino tiene el objetivo de correlacionar el perfil con los procedimientos de vinificación y con las diferentes variedades de uva (Garrido y Borges, 2013).

II.2.3 Factores que influyen en el contenido y composición de compuestos fenólicos en el vino

La composición de compuestos fenólicos en el vino depende principalmente de la uva empleada para su elaboración (cultivar), así como de las condiciones de vinificación (prácticas de viticultura y técnicas de vinificación) y conservación. Los cambios cualitativos que se presentan en el vino, con respecto a la composición de la uva empleada para su elaboración, se deben a la formación de nuevos derivados fenólicos. Un buen ejemplo son los derivados de los ácidos hidroxicinámicos, de los cuales, un tercio no se modifica durante el procesamiento y almacenamiento, el otro tercio se oxida y se enlaza a moléculas que contienen grupos sulfhidrilo, mientras que, el último tercio forma complejos con proteínas. El medio en el que se procesa el mosto y el vino también puede contribuir a la formación de nuevos compuestos fenólicos. Los compuestos volátiles, fenoles no volátiles, flavonoides y taninos hidrolizables pueden ser extraídos progresivamente a partir de la madera de la bodega, modificando tanto la composición química del vino como sus características organolépticas (Garrido y Borges, 2013).

Los compuestos fenólicos de la uva se distribuyen principalmente en la piel, el tallo, las hojas y las semillas. El contenido de compuestos fenólicos es claramente afectado por cuatro factores agroecológicos: el cultivar, el año de cosecha (condiciones climáticas de año a año), el lugar de cultivo (origen geográfico de la uva, química del suelo y fertilización) y, el grado de maduración. La pulpa contiene ácidos hidroxicinámicos, y flavan 3-oles (taninos), mientras que las antocianinas se localizan en la piel. La distribución de los compuestos fenólicos en la uva junto con su solubilidad y reactividad, determinan su extracción hacia el mosto y el vino (Cheynier *et al.*, 2010). El contenido de compuestos fenólicos en la piel se encuentra influenciado por el cultivar, la composición del suelo, el clima, origen geográfico, prácticas de cultivo o exposición a enfermedades (Ej. infecciones por hongos) (Garrido y Borges, 2013).

Los métodos de vinificación y procesos tecnológicos aplicados para la elaboración del vino (maceración, fermentación, clarificación, crianza, etc.) modifican significativamente tanto la composición como la concentración de los compuestos fenólicos, así como la intensidad de color y el matiz de los vinos tintos (Garrido y Borges, 2013). Una prolongada maceración, por ejemplo, permite una mayor extracción de compuestos fenólicos (proantocianidinas o taninos condensados principalmente) conforme se incrementa el tiempo de la misma, dando como resultado la producción de vinos con una mayor complejidad química reflejada en el cuerpo y en el sabor (mayor astringencia) (Cheynier *et al.*, 2010). De igual manera, los procesos vigorosos de estrujado y prensado, permiten una mayor extracción de taninos y antocianinas generando vinos con mayor amargor y alta astringencia. En este caso particular, la oxidación enzimática de los fenoles se incrementa, conduciendo al pardeamiento del mosto, precipitación de pigmentos, así como a cambios en las características organolépticas del vino resultante (Garrido y Borges, 2013).

Los compuestos fenólicos son inestables bajo diferentes condiciones del medio, evolucionan durante el proceso de elaboración del vino, incrementando o

disminuyendo su nivel de concentración. Cambios importantes en la concentración de los compuestos fenólicos, por ende, en la coloración del vino, se presentan en las etapas post fermentativas (tratamientos de clarificación, filtrado, centrifugación y la estabilización en frío), así como a diferentes tiempos de añejamiento y almacenamiento del vino (Cheynier *et al.*, 2010; Garrido y Borges, 2013). En el caso de la clarificación, la disminución de compuestos fenólicos individuales depende del tipo de agente clarificante empleado y la estructura del compuesto fenólico. Aunado a la anterior, las características del vino dependen de otros factores como la temperatura, contenido alcohólico, proceso de homogenización del mosto o adición de químicos específicos como el bisulfito (Garrido y Borges, 2013).

Durante el proceso de envejecimiento del vino se presentan cambios cualitativos y cuantitativos en el contenido de compuestos fenólicos y se ve reflejado en el color y el grado de astringencia del vino. Lo anterior se asocia directamente a la presencia de esteres hidroxicinámicos, antocianinas y taninos, así como a su gran reactividad (Cheynier *et al.*, 2010; Garrido y Borges, 2013). La naturaleza de las antocianinas presentes es determinada por el tipo de vino y las condiciones de almacenamiento, su contenido disminuye a lo largo del proceso de envejecimiento del vino y se ve reflejado en un claro cambio de coloración. Además, la temperatura es un punto crítico para el almacenado del vino, dado que es el principal factor de la pérdida de antocianinas (Garrido y Borges, 2013).

II.2.4 Modificación química de la composición de compuestos fenólicos de los vinos

Los cambios en la composición de compuestos fenólicos en el vino, se deben principalmente a la participación de los fenólicos de la uva en la producción de turbidez, reacciones de copigmentación, ciclo-adición, polimerización y oxidación. Estas reacciones enzimáticas y no enzimáticas se presentan desde la molienda de la uva y continúan a través de los procesos de fermentación y

añejamiento, contribuyendo a cambios importantes en las propiedades sensoriales del vino y a su enriquecimiento con nuevos compuestos fenólicos. Durante la fermentación, al incrementarse la temperatura, este tipo de compuestos (catequinas, por ejemplo) pueden sufrir una escisión parcial generando unidades fenólicas de menor peso molecular. Los flavonoides también pueden reaccionar con algunos aldehídos presentes en el medio produciendo compuestos coloridos, responsables del cambio de color en el vino (Garrido y Borges, 2013).

Aun cuando las antocianinas pueden ser estabilizadas por las O-glucosilaciones, son rápidamente hidrolizadas liberando la correspondiente antocianidina y azúcar cuando las células de la uva son rotas o infectadas. El pH es el factor más importante que afecta el color de las antocianinas y antocianidinas, sin embargo, también es afectado por la presencia de iones de metales de transición, la temperatura, tipo de solvente, las características estructurales y la copigmentación (Garrido y Borges, 2013). Durante la maduración y envejecimiento del vino tinto, las antocianinas sufren reacciones de adición con otros constituyentes de vino (flavonoles, ácidos hidroxicinámicos, acetaldehído, entre otros) para producir nuevos pigmentos (derivados de antocianinas) que son considerados más estables e imparten cambios importantes en el vino final. La disminución gradual de antocianinas durante el proceso de envejecimiento del vino es atribuido a las reacciones de condensación con flavonoides (Alberts *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2020). Se sabe que la desaparición de antocianinas ocurre simultáneamente a la formación de pigmentos oligoméricos más estables (Garrido y Borges, 2013).

Los productos de condensación de las antocianinas son menos sensibles al pH por lo que no sufren decoloración y muestran una mayor estabilidad y resistencia a varios procesos de elaboración del vino (Garrido y Borges, 2013). Todos los pigmentos derivados de antocianinas contribuyen al cambio observado en el color del vino que va de un tono rojo púrpura al rojo ladrillo característico de los vinos envejecidos y hay una disminución concurrente en la astringencia debido

a la participación de los taninos en estos procesos (Alberts *et al.*, 2012). Los vinos oxigenados presentan cambios de color característicos junto con un significativo incremento en la concentración de pirano antocianinas y pigmentos relacionados (Garrido y Borges, 2013).

II.2.5 Ácidos orgánicos presentes en la uva y vino

Los principales ácidos orgánicos presentes en la uva, mostos y vino son: L(+)-Tartárico, L(-)-Málico, Cítrico, D-Glucónico, 2-ceto D-Glucónico, Múico y coumaroil tartárico. En la uva el ácido tartárico y el málico son los predominantes, mientras que el succínico y cítrico se encuentran en menor proporción (Mato *et al.*, 2005). El ácido tartárico es uno de los ácidos orgánicos presente con mayor frecuencia en uva inmadura y mostos. En el final de la etapa de crecimiento vegetativo, las uvas pueden alcanzar concentraciones tan altas como 15 g/L. El ácido tartárico no se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza sin embargo es específico de la uva. El ácido L(-)-Málico, se encuentra en todos los organismos vivos, por supuesto en la uva. El contenido de ácido málico en el jugo de la uva justo antes de que cambie de color puede llegar a ser hasta de 25 g/L, mientras que durante las siguientes dos semanas después al cambio de color, su concentración puede disminuir hasta la mitad, tanto por la dilución al crecer la baya como por la combustión (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006).

Los ácidos orgánicos presentes en el vino provienen de la uva (málico, tartárico y cítrico) y, de los procesos a los cuales son sometidos (succínico, láctico y acético) como la fermentación alcohólica, maloláctica y oxidación de etanol, entre otros. Contribuyen a las características organolépticas clave del vino como sabor, color y aroma. Además, los ácidos orgánicos se encuentran relacionados con la estabilidad y control microbiológico, la fermentación maloláctica, la solubilidad de sales de calcio, potasio y ácido tartárico, la cinética de formación e hidrólisis de esteres, la cinética de polimerización de antocianinas en vinos tintos y

finalmente con la incidencia de la inestabilidad de proteínas en vinos blancos (Mato *et al.*, 2005; Masár *et al.*, 2005; Molinero-Abad *et al.*, 2015).

Los principales ácidos orgánicos producidos durante la fermentación son el pirúvico, L(+)-láctico, D(-)-láctico, succínico, acético, citramálico, oxaloacético y fumárico. El ácido pirúvico se encuentra en muy bajas concentraciones en el vino o incluso es casi inexistente, sin embargo, este produce los dos esteroisómeros del ácido láctico (L y D). A partir del fosfoenol piruvato se obtiene el ácido oxaloacético, mientras que a partir del ácido pirúvico se obtiene etanal que es reducido a alcohol durante el proceso de fermentación. Su oxidación produce ácido acético. El ácido succínico se encuentra presente en el vino en alrededor de 1 g/L y presenta un intenso sabor amargo y salado que provoca la salivación, acentúa el sabor y las características del vino (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006).

Los procesos de fermentación del vino se dividen en primarios (clásicos) y secundarios (fermentación manoláctica (FML)). La fermentación clásica es típica de las regiones del sur de Europa (Francia, Italia, España y Portugal) y el ácido tartárico es el que se encuentra presente principalmente. La FML es muy común en las regiones del norte (Austria, Alemania, Republica Checa y Reino Unido) donde el clima es más frío y la intensidad de los rayos del sol es baja conduciendo a mayores niveles de ácido málico (Milovanovic *et al.*, 2019).

Diversos métodos analíticos han sido desarrollados para monitorear la calidad del vino, entre los cuales se encuentran métodos espectrofotométricos, enzimáticos, cromatográficos y electroforéticos. Para la determinación de ácidos orgánicos (ácidos carboxílicos) en vino, los biosensores enzimáticos son ampliamente usados, estos permiten llevar a cabo la identificación individual de compuestos como el lactato y monitorear todo el proceso de fermentación maloláctica. Los analitos generalmente sirven de sustrato para la enzima específica inmovilizada en el sensor, alternativamente, algunos ácidos pueden

inhibir competitivamente la enzima disminuyendo la generación de peróxido de hidrógeno (Milovanovic *et al.*, 2019).

II.3 Métodos para determinación de compuestos fenólicos totales en vino tinto

II.3.1 Métodos espectrofotométricos

El Índice de Folin-Ciocalteu (IFC) descrito en el método OIV-MA-AS2-10 (2013) del compendio de métodos internacionales de análisis de vinos y mostos, se basa en la oxidación de todos los compuestos fenólicos contenidos en el vino por acción del reactivo de Folin-Ciocalteu. Este reactivo se forma a partir de una mezcla de ácido fosfotúngstico ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) y ácido fosfomolibdico ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$). Después de la oxidación de los fenoles, el reactivo de Folin-Ciocalteu es reducido a una mezcla de óxidos azules de tungsteno (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}). La coloración azul producida tiene una absorción máxima en la región de 750 nm, y es proporcional a la cantidad total de compuestos fenólicos originalmente presentes en el vino.

El método ideal para determinar el contenido de polifenoles sería definir todos los compuestos y analizarlos por separado, sin embargo, no siempre es posible debido a la gran diversidad de moléculas y a la complejidad para analizarlas todas. Además, incluso las técnicas más efectivas son difíciles de implementar y muchas veces los resultados obtenidos se encuentran incompletos y su interpretación es difícil, por lo que, estas técnicas no se aplican de manera práctica durante el proceso de vinificación. La evaluación del contenido de polifenoles del vino, expresada como un valor numérico, permite clasificar los vinos de acuerdo con su contenido de polifenoles, así como medir los efectos de una operación de vinificación sobre la extracción de estos compuestos. El índice polifenoles totales (IPT) se basa en la absorción característica a 280 nm de los ciclos bencénicos de la mayoría de los fenoles. Los valores del IPT están

comprendidos entre 6 y 120. A mayor valor, mayor será la concentración en compuestos fenólicos. La medida es una estimación de la cantidad global de compuestos fenólicos presentes en el vino tinto (Ribéreau-Gayon, 2006).

II.3.2 Técnicas cromatográficas para la caracterización de compuestos fenólicos en vinos tintos

Las metodologías más frecuentes para la clasificación, autenticación e identificación de la variedad y origen geográfico de los vinos son las técnicas de separación de alta resolución como la cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) y la cromatografía de gases (GC) acopladas diversos detectores. Entre los sistemas de detección más empleados podemos mencionar a los detectores de arreglo de diodos (DAD) y de espectrometría de masas (MS) (Zanuttin *et al.*, 2019). A continuación, se describen algunas de las investigaciones realizadas para la caracterización de uva y vino, empleando métodos cromatográficos. Los datos se resumen en las Tablas 1 y 2.

Lingua *et al.* (2016) determinaron el perfil de compuestos fenólicos mediante cromatografía de líquidos acoplada a detector de arreglo de diodos y espectrometría de masas (HPLC-PDA-ESI-MS/MS). Emplearon uvas de Cabernet Sauvignon, Merlot y Syrah, cultivadas en la región de San Juan, Argentina. Las uvas fueron procesadas para su vinificación y se tomaron muestras de cada uno de los vinos después de su estabilización. Posteriormente, se determinó la capacidad antioxidante mediante FRAP, ABTS y DPPH. La relación entre el perfil polifenólico y la capacidad antioxidante se evaluó mediante análisis de regresión múltiple por pasos (ARM), mientras que la asociación entre las variables con la variedad de los vinos se determinó por análisis de componente principal (PCA). El contenido fenólico de la uva fue afectado en gran medida por el proceso de vinificación mediante la hidrólisis de flavonoles glucosilados, ácidos hidroxicinamoil tartáricos y ésteres de galato, así como, la formación de pigmentos derivados de

antocianinas. Se observaron diferencias cuantitativamente significativas en el perfil fenólico entre variedades, indicando que el genotipo afecta dicho perfil.

Ese mismo año, Geana *et al.* (2016) reportaron la clasificación quimiométrica de cinco variedades auténticas de vino tinto provenientes del centro vitivinícola Murfatlar, Rumania (vinos jóvenes y con crianza). Se analizaron vinos de las variedades Cabernet Sauvignon, Merlot, Feteasca Negra, Mamaia y Pinot Noir, mediante cromatografía de líquidos acoplada a detector de arreglo de diodos (HPLC-DAD), resonancia magnética nuclear (NMR) y el análisis de antocianinas totales. Se realizó un análisis discriminante lineal (LDA), basado en el perfil de 9 antocianinas, 5 ácidos orgánicos, las relaciones isotópicas ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ y D/H) y el perfil de NMR (^1H y ^{13}C). Los perfiles obtenidos se emplearon para la autenticación del vino.

Por otro lado, Ziółkowska *et al.* (2016) determinaron la huella química de la fracción volátil de 38 vinos blancos y 41 tintos de diversos países y variedades mediante micro-extracción en fase sólida con análisis directo en un detector de espectrometría de masas sin separación previa de compuestos (SPME-MS), permitiendo la diferenciación de vinos de acuerdo a las variedades empleadas para su elaboración, así como por el país de origen. Los resultados obtenidos fueron comparados con aquellos obtenidos mediante análisis por cromatografía de gases acoplada a un sistema de micro-extracción en fase sólida y detector de espectrometría de masas (SPME-GC-MS). La comparación de las muestras se realizó mediante un análisis de componente principal (PCA) seguido de un análisis discriminante lineal (LDA). El mismo análisis estadístico se empleó para los datos obtenidos por ambos métodos analíticos. El sistema SPME-MS presentó mejor discriminación, mayor rendimiento de muestra y menor tiempo de análisis (10 veces menor que al emplear SPME-GC-MS), lo que le confiere ventajas de uso contra el segundo sistema empleado.

Costa *et al.* (2019) determinaron el perfil de antocianinas presente en 83 vinos tintos elaborados con la variedad Merlot, con el objetivo de diferenciar los vinos por su origen geográfico. Los vinos fueron adquiridos de diversos países de Sur América (Argentina, Brasil, Chile y Uruguay) y fueron analizados para la determinación de antocianinas individuales mediante cromatografía de líquidos acoplada a detector de arreglo de diodos (HPLC-DAD). También se llevó a cabo la determinación de polifenoles totales (índice de Folin-Ciocalteu), antocianinas totales, actividad antioxidante y color para todas las muestras. A través de la evaluación de clasificaciones binarias de los datos obtenidos, fue posible identificar las variables (compuestos químicos) para la diferenciación de los vinos por el país de origen. También determinaron que, variables como DPPH, el color del vino y las antocianinas individuales, se encuentran entre las más importantes para la caracterización de los vinos Merlot.

Laitila *et al.* (2019) desarrollaron un método mediante la implementación de cromatografía de líquidos de ultra presión acoplada a detector de arreglo de diodos y espectrometría de masas (UPLC-DAD-MS/MS), para el análisis cualitativo y semi cuantitativo de antocianinas y aductos derivados de antocianinas, presentes en vinos tintos comerciales. El método detectó iones en lugar de moléculas, por lo que, se produjeron huellas digitales cromatográficas 2D. Se detectaron 18 grupos de polifenoles del vino, incluyendo 50 pigmentos monoméricos individuales, así como el perfil químico de tres tipos diferentes de aductos de malvidina-proantocianidina oligoméricas. Para probar las funciones cualitativas y cuantitativas se emplearon 10 vinos modelo.

Tabla 1. Investigaciones realizadas para la caracterización fenólica de uva y vino a nivel internacional

Autores	Determinaciones realizadas	Muestra	Sistema empleado	Ta	Lugar de origen
Lingua <i>et al.</i>, 2016	Perfil de compuestos fenólicos (Antocianinas, flavonoles, flavanoles, ácidos fenólicos y estilbenos).	Uva de las variedades: Cabernet Sauvignon Merlot y Syrah. Vinos tintos producidos a partir de las uvas y los hollejos	HPLC-DAD-MS/MS	30 min	Argentina
Geana <i>et al.</i>, 2016	Perfil de antocianinas (9) y ácidos orgánicos (5) para la clasificación de vinos tintos de acuerdo a la variedad	Vinos tintos: Cabernet Sauvignon, Merlot, Feteasca Negra, Mamaia, Pinot Noir	HPLC-DAD Otros métodos: Antocianinas totales, NMR	NR	Rumania
Ziólkowska <i>et al.</i>, 2016	Perfil de compuestos volátiles para la diferenciación de vinos por la variedad y origen geográfico	Vinos varietales Blancos (38) Chardonnay, Sauvignon Blanc, Muscat Tintos (41) Cabernet Sauvignon Merlot	SPME-MS Otros métodos: SPME-GC-MS	NR	Chile, USA, Francia, Bulgaria, Moldavia, España, Argentina, Australia y Sur África
Costa <i>et al.</i>, 2019	Perfil de antocianinas	83 Vinos tintos variedad Merlot	HPLC-DAD-MS Otros métodos: Indice de Folin-Ciocalteu Antocianinas totales	NR	Argentina (17), Brasil (12), Chile (48) y Uruguay (6)
Laitila <i>et al.</i>, 2019	Perfil de antocianinas para la caracterización de vinos tintos	Vinos tintos comerciales	UPLC-DAD-MS/MS	12 min	No se indica la procedencia
Valentin <i>et al.</i>, 2020	Perfil de compuestos fenólicos y compuestos volátiles para la clasificación de vinos (Tipicidad)	Vinos tintos variedades: Malbec, Merlot, Tannat	HS-SPME-GC-MS HPLC-MS-QTOF HPLC-MS/MS	25 min	Argentina, Brasil Uruguay

Ta: Tiempo de análisis por inyección; NR: No reportado; HPLC: Cromatografía de líquidos de alta presión; DAD: Detector de arreglo de diodos; GC: Cromatografía de gases; MS: Espectrometría de masas; QTOF: Cuadrupolo tiempo de vuelo; HS: espacio de cabeza; SPME: Micro extracción en fase solida; UPLC: Cromatografía de líquidos de ultra presión.

Valentin *et al.* (2020) analizaron 83 vinos con base en el perfil de compuestos fenólicos y compuestos volátiles presentes. Los vinos representaron cuatro categorías comerciales (Malbec argentino, Merlot brasileño, Tannat uruguayo y Carménère chileno). El objetivo fue identificar los compuestos químicos que podrían tipificar cada categoría. De 600 picos obtenidos mediante diversos métodos cromatográficos (HS-SPME-GC-MS; HPLC-MS-QTOF y HPLC-MS/MS), 169 fueron identificados y 53 fueron seleccionados para un análisis estadístico multivariante, permitiendo la identificación del perfil químico que caracteriza a los vinos chilenos de Carménère y realizar algunas observaciones sobre las otras tres categorías. Se estableció una base de datos para un análisis más detallado de la autenticidad o tipificación de los vinos sudamericanos.

Tabla 2. Investigaciones a nivel nacional realizadas para la caracterización fenólica de uva y vino mexicanos.

Autores	Determinaciones realizadas	Muestra	Sistema empleado	Ta	Estado productor
Molina-Quijada <i>et al.</i>, 2010	Ácido gálico, clorogenico, Catequina, epicatequina rutina y resveratrol	Extractos de piel de uva de mesa Verdes: Perlett y Sugra One Tintas: Flame y Red globe	HPLC-UV-Vis Otros métodos: Folin-Ciocalteu Flavonoides totales ABTS DPPH	60 min	Sonora
Acuña-Avila <i>et al.</i>, 2016	Composición elemental-suelo Catequina, epicatequina, resveratrol, piceid	Uva y vinos tintos jóvenes de la variedad Cabernet Sauvignon	HPLC-DAD Otros métodos: Folin-Ciocalteu DPPH	75 min	Baja California Querétaro
Franco-Bañuelos <i>et al.</i>, 2017	Compuestos fenólicos totales Capacidad antioxidante	Uva blanca: Furmint, Palomino, Semillon Sauvignon Vert Uva tinta: Cabernet Sauvignon, Merlot, Rubired, Petite Syrah	Brix, pH, Acidez total Folin-Ciocalteu ABTS DPPH	---	Zacatecas

Ta: Tiempo de análisis por inyección; HPLC: Cromatografía de líquidos de alta presión; DAD: Detector de arreglo de diodos; UV-Vis: Ultravioleta visible.

A nivel nacional, Molina-Quijada *et al.* (2010) evaluaron la capacidad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos totales en extractos del epicarpio de uva de mesa (*Vitis vinífera* L.) de dos variedades verdes (Sugra One y Perlette) y dos rojas (Red globe y Flame) cultivadas en la región de Pesqueira, cerca de Hermosillo. Además, se evaluó el extracto de una variedad tinta para uso industrial (Carignan) cultivada en la región de la Costa de Hermosillo y destinada a la producción de aguardiente. El contenido total de compuestos fenólicos fue determinado mediante el método de Folin-Ciocalteu, mientras que la identificación de compuestos fenólicos individuales se realizó mediante la implementación de cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) acoplado a un detector de luz ultravioleta. Los compuestos individuales identificados fueron ácido gálico, rutina y resveratrol (Carignan, Red Globe y Perlette). La capacidad antioxidante fue evaluada mediante los métodos de estabilización de los radicales de ABTS^{•+} y DPPH[•]. La capacidad antioxidante de los extractos se incrementó en el siguiente orden Sugra One < Flame < Perlette y Red Globe < Carignan.

Posteriormente, Acuña-Avila *et al.* (2016) realizaron un estudio para determinar la relación entre la composición elemental del suelo de cultivo y las uvas, así como el contenido de compuestos bioactivos (catequina, epicatequina, resveratrol y piceid). Se analizaron extractos etanólicos de uvas tintas, para la cuantificación total e individual de compuestos fenólicos mediante cromatografía de líquidos de alta eficiencia acoplado a un detector de arreglo de diodos (HPLC-DAD). El perfil químico de las uvas fue comparado con el de dos vinos jóvenes de la variedad Cabernet Sauvignon cosecha 2010, uno proveniente de Querétaro y el otro de la región de Baja California, México. Se observó que la composición elemental del suelo y las uvas están relacionadas con la ubicación dentro de diferentes regiones productoras. Mientras que un análisis de componentes principales (PCA) mostró una relación entre el alto contenido de metales (Sr, Mn, Si y Pb) y las mayores concentraciones de antioxidantes en las uvas.

Finalmente, Franco-Bañuelos *et al.* (2017) evaluaron el contenido total de compuestos fenólicos (Folin-Ciocalteu) y la capacidad antioxidante (ABTS y DPPH) de cuatro variedades de uva blanca (Furmint, Palomino, Semillon y Sauvignon Vert) y cuatro tintas (Cabernet Sauvignon, Merlot, Rubired y Petite Syrah) producidas en el Departamento de Agricultura de la Universidad Autónoma de Zacatecas. El contenido total de compuestos fenólicos fue significativamente mayor en las variedades tintas Rubired y las blancas Furmint.

II.3.3 Nuevas metodologías

II.3.3.1 Lengua electrónica (Sensores electroquímicos)

Los compuestos fenólicos son compuestos electroquímicamente activos, por lo que pueden ser oxidados fácilmente sobre electrodos inertes. Lo anterior ha permitido el empleo de técnicas voltamperométricas para la caracterización de polifenoles en alimentos y bebidas, tanto con electrodos de disco clásicos como con electrodos serigrafiados desechables. Durante las últimas décadas se han desarrollado dispositivos conocidos como lenguas electrónicas para el control de la calidad en alimentos. Éstos se basan en sensores electroquímicos ya sean potenciométricos, amperométricos, impedimétricos o voltamperométricos. En la actualidad, las lenguas voltamperométricas emplean sensores con electrodos serigrafiados, estos dispositivos presentan una alta sensibilidad, son de bajo costo, desechables y pueden llegar a ser portátiles, por lo que, representan una gran ventaja comparada con los métodos espectroscópicos y cromatográficos. Las lenguas electrónicas se han empleado de manera exitosa para el análisis de vinos con el objetivo de clasificarlos por el lugar de origen o variedad, o mediante una predicción numérica de componentes químicos o descriptores sensoriales. La voltamperometría cíclica ha sido una de las técnicas más empleadas para el análisis de compuestos fenólicos en vinos, así como para predecir la oxidabilidad de vinos blancos, además, la voltamperometría diferencial de pulso ha sido

empleada para la determinación de compuestos fenólicos en vinos y la caracterización de su comportamiento electroquímico (Kilmartin, 2016; Newair *et al.*, 2017; Garcia-Hernandez *et al.*, 2020). A continuación, se describen algunas de las investigaciones realizadas con lenguas electrónicas y electrodos serigrafiados. Los datos se resumen en la Tabla 3.

Tabla 3. Investigaciones realizadas para el análisis de uva y vino a nivel internacional empleando sensores electroquímicos.

Autores	Determinaciones	Muestra	Técnica	Sistema electroquímico
Dhroso <i>et al</i> (2010)	Ácidos: gálico, cafeico, sinápico, y 4-hidroxibenzoico.	Vinos italianos Blancos, Rosados, Tintos	VC	Electrodos serigrafiados de trabajo, auxiliar de grafito y de referencia de plata
Lanzellotto <i>et al.</i>, 2014	Compuestos fenólicos totales	Vinos italianos comerciales Blanco (1) Tinto (1)	VC-FIA Otros métodos: FC	Celda convencional y de micro-flujo. Electrodo de referencia de Ag/AgCl/KCl, auxiliar de grafito y de trabajo de oro modificado con capas de: nanopartículas de oro, fullereno y enzima lacasa extraída del hongo <i>Trametes versicolor</i> .
Medina-Plaza <i>et al.</i>, 2015	Compuestos fenólicos totales Glucosa	Jugos de uva: Tempranillo, Garnacha, C. Sauvignon, P. Picudo, Mencía	VC Otros métodos: PT	Electrodos serigrafiados modificados con: carbono, platino, oro, grafeno, azul de Prusia y nanopartículas de óxido de níquel, recubiertos con glucosa oxidasa o tirosinasa.
Newair <i>et al.</i>, 2017	Ácidos fenólicos Flavonoides y Antocianinas totales	Vinos franceses 2012: Syrah/G. Noir; G. Noir/Syrah/Mourvedre, P. Noir, 2010: Malbec y Merlot	VOC Otros métodos: FC PT y AT HPLC– DAD–FD	Electrodo de carbón vítreo y electrodos serigrafiados de carbono modificados con simples o múltiples capas de nanotubos de carbono. Electrodos de referencia de Ag/AgCl y auxiliares de platino
Garcia-Hernandez <i>et al.</i>, 2020	Compuestos fenólicos totales	Vino español: Tempranillo y Syrah	VC Otros métodos: FTIR FC y PT	Electrodos serigrafiados con electrodos de trabajo de diferentes materiales. Cada sensor conto con un electrodo de referencia (plata) y un electrodo auxiliar (carbón o platino)

VC: Voltamperometría cíclica; FIA: Análisis por inyección de flujo; VOC: Voltamperometría de onda cuadrada; FC: Folin-Ciocalteu; PT: Polifenoles totales; AT: Antocianinas totales; FTIR: Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier; HPLC: Cromatografía de líquidos de alta presión; DAD: Detector de arreglo de diodos; FD: Detector de fluorescencia.

Dhroso *et al.* (2010) desarrollaron un método electroquímico rápido para la caracterización de una serie de 9 vinos italianos (dos blancos, dos rosados y cinco tintos) mediante la evaluación del contenido de compuestos fenólicos presentes. Se realizaron análisis por voltamperometría cíclica empleando electrodos serigrafiados de grafito, mediante los cuales se lograron observar los picos de oxidación atribuidos a diferentes grupos de compuestos fenólicos. La celda electroquímica estaba conformada por un electrodo de trabajo de grafito, electrodo de referencia de plata y electrodo auxiliar de grafito. Los vinos tintos fueron diluidos (1:10) con solución amortiguadora de acetato previo a su análisis. Se emplearon soluciones de referencia de los ácidos gálico, cafeico, sinápico, y 4-hidroxibenzoico.

Lanzellotto *et al.* (2014) desarrollaron un sensor enzimático nanoestructurado basado en la funcionalización de un electrodo de trabajo de oro con multicapas de nanomateriales, las cuales consistieron de una capa de nanopartículas de oro (AuNPTs), una capa de fullereno y una capa de la enzima lacasa extraída del hongo *Trametes versicolor*. Para los análisis emplearon celdas y electrodos convencionales así como una celda de microflujo con electrodos serigrafiados. Los biosensores demostraron rápida respuesta amperométrica al ácido gálico, usualmente considerado como estándar para el análisis de vinos. La celda electroquímica estaba conformada por un electrodo de trabajo de oro modificado, un electrodo auxiliar de grafito y un electrodo de referencia de Ag/AgCl/KClsat. Se determinó el contenido de compuestos fenólicos como equivalentes de ácido gálico, mediante voltamperometría cíclica bajo análisis por inyección de flujo (FIA), en un vino blanco y uno tinto adquiridos de comercios locales en Roma, Italia.

Posteriormente, se implementó una lengua bio-electrónica para discriminar entre los mostos obtenidos de diferentes variedades de uva tinta (Tempranillo, Garnacha, Cabernet Sauvignon, Prieto Picudo y Mencía), mediante voltamperometría cíclica. El sistema combinó electrodos serigrafiados modificados

con carbono, platino, oro, grafeno, azul de Prusia y nanopartículas de óxido de níquel, recubiertos con glucosa oxidasa o tirosinasa, para la electro-catálisis de glucosa o polifenoles, respectivamente. Todos los electrodos serigrafiados estaban conformados por un electrodo de pseudo referencia (Ag/AgCl) y electrodo auxiliar de carbono o platino. El bajo precio, fácil uso y portabilidad del sistema de electrodos serigrafiados convierte a la lengua electrónica desarrollada en una alternativa que puede ser usada *in situ* en el viñedo (Medina-Plaza *et al.*, 2015).

En 2017 diferentes vinos tintos franceses fueron caracterizados electroquímicamente empleando voltamperometría de onda cuadrada. Los vinos empleados fueron: DOP (denominación de origen protegida) Côtes du Languedoc-Montpeyroux (Syrah/Grenache Noir, 2012), DOP Côtes du Rhône (Grenache Noir/Syrah/Mourvedre, 2012), IGP (Indicación Geográfica Protegida) Pays d'Oc (Pinot Noir, 2012), DOP Cahors (Malbec, 2010) y DOP Puisseguin Saint-Emilion (Merlot, 2010). Las mediciones fueron realizadas empleando un electrodo de carbón vítreo y electrodos serigrafiados de carbono modificados y no modificados con simples y multicapas de nanotubos de carbono. Los electrodos serigrafiados de carbono modificados con una sola capa de nanotubos de carbono (SWCNTs-SPCE) mostraron los mejores resultados para la detección de compuestos fenólicos en vinos tintos. Los voltamperogramas mostraron tres picos de oxidación, el primero correspondiente a los grupos catecol y galoil de los polifenoles (en el flavonoide del anillo B), el segundo correspondiente a la malvidina y el tercero correspondiente a la segunda onda de oxidación de los flavonoides (Newair *et al.*, 2017).

Finalmente, Garcia-Hernandez *et al.* (2020) desarrollaron una metodología basada en métodos multimetricos para la evaluación de catorce parámetros relacionados con el contenido de compuestos fenólicos, en ocho tipos de vino tinto español, elaborados con diferentes variedades de uva de diferentes regiones y con diferente tiempo de añejamiento. Para lo cual se implementó una lengua electrónica voltamperométrica con electrodos serigrafiados y espectroscopia

infrarroja (FTIR). Los análisis de componente principal (PCA) fueron empleados para discriminar vinos acorde al contenido de compuestos fenólicos tanto para los análisis por FTIR como con la lengua electrónica. Se emplearon seis electrodos serigrafiados con electrodos de trabajo de diferentes materiales (Carbón, óxido de níquel/carbón, polianilina/carbón, grupos carboxilo funcionalizados con multicapas de nanotubos de carbono/carbón, grupos carboxilo funcionalizados con una sola capa de nanotubos de carbono/carbón, platino), cada sensor conto con un electrodo de referencia (plata) y un electrodo auxiliar (carbón o platino).

II.3.3.2 Síntesis verde de nanopartículas de oro (AuNPs)

Aunado a los métodos electroquímicos (potencial reductor), diversos grupos de investigación han propuesto la síntesis de nanopartículas de oro como una técnica para la determinación del poder antioxidante (Wang *et al.*, 2006, Vilela *et al.*, 2014; Stozhko *et al.*, 2019).

Se han desarrollado diversos métodos físicos y químicos para la síntesis de nanopartículas de metales nobles como el oro. Sin embargo, muchos presentan desventajas como emplear reactivos tóxicos, de altos costos por el consumo energético, así como el uso de estabilizantes y agentes reductores peligrosos para el medio ambiente y la salud humana. Como alternativa, se han empleado extractos de plantas constituidos por una diversidad de moléculas antioxidantes capaces de reducir iones metálicos a especies metálicas. Dichos antioxidantes presentan grupos hidroxilo y/o cetónicos que promueven la unión de las nanopartículas formadas, mejoran la estabilidad y evitan su aglomeración (Vilela *et al.*, 2014; Tułodziecka *et al.*, 2016; Usman *et al.*, 2018).

Las AuNPs se caracterizan por poseer una gran área de superficie, capacidad conductora, un rápido transporte de masa y carga. Además, presentan una banda

de absorción del plasmón superficial a una longitud específica en el espectro UV-Visible.

Durante la formación de las AuNPs intervienen compuestos antioxidantes como los polifenoles. La alta capacidad de reducir el Au (III) a Au (0) se relaciona con una elevada actividad antioxidante. Por lo tanto, este proceso se ha empleado para determinar la capacidad antioxidante de muestras complejas (Mubarak et al., 2011; Vilela et al., 2014; Tułodziecka et al., 2016).

Diversas matrices se han empleado para la síntesis de AuNPs (Dzimitrowicz et al., 2018). Respecto a la uva y sus derivados, entre los estudios más recientes, se pueden mencionar los siguientes.

González-Ballesteros et al. (2018) llevaron a cabo la síntesis de Au y Ag NPs empleando un extracto acuoso de Orujo de uva (*Vitis vinífera*). Posteriormente, se empleó la formación de AuNPs a partir de mostos para la diferenciación de la variedad de la uva (Rodríguez et al., 2018). Recientemente, Gubitosa et al. (2022) emplearon un extracto acuoso crudo de semillas, piel y tallos de uva (*Vitis vinífera*) para la síntesis de AuNPs como una alternativa para el uso de los desechos del orujo durante la vinificación. Sin embargo, dentro del alcance de esta investigación, no hay estudios referentes a la formación de las AuNPs empleando vinos tintos como un método para la determinación de la capacidad antioxidante y su diferenciación por la variedad o tipo de vino.

II.3.3.3 Microsistemas de electroforesis capilar

La microfluídica tiene un papel importante para la industria agroalimentaria, permite la miniaturización de dispositivos analíticos con el objetivo de mejorar el desempeño, disminuir el consumo de reactivos, tiempo y costos de análisis. Los microchips de electroforesis capilar (MEC) poseen, además, la ventaja de ser sistemas amigables con el medio ambiente, automatizados e integrados, por lo

tanto, pueden llegar a ser sistemas portátiles e inclusive desechables, que permiten su aplicación en sitio, contrario a los equipos de cromatografía de líquidos y electroforesis capilar acoplados a detectores de fluorescencia y de espectrometría de masas, que requieren equipo complejo y personal altamente capacitado. Otra limitante para los métodos cromatográficos tradicionales es que tienen un alto costo, consumen mucho tiempo, requieren mayor volumen de muestra y reactivos (Escarpa, 2014; Acunha *et al.*, 2015; Ferey y Delaunay, 2016; Kim *et al.*, 2016). A continuación, se describen algunas de las investigaciones realizadas con microistemas de electroforesis capilar. Los datos se resumen en la Tabla 4.

Uno de los métodos de detección más ampliamente usado en combinación con la microfluídica es la electroquímica, debido a su inherente miniaturización y su alta compatibilidad con las técnicas de microfabricación. Sin embargo, no es tan sensible como los métodos de detección por fluorescencia y espectrometría de masas. A este respecto, la nanotecnología ofrece valiosas herramientas para la detección electroquímica en particular para el electroanálisis, debido a que permite la modificación de electrodos empleando nanomateriales como nanopartículas metálicas y de carbono, nanotubos, nanohilos y grafeno, entre otros. Estos materiales poseen gran superficie activa, alta conductividad, resistencia a la pasivación y excelentes propiedades electrocatalíticas, por lo que han revolucionado los métodos electroquímicos en términos de sensibilidad, selectividad y reproducibilidad (Agüí *et al.*, 2008; Crevillen *et al.*, 2009; García *et al.*, 2014; Sierra *et al.*, 2017; Sierra *et al.*, 2019). A continuación, se describen las investigaciones desarrolladas para la separación y detección de compuestos químicos en vino, empleando microistemas de electroforesis capilar acoplados a detectores electroquímicos.

Kovachev *et al.* (2010) evaluaron el contenido de compuestos fenólicos presentes en extractos metanólicos de piel y pulpa de manzana, piel y pulpa de pera, vino tinto y vino blanco. Para lo anterior, llevaron a cabo la implementación

de un microsistema con detección amperométrica, en el cual, se seleccionaron diferentes valores de pH con base en los valores de pKa de los compuestos fenólicos bajo estudio. Inicialmente determinaron las condiciones adecuadas para la obtención del índice electroquímico clase-selectivo (CSEID), mediante el cual se realizó una rápida medición del índice total de las principales familias antioxidantes presentes, con el objetivo de relacionar la estructura química en la muestra con su actividad antioxidante. Para lograr la separación de las familias tanto el pH de la muestra como el de la solución amortiguadora fueron ajustados, de tal manera que los flavonoides presentes se encontraron en su estado neutro, mientras que los ácidos fenólicos se encontraban en su forma ionizada. Para la mezcla de los estándares, se logró observar la presencia de dos picos únicamente, el primero correspondió a la familia de flavonoides, mientras que el segundo correspondió a la familia de ácidos fenólicos. En las muestras solo se observó el pico de flavonoides, indicando el que esta familia de antioxidantes se encuentra en mayor proporción. Posteriormente, se determinaron las condiciones adecuadas para la separación individual de los analitos bajo estudio, con lo cual se determinó el índice antioxidante individual (IAD), y al analizar las muestras se logró determinar la composición de los antioxidantes individuales presentes en cada muestra. Los analitos analizados fueron: (+)-catequina, rutina, quercetina, ác. clorogénico, ác. ferúlico, ác. cafeico, ác. protocatecuico, ác. vanílico y ác. gálico, de los cuales se determinó la (+)-catequina en todas las muestras y la rutina solo en el extracto de piel de manzana y en el extracto del té verde (Kovachev *et al.*, 2010).

Posteriormente, se desarrolló un chip microfluídico (MFCA) empleando polidimetilsiloxano (PDMS) y cristal, para la determinación de compuestos electroactivos (antioxidantes polifenólicos) en té verde y vino tinto. El detector electroquímico estaba conformado por electrodos de oro embebidos en el cristal. La superficie de los microcanales fueron tratados con una descarga de gas empleando un generador de plasma. Se logró la separación de Epigallocatequina (EGC), Epigallocatequina galato (EGCG), Epicatequina (EC), Galocatequina galato

(GCG) y Epicatequina galato (ECG) en menos de 250 s, mostrando tiempos de análisis mucho menores a los obtenidos mediante cromatografía electrocinética micelar (MEKC) en los que se alcanzaron tiempos de hasta 20 minutos. Los límites de detección para los polifenoles determinados fueron: 3.5 µg/ml para EC y EGC, 3.2 µg/ml para ECG, y 2.3 µg/ml para EGCG. El rango analítico fue de dos órdenes de magnitud. Los resultados obtenidos para la medición de las muestras mediante el sistema MFCA fueron comparados con los obtenidos mediante cromatografía electrocinética micelar (MEKC) mostrando una buena concordancia (Nikovaev *et al.*, 2015).

Tabla 4. Investigaciones realizadas para el análisis de vino empleando microsistemas de electroforesis capilar (EMC).

Autores	Analitos determinados	Muestra	MCE/Electrodos	Ta	Otro sistema empleado
Kovachev <i>et al.</i>, 2010	Ácidos fenólicos totales y flavonoides totales (+)-Catequina Rutina	Vino tinto y blanco	Glass/PDMS de T Sencilla con celda amperométrica a la salida del capilar de separación. Electrodo de referencia de Ag/AgCl, electrodo de trabajo de carbón vítreo/platino	<100 s y <260 s	---
Nikovaev <i>et al.</i>, 2015	Antioxidantes: EGC, EGCG, EC, GCG, ECG	Vino tinto	Glass/PDMS de T Sencilla con electrodos de oro embebidos en el cristal	<250 s	Cromatografía electrocinética micelar (MEKC) t _A = 20 min

Ta: Tiempo de análisis por inyección; PDMS: Polidimetilsiloxano; EGC: Epigalocatequina, EGCG: Epigalocatequina galato, EC: Epicatequina, GCG: Galocatequina galato, ECG: Epicatequina galato

II.4 Métodos quimiométricos para el análisis de datos

En la actualidad se han desarrollado y aplicado diversos métodos quimiométricos basados en cálculos matemáticos, estadísticos y lógicos, con el objetivo de establecer o seleccionar procedimientos que nos permitan discriminar,

medir, clasificar y modelar sistemas, así como, utilizar la máxima información relevante de los datos analíticos disponibles. Éstos pueden ser usados para análisis cualitativo y cuantitativo. El enfoque cualitativo puede usarse para la exploración de datos con el objetivo de separar información útil (detectar valores atípicos, indicar patrones o tendencias), o para la discriminación y clasificación (atribuir muestras a una clase en particular). Para aplicar este enfoque, primero se construye un modelo de clasificación basado en una biblioteca de muestras conocidas, posteriormente se usa una biblioteca separada de respuestas para probar el modelo. El enfoque cuantitativo o métodos de predicción, se emplean para la calibración multivariada, es decir, para determinar la concentración de analitos a partir de mediciones múltiples (Ej. datos voltamétricos, electrodos múltiples, etc). La calibración multivariada se puede lograr mediante la deconvolución de datos para obtener contribuciones de analitos individuales y luego usar métodos de calibración simples (área de pico, etc.) o tratando los datos como un todo y aplicando regresión multivariada (Witkowska, 2016; del Valle, 2017).

El análisis de componentes principales (PCA) es el método más utilizado para la exploración y el análisis de datos en todo el campo científico. Es particularmente útil para reducir el número de variables de una gran matriz de datos multivariada, sin la pérdida de información relevante, mediante la identificación de un pequeño conjunto de características que representan los datos originales. Las ventajas al tratar con un conjunto de datos reducido en lugar de los datos originales son: habilidad de visualizar los datos en 2D o 3D, menor espacio de almacenamiento, eliminar la colinealidad y reducción del ruido. Los datos originales se proyectan en nuevas coordenadas, con nuevos ejes conocidos como componentes principales (PC). La primera PC corresponde a la dirección a lo largo de la cual los datos varían más e incorpora la mayor cantidad de variación común de los datos. El segundo PC corresponde a la dirección a lo largo de la cual los datos varían más después de la primera dirección, explica la mayor cantidad de la

varianza en los datos que no es capturada por el primer PC y es ortogonal a éste. En el caso de los datos lineales, la mayoría de las variaciones generalmente se pueden describir con solo 2 o 3 PC (correlación y redundancia en los datos originales). Este método utiliza proyección lineal, por lo tanto, el ruido aleatorio (que no se ajusta al modelo) se almacena en las últimas PC y solo identifica nuevas dimensiones que son las combinaciones lineales de las originales, sin embargo, dado que las nuevas dimensiones son fáciles de calcular, sigue siendo el método de elección para el procesamiento de datos (Witkowska, 2016; Kherif *et al.*, 2020).

El método de mínimos cuadrados parciales (PLS) se utiliza cuando el número de variables independientes excede significativamente el número de puntos de datos. Es un modelo estadístico lineal en el que se aplica un procesamiento similar al PCA. Se aplica una regresión lineal a cada componente principal para obtener un modelo de regresión entre datos y concentraciones. El análisis jerárquico de conglomerados (HCA) es un método no supervisado que se utiliza comúnmente para producir dendrogramas, es decir, diagramas que muestran las relaciones entre muestras individuales dentro del conjunto de datos. Las muestras se emparejan como ramas del dendrograma, calculando la distancia (por ejemplo, euclidiana) entre cada muestra. La regresión de componentes principales (PCR), como lo indica su nombre, realiza la regresión en función de la gráfica de puntajes y cargas generada por PCA. El usuario elige cuántas PC deben usarse para la regresión, sin embargo, el uso de menos PC aumenta la precisión, eliminando información innecesaria (Witkowska, 2016; del Valle, 2017).

III. HIPÓTESIS

La implementación de métodos analíticos basados en potencial reductor como la síntesis verde de nanopartículas de oro (AuNPs) y los microsistemas de electroforesis capilar acoplados a detección electroquímica, permitirá la diferenciación de vinos tintos comerciales de Querétaro y Aguascalientes con respecto a la composición química.

IV. OBJETIVOS

IV.1 General

Desarrollar e implementar dos métodos analíticos no convencionales para la diferenciación química de muestras de vinos tintos comerciales, mediante la determinación de la diversidad en el contenido de compuestos fenólicos, potencial antioxidante y capacidad de formación de nanopartículas de oro (AuNPs).

IV.2 Particulares

1. Determinar la huella química de compuestos fenólicos volátiles y no volátiles, presentes en muestras de vinos de Querétaro y Aguascalientes, mediante Folin-Ciocalteu, antocianinas totales (pH diferencial), Cromatografía de Líquidos de Alto Rendimiento acoplado a Detector de Arreglo de Diodos y Espectrometría de Masas (UPLC-DAD-EM), así como Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (CG-EM).
2. Evaluar el comportamiento electroquímico de los extractos de uvas y muestras de vino mediante voltamperometría de pulso diferencial (DVP) y voltamperometría cíclica (VC).
3. Evaluar la formación de nanopartículas de oro (AuNPs) como un método para la diferenciación de vino tinto y la determinación de su capacidad antioxidante.
4. Elaboración y evaluación de la funcionalidad de los microsistemas de electroforesis capilar con electrodos fijos de platino y con electrodos móviles (plata, micro carbón y platino).

V. METODOLOGÍA

V.1 Material de estudio

Se emplearon vinos tintos jóvenes producidos a partir de frutos de vid (*Vitis vinífera* L.) de diferentes cultivares (Tempranillo y Merlot) adquiridas en vinos del Marques localizado en el Valle del Marques, carretera Atongo km 4.5, Amazcala, El Marqués, Querétaro de Arteaga (20° 58' N, 100° 09' O, 1850 msnm). De manera adicional, se adquirió un vino tinto joven del cultivar Cabernet Sauvignon de viñedos La Redonda ubicada en carretera San Juan del Río a Ezequiel Montes, kilómetro 33.5, Ezequiel Montes, Querétaro. Así como vinos tintos jóvenes de las variedades Merlot y Cabernet Sauvignon de Valle Redondo (línea cuatro soles) ubicado en carretera Calvillo, kilómetro 6.5, Valle Dorado, Aguascalientes, Ags.

Reactivos: los ácidos protocatecuico, caféico, rosmarínico, *p*-cumárico, clorogénico, vanílico, ferúlico, elágico, gálico, siríngico, los flavonoides rutina, quercetina, catequina, epicatequina, epigallocatequina galato, miricetina, naringenina, hesperetina, apigenina, el ácido 2-morfolinoetanosulfónico monohidrato (MES), Na₂BO₄O₇, H₃BO₄, NaOH, NaH₂PO₄, Na₂HPO₄, ácido fórmico, fueron obtenidos de Sigma-Aldrich (St. Louis Mo, USA). Los solventes agua y CH₃CN, fueron grado LC/MS línea optima obtenidos de Fisher chemical. Todos los reactivos no especificados fueron J. Baker y SIGMA.

V. 2 MÉTODOS

V.2.1 Preparación de muestras

VI.2.1.1 Compuestos fenólicos volátiles en vinos comerciales

Para la determinación del contenido de compuestos fenólicos volátiles, se colocaron 10 ml de cada uno de los vinos comerciales en viales ámbar de 20 ml para headspace. Estos viales contenían 3 g ($\pm$ 0.02) de NaCl con el objetivo de saturar la solución y mejorar la volatilización de los componentes de la muestra.

Los viales fueron congelados a -70 °C hasta su posterior análisis (Hjelmeland *et al.*, 2013).

V.2.2 Determinación del índice de Folin-Ciocalteu (IFC)

Se realizó la determinación del contenido total de ácidos fenólicos presentes en los vinos tintos jóvenes, mediante la una modificación al método de Folin-Ciocalteu (Adaptado Singleton y Rossi, 1965). Para la curva de calibración se empleó el estándar de ácido gálico. Posteriormente, se determinó el contenido de compuestos fenólicos totales mediante la interpolación de las absorbancias obtenidas para cada uno de los vinos en la curva de calibración elaborada. Para los vinos tintos se probaron diferentes diluciones hasta obtener una lectura que pudiera ser interpolada en la curva de calibración. La dilución final fue de 50 μ l del vino tinto aforado a 1 ml con agua desionizada. Los resultados fueron expresados como miligramos equivalentes de ácido gálico/litro de vino.

V.2.3 Determinación de antocianinas totales (pH-diferencial)

La determinación del contenido total de antocianinas se realizó mediante análisis directo de la densidad óptica (DO) de una dilución adecuada del vino a 510 nm para la solución amortiguadora de acetato de sodio (pH 4.5, 0.4 M) y a 700 nm para la dilución en cloruro de potasio (0.025 M, pH 1.0). El volumen final de las preparaciones fue de 3 ml. Una vez adicionada la solución amortiguadora y mezclada con la alícuota de la muestra, se permitió que las diluciones se equilibraran durante 15 minutos previos a la medición. Se realizó un barrido en el espectrofotómetro de 700 a 500 nm, esperando una absorbancia de las muestras entre 0.2 y 1.2. La absorbancia de las muestras diluidas se calculó empleando la fórmula (1), donde $A_{\lambda_{vis-max}}$ es la absorbancia medida a 510 nm y A_{700} es la absorbancia obtenida al medir a la longitud de 700 nm, para cada una de las soluciones amortiguadoras. El contenido de antocianinas totales se determinó mediante la fórmula (2), donde MW es el peso molecular de la cianidina-3-

glucósido, DF es el factor de dilución y ϵ es la absorptividad molar (Wrolstad y Giusti, 2001).

$$A = (A\lambda_{vis-max} - A_{700})_{pH\ 1.0} - (A\lambda_{vis-max} - A_{700})_{pH\ 4.5} \quad (1)$$

$$\text{Antocianinas monoméricas (mg/litro)} = (A \times MW \times DF \times 1000) / (\epsilon \times 1) \quad (2)$$

V.2.4 Cuantificación de compuestos fenólicos mediante UPLC-DAD-EM

Se preparó una solución concentrada de cada uno de los estándares en metanol (1 mg/ml) y se guardó a -20 °C hasta su posterior uso. La mezcla de estándares fue preparada en vial ámbar, tomando 1 μ l de cada solución concentrada y completando el volumen a 1 ml. Las soluciones de trabajo fueron preparadas en metanol el mismo día del análisis mediante dilución de las soluciones concentradas. Se determinó el perfil cromatográfico de cada uno de los extractos, así como de una mezcla de estándares mediante UPLC-DAD-ESI-IMSQToF. El análisis de las muestras se realizó a 10 °C; empleando una columna de fase reversa BEH-C18 2.1 x 100 mm, 1.7 μ m (Waters), la detección se realizó empleando una longitud de onda fija a 280 nm para ácidos fenólicos y flavonoides y otra a 520 nm para las antocianinas, además, se realizó un barrido comprendido entre (210-700 nm). Se realizó una adecuación de las condiciones reportadas por Tohge *et al.* (2007) para las determinaciones. Se empleó un gradiente de ácido fórmico al 0.1% (fase A) y acetonitrilo con 0.1% de AF (fase B) (Tabla 5). El flujo fue de 0.3 ml/min y el volumen de inyección fue de 3 μ l. Todas las muestras fueron pasadas a través de filtros de PTFE de 0.2 μ m antes de las inyecciones. Los análisis se realizaron en modo de ionización positivo y negativo y los parámetros del espectrómetro de masas fueron adecuados para la implementación del método.

Para el estudio dirigido, se determinó la probable presencia de compuestos fenólicos mediante la comparación del tiempo de retención, los espectros de

absorción y de espectrometría de masas obtenidos para cada estándar, con los obtenidos para cada pico presente en los vinos. Los ácidos fenólicos y flavonoides se cuantificaron por comparación con el área bajo la curva de los estándares a concentración conocida y el área bajo la curva de los vinos con adición y sin adición de estándar (Milovanovic *et al.*, 2019). Se realizó el estudio no dirigido para la determinación del perfil químico de las muestras mediante la comparación de los datos adquiridos con bases de datos obtenidos de referencias bibliográficas y bases de datos. Para el procesamiento metabolómico de los datos se emplearon los programas Progenesis Q1 e UNIFI (Waters). Todas las muestras se analizaron por triplicado de forma aleatoria y los resultados se reportaron como la media $\pm$ la desviación estándar.

Tabla 5. Gradiente

T (min)	% A	% B
0	100.0	0.0
2.5	85.0	15.0
10.0	79.0	21.0
12.0	10.0	90.0
13.0	5.0	95
15.0	100	0.0
18.0	100	0.0

A = acetonitrilo con 0.1% de ácido fórmico (AF); B = AF al 0.1%

V.2.5 Determinación de compuestos volátiles mediante CG-EM

Para la determinación de compuestos volátiles se empleó una fibra de Carboxeno/polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS) de 1 cm marca Supelco, calibre 23 SPME. Las muestras fueron calentadas a 30 °C y agitadas a 500 rpm durante 5 minutos antes de exponer la fibra. Posteriormente la fibra será expuesta durante 30 minutos a 30 °C con agitación (250 rpm). Todas las muestras fueron analizadas

por triplicado en orden aleatorio y se reportaron como la media $\pm$ la desviación estándar (Hjelmeland *et al*, 2013).

V.2.6 Voltamperometría de Pulso Diferencial (DPV)

Se realizaron pruebas mediante voltamperometría diferencial de pulso con diferentes soluciones amortiguadoras a diferentes valores de pH y se emplearon diferentes electrodos serigrafiados (Tabla 6) con el objetivo de seleccionar las mejores condiciones y el tipo de electrodo que proporcione la mejor respuesta para la determinación de los compuestos fenólicos. Para lo anterior se empleó una mezcla de ácido elágico, quercetina y pelargonidina.

Para los ensayos, se determinó la viabilidad de los diferentes electrodos serigrafiados por Voltamperometría Cíclica, mediante la medición de una solución de Ferro/Ferricianuro $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ (5 mM) en KCl (0.01M), para lo cual, primeramente se colocaron 50 μl de KCl, teniendo cuidado de cubrir los tres electrodos con la gota, para medir la línea de fondo, posteriormente se realizó la medición de la solución de Ferro/Ferricianuro. Una vez listo el electrodo, se realizaron 17 ciclos de limpieza de 15 segmentos con electrolito fondo, posteriormente se colocaron 50 μl de la solución amortiguadora (MES 25 mM, pH 5, 8 y 9, así como fosfatos 10 mM, pH 5, 8 y 9) para obtener la línea de fondo por DPV; enseguida se colocaron 50 μl del estándar o muestra bajo estudio y se realizó la medición. Es importante mencionar que entre cada cambio de gota se lavó la superficie del electrodo con agua desionizada y se sacudió hasta su total sequedad. Para la medición del Ferro/Ferricianuro $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ se realizaron dos ciclos a una velocidad de escaneo de 0.2 V/s, un potencial de inicio de -0.2 V, un potencial de cambio superior de +0.8 V y un potencial de cambio inferior de -0.6 V. Se realizaron de 70 a 220 ciclos de limpieza a una velocidad de 5 V/s, con los mismos potenciales que en el proceso anterior para la limpieza entre mediciones en los electrodos serigrafiados de carbono SD150, serigrafiados con una sola capa de nanotubos de carbono (SWCNT) y serigrafiados con múltiples capas de

nanotubos de carbono (MWCNT) (DropSens), mientras que para los electrodos serigrafados de carbono S1PE (Micrux) se determinó que las limpiezas no ayudan a recuperar la detección por lo que se debió emplear un electrodo por cada medición. Para medir la línea de fondo por DPV se realizó un ciclo con una velocidad de escaneo de 0.015 V/s, un potencial de inicio de 0.0 V y potencial de termino de +0.8 V. El método optimizado fue empleado para las determinaciones de los estándares y/o muestras de vino bajo estudio. Los resultados serán expresados como miligramos de estándar/L de vino tinto $\pm$ la desviación estándar para tres repeticiones (Modificado de Castañeda *et al.*, 2011).

Tabla 6. Lista de electrodos serigrafados empleados

Referencia	Marca	WE	AE	RE	WE dimensiones
ED-S1PE-C	Micrux	Carbón	Carbón	Plata	3 mm Ø
150		Carbón	Platino	Plata	
110SWCNT	DropSens	SWCNT-COOH / Carbón	Carbón	Plata	4 mm Ø
110CNT		MWCNT-COOH / Carbón	Carbón	Plata	
110		Carbón	Carbón	Plata	

SWCNT-COOH: Carboxilo funcionalizado con una capa de nanotubos de carbón;
MWCNT-COOH: Carboxilo funcionalizado con múltiples capas de nanotubos de carbón.

V.2.7 Formación de nanopartículas de oro (AuNPs)

V.2.7.1 Capacidad antioxidante

Se determinó la capacidad antioxidante de los vinos evaluados, mediante la formación de AuNPs. Para el análisis primeramente se adicionó la solución amortiguadora de fosfatos (10 mM, pH=8.0) en 12 viales eppendorf ámbar, el volumen adecuado fue determinado al restar de 0.5 ml el volumen total de los demás reactivos agregados. Posteriormente, se les adicionaron 10 μ l del

surfactante cloruro de cetiltrimetilamonio (CTAC, 25% en agua), después fue adicionada la solución de tetracloroaurato de oro (III) 0.02 M (HAuCl_4 , 25 μl para cada vial). Posteriormente, se les adicionó la cantidad necesaria del estándar y/o muestra de vino (2 – 50 μg de estándar/0.5 ml y 2-30 μL vino/0.5 ml), con excepción del blanco. Se colocaron en agitación durante dos minutos, después se colocaron en un baño de agua a 45 °C durante 10 minutos y una vez pasado este tiempo, se colocaron en hielo durante 25 minutos (Wang *et al.*, 2006; Vilela *et al.*, 2014). La lectura de la absorbancia se llevó a cabo a 540 nm y el espectro de absorción se registró mediante un barrido de longitud de onda (400-700 nm). Para la cuantificación se realizó la interpolación de la absorbancia más cercana a 0.5 obtenida para cada vino, en las curvas de calibración de cada uno de los estándares. Con ello se calculó un factor de calibración y se determinó la concentración de AuNPs formadas (Calibrado normal). Se tomó la absorbancia cercana a 0.5 para obtener una concentración en la zona lineal de la curva sigmoidea, lo que permite observar la presencia de AuNPs sin llegar a la saturación. Además, se empleó un modelo sigmoideal que se ajustó mejor a las curvas de calibración de tal manera que se determinó la concentración en el punto de inflexión de cada extracto por medio de un factor calculado a partir de la derivada de la sigmoidea, así como aplicando el modelo sigmoideal (calibrado en un solo punto u *optical index*). Los resultados fueron expresados como miligramos equivalentes del estándar/g de extracto $\pm$ DE.

V.2.7.2 Potencial Z

Se evaluó la dispersión y el tamaño de las AuNPs formadas empleando un Zetasizer Nano ZS (Malvern Ltd, UK). Las muestras fueron diluidas hasta la concentración con la cual se observa una absorbancia cercana a 1.0 en la banda del plasmon superficial de las AuNPs formadas. Todas las mediciones se realizaron por triplicado.

V.2.8 Determinación de compuestos fenólicos mediante microsistemas analíticos (MEC-DE)

V.2.8.1 Fabricación y pruebas de viabilidad del MEC-DE

La Figura 7 muestra la fotografía y el diseño base del microchip a elaborar, inicialmente este sería fabricado sobre resina EPON SU-8 Pyrex con electrodos de platino integrados en el reservorio de detección electroquímica a la salida del capilar de separación. Sin embargo, se decidió cambiar la resina EPON SU-8 por dimetilsiloxano (PDMS) sobre una base de vidrio. Los materiales para la celda electroquímica se determinaron con base en los resultados obtenidos mediante VDP para detección de compuestos fenólicos. La fabricación del microchip se llevó a cabo en Laboratorio Nacional de Micro y Nano Fluídica del Cideteq, Querétaro.

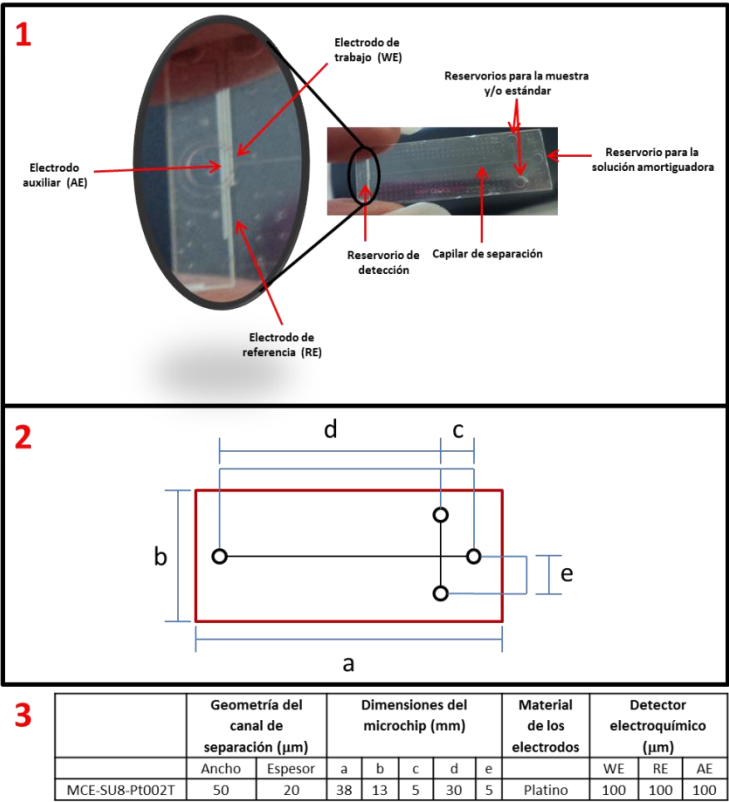


Figura 7. 1) Fotografía; 2) esquema y 3) dimensiones del microchip.

Para los ensayos de viabilidad de los microchips, se utilizó un equipo portátil MicruxFluidics (Oviedo, España) (Figura 8), el cual está conformado por: 1) microchip fabricado (prototipo 1 sin celda electroquímica); 2) fuente de alto poder y bipotenciostato (Micrux® HVStat) para detección amperométrica dual; 3) porta-microchip empleado como interface entre el bipotenciostato. El microchip se colocó en el interior del porta-microchip para cada prueba (Figura 9).

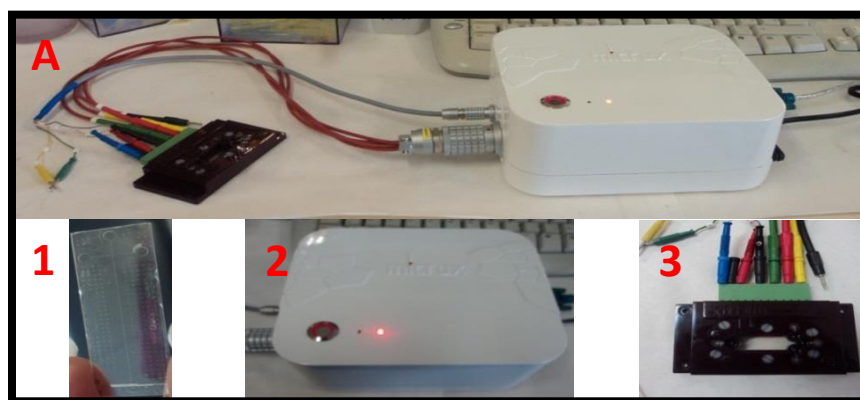


Figura 8. A) Equipo portátil MicruxFluidics (Oviedo, España); 1) Microchip UPON SU-8 pyrex; 2) fuente de alto poder y bipotenciostato (Micrux® HVStat); 3) porta-microchip.

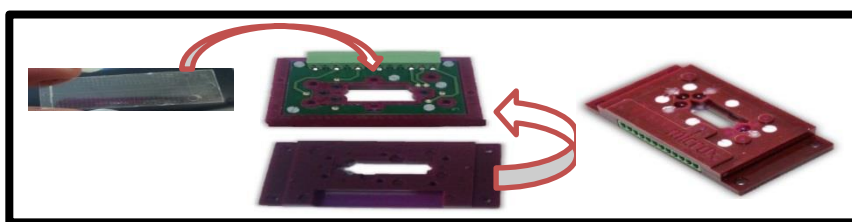


Figura 9. Diagrama de ensamblaje del microchip.

Se preparó una solución amortiguadora de ácido 2-morfolinoetanosulfónico monohidrato (MES, 25 mM), mediante dilución adecuada del ácido 2-(N-morfolino) etanesulfónico, el pH será ajustado a 5 con hidróxido de sodio 0.1 M.

Se realizó la inspección física del microsistema prototipo 1 (sin celda electroquímica), observándolo bajo un microscopio óptico (objetivos 10 y 40X). Posteriormente, se llevó a cabo el llenado y acondicionamiento de los capilares con NaOH 0.1 M durante 10 minutos, después con agua desionizada y finalmente con la solución amortiguadora de electroforesis durante otros 10 minutos (MES, 25 mM). Este procedimiento fue realizado empleando una bomba de vacío colocando la punta de una micropipeta en el extremo de la manguera y ejerciendo vacío colocando la punta sobre el reservorio de salida del microsistema. Se observó bajo microscopio óptico para determinar hermeticidad del microsistema sin montar y después de ensamblarlo en el porta-microchip. Una vez ensamblado el microsistema y conectado a la fuente de poder, se realizó la determinación de la presencia de flujo electroosmótico. Para lo anterior, se llenaron los reservorios de la solución amortiguadora de corrida y de muestra con 30 μ l de MES (25 mM, pH 5.0). Posteriormente, se aplicó un voltaje de separación de +1000 V durante 3 minutos en cada uno de los reservorios (Castañeda *et al.*, 2013). El proceso se llevó a cabo varias veces. El procedimiento anterior se llevó a cabo también con el microchip prototipo 2.

A los microchips prototipo 3 y 4 se les colocaron electrodos de platino incrustados en el PDMS y se conectaron directamente al potencióstato empleando un sistema de caimanes, descartando así el uso del porta-microchip. Posteriormente, se realizaron todas las evaluaciones de viabilidad para los microchips. Se realizaron modificaciones en las dimensiones de los reservorios y el grosor de la placa de PDMS para mejorar la funcionalidad. Los prototipos 5, 6 y 7 con celda electroquímica, fueron inspeccionados físicamente y evaluados bajo el mismo procedimiento para determinar hermeticidad y la generación del flujo electroosmótico antes de realizar las pruebas de la celda electroquímica.

V.2.8.2. Evaluación de la celda electroquímica del MEC-DE

Los estándares fueron disueltos en metanol y almacenados en viales ámbar a -18 °C hasta su uso. Las soluciones de trabajo fueron preparadas por dilución de la solución anterior en la solución amortiguadora de electroforesis (MES). El acondicionamiento del microchip se llevó a cabo de la misma forma que para las pruebas de viabilidad. Para la estabilización del microsistema, los reservorios de la solución amortiguadora de corrida y de muestra fueron llenados con 30 µl de MES antes de cada análisis. Posteriormente, se aplicó un voltaje de separación de +1000 V durante 3 minutos en cada uno de los reservorios para llevar a cabo la estabilización de la línea de fondo. Posteriormente, se reemplazó la solución amortiguadora MES del reservorio de muestra por una dilución del estándar y se evaluó la detección en la celda electroquímica mediante la aplicación de un voltaje de +800 V durante 20 segundos y posteriormente se aplicó un voltaje de separación de +1000 V durante 5 minutos (Castañeda *et al.*, 2013). Se llevaron a cabo diversos análisis modificando los parámetros de: 1) Voltaje de Separación, 2) Voltaje de inyección y 3) Tiempos de inyección para determinar la funcionalidad de la celda electroquímica. Los microsistemas prototipo 5 y 7 presentaron electrodos de platino fijos en la celda electroquímica. En tanto que en el prototipo 6, se evaluaron electrodos móviles de plata (referencia), puntilla de microcarbón (auxiliar) y platino (trabajo) en modalidad lineal o cola de cochino.

V.2.9 Análisis estadístico

El análisis de los datos fue realizado mediante un análisis de ANOVA de una sola vía y una prueba de Tukey para la comparación de medias empleando el programa OriginPro 9.0 (OriginLab Corporation, Northampton, MA). Adicionalmente se realizó un análisis multivariado (Correlación de Pearson) empleando el programa JMP versión 11.0.0.0 (SAS institute inc., Cary, Carolina del Norte).

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

VI.1 Contenido de antocianinas monoméricas totales

Las antocianinas son compuestos hidrosolubles responsables del color rojo de la uva y el vino tinto. Existe una gran diversidad de antocianinas debido a los diferentes grupos hidroxilo que presentan el potencial de conjugarse con azúcares y grupos acilo. Maldivina, petunidina, peonidina, delfinidina y cianidina son las antocianidinas (agliconas) más reportadas en la uva y vino tinto de *Vitis vinífera*. Las antocianinas (glucósidos) se encuentran unidas a uno o más moléculas de azúcar o a sustituyentes acilo enlazados a azúcares u otros compuestos fenólicos (Visioli *et al.*, 2020; Gutiérrez-Escobar *et al.*, 2021). El perfil químico de antocianinas, también conocido como “fingerprint” es una herramienta muy útil para la diferenciación entre las variedades híbridas de uva y *Vitis vinífera*. Lo anterior debido a que las antocianinas 3,5-diglucosiladas se encuentran presentes únicamente en *Vitis Americana*. Las antocianinas pueden sufrir reacciones con otros compuestos presentes en la matriz del vino durante el proceso de conservación o envejecimiento, por lo que también son empleadas para la diferenciación por tipo de vino (Flamini, 2013). Los atributos de color en el vino son afectados por las reacciones de las antocianinas con los flavan-3-oles, taninos y procianidinas, así como debido a la formación de piroantocianinas. Se han reportado contenidos de antocianinas en un rango de 90 a 400 mg de malvidina-3-glucósido por litro de vino tinto (mgM3G/L) y más de 700 mgM3G/L para vinos tintos jóvenes y de crianza, respectivamente (Flamini, 2013; Visioli *et al.*, 2020; Gutiérrez-Escobar *et al.*, 2021).

El contenido total de antocianinas para los vinos evaluados se encontró entre 31 y 244 mg de cianidin-3-glucósido por litro (mgC3G/L) (Tabla 7). El vino de la variedad Tempranillo mostro los valores más altos, mientras que los vinos de la

variedad Cabernet Sauvignon (La Redonda, Querétaro) presentó los más bajos (31.81 ± 0.82 mg C3G/L). Se observaron diferencias significativas entre las muestras evaluadas con un incremento en el contenido de antocianinas como sigue: Cabernet Sauvignon (La Redonda) < Merlot Cu4tro soles (Aguascalientes) < Merlot, crianza (Vino del Marqués) < Cabernet Sauvignon Cu4tro soles (Aguascalientes) < Merlot (Vinos del Marqués) < Tempranillo (Vinos del Marqués) < Tempranillo, crianza (Vinos del Marqués).

VI.2 Contenido de fenoles totales por Folin-Ciocalteu (IFC)

El vino tinto es considerado una fuente importante de compuestos fenólicos en la dieta. Su composición química es relevante para funciones biológicas como el efecto de protección cardiovascular. La composición fenólica del vino es un factor importante para muchos de sus atributos sensoriales como color, astringencia, amargor, sabor e incluso su estabilidad. Los polifenoles se encuentran asociados con los compuestos volátiles promoviendo la disminución del aroma y por lo tanto pueden usarse como un criterio de calidad (Castaldo *et al.*, 2019; Gutiérrez-Escobar *et al.*, 2021).

La curva de calibración del ácido gálico mediante el ensayo de Folin-Ciocalteu se muestra en la Figura 10. Los valores de la cuantificación de fenoles totales en los vinos tintos jóvenes y de crianza (6 meses en barrica) bajo estudio se presentan en Tabla 7.

El contenido total de polifenoles (PT) para los vinos evaluados se encontró en un rango de 2170 a 2511 mg equivalentes de ácido gálico por litro de vino tinto (mg EAG/L). Los vinos de la variedad Tempranillo (Vinos del Marqués, Querétaro), mostraron los mayores contenidos (2511.3 ± 101.1 mg EAG/L). Diferencias significativas se observaron con respecto a los vinos con menores contenidos de PT tales como los vinos de la variedad Merlot (Vinos del Marqués, Querétaro) y

Cabernet Sauvignon (Aguascalientes) con 2173.5 ± 56.7 mg EAG/L and 2170.0 ± 188.7 mg EAG/L, respectivamente. Los contenidos de PT se incrementan como sigue: Cabernet Sauvignon Cu4tro soles (Aguascalientes) < Merlot, crianza (Vinos del Marqués) < Merlot (Vinos del Marqués) < Cabernet Sauvignon (La Redonda) < Tempranillo (Vinos del Marqués) < Merlot Cu4tro soles (Aguascalientes) < Tempranillo, crianza (Vinos del Marqués).

Lingua *et al.* (2016) reportaron valores para PT de 1475 ± 58 mgEAG/L y 1230 ± 35 mgEAG/L en vinos tintos argentinos de las variedades Merlot y Cabernet Sauvignon, respectivamente. Mientras que para Newair *et al.* (2017) el contenido de fenoles totales en vinos tintos de la variedad Merlot de diferentes cultivares y áreas geográficas del sur de Francia, fue de 3320 mgEAG/L. Las variaciones en el contenido de compuestos fenólicos se deben a factores agroecológicos como el cultivar, el año de cosecha, lugar de cultivo y grado de maduración. El vino, además es afectado por los métodos de vinificación y procesos tecnológicos aplicados para su elaboración (Cheynier *et al.*, 2010, Garrido y Borges, 2013).

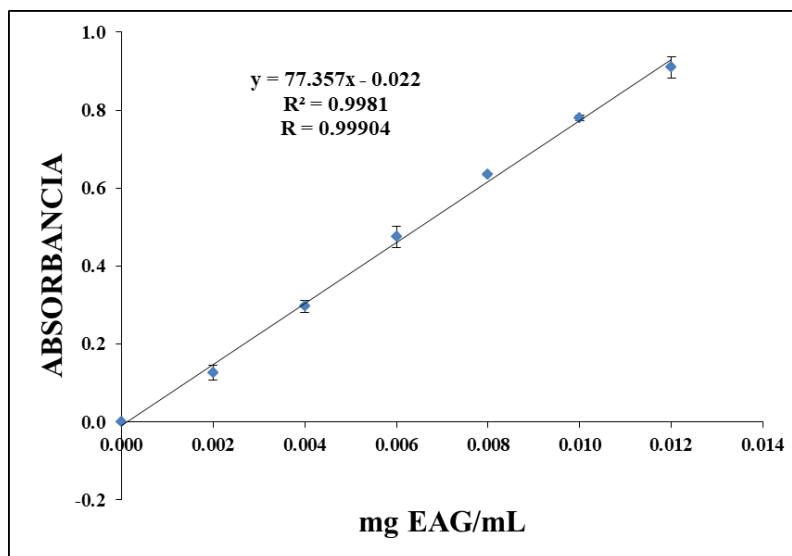


Figura 10. Curva de calibración del ácido gálico por el método de Folin-Ciocalteu.

La Figura 11 muestra la representación gráfica del contenido total de fenoles totales en los vinos evaluados.

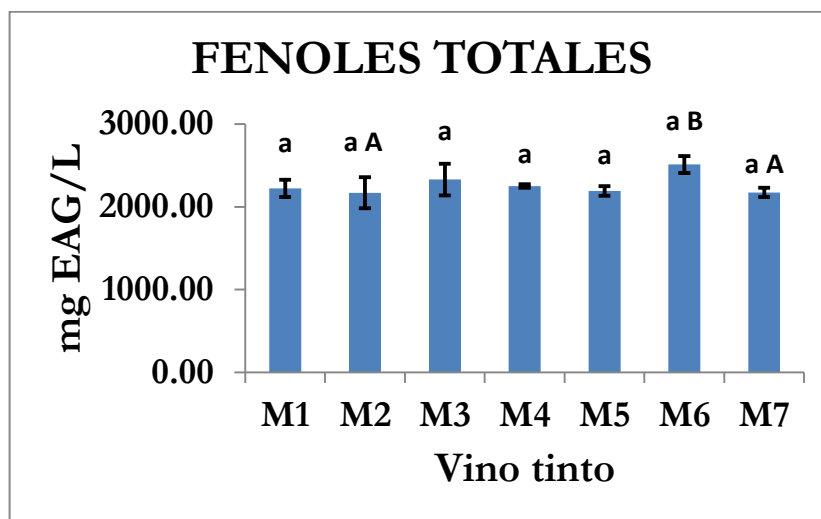


Figura 11. Histograma del contenido total de fenoles en los vinos evaluados. Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas entre muestras. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas entre variedades ($p < 0.05$). Datos dados en mg equivalentes de ácido gálico/litro de vino tinto (mg EAG/L).

VI.3 Perfil de compuestos fenólicos en vinos tintos mediante UPLC-DAD-MSe

La Figura 12 muestra un ejemplo del perfil cromatográfico que los vinos tintos evaluados presentaron durante el análisis por UPLC-DAD-EM. Se presenta la región del cromatograma en la que eluyen los compuestos fenólicos (0 a 12 min) bajo el método de separación implementado. El perfil cromatográfico de los vinos variedad Merlot (Del Marques) y C. Sauvignon (La Redonda) comparado con el de la mezcla de estándares. Así como la ampliación de los picos obtenidos para el ácido cafeico y la quercetina que se encuentran presentes en ambos vinos.

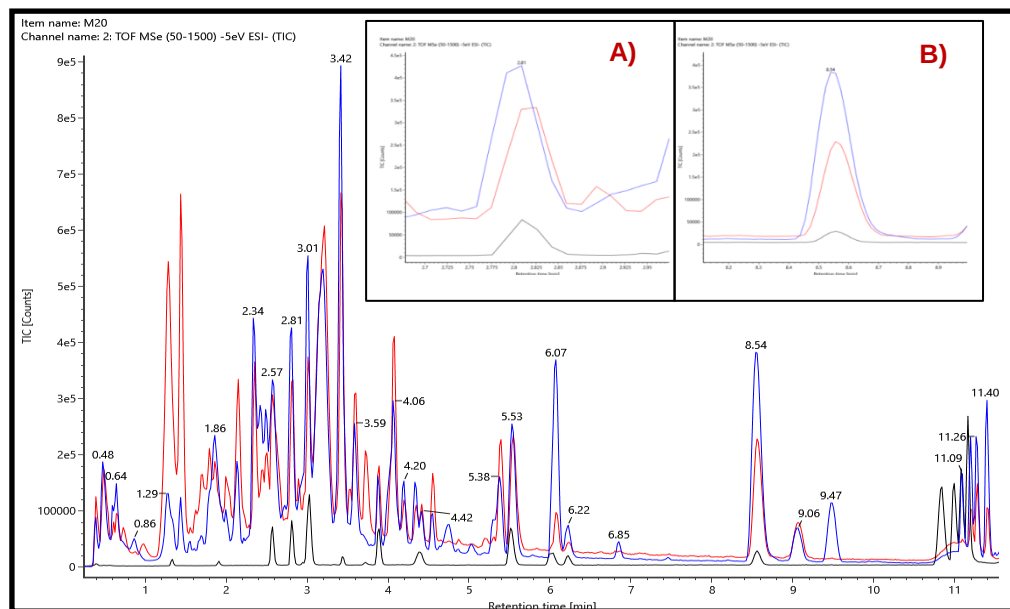


Figura 12. Perfil cromatográfico en modo de ionización ESI (-) de: la mezcla de estándares (Negro); el vino variedad Merlot, Del Marques (Rojo) y el vino variedad C. Sauvignon, de La Redonda (Azul). **A)** Ampliación del pico obtenido para el ácido cafeico y **B)** para la quercetina.

Los principales constituyentes fenólicos del vino tinto son los flavonoides (flavonoles, flavanoles, flavanonas, antocianinas, etc.) y los ácidos fenólicos tales como los ácidos hidroxibenzoicos (HBA) e hidroxicinámicos (HCA). El contenido de los compuestos no volátiles identificados y cuantificados mediante UPLC-MSe se presenta en la Tabla 7. Setenta y ocho compuestos individuales fueron identificados y clasificados por familias químicas.

Los flavonoles son de los compuestos más abundantes tanto en la piel de la uva tinta (*V. vinífera*) como en el vino tinto, estos compuestos presentan una coloración amarilla y son enmascarados por las antocianinas presentes en el vino. Por otra parte, se sabe que los flavonoles pueden afectar la astringencia y amargor del vino, así como el color por la producción de co-pigmentos a través del proceso de vinificación (Gutiérrez-Escobar *et al.*, 2021; Nemser *et al.*, 2022). Los

vinos de Vinos del Marqués presentaron el contenido más alto de flavonoles (51.11 ± 1.29 and 55.87 ± 0.51 mg/L) mientras que los vinos jóvenes de La Redonda (31.53 ± 0.99 mg/L) y Aguascalientes (24.23 ± 1.21 and 25.51 ± 0.38 mg/L para las variedades Merlot y Cabernet Sauvignon, respectivamente) fueron los más bajos. El contenido de flavonoles para los vinos tintos jóvenes del viñedo del Marqués, Querétaro no presentaron diferencias estadísticas entre las muestras, pero sí entre viñedos.

Nemser *et al.* (2022) reportó valores de 60-200 mg/L para los flavonoides presentes en vinos de la variedad Cabernet Sauvignon. Por otra parte, Hermosín-Gutiérrez *et al.* (2011) reportaron que los flavonoides más abundantes en vinos tintos de las variedades Tempranillo, Cabernet Sauvignon, Merlot, Syrah, entre otras fueron tipo miricetina y quercetina, mientras que los tipo isorhamnetina y kaempferol fueron los menos abundantes.

Los contenidos de kaempferol, quercetina, miricetina, miricetin-3-glucósido y 3-glucurónide en los vinos evaluados fueron similares a los reportados por Lingua *et al.* (2016) en vinos argentinos de las mismas variedades. El contenido de quercetina fue significativamente diferente entre las variedades y viñedos evaluados, por ejemplo, isoquercetina se encuentra presente solo en los vinos producidos en el viñedo de Vinos del Marqués (variedades Tempranillo y Merlot).

Se ha reportado que en el vino tinto los ácidos hidroxibenzoicos se encuentran presentes en menores cantidades que los hidroxicinámicos (Visioli *et al.*, 2020). De manera contraria, el contenido promedio de ácidos hidroxibenzoicos (16.87 mg/L) en los vinos evaluados fue mayor al contenido de ácidos hidroxicinámicos (5.14 mg/L). Rentzsch *et al.* (2009) reportó que la cantidad de ácidos hidroxicinámicos puede disminuir debido a la formación de vinil fenoles a través de la descarboxilación enzimática de los ácidos cumárico y ferúlico, así como por la generación de piranoantocianinas donde los ácidos cafeico y sinápico

se ven involucrados. En adición, se observaron diferencias significativas en el contenido de ácidos hidroxibenzoicos entre los vinos jóvenes evaluados.

Para las variedades Cabernet Sauvignon y Merlot, el contenido total de ácidos hidroxibenzoicos se encontró en un rango de 16.11 ± 0.12 a 32.70 ± 0.74 mg/L, mientras que para la variedad Tempranillo fue de 1.17 ± 0.05 mg/L. El compuesto representativo de los ácidos hidroxibenzoicos es el ácido gálico, precursor de los taninos hidrolizables e incluso estructura base para la formación de los taninos condensados en el vino tinto (Visioli *et al.*, 2020). Como ha sido reportado por Lingua *et al.* (2016), los vinos evaluados que presentaron el mayor contenido de ácido gálico fueron los de las variedades Cabernet Sauvignon y Merlot, con valores que se encuentran en el rango de 32.61 a 22.07 mg/L y de 28.08 a 16.0 mg/L, respectivamente, mientras que los vinos Tempranillo mostraron los menores contenidos (1.17 mg/L).

Pese a que la fuente principal de estilbenos es la uva y sus derivados como el vino, los contenidos generalmente son bajos. Por otra parte, se sabe que el contenido total de estilbenos puede ser afectado por las condiciones climáticas las cuales se encuentran estrechamente relacionadas con el origen geográfico. De tal manera que los vinos de regiones con climas cálidos y secos como California, Sur América y Sur África, producen vinos con bajos contenidos de estilbenos. La variedad tiene influencia sobre el contenido de estilbenos, por lo tanto, pueden ser usados para la diferenciación de los vinos y como un marcador de la calidad del mismo (Guerrero *et al.*, 2020). En el presente estudio, el contenido de estilbenos para los vinos tintos jóvenes de Aguascalientes para las variedades Cabernet Sauvignon y Merlot fueron menores (0.33 ± 0.05 mg/L y no detectado) comparados con los encontrados para los Cabernet Sauvignon de La Redonda (4.97 ± 0.34 mg/L) y los Vinos del Marqués Tempranillo y Merlot (15.55 ± 0.31 y 7.65 ± 0.28 mg/L, respectivamente). Los principales estilbenos presentes en los vinos evaluados fueron *trans*- y *cis*-resveratrol con un valor promedio de 3.54 mg/L y 5.07 mg/L, respectivamente, siendo el isómero *cis* el más abundante en

contraste con los reportes previos (3.15 y 1.84 mg/L, respectivamente) (Guerrero *et al.*, 2020). El piceatanol fue detectado para los vinos de la variedad Cabernet Sauvignon de Aguascalientes, Tempranillo y Merlot de Vinos del Marqués, mientras que el piceid fue detectado para los vinos de la variedad Cabernet Sauvignon de ambos viñedos, así como para los vinos de la variedad Merlot de vinos del Marqués. La presencia de estilbenos en la matriz del vino podría ayudar a la preservación de sus atributos como color, sabor y por lo tanto su calidad (Raposo *et al.*, 2018; Visioli *et al.*, 2020; Nemser *et al.*, 2022).

Los compuestos no fenólicos más abundantes fueron los ácidos orgánicos, el valor más bajo se observó en los vinos de la variedad Tempranillo de Vinos del Marqués (954.35 ± 24.55 mg/L).

En la Tabla 8 se muestran los 78 compuestos individuales identificados por UPLC/DAD/ESI-QTOF/MSe. El análisis se llevó a cabo mediante la comparación de los datos generados de los vinos con los datos obtenidos para el tiempo de retención, espectro de absorción en UV y espectro de masas (Precusores y fragmentos que presentaron una masa exacta menor a 6 mDa) obtenidos de los estándares. Adicionalmente se muestran los compuestos identificados de manera putativa, empleando datos obtenidos de referencias bibliográficas, así como del análisis metabolómico empleando los programas UNIFI y Progenesis QI (Waters).

Once flavonoides fueron detectados con base en su estructura molecular: miricetina, quercetina, isorhamnetina y sus respectivos derivados, así como el kaempferol. Todos estos han sido previamente reportados en el vino (Nemser *et al.*, 2022). La fragmentación de estos compuestos involucra pérdidas neutrales de m/z 162, 176, 146 a partir del ion molecular $[M-H]^-$ para los glucósidos, glucurónidos y ramnósidos, respectivamente. El ion con m/z 151 $[M-\text{anillo A}-CO_2]^-$ producido por la reacción Retro-Diels-Alder (RDA), el ion a m/z 107 $[M-H-CO-CO_2]^-$ obtenido por la descarboxilación consecutiva posterior a la reacción RDA, y

el ion a m/z 121 $[M-\text{anillo A}-C_2O_3]^-$, fueron característicos de la fragmentación de quercetina (Delgado de la Torre *et al.*, 2015; Pascale *et al.*, 2020). El ion precursor a m/z 317 muestra un fragmento a m/z 179 $[M-\text{anillo A}-CH_2O]^-$ y el ion con m/z 137, los cuales son característicos para la miricetina; el ion con m/z 151 $[M-A \text{ ring}-C_2HO_2]^-$ se encontró presente para la isorhamnetina y para la miricetina, mientras que el ion a m/z 300 fue distintivo para la isorhamnetina y generado por la pérdida del radical $CH_3^\bullet$ a partir del ion molecular $[M-H]^-$ con m/z 315. Para el kaempferol, los fragmentos característicos con m/z 239 $[M-CO-H_2O]^-$, y 211 $[M-C_2H_2O_3]^-$, fueron observados (Delgado de la Torre *et al.*, 2015). Isorhamnetin-3-glucósido mostro un ion molecular a m/z 477 así como sus fragmentos característicos con m/z 315 $[M-\text{Glucósido}]^-$, and m/z 285 $[M-\text{Glucósido}-CH_3O]^-$. Quercetin-3-O-glucósido con ion precursor a m/z 463 fue identificado por la presencia de los fragmentos a m/z 301 $[M-\text{Glucósido}]^-$, y la pérdida consecutiva de grupos CO (fragmento con m/z 271), mientras que el fragmento a m/z 255 fue característico para la quercetin-3-glucurónido (Delgado de la Torre *et al.*, 2015). Los iones precursores a las m/z 479 y 493 generaron los fragmentos con m/z 316 y 317 correspondientes a la pérdida del grupo glucósido y glucurónido, respectivamente. Los compuestos fueron identificados como miricetin-3-glucósido y miricetin-3-O-glucurónido. Mientras que dos compuestos con tiempos de retención de 3.91 y 4.12 min, mostraron el ion precursor 463, el cual generó los fragmentos con m/z 316 correspondiente a la pérdida del grupo glucósido. Los compuestos fueron identificados como tipo miricetin-3-O-ramnosido. Además, para la miricetin-3-glucurónido se observaron los iones a m/z 178 and 151 característicos para la fragmentación de la aglicona. Miricetin-3-O-glucósido presentó los fragmentos a m/z 287 y 271 para la pérdida consecutiva de los grupos CO and CO_2 , respectivamente. Mientras que para los dos compuestos tipo miricetin-3-O-ramnosido solo se observó el fragmento a m/z 271 $[M-CO-CO_2]^-$ (Wojdyło *et al.*, 2017). Aun cuando la quercetin-3-O-glucurónido la miricetin-3-O-glucósido y la miricetin-3-O-glucurónido, así como las cuatro agliconas, fueron detectadas en todos los vinos evaluados, los derivados 3-O-glucurónido de quercetina e

isorhamnetina estuvieron presentes solo en los vinos de Vinos del Marqués (Querétaro). Para los compuestos identificados putativamente como tipo miricetin-3-ramnosido, el que presentó tiempo de retención de 3.91 min no se encontró presente en los vinos de Vinos del Marqués y La Redonda, mientras que el segundo (T_r de 4.12 min) no fue detectado en los vinos de La Redonda y Aguascalientes (Tabla 7)

Se identificaron 8 flavan-3-oles, dos compuestos como tipo procianidina B2 (T_r de 2.34 y 2.80 min), la procianidina C1, la (+)-catequina y algunos de sus derivados como la galocatequina y epigalocatequina-3-glucurónido. Para los compuestos tipo procianidina B2, se observaron los fragmentos característicos a m/z 451 $[M-\text{anillo A}]^-$, m/z 425 $[M-\text{anillo A}-\text{COH}]^-$ y la subsecuente eliminación de agua a m/z 407, mientras que el ion a m/z 865 de la procianidina trimérica C1 generó los iones a m/z 575 y m/z 287 correspondientes a la pérdida del grupo epicatequina superior y la pérdida de las dos unidades flavonoides, respectivamente (Falleh *et al.*, 2011). La presencia del ion precursor a m/z 289 y sus correspondientes fragmentos con m/z 245 $[M-H-\text{CO}_2]^-$, y 203 $[M-H-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_3\text{O}_2]^-$, confirmaron la identificación de (+)-catequina y su estereoisómero epicatequina, para el cual el fragmento a m/z 245 fue el más abundante. El ion precursor a m/z 305 generó los fragmentos a m/z 137 $[M-\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_4]^-$ y a m/z 125 $[M-\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4]^-$ permitiendo la identificación putativa de dos compuestos como tipo galocatequina. La epigalocatequin-3-glucurónido fue identificada por la presencia del ion precursor a m/z 481 y sus fragmentos característicos con m/z 305 $[M-\text{Glucurónido}]^-$, m/z 137 $[M-\text{Glucurónido}-\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_4]^-$ y 125 $[M-\text{Glucurónido}-\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4]^-$ (Sun *et al.*, 2007; Gao *et al.*, 2021).

Se identificaron dos ácidos hidroxibenzoicos, el precursor a m/z 169 generó los fragmentos con m/z 125 $[M-\text{CO}_2]^-$, y fue identificado como ácido gálico (Delgado de la Torre *et al.*, 2015), mientras que el ion precursor a m/z 153 fue identificado como el ácido protocatecuico por la comparación con el tiempo de retención, el espectro UV y la m/z del precursor obtenidos a partir del estándar de

referencia. La ausencia de los fragmentos característicos podría deberse a los bajos contenidos en las muestras (Tabla 7).

Para los ácidos hidroxicinámicos, se identificaron 5 compuestos. El ion precursor a m/z 311 presentó los fragmentos a m/z 179 $[M-H-C_4H_4O_5]^-$ y 149 $[M-\text{ácido cafeico}]^-$ por lo tanto, fue identificado como el ácido caftárico. El compuesto con tiempo de retención 2.14 min fue tentativamente identificado como tipo ácido cafeico debido a la presencia del precursor a m/z 179 y sus fragmento con m/z 135 $[M-CO_2]^-$; en tanto que el compuesto con tiempo de retención de 2.81 min mostro los iones característicos, el mismo tiempo de retención y espectro UV que el estándar ácido cafeico. El ácido ferúlico fue identificado por la presencia del ion precursor a m/z 193 y su fragmento a m/z 134 característico de la pérdida de los grupos CH_3- y CO_2 . El ion precursor a m/z 163 generó el fragmento 119 $[M-CO_2]^-$ y fue identificado como ácido *p*-cumárico (Sun *et al.*, 2007; Delgado de la Torre *et al.*, 2015).

Los estilbenos *cis*-piceid, *trans*-piceatanol, *trans*-resveratrol y *cis*-resveratrol fueron identificados. El *cis*-piceid fue identificado por la presencia del fragmento a m/z 227 característico de la pérdida del grupo glucósido. El ion precursor a m/z 243 mostró el fragmento con m/z 156 $[M-C_2H_2O_2]^-$ característico del *trans*-piceatanol. El compuesto a tiempo de retención 6.22 min fue identificado como *tras*-resveratrol por la presencia del ion precursor a m/z 227 y sus fragmentos con m/z 185 y m/z 143 correspondientes a las pérdidas consecutivas del grupo C_2H_2O y por comparación con el tiempo de retención y el espectro UV del estándar de referencia. Otro compuesto presentó los mismos iones característicos y por lo tanto fue identificado tentativamente como tipo *trans*-resveratrol (T_r de 6.07 min). Para el *cis*-resveratrol el precursor a m/z 227 y sus fragmentos con m/z 185 y 143 también estuvieron presentes (Rodríguez-Cabo *et al.*, 2014).

La naringenina fue putativamente identificada por la presencia del precursor a m/z 271 y por comparación con el tiempo de retención del estándar (10.8 min).

La falta de fragmentos característicos podría deberse a que los contenidos de las flavanonas identificadas fueron bajos (0.02-0.87 mg/L) (Tabla 7). La naringenin-7-rutinosido (narirutina) fue identificada por la presencia del precursor a m/z 579 y dos fragmentos con m/z 399 $[M-C_6H_{12}O_6]^-$ y m/z 373 $[M-C_{11}H_{11}O_4]^-$, mientras que para la naringenin-3-O-glucósido (prunina) se presentaron los fragmentos a m/z 399 $[M-H_2O_2]^-$ y 269 $[M-C_6H_{13}O_5]^-$ generados a partir del precursor a m/z 433. La astilbina fue tentativamente identificada por la presencia del precursor a m/z 449 el cual generó los fragmentos con m/z 303 $[M-C_6H_{10}O_4]^-$, m/z 285 $[M-C_6H_{13}O_5]^-$ y m/z 151 $[M-C_{14}H_{18}O_7]^-$ (Parejo *et al.*, 2004; Visioli *et al.*, 2020).

El ácido elágico fue identificado por la presencia del ion precursor a m/z 300 y sus correspondientes fragmentos con m/z 283 $[M-OH]^-$, m/z 257 $[M-CO_2]^-$ y m/z 229 $[M-CO_2-CO]^-$ (Kumar *et al.*, 2017). El etil galato fue identificado por la presencia de los fragmentos a m/z 169 $[M-C_2H_4]^-$, m/z 125 $[M-C_3H_4O_2]^-$ y 124 $[M-C_3H_5O_2]^-$ generados a partir del ion precursor con m/z 197 (Sun *et al.*, 2007).

Con respecto a las antocianinas, 32 compuestos fueron identificados por medio de la ionización por electrospray en modo positivo (ESI +). Basados en su estructura molecular, estos compuestos fueron divididos en delfinidina, cianidina, petunidina, peonidina, malvidina y sus derivados correspondientes. La principal antocianina fue malvidin-3-glucósido con un ion precursor a m/z 493, fragmentos a m/z 331 $[M-glucósido]^+$ y m/z 315 correspondiente a la pérdida consecutiva del grupo CH_3^- . Malvindin-3-cafeoilglucósido fue tentativamente identificado por la presencia del precursor a m/z 655 y sus correspondientes fragmentos con m/z 331 $[M-C_{15}H_{11}O_5-2(CH_3O)]^+$. La presencia del ion precursor a m/z 535 y los fragmentos con m/z 331 y 315 los cuales corresponden a la pérdida consecutiva de los grupos acetilglucósido y CH_3^- permitiendo la identificación putativa de la malvidin-3-acetil glucósido. Mientras que el precursor a m/z 639 y sus fragmentos característico a m/z 447 y m/z 331 correspondientes a la pérdida del grupo cumaroilo y la pérdida consecutiva del glucósido respectivamente, permitieron la identificación de la malvidina-3-cumaroilglucósido (Willemse *et al.*, 2015; Gao *et al.*, 2021). Los

precursores a m/z 465, 507, 611 y sus fragmentos con m/z 303 correspondientes a las pérdidas de los grupos glucósido, acetilglucósido y cumaroilglucósido, son característicos de la delfinidin-3-O-glucósido, -3-acetilglucósido y la 3-O-cumaroilglucósido, respectivamente. De manera similar, la petunidin-3-glucósido, -3-acetilglucósido y -3-cumaroilglucósido fueron identificadas por la presencia de sus iones precursores (m/z 479, 521 y 625, respectivamente) y los fragmentos con m/z 317 (pérdidas del glucósido y acetilglucósido para los primeros dos compuestos, respectivamente) y 302 para la pérdida consecutiva del grupo CH_3 -, mientras que para la -3-cumaroilglucósido solo se observó el fragmento a m/z 317 $[\text{M-cumaroilglucosido}]^+$ (Gao *et al.*, 2021). Los iones precursores a m/z 463, 505, 609 y los fragmentos con m/z 301 son característicos de la peonidin-3-glucósido $[\text{M-glucósido}]^+$, -3-acetilglucósido $[\text{M-acetilglucósido}]^+$ y -3-cumaroilglucósido $[\text{M-cumaroilglucósido}]^+$, mientras que la presencia de los fragmentos con m/z 447 $[\text{M-coumaroilo}]^+$ fueron característicos para la peonidin-3-cumaroilglucosa (Delgado de la Torre *et al.*, 2015). Los iones precursores a m/z 449, 491, 595 y los fragmentos con m/z 287 son característicos de la pérdida de los grupos glucósido, acetilglucósido y cumaroilglucósido de la cianidin-3-glucósido, -3-acetilglucósido y -3-cumaroilglucósido, respectivamente (Kolniak-Ostek & Oszmiański, 2015). Pigmentos poliméricos como la epicatequin-malvidin-glucósido fueron identificados por la presencia del ion precursor a m/z 781 y los fragmentos con m/z 619, 467 correspondientes a la pérdida consecutiva de los grupos glucósido y el anillo A-CO de la epicatequina respectivamente, así como a la presencia del fragmento con m/z 331 para la aglicona malvidina (Zeng *et al.*, 2015).

VI.4 Actividad antioxidante mediante los ensayos de ABTS y DPPH

El contenido de compuestos fenólicos podría ser responsable de la calidad del vino tinto influenciando su actividad antioxidante así como la astringencia, amargor y color (Granato *et al.*, 2011; Yoo *et al.*, 2011; Hosu *et al.*, 2014). Los

valores de actividad antioxidante de las muestras evaluadas se encuentran entre 13.34-13.40 y 24.15-25.11 mM ET/L para los ensayos de ABTS y DPPH, respectivamente (Tabla 7). Aun cuando no se encontraron diferencias significativas entre la actividad antioxidante de los vinos, los valores estuvieron en concordancia con los previamente reportados (Granato *et al.*, 2011; Garuso y Nardeini., 2015).

El análisis de regresión múltiple o también conocido como correlación de Pearson se empleó para determinar la correlación entre el contenido de compuestos fenólicos y el ensayo de DPPH ($r = 0.9155$, $p = 0.05$), así como entre el contenido total de antocianinas monoméricas y el ensayo de ABTS ($r = 0.8038$, $p = 0.05$). Lo anterior indica que dichos compuestos son principalmente responsables de la actividad antioxidante, la cual a su vez se relaciona con la acidez, el número de grupos hidroxilo y la deslocalización electrónica entre el par de electrones libres sobre el oxígeno del grupo fenol y el anillo bencénico (Granato *et al.*, 2011; Joshi *et al.*, 2022). Quercetina, miricetina, ácido gálico, catequina, isoquercetina, ácido coutárico, (-)-epicatequina y kaempferol, son algunos de los compuestos reportados con actividad antioxidante (Granato *et al.*, 2011; Yoo *et al.*, 2011; Lingua *et al.*, 2016). Los compuestos como miricetina, quercetina y ácidos gálico fueron de los más abundantes en todas las muestras evaluadas. El ácido coutárico y la (-)-epicatequina también estuvieron presentes (Tabla 7). Lo anterior podría indicar que dichos compuestos están relacionados con la actividad antioxidante que los vinos evaluados exhibieron, sin embargo, el vino es una mezcla muy compleja en la cual se presentan reacciones de sinergismo, antagonismo y adición ocasionadas por la gran diversidad de compuestos presentes (Granato *et al.*, 2011; Joshi *et al.*, 2022).

Tabla 7. Contenido total e individual de los polifenoles identificados en vino tinto

T _r	Viñedo Variedad	<u>La Redonda</u> C. Sauvignon	<u>Cuatro soles</u> C. Sauvignon	Merlot	Tempranillo	<u>Vinos del Marqués</u> Merlot	Tempranillo [‡]	Merlot [‡]
Compuesto								
Contenido total de antocianinas (mgC3G/L)								
		31.81 ± 0.82 ^a	168.91 ± 2.01 ^b	110.21 ± 1.89 ^c	231.00 ± 0.86 ^d	181.09 ± 2.48 ^e	243.69 ± 2.44 ^f	136.82 ± 4.04 ^g
Contenido total de penoles mediante Folin-Ciocalteu (mg EAG/L)								
		2221.7 ± 105.0 ^{ab}	2170.0 ± 188.7 ^b	2330.3 ± 191.7 ^{ab}	2251.0 ± 21.5 ^{ab}	2192.4 ± 58.3 ^{ab}	2511.3 ± 101.1 ^a	2173.5 ± 56.7 ^b
Antioxidant capacity (mM ET/L)								
	ABTS	13.40 ± 0.01 ^a	13.34 ± 0.01 ^c	13.34 ± 0.02 ^c	13.35 ± 0.01 ^{bc}	13.39 ± 0.01 ^{ab}	13.34 ± 0.0 ^c	13.35 ± 0.01 ^b
	DPPH	24.26 ± 0.05 ^{ab}	24.91 ± 0.17 ^{ab}	24.45 ± 0.26 ^{ab}	24.72 ± 0.11 ^{ab}	24.83 ± 0.01 ^{ab}	24.15 ± 0.44 ^b	25.11 ± 0.22 ^a

Contenido de polifenoles identificados mediante UPLC-DAD-MSe (mgESTD/L)

Flavonoles

2.39	Quercetin-3-glucosido							
	Isoquercetina (Hirsutrina)	ND	ND	ND	0.81 ± 0.18 ^a	0.40 ± 0.03 ^b	0.95 ± 0.07 ^{ac}	0.40 ± 0.02 ^b
3.37	Miricetin-3-O-glucuronido	0.51 ± 0.10 ^a	0.45 ± 0.01 ^{ab}	0.29 ± 0.01 ^b	1.14 ± 0.03 ^c	0.40 ± 0.01 ^{ab}	1.94 ± 0.10 ^d	0.45 ± 0.02 ^b
3.41	Miricetin-3-O-glucosido	1.93 ± 0.09 ^a	1.01 ± 0.06 ^b	ND	12.38 ± 0.33 ^c	14.99 ± 0.49 ^d	15.65 ± 0.47 ^d	15.03 ± 0.32 ^d
3.91	Miricetin-3-O-ranmosido 1 (Miricitrina)	ND	0.41 ± 0.02 ^a	0.07 ± 0.01 ^b	ND	ND	ND	ND
4.06	Quercetin-3-O-	8.8 ± 0.94 ^a	2.68 ± 0.12 ^c	1.08 ± 0.01 ^d	3.68 ± 0.22 ^{bc}	3.93 ± 0.14 ^{bc}	2.91 ± 0.12 ^b	3.74 ± 0.08 ^b

4.12	glucuronido (Miquelianina) Miricetin-3-O- ramnosido 2 (Miricitrina)	ND	ND	ND	ND	1.46 ± 0.04 ^a	0.40 ± 0.05 ^b	1.04 ± 0.02 ^c
5.34	Isorhamnetin-3- glucosido	ND	ND	ND	0.74 ± 0.02 ^a	1.04 ± 0.02 ^b	0.14 ± 0.02 ^c	0.87 ± 0.02 ^c
5.53-	Miricetina*	10.82 ± 0.11 ^{bcd}	10.09 ± 0.13 ^{cd}	9.32 ± 1.98 ^d	16.83 ± 0.19 ^a	12.37 ± 0.07 ^b	17.41 ± 0.27 ^a	11.92 ± 0.07 ^b
8.54	Quercetina*	8.89 ± 0.3 ^a	8.03 ± 0.11 ^b	10.61 ± 0.57 ^c	13.45 ± 0.04 ^d	16.99 ± 0.05 ^e	9.28 ± 0.16 ^a	15.50 ± 0.09 ^b
11.09	Kaempferol*	0.03 ± 0.01 ^f	0.04 ± 0.00 ^{ef}	0.06 ± 0.00 ^e	0.45 ± 0.01 ^d	0.77 ± 0.01 ^a	0.54 ± 0.02 ^b	0.51 ± 0.01 ^d
11.20	Isorhamnetina	1.07 ± 0.09 ^a	2.79 ± 0.02 ^b	2.80 ± 0.21 ^b	5.00 ± 0.07 ^c	3.51 ± 0.04 ^d	1.89 ± 0.04 ^e	3.14 ± 0.03 ^c
	TOTAL	31.53 ± 0.99 ^a	25.51 ± 0.38 ^b	24.23 ± 1.21 ^b	54.48 ± 0.91 ^{cd}	55.87 ± 0.51 ^c	51.11 ± 1.29 ^e	52.60 ± 0.52 ^c

Flavan-3-oles

1.85	Galocatequina 1	0.57 ± 0.08 ^d	0.18 ± 0.02 ^f	0.40 ± 0.00 ^e	1.03 ± 0.03 ^b	0.91 ± 0.02 ^{bc}	1.58 ± 0.08 ^a	0.84 ± 0.02 ^c
2.34	Procianidina B2 1	10.44 ± 0.26 ^d	3.52 ± 1.37 ^{bc}	17.34 ± 1.82 ^a	11.51 ± 0.26 ^{cd}	14.68 ± 1.32 ^{ab}	9.93 ± 0.42 ^d	15.47 ± 0.07 ^b
2.34	Epigallocatequin- 3-glucuronido	ND	0.06 ± 0.02 ^a	ND	2.86 ± 0.72 ^b	2.01 ± 0.10 ^c	2.53 ± 0.07 ^{bc}	2.02 ± 0.06 ^c
2.37	Galocatequina 2	0.08 ± 0.02 ^a	0.16 ± 0.01 ^b	0.04 ± 0.00 ^a	0.48 ± 0.02 ^c	0.33 ± 0.02 ^d	0.68 ± 0.03 ^e	0.29 ± 0.02 ^c
2.55	(+)-Catequina*	1.68 ± 0.07 ^a	2.64 ± 0.05 ^b	2.05 ± 0.01 ^c	0.81 ± 0.02 ^d	1.35 ± 0.05 ^e	0.68 ± 0.05 ^f	1.33 ± 0.02 ^c
2.80	Procianidina B2 2	5.85 ± 0.20 ^a	10.03 ± 0.28 ^b	9.97 ± 1.28 ^b	5.01 ± 0.06 ^a	10.38 ± 0.03 ^b	3.30 ± 0.18 ^c	10.44 ± 0.05 ^b
3.01	(-)-Epicatequina*	3.66 ± 0.06 ^a	4.72 ± 0.05 ^b	4.69 ± 0.06 ^b	4.70 ± 0.02 ^b	6.69 ± 0.07 ^c	2.11 ± 0.06 ^d	6.61 ± 0.04 ^c
3.15	Cinnamtannin A1 (procianidina C1)	0.24 ± 0.08 ^a	1.92 ± 0.06 ^b	1.75 ± 0.21 ^b	0.98 ± 0.03 ^c	1.76 ± 0.06 ^b	0.65 ± 0.08 ^d	1.69 ± 0.09 ^b
1.85	TOTAL	22.53 ± 0.44 ^d	33.23 ± 1.75 ^b	36.24 ± 2.06 ^{ab}	27.37 ± 0.96 ^c	38.11 ± 1.45 ^a	21.47 ± 0.66 ^d	38.70 ± 0.32 ^b

Ácidos hidroxibenzoicos

1.32	Ácido gálico*	22.07 ± 0.17 ^a	32.61 ± 0.74 ^b	28.08 ± 0.33 ^c	1.17 ± 0.05 ^d	16.23 ± 0.05 ^e	1.25 ± 0.15 ^d	16.00 ± 0.11 ^c
1.91	Ácido protocatecuico*	0.23 ± 0.00 ^a	0.09 ± 0.00 ^b	0.1 ± 0.01 ^b	ND	0.14 ± 0.01 ^c	ND	0.11 ± 0.01 ^c

	TOTAL	22.30 ± 0.12 ^a	32.70 ± 0.74 ^b	28.18 ± 0.23 ^b	1.17 ± 0.05 ^d	16.37 ± 0.03 ^e	1.25 ± 0.15 ^d	16.11 ± 0.12
	<u>Ácidos hidroxicinámicos</u>							
2.13-	Ácido Caftárico	2.52 ± 0.08 ^a	1.03 ± 0.02 ^b	0.74 ± 0.06 ^c	0.16 ± 0.03 ^d	1.37 ± 0.02 ^e	0.02 ± 0.00 ^f	1.31 ± 0.03 ^g
2.14-	Ácido Cafeico 1	1.17 ± 0.16 ^a	0.75 ± 0.01 ^b	0.55 ± 0.01 ^{bc}	0.21 ± 0.01 ^{cd}	0.73 ± 0.29 ^b	0.03 ± 0.01 ^d	0.85 ± 0.03 ^e
2.81-	Ácido Cafeico* 2	0.71 ± 0.16 ^a	0.57 ± 0.01 ^a	0.57 ± 0.06 ^a	1.64 ± 0.02 ^b	0.52 ± 0.02 ^a	1.69 ± 0.04 ^b	0.54 ± 0.01 ^c
2.82	Ácido Ferúlico	2.87 ± 0.17 ^a	4.04 ± 0.09 ^b	3.31 ± 0.29 ^c	0.20 ± 0.01 ^d	1.06 ± 0.05 ^e	0.25 ± 0.04 ^d	1.21 ± 0.06 ^e
3.45	Ácido <i>p</i> -Cumárico*	0.45 ± 0.02 ^a	0.42 ± 0.00 ^a	0.58 ± 0.03 ^b	1.92 ± 0.02 ^c	0.17 ± 0.00 ^d	2.04 ± 0.04 ^e	0.19 ± 0.00 ^f
	TOTAL	7.72 ± 0.21 ^a	6.85 ± 0.05 ^b	5.79 ± 0.32 ^c	4.14 ± 0.08 ^d	3.89 ± 0.24 ^d	4.03 ± 0.14 ^d	4.10 ± 0.12 ^e
	<u>Ácidos orgánicos</u>							
0.48	Ácido L-(+)-tartárico*1	850.94 ± 0.34 ^{bc}	776.99 ± 31.02 ^c	856.05 ± 42.64 ^b	800.81 ± 22.88 ^{bc}	1123.22 ± 18.24 ^a	541.04 ± 8.07 ^d	1156.82 ± 4.99 ^e
0.56	Ácido (±)-málico*	11.03 ± 0.12 ^a	11.37 ± 0.02 ^b	11.04 ± 0.00 ^a	10.93 ± 0.04 ^{ac}	11.08 ± 0.02 ^{ad}	10.93 ± 0.02 ^{ac}	11.05 ± 0.02 ^e
0.65	Ácido L-(+)-tartárico 2	354.56 ± 6.79 ^a	266.50 ± 5.41 ^b	196.93 ± 1.34 ^c	110.41 ± 1.96 ^d	290.75 ± 0.94 ^e	13.00 ± 1.26 ^f	275.50 ± 6.88 ^b
2.15	Ácido L-(+)-tartárico 3	29.22 ± 2.02 ^a	59.38 ± 1.63 ^b	59.74 ± 0.06 ^b	13.61 ± 0.68 ^c	17.94 ± 0.70 ^d	ND	17.42 ± 1.15 ^e
2.54	Ácido coutárico	171.78 ± 12.35 ^a	70.48 ± 3.58 ^b	69.45 ± 1.34 ^b	17.80 ± 1.83 ^{cd}	28.79 ± 1.34 ^c	6.99 ± 1.07 ^d	27.17 ± 1.20 ^e
2.56	Ácido fertárico	58.06 ± 1.56 ^a	85.38 ± 0.69 ^b	61.30 ± 0.62 ^c	ND	21.59 ± 1.14 ^d	ND	24.30 ± 1.16 ^e
2.83	TOTAL	1475.65 ± 23.02 ^a	1270.10 ± 26.41 ^b	1279.11 ± 4.86 ^b	954.35 ± 24.65 ^c	1493.37 ± 14.51 ^a	571.97 ± 10.22 ^d	1512.27 ± 13.8 ^e
	<u>Estilbenos</u>							
3.87	<i>Trans</i> -piceid	3.50 ± 0.32 ^a	0.05 ± 0.00 ^b	ND	ND	4.71 ± 0.06 ^c	ND	4.25 ± 0.08 ^e
4.42	<i>Trans</i> -piceatannol	ND	0.10 ± 0.00 ^a	ND	1.57 ± 0.06 ^b	1.06 ± 0.01 ^c	0.69 ± 0.05 ^d	0.95 ± 0.04 ^e
6.07-	<i>Trans</i> -resveratrol1	0.56 ± 0.06 ^a	0.04 ± 0.01 ^b	ND	0.13 ± 0.01 ^c	5.34 ± 0.17 ^d	ND	4.77 ± 0.11 ^e

6.22-	<i>Trans</i> - resveratrol* 2	0.85 ± 0.03 ^a	0.06 ± 0.01 ^b	ND	3.47 ± 0.09 ^c	3.75 ± 0.16 ^d	2.04 ± 0.10 ^e	3.81 ± 0.07 ^e
9.47	Cis-resveratrol	0.06 ± 0.02 ^a	0.09 ± 0.01 ^a	ND	10.39 ± 0.17 ^b	10.34 ± 0.10 ^b	4.92 ± 0.14 ^c	9.70 ± 0.04 ^a
	TOTAL	4.97 ± 0.34 ^a	0.33 ± 0.05 ^b	ND	15.55 ± 0.31 ^c	25.20 ± 0.24 ^d	7.65 ± 0.28 ^e	23.47 ± 0.25 ^e

Flavanonas

4.34	Astilbina	0.83 ± 0.05 ^a	0.87 ± 0.02 ^a	0.40 ± 0.11 ^b	0.17 ± 0.01 ^c	0.67 ± 0.01 ^d	0.04 ± 0.01 ^c	0.63 ± 0.01 ^c
4.55	Naringenin-7- rutinosido (Narirutina)	0.52 ± 0.09 ^a	0.16 ± 0.01 ^b	0.34 ± 0.01 ^c	0.72 ± 0.01 ^d	0.26 ± 0.01 ^{bc}	0.88 ± 0.04 ^e	0.28 ± 0.01 ^b
5.42	Naringenin-7-O- glucosido (Prunina)	0.02 ± 0.0 ^a	0.10 ± 0.01 ^b	0.02 ± 0.01 ^a	ND	0.05 ± 0.01 ^c	ND	0.04 ± 0.0 ^a
10.84	Naringenina	DNC	DNC	DNC	DNC	DNC	DNC	DNC
	TOTAL	1.37 ± 0.13 ^a	1.13 ± 0.02 ^b	0.76 ± 0.12 ^d	0.88 ± 0.02 ^{cd}	0.98 ± 0.01 ^{bc}	0.93 ± 0.04 ^{cd}	0.95 ± 0.02 ^{bc}

Otros

3.72	Ácido elágico*	52.95 ± 0.99 ^a	14.88 ± 0.14 ^b	38.43 ± 0.54 ^c	12.34 ± 0.36 ^d	2.41 ± 0.06 ^e	21.44 ± 0.84 ^f	17.46 ± 0.52 ^e
3.59	Etil galato	53.56 ± 5.38 ^a	74.79 ± 0.78 ^b	57.29 ± 1.15 ^a	27.95 ± 0.17 ^c	44.37 ± 0.28 ^d	29.41 ± 0.47 ^c	45.43 ± 0.18 ^a
	TOTAL	106.52 ± 6.33 ^a	89.67 ± 0.91 ^b	95.72 ± 1.24 ^b	40.29 ± 0.46 ^c	46.79 ± 0.33 ^{de}	50.85 ± 1.31 ^d	62.89 ± 0.46 ^a

Contenido total de compuestos fenólicos mediante UPLC-DAD-MSe (mg/L)

196.94 ± 10.10 ^a	189.41 ± 4.14 ^a	190.88 ± 8.73 ^a	143.9 ± 3.27 ^b	187.19 ± 3.89 ^a	137.28 ± 4.22 ^b	198.82 ± 2.33 ^a
-----------------------------	----------------------------	----------------------------	---------------------------	----------------------------	----------------------------	----------------------------

Datos expresados como la media ± desviación estándar, [‡] Vinos tintos de crianza a los 6 meses en barrica, *El estándar de referencia fue analizado, Tr: Tiempo de retención (min), ND: no detectado, DNC detectado pero no cuantificado, ESTD equivalentes del estándar, EAG: equivalentes de ácido gálico, C3G: cianidin-3-glucosido, ET: equivalentes de trolox, Diferentes letras minúsculas en la misma línea indican diferencias estadísticamente significativas entre las muestras (p < 0.05).

Tabla 8. Datos de los compuestos identificados mediante UPLC-DAD-MSe

Tr (min)	Compuesto	Aducto	Formula	Masa experimental	Masa esperada	Error de masa (mDa)	Fragmentos experimentales	Referencia
<u>Antocianinas</u>								
2.35	Delfinidin-3-O-glucosido (Mirtilina)	[H] ⁺	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₂ ⁺	465.1022	465.1035	-1.3	303.0488 257.0437	Willemse <i>et al.</i> , (2015) Lingua <i>et al.</i> , (2016) Laitila, <i>et al.</i> , (2019)
2.40	Epicatequin-malvidin-glucosido (Tipo F-A)	[H] ⁺	C ₃₈ H ₃₇ O ₁₈ ⁺	781.1960	781.1977	-1.7	619.1431 467.0967 331.0802	Willemse <i>et al.</i> , (2015)
2.44	Malvidin-3-cafeoilglucosido	[H] ⁺	C ₃₂ H ₃₁ O ₁₅ ⁺	655.1854	655.1665	18.9	331.0805	Willemse <i>et al.</i> , (2015) Lingua <i>et al.</i> , (2016)
2.59	Cianidin-3-glucosido	[H] ⁺	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₁ ⁺	449.1076	449.1060	1.6	449.1079 287.0538	Lingua <i>et al.</i> , (2016)
2.67	Petunidin-3-glucosido	[H] ⁺	C ₂₂ H ₂₃ O ₁₂	479.1180	479.1186	-0.6	317.0645 302.0411 274.0460	Willemse <i>et al.</i> , (2015)
2.80	Malvidin-3-cafeoilglucosido	[H] ⁺	C ₃₂ H ₃₁ O ₁₅ ⁺	655.1861	655.1665	19.6	NO	Willemse <i>et al.</i> , (2015) Lingua <i>et al.</i> , (2016) Laitila, <i>et al.</i> , (2019)
2.94	Peonidin-3-glucosido	[H] ⁺	C ₂₂ H ₂₃ O ₁₁ ⁺	463.1236	463.1240	-0.4	301.0698 286.0462 258.0512	Willemse <i>et al.</i> , (2015) Lingua <i>et al.</i> , (2016)
3.01	Malvidin-3-glucosido	[H] ⁺	C ₂₃ H ₂₅ O ₁₂ ⁺	493.1341	493.1348	-0.7	331.0808	Willemse <i>et al.</i> ,

	(Oenina)						315.0493 493.1338	(2015) Lingua <i>et al.</i> , (2016) Laitila, <i>et al.</i> , (2019)
3.2	Delfinidin-3-acetilglucosido	[H] ⁺	C ₂₃ H ₂₃ O ₁₃ ⁺	507.1141	507.1148	-0.7	303.0496	Willemse <i>et al.</i> , (2015)
3.55	Cianidin-3-acetilglucosido	[H] ⁺	C ₂₃ H ₂₃ O ₁₂ ⁺	491.1194	491.1162	3.2	287.0545	Lingua <i>et al.</i> , (2016) Lingua <i>et al.</i> , (2016)
3.62	Petunidin-glucosido-etil-epicatequina	[H] ⁺	C ₃₉ H ₃₉ O ₁₈ ⁺	795.2115	795.2179	-6.4	343.0810	Willemse <i>et al.</i> , (2015)
3.64	Petunidin-3-acetilglucosido	[H] ⁺	C ₂₄ H ₂₅ O ₁₃ ⁺	521.1301	521.1295	0.6	317.0657 302.0420 274.0465	Willemse <i>et al.</i> , (2015) Lingua <i>et al.</i> , (2016)
3.66	Malvidin-acetilglucosido- ácido pirúvico (Acetilvitisina A)	[H] ⁺	C ₂₄ H ₂₅ O ₁₃ ⁺	603.1342	603.1342	0.0	399.0707 383.0399 355.0439	Willemse <i>et al.</i> , (2015)
4.08	Peonidin-3-acetilglucosido	[H] ⁺	C ₂₄ H ₂₅ O ₁₂ ⁺	505.1351	505.1354	0.3	301.0696 286.0469	Willemse <i>et al.</i> , (2015) Lingua <i>et al.</i> , (2016) Laitila, <i>et al.</i> , (2019)
4.09	Malvidin-3-acetilglucosido	[H] ⁺	C ₂₅ H ₂₇ O ₁₃ ⁺	535.1456	535.1456	0.0	331.0814 315.0499 287.0543 242.0573	Willemse <i>et al.</i> , (2015) Lingua <i>et al.</i> , (2016) Laitila, <i>et al.</i> , (2019)
4.35	Malvidin-glucosido-(C4-C6)-etil-(epi)catequin	[H] ⁺	C ₄₀ H ₄₁ O ₁₈ ⁺	809.2283	809.2312	-2.9	357.0968 647.1797 519.1495	Willemse <i>et al.</i> , (2015)
4.40	Pelargonidina*	[H] ⁺	C ₁₅ H ₁₁ O ₅ ⁺	271.0786	271.0601 [†]		121.0282 271.0609	nf
4.61	Delphinidin-3-coumaroilglucosido	[H] ⁺	C ₃₀ H ₂₇ O ₁₄ ⁺	611.1413	611.1404	0.9	303.0501	Willemse <i>et al.</i> , (2015)

5.35	Malvidin-coumaroil - glucosido- ácido pirúvico (Coumaroilvitisin A)	[H] ⁺	C ₃₁ H ₂₉ O ₁₄ ⁺	707.1600	707.1608	-0.8	399.0707	Lingua <i>et al.</i> , (2016) Laitila, <i>et al.</i> , (2019) Willemse <i>et al.</i> , (2015)
5.70	Petunidin-3- coumaroilglucosido	[H] ⁺	C ₃₁ H ₂₉ O ₁₄ ⁺	625.1562	625.1557	0.5	317.0655	Willemse <i>et al.</i> , (2015) Lingua <i>et al.</i> , (2016) Laitila, <i>et al.</i> , (2019)
6.19	Malvidin- acetilglucosido-etil- catequina	[H] ⁺	C ₄₂ H ₄₃ O ₁₉ ⁺	851.2368	851.2388	-2.0	561.1581 357.0964	Willemse <i>et al.</i> , (2015)
6.24	Malvidin-3- coumaroilglucosido	[H] ⁺	C ₃₂ H ₃₁ O ₁₄ ⁺	639.1714	639.1712	0.2	331.0818 447.1166	Willemse <i>et al.</i> , (2015) Lingua <i>et al.</i> , (2016) Laitila, <i>et al.</i> , (2019)
6.70	Cianidin-3- coumaroilglucosido	[H] ⁺	C ₃₀ H ₂₇ O ₁₃ ⁺	595.1452	595.1454	-0.2	NO	Willemse <i>et al.</i> , (2015)
6.89	Malvidin-3- coumaroilglucosido	[H] ⁺	C ₃₂ H ₃₁ O ₁₄ ⁺	639.1713	639.1712	0.1	331.0812 315.05 287.0543	Willemse <i>et al.</i> , (2015) Lingua <i>et al.</i> , (2016) Laitila, <i>et al.</i> , (2019)
6.93	Peonidin-3- coumaroilglucosido	[H] ⁺	C ₃₁ H ₂₉ O ₁₃ ⁺	609.1611	609.1621	-1.0	447.0759 301.0704	Willemse <i>et al.</i> , (2015) Lingua <i>et al.</i> , (2016) Laitila, <i>et al.</i> , (2019)
7.19	Petunidin-3- coumaroilglucosido	[H] ⁺	C ₃₁ H ₂₉ O ₁₄ ⁺	625.155	625.1557	-0.7	317.0654	Willemse <i>et al.</i> , (2015) Lingua <i>et al.</i> , (2016)

7.20	Malvidin-coumaroil-glucosido-etil-(epi)catequin	[H] ⁺	C ₃₁ H ₂₉ O ₁₃ ⁺	955.2627	955.2663	-3.6	665.1868 357.0962	Laitila, <i>et al.</i> , (2019) Willemse <i>et al.</i> , (2015)
7.24	Malvidin-glucosido-vinilcatecol (Pinotina A)	[H] ⁺	C ₃₁ H ₂₉ O ₁₄ ⁺	625.1541	625.1581	-4.0	463.1019 447.0706	Willemse <i>et al.</i> , (2015)
8.13	Malvidin-glucosido-vinil-catequina	[H] ⁺	C ₄₀ H ₃₇ O ₁₈ ⁺	805.1954	805.1970	-1.6	643.1426 491.0960	Willemse <i>et al.</i> , (2015)
8.41	Peonidin-3-coumaroilglucosido	[H] ⁺	C ₃₁ H ₂₉ O ₁₃ ⁺	609.1602	609.1598	0.4	NO	Willemse <i>et al.</i> , (2015)
9.90	Malvidin-acetilglucosido-vinilfenol	[H] ⁺	C ₃₃ H ₃₁ O ₁₄ ⁺	51.1704	51.1709	-0.5	447.1071	Lingua <i>et al.</i> , (2016) Laitila, <i>et al.</i> , (2019) Willemse <i>et al.</i> , (2015)

Flavonols

2.39	Quercetin-3-glucosido Isoquercetin (Hirsutrin)	[M-H] ⁻	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	463.0860	463.0882	-2.2	300.0253 271.0220 255.027	Delgado de la Torre <i>et al.</i> , (2015)
3.37	Miricetin-3-O-glucuronido	[M-H] ⁻	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₄	493.0631	493.0636	-0.5	317.0221 178.9987 151.0047	Lingua <i>et al.</i> , (2016)
3.41	Miricetin-3-O-glucosido	[M-H] ⁻	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₃	479.0833	479.0838	-0.5	316.0202 271.0211 287.0164	Lingua <i>et al.</i> , (2016) Wojdyło <i>et al.</i> , (2017)
3.91	Miricetin-3-O-ramnosido 1 (Miricitrina)	[M-H] ⁻	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	463.0886	463.0880	0.6	316.0210 271.025	nf
4.06	Quercetin-3-O-	[M-H] ⁻	C ₂₁ H ₁₇ O ₁₃	477.0697	477.0687	1.0	301.0279	Lingua <i>et al.</i> , (2016)

	glucuronido (Miquelianina)						477.0607 151.0017 178.9953 255.0231 271.0223	
4.12	Miricetin-3-O- ramnosido 2 (Miricitrina)	[M-H] ⁻	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	463.0889	463.0880	0.9		nf
5.34	Isorhamnetin-3- glucosido	[M-H] ⁻	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	477.1053	477.1052	0.1	477.1052 243.0273 271.0223 285.0385 315.0489	Lingua <i>et al.</i> , (2016)
5.53	Miricetina*	[M-H] ⁻	C ₁₅ H ₁₀ O ₈	317.0286	317.0275 [†]	1.1	151.0038 178.9975 137.0250	Lingua <i>et al.</i> , (2016) Delgado de la Torre <i>et al.</i> , (2015)
8.54	Quercetin*	[M-H] ⁻	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	301.0323	301.0320	0.3	151.0035 178.9974 107.0157 121.0307	Lingua <i>et al.</i> , (2016)
11.09	Kaempferol*	[M-H] ⁻	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	285.0371	285.0367 [†]	0.4	211.0402 239.0354	Lingua <i>et al.</i> , (2016)
11.20	Isorhamnetin	[M-H] ⁻	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	315.0486	315.0508	-2.2	300.0244 315.0486 151.0046	Lingua <i>et al.</i> , (2016)
<u>Flavan-3-ols</u>								
1.85	Galocatequina 1	[M-H] ⁻	C ₁₅ H ₁₄ O ₇	305.0635	305.0664	-2.9	125.0246 165.0177 137.0246	Delgado de la Torre <i>et al.</i> , (2015)
2.34	Procianidina B2 1	[M-H] ⁻	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	577.1322	577.1347	-2.5	407.0763 289.0677	Delgado de la Torre <i>et al.</i> , (2015)

2.34	Epigallocatequin-3-glucuronido	[M-H] ⁻	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₃	481.0972	481.0975	-0.3	425.0865 451.1028 305.0647 301.0307 175.0027 125.0252 137.0256	Delgado de la Torre <i>et al.</i> , (2015)
2.37	Galocatequina 2	[M-H] ⁻	C ₁₅ H ₁₄ O ₇	305.0631	305.0664	-3.4	NO	Delgado de la Torre <i>et al.</i> , 2015
2.55	(+)-Catechin*	[M-H] ⁻	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	289.0682	289.0680 [†]	0.2	245.0787 203.0705	Lingua <i>et al.</i> , (2016)
2.80	Procianidina B2 2	[M-H] ⁻	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	577.1337	577.1347	-1.0	425.0870 451.1034 289.0681 407.0769	Lingua <i>et al.</i> , (2016)
3.01	(-)-Epicatequina*	[M-H] ⁻	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	289.0688	289.0681 [†]	0.8	245.0788 203.0693 109.0313 221.0817	Lingua <i>et al.</i> , (2016)
3.15	Cinamtannin A1 (procianidina C1)	[M-H] ⁻	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₈	865.1974	865.1964	1.0	575.1170 287.0533	Delgado de la Torre <i>et al.</i> , (2015)
<u>Ácidos hidroxibenzoicos</u>								
1.32	Ácido gálico*	[M-H] ⁻	C ₇ H ₆ O ₅	169.0128	169.0134 [†]	-0.6	125.0249	Lingua <i>et al.</i> , (2016)
1.91	Ácido protocatecuico*	[M-H] ⁻	C ₇ H ₆ O ₄	153.0196	153.0194 [†]	0.2	NO	Delgado de la Torre <i>et al.</i> , (2015)
<u>Ácidos hidroxicinámicos</u>								
2.13	Ácido Caftárico	[M-H] ⁻	C ₁₃ H ₁₂ O ₉	311.0382	311.0420	-3.8	149.0091 179.0337	Lingua <i>et al.</i> , (2016)

2.14	Ácido Cafeico 1	[M-H] ⁻	C ₁₃ H ₁₂ O ₉	179.0332	179.0337	-0.5	135.0412	Lingua <i>et al.</i> , (2016)
2.81	Ácido Cafeico* 2	[M-H] ⁻	C ₉ H ₇ O ₄	179.0333	179.0337 [†]	-0.4	135.0453	Lingua <i>et al.</i> , (2016)
2.82	Ácido Ferúlico	[M-H] ⁻	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	193.0486	193.0489 [†]	0.3	134.0380 193.0495	Delgado de la Torre <i>et al.</i> , (2015)
3.45	Ácido <i>p</i> -Cumárico*	[M-H] ⁻	C ₉ H ₈ O ₃	163.0396	163.0397 [†]	-0.1	119.0517 93.0343	Delgado de la Torre <i>et al.</i> , (2015)

Ácidos orgánicos

0.48	Ácido L-(+)-tartárico*1	[M-H] ⁻	C ₄ H ₅ O ₆	149.0079	149.0100 [†]	-2.1	149.0088	Delgado de la Torre <i>et al.</i> , (2015)
0.56	Ácido (±)-málico*	[M-H] ⁻	C ₄ H ₅ O ₅	133.0138	133.0134	-2.82	133.0135 115.0033	Delgado de la Torre <i>et al.</i> , (2015)
0.65	Ácido cítrico	[M-H] ⁻	C ₆ H ₈ O ₇	191.0166	191.0204	-3.8	111.0097 191.0180	Delgado de la Torre <i>et al.</i> , (2015)
2.15	Ácido L-(+)-tartárico2	[M-H] ⁻	C ₄ H ₅ O ₆	149.0085	149.0100 [†]	-4.2	149.0088	Delgado de la Torre <i>et al.</i> , (2015)
2.54	Ácido L-(+)-tartárico3	[M-H] ⁻	C ₄ H ₅ O ₆	149.0087	149.0100 [†]	-1.3	149.0088	Delgado de la Torre <i>et al.</i> , (2015)
2.56	Ácido coutárico	[M-H] ⁻	C ₁₃ H ₁₂ O ₈	295.0433	295.0468	-3.5	163.0399 149.0105	Lingua <i>et al.</i> , (2016)
2.83	Ácido fertárico	[M-H] ⁻	C ₁₄ H ₁₄ O ₉	325.0548	325.0594	-4.6	193.0495	Lingua <i>et al.</i> , (2016)

Estilbenos

3.87	<i>Trans</i> -piceid	[M-H] ⁻	C ₂₀ H ₂₂ O ₈	389.1261	389.1242	1.9	227.0689	Rodríguez-Cabo <i>et al.</i> , (2014)
4.42	<i>Trans</i> -piceatannol	[M-H] ⁻	C ₁₄ H ₁₂ O ₄	243.0639	243.0663	-2.4	159.0456	Rodríguez-Cabo <i>et al.</i> , (2014)
6.07	<i>Trans</i> -resveratrol1	[M-H] ⁻	C ₁₄ H ₁₂ O ₃	227.0691	227.0682 [†]	0.9	185.0609 143.0516	Rodríguez-Cabo <i>et al.</i> , (2014)
6.22	<i>Trans</i> -resveratrol* 2	[M-H] ⁻	C ₁₄ H ₁₂ O ₃	227.0687	227.0682 [†]	0.5	185.0609	Rodríguez-Cabo <i>et al.</i> , (2014)

9.47	Cis-resveratrol	[M-H] ⁻	C ₁₄ H ₁₂ O ₃	227.0683	227.0682 [†]	0.1	143.0516 185.0609 143.0516	(2014) Rodríguez-Cabo <i>et al.</i> , (2014)
<u>Flavanonas</u>								
4.34	Astilbina	[M-H] ⁻	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₁	449.1096	449.1097	-0.1	303.0497 285.0380 151.0042	Lingua <i>et al.</i> , (2016)
4.55	Naringenin-7-rutinoside (Narirutina)	[M-H] ⁻	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄	579.1715	579.1718	-0.3	399.1096 373.1149	Visioli <i>et al.</i> , (2020)
5.42	Naringenin-7-O- glucosido (Prunina)	[M-H] ⁻	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₀	433.1146	433.1139	0.7	399.1124 269.0433	Visioli <i>et al.</i> , (2020)
10.84	Naringenina	[M-H] ⁻	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	271.0583	271.0572 [†]	1.1	NO	Visioli <i>et al.</i> , (2020)
<u>Elagitaninos</u>								
3.72	Ácido elágico*	[M-H] ⁻	C ₁₄ H ₆ O ₈	300.9975	300.9963 [†]	1.2	283.9955 229.0119 201.0823 257.0084	Kumar <i>et al.</i> , (2017)
<u>Esteres qaloilo</u>								
3.59	Etil galato	[M-H] ⁻	C ₉ H ₁₀ O ₅	197.0439	197.0435	0.4	124.0177 169.0137	Lingua <i>et al.</i> , (2016)
<u>Otros</u>								
3.45	Fenil acetaldehído	[M-H] ⁻	C ₈ H ₈ O	119.0515	119.05	1.5	NO	Delgado de la Torre <i>et al.</i> , (2015)

*Datos adquiridos mediante el análisis del estándar de referencia; † Comparado contra datos del estándar de referencia; Tr: tiempo de retención; NO: no observado; nf: no encontrado.

VI.5 Perfil de compuestos volátiles mediante CG-EM

Los constituyentes volátiles de las muestras de vino fueron evaluados mediante HS-SPME-GC-MS/MS. Se identificaron tentativamente 89 compuestos basados en la similitud de los espectros de masa para cada compuesto de las muestras y los encontrados en la base de datos NIST (NIST08.L) (Tabla 9). Los principales compuestos fueron los esterres que se encontraron entre el 11 al 27 % del total de los constituyentes en las muestras (Tabla 10). Para todas las muestras, los principales esterres fueron el etil octanoato (5.72-9.89 %), dietil succinato (2.19-4.39 %), etil decanoato (1.76-3.93 %), etil acetato (2.16-3.36 %), etil hexanoato (1.31-2.12 %), etil lactato (0.49-1.43 %) and isoamil acetato (0.81-1.38 %), los cuales se caracterizan por notas frutales y florales (Tabla 9). Uno de los factores que afectan el aroma del vino es el cultivar de la uva, por lo tanto, el perfil de volátiles puede ser una herramienta útil para la autenticación o tipificación del vino. Los esterres mencionados anteriormente, principalmente en la variedad Cabernet Sauvignon contribuyen al complejo aroma del vino tinto. El etil octanoato con sabor a frutas, levaduras y dulzor placentero influencia el aroma del vino tinto incluso en pequeñas cantidades, el etil hexanoato con aroma a manzana verde, fresa y anís contribuye al aroma fresco y frutal, en tanto que el etil decanoato mantiene un aroma frutal y sutil acidez (Panighel & Flamini, 2014; Nan *et al.*, 2019; Valentin *et al.*, 2020). Los alcoholes isoamilo y fenilo fueron detectados en todos los vinos evaluados con contenidos entre 8.30-14.22 %, 5.20-13.66 %, el primero contribuye al sabor amargo y áspero, mientras que el segundo podría influir en el aroma floral o a rosas. Se ha reportado que altas concentraciones de estos compuestos podría incrementar el amargor (Nan *et al.*, 2019).

Referente a los ácidos, altos contenidos fueron detectados para los ácidos octanoico (1.07-1.69 %), n-decanoico (0.27-0.79 %) y hexanoico (0.29-0.46 %), los cuales se encuentran relacionados con el aroma rancio y no placentero en el vino. La presencia del ácido sórbico en los vinos procedentes de Aguascalientes podría estar relacionada con el uso de este componente en combinación con el dióxido

de azufre para la inhibición de las levaduras (Chisholm & Samuels, 1992; Panighel & Flamini, 2014; Nan *et al.*, 2019). Otros compuestos minoritarios tentativamente identificados fueron 13 terpenos y 4 fenoles volátiles, así como la *b*-damacenona que se encontró en todas las muestras (0.03-0.08 %). Los fenoles volátiles guayacol, fenol, 4-etil guayacol y 4-etil fenol fueron identificados en los vinos de la variedad Cabernet Sauvignon. El 4-etil guayacol y 4-etil fenol se encuentran relacionados con el bien conocido carácter Brett confiriendo al vino un sabor y aroma como a clavo, pan, granja y caballo (Pizarro *et al.*, 2007; Slegers *et al.*, 2015).

El área total (%) para todos los compuestos volátiles fue similar entre las muestras, sin embargo, se presentaron diferencias significativas para algunos compuestos individuales tales como el butil etil succinato, etil 9-decenoato, etil nonanoato y etil sorbato.

La ausencia del etil 2-hexenoato y el etil sorbato fue observada en los vinos tintos jóvenes de las variedades Tempranillo y Merlot comparados con los vinos tintos de crianza de las mismas variedades. Es importante notar que estas muestras provienen del mismo viñedo (Vinos del Marqués, Querétaro). Para la variedad Cabernet Sauvignon de La Redonda (Querétaro), se observó la ausencia del etil 9-decenoato, el metil salicilato y el butil etil succinato comparado con los vinos de Aguascalientes y Vinos del Marqués. El etil nonanoato fue observado solo en los vinos procedentes de Vinos del Marqués y el ácido nonanoico solo en los vinos de crianza del mismo viñedo. Para los vinos de la variedad Tempranillo se observó la presencia del ácido pentadecanoico 3-metilbutil éster, así como la ausencia del 2-feniletil acetato y el ácido butanedioico, dietil éster. Los compuestos 1-octanol y Z-3-hexen-1-ol (productos de la degradación de los ácidos grasos) fueron identificados solo en los vinos tintos de crianza de la variedad Merlot procedentes de Vinos del Marqués (Panighel & Flamini, 2014; Nan *et al.*, 2019; Valentin *et al.*, 2020).

Tabla 9. Datos de los compuestos identificados mediante GC-HS-SPME-MS/MS

Tr (min)	Compuesto	CAS	RI _{lit} (DB-Wax)	Descriptor de aroma y sabor [†]	Vinos [*]
<u>Esteres</u>					
6.31	Etil acetato	141-78-6	907	etéreo-afrutado, dulce	1-7
7.53	Etil propanoato	105-37-3	953	fruta dulce	2, 5
7.71	Etil isobutirato	97-62-1	965	afrutado, fresa	1, 3-7
8.63	Isobutil acetato	110-19-0	1005	fresa	1-7
9.14	Etil butirato	105-54-4	1028	afrutado, fresa, fruta acida	1-7
9.47	Etil-2-metilbutarato	7452-79-1	1050	fresa, baya	1-7
9.84	Etil isovalerato	108-64-5	1069	fruta dulce	1-7
11.21	Isoamil acetato	123-92-2	1132	Plátano, fresco	2-7
11.52	Etil pentanoato	539-82-2	1158		1-7
12.95	Metil hexanoato	106-70-7	1178		3, 6
14.28	Etil hexanoato	123-66-0	1220	afrutado, manzana verde, fresa, anís	1-7
15.35	Hexil acetato	142-92-7	1270	Agradable afrutado, hierba,	2-7

				pera	
17.05	Etil heptanoato	106-30-9	1317		1-7
17.26	Etil lactato	97-64-3	1334	láctico, frambuesa	1-7
17.38	Etil 2-hexenoato	27829-72-7	1360	césped	2-5
18.59	Metil octanoato	111-11-5	1400		1-7
19.87	Etil octanoato	106-32-1	1436	fruta madura, piña, pera, floral/afrutado, agradable dulzor y sabor a levadura	1-6
20.47	Isopentil hexanoato	2198-61-0	1464	piña, queso	4
21.69	Etil sorbato	2396-84-1	1490		2-5
22.44	Etil nonanoato	123-29-5	1526	rosa, afrutado	4-7
23.91	Metil decanoato	110-42-9	1599		1-6
25.00	Etil decanoato	110-38-3	1638	afrutado, vinagre agradable/confortable	1-7
25.51	Isoamil octanoato	2035-99-6	1665	Dulce, afrutado ligero, queso, crema	1-6
25.80	Dietil succinato	123-25-1	1672	Afrutado ligero, fermentado, floral	1-7
26.19	Etil 9-decenoato	67233-91-4	1688		2-7

28.17	Dietil éster, ácido pentanedioico	818-38-2	1763		1-3, 5-7
28.34	Metil salicilato	119-36-8	1771		2-7
28.36	Etil fenilacetato	101-97-3	1781		1
28.49	Butil etil succinato	1000324-85-1	nf		2-7
29.05	2-feniletil acetato	103-45-7	1812	agradable, floral	1-3, 5-7
30.14	3-metilbutil éster, ácido pentadecanoico	2306-91-4	1864		4
30.88	Etil 3-metilbutil éster, ácido succinico	1000349-24-1	nf		1, 3-6
33.69	(.+/-)-Ácido butanedioico, hidroxí-, dietil éster	626-11-9	2060		2, 3, 5
42.36	Etil vainillina	617-05-0	2676	polen, florido	4
<u>Alcoholes</u>					
7.20	Etanol	64-17-5	937		1-7
9.04	1-Propanol	71-23-8	1026	fresco, alcohólico	2-7
10.45	Isobutanol	78-83-1	1099	alcohol, amargo	1-7
11.69	1-Butanol	71-36-3	1165	Medicinal, alcohol	3

13.44	Isoamil alcohol	123-51-3	1205	Alcohol, áspero, amargo	1-7
18.26	Z-3-Hexen-1-ol	928-96-1	1391	hierba fresca y cortada	6
22.73	1-Octanol	111-87-5	1558		6
24.02	3,7-dimetil, 1,5,7-Octatrien-3-ol	29957-43-5	1621		2
25.30	1-nonanol	143-08-8	1661		3-7
30.20	Alcohol de bencilo	100-51-6	1879		1-7
31.06	Fenil etil alcohol	60-12-8	1918	Floral, polen, perfume, rosas	1-7
<u>Aldehídos</u>					
22.13	Benzaldehído	100-52-7	1506		1-7
<u>Acids</u>					
19.94	Ácido acético	64-19-7	1450	Vinagre	4, 5, 7
23.00	Ácido isobutirico	79-31-2	1566		4-7
29.45	Ácido hexanoico	142-62-1	1846	Queso, rancio, piña	1-7
33.92	Ácido octanoico	124-07-2	2076	queso	1-7
35.49	Ácido sorbico	110-44-1	2150		2-3,
36.10	Ácido nonanoico	112-05-0	2168	rancidez	6-7
37.70	Ácido n-decanoico	334-48-5	2290	graso, agrio, desagradable	1-7

39.10	Etil hydrogeno succinato	1070-34-4	2368		1-7
<u>Furanos y lactonas</u>					
15.66	2-n-Butil furano	4466-24-4	1123		1
20.47	Furfural	98-01-1	1455	afrutado, floral dulce, como pan,	1-3, 5-7
23.27	5-methyl-2-furancarboxaldehído	620-02-0	1570		7
24.74	Butirolactona	96-48-0	1635		2, 3, 5-7
26.97	5-(1-hexynyl)-furan-2-ácido carboxílico	269-18-0	nf		2-3, 7
<u>Compuestos que contienen azufre</u>					
6.12	Dióxido de azufre	7446-09-5	882		2-3, 5-7
26.60	3-(metiltio)-1-Propanol	505-10-2	1695	patata cruda, ajo	2-3, 5-7
<u>Terpenos</u>					
12.19	beta-Mirceno	123-35-3	1166		5
13.22	Limoneno	138-86-3	1204		2-3
14.66	alfa-Ocimeno	502-99-8	nf		4
15.65	Z-b-terpinoleno	586-62-9	nf		4

15.68	(+)-4-Careno	29050-33-7	nf		5
20.72	(E)-óxido de linalol	34995-77-2	1471		4
21.28	alfa-terpineno	99-86-5	1183		2, 3, 4
21.97	alfa-terpinoleno	586-62-9	1301		4, 5
21.97	Alcanfor	464-17-5	1491		3, 6, 7
22.46	Linalol	78-70-6	1546		2
24.02	Terpinen-4-ol	562-74-3	1628		4-6
27.45	Naftaleno	91-20-3	1712		2
27.64	1,1,6-Trimetil-1,2-dihidronaftaleno (TDN)	30364-38-6	1729		1, 4-5
29.25	(E)-b-damascenona	23696-85-7	1813	Corteza, melocotón enlatado, manzana al horno, ciruela seca	1-7
33.59	E-nerolidol	40716-66-3	2056	Sabor floral, afrutado, naranja, ligero.	2, 3, 5
37.30	1,6-dimetil-4-(1-metiletil)-naftaleno	483-78-3	nf		5-6
<u>Piranos</u>					
20.72	3,6-dihidro-4-metil-2-(2-metil-1-	1786-08-9	1468		2, 5

propenil)-2H-Pirano

Fenoles volátiles

29.87	Guayacol	90-05-1	1859	fenólico, químico	1,4,6
32.75	fenol	108-95-2	2008		1-4
33.45	4-Etilguayacol	2785-89-9	2033	fenólico, floral	1-3
36.09	4-etilfenol	123-07-9	2167	Cera para pulir zapatos, fenólico, cuero	1-3

Otros

14.86	1,3,5,7-Cyclooctatetraeno	629-20-9	1264	carácter herbal y mohoso	1-2
42.07	1-Dimetil (diclorometil) sililoxi- 2-feniletano	1000279- 279-96-8	nf		2
32.20	Ciclododecano	294-62-2	1519		2-5, 7

RI_{lit}: índices de retención obtenidos de literatura, [†]descriptor del olor obtenido de literatura, *Vinos: muestras de vino en las cuales fue el compuesto fue identificado (Vino tinto joven de 1: C. Sauvignon/La Redonda; 2: C. Sauvignon/Cu4tro soles; 3: Merlot/Cu4tro soles; 4: Tempranillo/Vinos del Marqués; 5: Merlot/Vinos del Marqués; Vino tinto de crianza de 6: Tempranillo/Vinos del Marqués; 7: Merlot/Vinos del Marqués). Nf: no encontrado; Tr: tiempo de retención.

Tabla 10. Contenido total e individual de los compuestos volátiles identificados mediante GC-HS-SPME-MS/MS[‡]

Rt (min)	Viñedo Variedad Compuesto	<u>La Redonda</u> C. Sauvignon	<u>Cu4tro soles</u> C. Sauvignon	Merlot	Tempranillo	<u>Vinos del Marqués</u> Merlot	Tempranillo [‡]	Merlot [‡]
<u>Esteres</u>								
6.31	Etil acetato	2.97 ± 0.29 ^{ab}	2.32 ± 0.15 ^b	2.51 ± 0.39 ^{ab}	2.65 ± 0.22 ^{ab}	2.52 ± 0.09 ^{ab}	3.36 ± 0.48 ^a	2.16 ± 0.66 ^b
7.53	Etil propanoato	ND	0.78 ± 0.06 ^a	ND	ND	0.79 ± 0.08 ^a	ND	ND
7.71	Etil isobutirato	2.35 ± 0.82 ^a	ND	1.44 ± 0.06 ^b	ND	ND	ND	0.8 ± 0.04 ^{bc}
8.63	Isobutil acetato	0.03 ± 0.01 ^{ab}	0.02 ± 0.01 ^b	0.02 ± 0.01 ^b	0.05 ± 0.02 ^{ab}	0.05 ± 0.01 ^{ab}	0.06 ± 0.01 ^{ab}	0.04 ± 0.01 ^{ab}
9.14	Etil butirato	0.12 ± 0.02 ^{ab}	0.11 ± 0.01 ^b	0.09 ± 0.01 ^b	0.16 ± 0.03 ^a	0.10 ± 0.01 ^b	0.14 ± 0.02 ^{ab}	0.12 ± 0.02 ^{ab}
9.47	Etil-2-metilbutarato	0.13 ± 0.03 ^a	0.04 ± 0.01 ^{bc}	0.06 ± 0.02 ^b	0.02 ± 0.01 ^c	0.06 ± 0.00 ^b	0.02 ± 0.00 ^c	0.06 ± 0.00 ^b
9.84	Etil isovalerato	0.13 ± 0.01 ^a	0.05 ± 0.00 ^{bc}	0.07 ± 0.01 ^b	0.03 ± 0.01 ^c	0.07 ± 0.01 ^b	0.03 ± 0.01 ^c	0.07 ± 0.02 ^b
11.21	Isoamil acetato	0.81 ± 0.15 ^{cd}	1.00 ± 0.11 ^{bcd}	0.82 ± 0.05 ^d	1.16 ± 0.25 ^{abcd}	1.38 ± 0.03 ^a	1.29 ± 0.04 ^{ab}	1.23 ± 0.03 ^{abc}
11.52	Etil pentanoato	0.01 ± 0.00 ^b	0.02 ± 0.00 ^{ab}	0.02 ± 0.00 ^{ab}	0.02 ± 0.00 ^{ab}	0.02 ± 0.00 ^{ab}	0.03 ± 0.00 ^a	0.02 ± 0.00 ^{ab}
12.95	Metil hexanoato	ND	ND	0.01 ± 0.00 ^a	ND	ND	0.01 ± 0.00 ^a	ND
14.28	Etil hexanoato	1.90 ± 0.32 ^{ab}	1.61 ± 0.08 ^{ab}	1.65 ± 0.06 ^{ab}	1.99 ± 0.39 ^a	1.61 ± 0.06 ^{ab}	2.12 ± 0.11 ^a	1.31 ± 0.35 ^b
15.35	Hexil acetato	ND	0.05 ± 0.00 ^a	0.04 ± 0.00 ^a	0.08 ± 0.02 ^b	0.08 ± 0.00 ^b	0.1 ± 0.01 ^b	0.08 ± 0.01 ^b
17.05	Etil heptanoato	0.04 ± 0.01 ^a	0.03 ± 0.01 ^a	0.04 ± 0.02 ^a	0.09 ± 0.02 ^b	0.05 ± 0.01 ^a	0.10 ± 0.01 ^b	0.04 ± 0.01 ^a

17.26	Etil lactato	0.91 ± 0.42 ^{ab}	0.49 ± 0.02 ^b	0.58 ± 0.13 ^b	0.77 ± 0.02 ^{ab}	1.04 ± 0.27 ^{ab}	1.12 ± 0.60 ^{ab}	1.43 ± 0.06 ^a
17.38	Etil 2-hexenoato	ND	0.45 ± 0.01 ^a	0.54 ± 0.01 ^a	0.95 ± 0.18 ^b	0.55 ± 0.01 ^a	ND	ND
18.59	Metil octanoato	0.05 ± 0.01 ^a	0.05 ± 0.00 ^a	0.05 ± 0.00 ^a	0.04 ± 0.00 ^{ab}	0.04 ± 0.00 ^{ab}	0.04 ± 0.00 ^{ab}	0.03 ± 0.01 ^b
19.87	Etil octanoato	9.89 ± 1.89 ^a	9.56 ± 0.51 ^a	8.17 ± 0.19 ^{ab}	8.19 ± 1.03 ^{ab}	5.72 ± 0.19 ^b	8.3 ± 0.24 ^a	ND
20.47	Isopentil hexanoato	ND	ND	ND	0.09 ± 0.01	ND	ND	ND
21.69	Etil sorbato	ND	1.78 ± 0.09 ^a	2.43 ± 0.33 ^b	0.13 ± 0.07 ^c	0.07 ± 0.01 ^c	ND	ND
22.44	Etil nonanoato	ND	ND	ND	0.36 ± 0.04 ^{ab}	0.23 ± 0.01 ^c	0.40 ± 0.06 ^a	0.26 ± 0.07 ^{bc}
23.91	Metil decanoato	ND	0.03 ± 0.00 ^b	0.04 ± 0.01 ^a	0.02 ± 0.00 ^c	0.02 ± 0.00 ^c	0.02 ± 0.00 ^c	0.02 ± 0.01 ^c
25.00	Etil decanoato	3.35 ± 0.61 ^{ab}	3.62 ± 0.25 ^{ab}	3.93 ± 0.06 ^a	3.11 ± 0.17 ^{ab}	2.15 ± 0.13 ^{cd}	2.83 ± 0.08 ^{bc}	1.76 ± 0.41 ^d
25.51	Isoamil octanoato	0.18 ± 0.08 ^a	0.26 ± 0.02 ^a	0.21 ± 0.01 ^a	0.20 ± 0.03 ^a	0.21 ± 0.00 ^a	0.15 ± 0.01 ^a	ND
25.80	Dietil succinato	4.39 ± 0.84 ^a	3.58 ± 0.05 ^{ab}	4.07 ± 0.07 ^a	3.80 ± 0.52 ^{ab}	2.19 ± 0.07 ^c	4.23 ± 0.08 ^a	2.55 ± 0.00 ^{bc}
26.19	Etil 9-decenoato	ND	0.34 ± 0.01 ^a	0.25 ± 0.02 ^b	0.56 ± 0.04 ^c	0.18 ± 0.02 ^d	0.30 ± 0.02 ^{ab}	0.14 ± 0.03 ^d
28.17	Dietil éster, ácido pentanedioico	0.06 ± 0.02 ^a	0.02 ± 0.00 ^a	0.03 ± 0.01 ^a	ND	0.02 ± 0.01 ^a	0.04 ± 0.01 ^a	0.03 ± 0.01 ^a
28.34	Metil salicilato	ND	0.19 ± 0.01 ^{bc}	0.15 ± 0.00 ^c	0.50 ± 0.04 ^a	0.23 ± 0.03 ^b	0.19 ± 0.00 ^c	0.22 ± 0.01 ^{bc}
28.36	Etil fenilacetato	ND	ND	0.15 ± 0.00	ND	ND	ND	ND

28.49	Butil etil succinato	ND	0.06 ± 0.01 ^d	0.15 ± 0.00 ^c	0.50 ± 0.04 ^a	0.23 ± 0.03 ^b	0.19 ± 0.00 ^{bc}	0.22 ± 0.01 ^{bc}
29.05	2-feniletil acetao	0.18 ± 0.01 ^a	0.25 ± 0.00 ^b	0.25 ± 0.01 ^b	ND	0.51 ± 0.03 ^c	0.23 ± 0.01 ^{ab}	0.5 ± 0.01 ^c
30.14	3-metilbutil éster, ácido pentadecanoico	ND	ND	ND	0.50 ± 0.01	ND	ND	ND
30.88	Etil 3-metilbutil éster, ácido succinico	0.44 ± 0.10 ^a	ND	0.67 ± 0.02 ^b	0.44 ± 0.06 ^a	0.46 ± 0.04 ^a	0.44 ± 0.01 ^a	ND
33.69	(.+/-)-Ácido butanedioico, hidroxí-, dietil éster	ND	0.03 ± 0.01 ^a	0.01 ± 0.00 ^b	ND	0.03 ± 0.00 ^a	ND	ND
42.36	Etil vainillina	ND	ND	ND	0.02 ± 0.00	ND	ND	ND
TOTAL		27.04 ± 1.38 ^a	25.94 ± 1.03 ^a	27.19 ± 2.15 ^a	25.92 ± 2.94 ^a	19.63 ± 0.73 ^b	23.96 ± 1.87 ^{ab}	11.08 ± 2.38 ^c
<u>Alcoholes</u>								
7.20	Etanol	24.23 ± 4.49 ^a	21.44 ± 2.14 ^a	17.85 ± 0.52 ^a	23.47 ± 3.9 ^a	19.94 ± 0.97 ^a	23.30 ± 3.35 ^a	19.01 ± 1.56 ^a
9.04	1-Propanol	ND	0.08 ± 0.01 ^{bc}	0.05 ± 0.01 ^c	0.08 ± 0.01 ^{ab}	0.06 ± 0.00 ^{bc}	0.11 ± 0.02 ^a	0.06 ± 0.01 ^{bc}
10.45	Isobutanol	0.56 ± 0.03 ^a	0.58 ± 0.02 ^a	0.62 ± 0.05 ^a	0.93 ± 0.08 ^b	1.11 ± 0.04 ^b	1.07 ± 0.19 ^b	1.18 ± 0.11 ^b
11.67	1-Butanol	ND	ND	0.03 ± 0.00	ND	ND	ND	ND
13.44	Isoamil alcohol	9.55 ± 1.16 ^a	8.30 ± 0.27 ^a	9.69 ± 0.55 ^a	8.90 ± 0.75 ^a	14.22 ± 0.69 ^b	9.99 ± 1.34 ^a	14.37 ± 0.98 ^b
18.26	Z-3-Hexen-1-ol	ND	ND	ND	ND	ND	0.11 ± 0.01	ND
22.73	1-Octanol	ND	ND	ND	ND	ND	0.12 ± 0.03	ND

24.02	3,7-dimetil, 1,5,7-Octatrien-3-ol	ND	0.02 ± 0.00	ND	ND	ND	ND	ND
25.30	1-nonanol	ND	ND	0.08 ± 0.01 ^a	0.17 ± 0.01 ^a	0.14 ± 0.01 ^a	0.26 ± 0.03 ^a	0.14 ± 0.03 ^a
30.20	Alcohol de bencilo	0.12 ± 0.02 ^d	0.17 ± 0.02 ^{cd}	0.13 ± 0.01 ^d	0.22 ± 0.02 ^{bc}	0.28 ± 0.01 ^a	0.24 ± 0.04 ^{ab}	0.29 ± 0.00 ^{a°}
31.06	Fenil etil alcohol	7.68 ± 1.53 ^{bc}	7.13 ± 0.02 ^c	8.41 ± 1.04 ^{bc}	5.20 ± 0.58 ^c	13.66 ± 0.52 ^a	6.60 ± 1.14 ^c	11.11 ± 2.62 ^{ab}
TOTAL		42.02 ± 2.83 ^{abc}	37.72 ± 1.96 ^{bc}	36.82 ± 1.20 ^c	38.96 ± 2.84 ^{bc}	49.42 ± 0.56 ^a	41.8 ± 5.89 ^{abc}	46.05 ± 3.23 ^{ab°}
<u>Aldehídos</u>								
22.13	Benzaldehído	0.07 ± 0.02 ^a	0.05 ± 0.01 ^{ab}	0.03 ± 0.01 ^{bc}	0.03 ± 0.00 ^c	0.03 ± 0.01 ^c	0.03 ± 0.01 ^{bc}	0.04 ± 0.00 ^{bc}
<u>Ácidos</u>								
19.94	Ácido acético	ND	ND	ND	0.66 ± 0.03 ^a	0.37 ± 0.01 ^b	ND	0.45 ± 0.14 ^{ab}
23.00	Ácido isobutirico	ND	ND	ND	0.06 ± 0.01 ^a	0.06 ± 0.00 ^a	0.07 ± 0.01 ^a	0.05 ± 0.01 ^a
29.45	Ácido hexanoico	0.37 ± 0.08 ^a	0.39 ± 0.01 ^a	0.37 ± 0.02 ^a	0.46 ± 0.07 ^a	0.30 ± 0.01 ^a	0.45 ± 0.02 ^b	0.29 ± 0.08 ^a
33.92	Ácido octanoico	1.63 ± 0.35 ^a	1.62 ± 0.03 ^a	1.51 ± 0.16 ^a	1.55 ± 0.24 ^a	1.22 ± 0.08 ^a	1.69 ± 0.38 ^a	1.07 ± 0.29 ^a
35.49	Ácido sorbico	ND	5.22 ± 0.25 ^a	5.19 ± 0.57 ^a	ND	ND	ND	ND
36.10	Ácido nonanoico	ND	ND	ND	ND	ND	0.15 ± 0.04 ^a	0.09 ± 0.03 ^a
37.70	Ácido n-decanoico	0.53 ± 0.12 ^{bc}	0.63 ± 0.09 ^{ab}	0.79 ± 0.04 ^a	0.33 ± 0.03 ^d	0.27 ± 0.03 ^d	0.35 ± 0.07 ^{cd}	0.30 ± 0.03 ^d
39.10	Etil hydrogeno succinato	0.57 ± 0.21 ^a	1.07 ± 0.09 ^a	1.05 ± 0.25 ^a	0.78 ± 0.17 ^a	1.0 ± 0.38 ^a	1.27 ± 0.45 ^b	0.72 ± 0.16 ^a

TOTAL		3.10 ± 0.50 ^{bc}	8.93 ± 0.20 ^a	8.65 ± 0.39 ^a	3.47 ± 0.37 ^{bc}	3.23 ± 0.28 ^{bc}	3.92 ± 0.24 ^b	2.77 ± 0.44 ^c
<u>Furanos and lactonas</u>								
15.66	2-n-Butil furano	0.21 ± 0.04	ND	ND	ND	ND	ND	ND
20.47	Furfural	0.17 ± 0.06 ^{ab}	0.12 ± 0.00 ^b	0.20 ± 0.01 ^{ab}	ND	0.11 ± 0.00 ^b	0.11 ± 0.01 ^b	0.27 ± 0.08 ^a
23.27	5-methyl-2-furancarboxaldehído	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.15 ± 0.08
24.74	Butirolactona	ND	0.03 ± 0.00 ^a	0.04 ± 0.01 ^a	ND	0.05 ± 0.01 ^a	0.08 ± 0.01 ^b	0.05 ± 0.01 ^a
26.97	5-(1-hexynyl)-furan-2-ácido carboxílico	ND	0.08 ± 0.00 ^a	0.11 ± 0.02 ^b	ND	ND	ND	0.05 ± 0.00 ^c
TOTAL		0.38 ± 0.05 ^{ab}	0.22 ± 0.01 ^{bc}	0.34 ± 0.01 ^{ab}	ND	0.16 ± 0.01 ^{bc}	0.19 ± 0.01 ^{bc}	0.5 ± 0.11 ^a
<u>Compuestos que contienen azufre</u>								
6.12	Dióxido de azufre	ND	0.09 ± 0.00 ^b	0.12 ± 0.01 ^{ab}	ND	0.10 ± 0.01 ^b	0.13 ± 0.01 ^{ab}	0.16 ± 0.03 ^a
26.60	3-(metiltio)-1-Propanol	ND	0.10 ± 0.00 ^{ab}	0.1 ± 0.01 ^{ab}	ND	0.15 ± 0.01 ^a	0.05 ± 0.00 ^b	0.15 ± 0.03 ^a
TOTAL		ND	0.19 ± 0.00 ^b	0.22 ± 0.01 ^{ab}	ND	0.25 ± 0.01 ^{ab}	0.18 ± 0.01 ^b	0.31 ± 0.06 ^a
<u>Terpenos</u>								
12.19	beta-Mirceno	ND	ND	ND	ND	0.10 ± 0.00	ND	ND
13.22	Limoneno	ND	0.03 ± 0.01 ^a	0.02 ± 0.00 ^a	ND	ND	ND	ND
14.66	alfa-Ocimeno	ND	ND	ND	0.01 ± 0.00	ND	ND	ND
15.65	Z-b-terpinoleno	ND	ND	ND	0.01 ± 0.00	ND	ND	ND

15.68	(+)-4-Careno	ND	ND	ND	ND	0.02 ± 0.00	ND	ND
20.72	(E)-óxido de linalol	ND	ND	ND	0.03 ± 0.01	ND	ND	ND
21.28	alfa-terpineno	ND	0.05 ± 0.01 ^a	0.03 ± 0.01 ^a	0.04 ± 0.01 ^a	ND	ND	ND
21.97	alfa-terpinoleno	ND	ND	ND	0.11 ± 0.01 ^a	0.06 ± 0.00 ^b	ND	ND
21.97	Alcanfor	ND	ND	0.07 ± 0.01 ^a	ND	ND	0.08 ± 0.01 ^a	0.05 ± 0.01 ^a
22.46	Linalol	ND	0.32 ± 0.05	ND	ND	ND	ND	ND
24.02	Terpinen-4-ol	ND	ND	ND	0.03 ± 0.01 ^a	0.01 ± 0.01 ^a	0.02 ± 0.00 ^a	ND
27.45	Naftaleno	ND	0.02 ± 0.00	ND	ND	ND	ND	ND
27.64	1,1,6-Trimetil-1,2-dihidronaftaleno (TDN)	0.20 ± 0.03 ^a	ND	ND	0.07 ± 0.02 ^b	0.03 ± 0.00 ^b	ND	ND
29.25	(E)-b-damascenona	0.04 ± 0.01 ^c	0.05 ± 0.01 ^{bc}	0.03 ± 0.00 ^c	0.07 ± 0.01 ^a	0.08 ± 0.01 ^a	0.04 ± 0.01 ^{bc}	0.07 ± 0.01 ^{ab}
33.59	E-nerolidol	ND	0.08 ± 0.01 ^a	0.09 ± 0.01 ^a	ND	0.09 ± 0.01 ^a	ND	ND
37.30	1,6-dimetil-4-(1-metiletil)- naftaleno	ND	ND	0.06 ± 0.01 ^a	ND	0.04 ± 0.01 ^a	ND	ND
TOTAL		0.23 ± 0.04 ^{bc}	0.54 ± 0.06 ^a	0.22 ± 0.00 ^{bc}	0.27 ± 0.03 ^b	0.29 ± 0.02 ^b	0.16 ± 0.05 ^c	0.13 ± 0.07 ^c
<u>Piranos</u>								
20.72	3,6-dihidro-4-metil-2-(2-metil-1-propenil)-	ND	0.03 ± 0.00 ^a	ND	ND	0.01 ± 0.00 ^b	ND	ND

2H-pirano								
<u>Fenoles volátiles</u>								
29.87	Guayacol	0.02 ± 0.01 ^b	ND	ND	0.03 ± 0.01 ^{ab}	ND	0.05 ± 0.01 ^a	ND
32.75	Fenol	0.05 ± 0.02 ^a	0.04 ± 0.01 ^a	0.05 ± 0.00 ^a	0.05 ± 0.01 ^a	ND	ND	ND
33.45	4-Etilguayacol	0.04 ± 0.01 ^a	0.03 ± 0.00 ^a	0.01 ± 0.01 ^b	ND	ND	ND	ND
36.09	4-etilfenol	0.23 ± 0.06 ^a	0.23 ± 0.01 ^a	0.18 ± 0.02 ^a	ND	ND	ND	ND
TOTAL		0.34 ± 0.09 ^a	0.30 ± 0.01 ^a	0.25 ± 0.02 ^a	0.09 ± 0.02 ^b	ND	0.05 ± 0.01 ^b	ND
<u>Otros</u>								
14.86	1,3,5,7-Cyclooctatetraeno	0.02 ± 0.00 ^a	0.01 ± 0.00 ^b	ND	ND	ND	ND	ND
42.07	1-Dimetil (diclorometil) sililoxi-2- feniletano	ND	0.09 ± 0.00	ND	ND	ND	ND	ND
32.20	Ciclododecano	ND	0.04 ± 0.01 ^b	0.06 ± 0.01 ^{ab}	0.07 ± 0.01 ^a	0.07 ± 0.01 ^a	ND	0.07 ± 0.01 ^a
TOTAL		0.02 ± 0.00 ^c	0.14 ± 0.01 ^a	0.06 ± 0.01 ^b	0.07 ± 0.01 ^b	0.07 ± 0.01 ^b	ND	0.07 ± 0.02 ^b
<u>No identificados</u>								
19.82		ND	ND	ND	ND	ND	ND	4.70 ± 0.11
29.67		ND	ND	ND	ND	0.23 ± 0.05	ND	ND
29.68		ND	ND	0.23 ± 0.02 ^a	0.54 ± 0.06 ^b	0.21 ± 0.02 ^a	0.42 ± 0.02 ^{bc}	0.20 ± 0.05 ^a

37.62	ND	ND	ND	ND	ND	0.20 ± 0.04	
TOTAL	ND	ND	0.23 ± 0.02 ^a	0.54 ± 0.06 ^a	0.37 ± 0.16 ^a	0.61 ± 0.05 ^a	4.32 ± 1.05 ^b
<u>Área total de compuestos volátiles mediante HS-SPME-GC-MS/MS (%)</u>							
	73.25 ± 1.82 ^a	73.93 ± 2.45 ^a	73.76 ± 1.93 ^a	69.48 ± 0.91 ^a	73.29 ± 1.25 ^a	70.91 ± 7.79 ^a	64.87 ± 7.00 ^a

ⁱDatos expresados como la media ± desviación estándar (Área in % ± SD), [‡] Vinos tintos conservados 6 meses en barrica, ND: no detectado, Diferentes letras minúsculas en la misma línea indican diferencias estadísticamente significativas entre las muestras (p < 0.05)

VI.6 Contenido de compuestos fenólicos en vinos tintos determinado mediante Voltamperometría de Pulso Diferencial (VPD)

VI.6.1 Optimización del método

Con el objetivo de evaluar el comportamiento electroquímico de las muestras, así como los mejores materiales para la detección de los analitos de interés, se evaluaron diferentes mezclas de estándares a diferentes concentraciones mediante voltamperometría de pulso diferencial. Para todos los ensayos realizados se emplearon los mismos parámetros. La velocidad de escaneo fue de 15 mV/s, el potencial de paso fue de 3 mV, el ancho de pulso 50 ms, el periodo de pulso 200 ms y la amplitud de pulso 50 mV. La mezcla de estándares (MSTD4) o solución modelo conformada por 20 μM de quercetina, 70 μM de ácido elágico y 100 μM de pelargonidina fue la que presentó mejores resultados. Es importante mencionar que la quercetina y el ácido elágico fueron identificados mediante la cromatografía de líquidos y se encuentran presentes en todos los vinos analizados, mientras que la pelargonidina fue la antocianina a nuestro alcance para las evaluaciones (Tabla 8).

La mezcla de estándares o solución modelo se evaluó en un electrodo nuevo mientras que los estándares individuales se evaluaron en electrodos previamente usados. Las figuras 13 a 15 muestran los voltamperogramas obtenidos mediante VPD para quercetina (20 μM), ácido elágico (70 μM) y pelargonidina (100 μM), respectivamente. La quercetina presenta un solo pico de oxidación a potenciales bajos (entre +100 a +300 mV) debido a la oxidación de los grupos OH presente en el anillo B. La pelargonidina presenta un pico pequeño de oxidación en la misma ventana de potenciales que la quercetina (entre +150 a +300 mV) que de igual manera corresponde a la oxidación del grupo OH más susceptible a reacciones redox del anillo B y un segundo pico más intenso y ancho a potenciales más altos (entre +430 y +730 mV) correspondiente a la oxidación de los grupos OH menos reactivos presentes en el anillo A. El ácido elágico presenta

un pico de oxidación en potenciales intermedios (entre +250 y +500 mV) debido a la presencia de grupos OH oxidables (de Lima *et al.*, 2007; Medvidović-Kosanović *et al.*, 2010; Guiberteau-Cabanillas *et al.*, 2015).

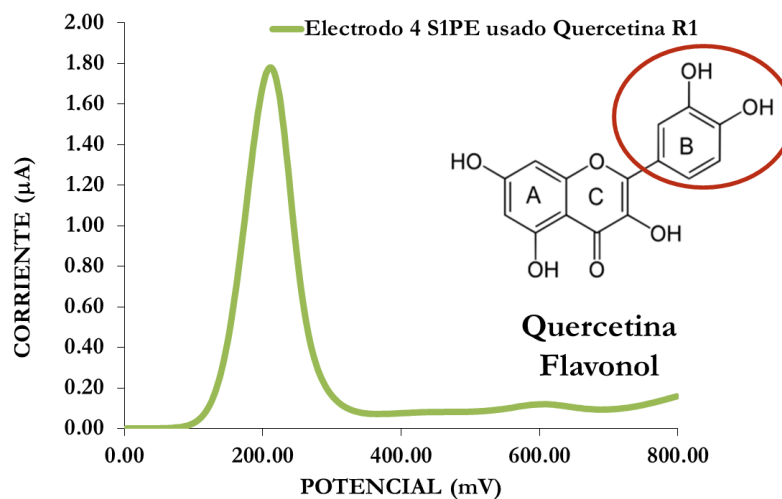


Figura 13. Voltamperograma de quercetina 20 μM en MES (25 mM, pH 5.0), electrodo S1PE usado. En círculo rojo se resaltan los grupos OH oxidables.

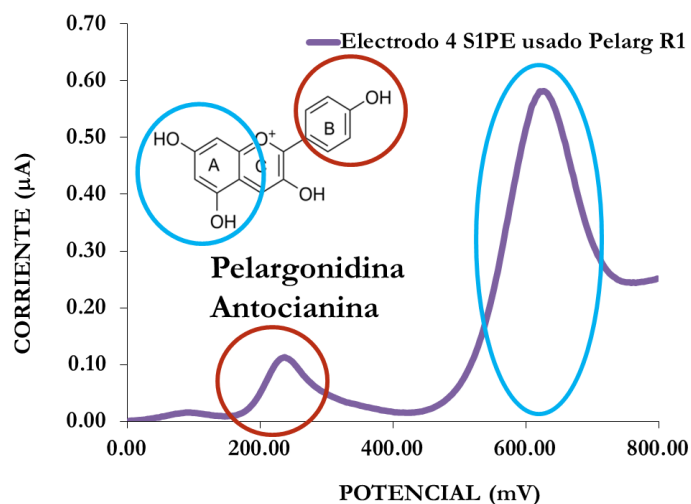


Figura 14. Voltamperograma de pelargonidina 100 μM en MES (25 mM, pH 5.0), electrodo S1PE usado. En círculo rojo se resaltan los OH oxidables del anillo B y en azul los del anillo A.

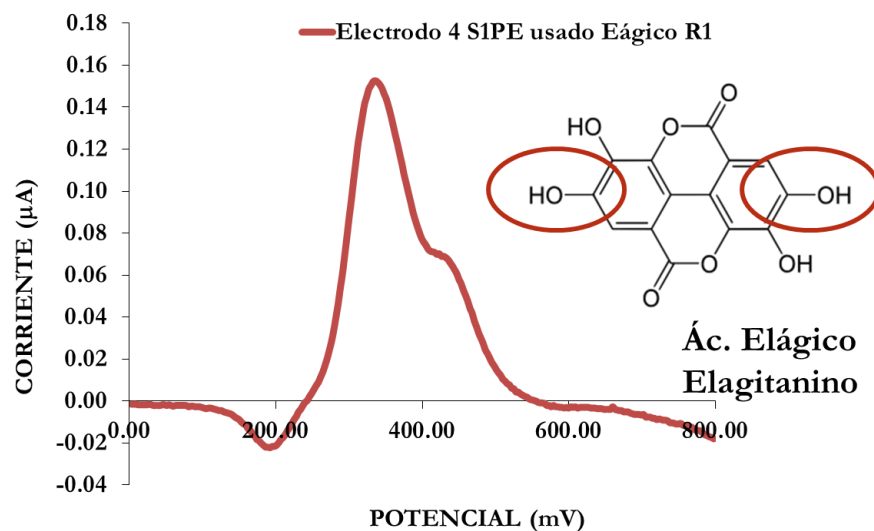


Figura 15. Voltamperograma del ácido elágico 70 μM en MES (25 mM, pH 5.0), electrodo S1PE usado. En círculo rojo se resaltan los grupos OH oxidables.

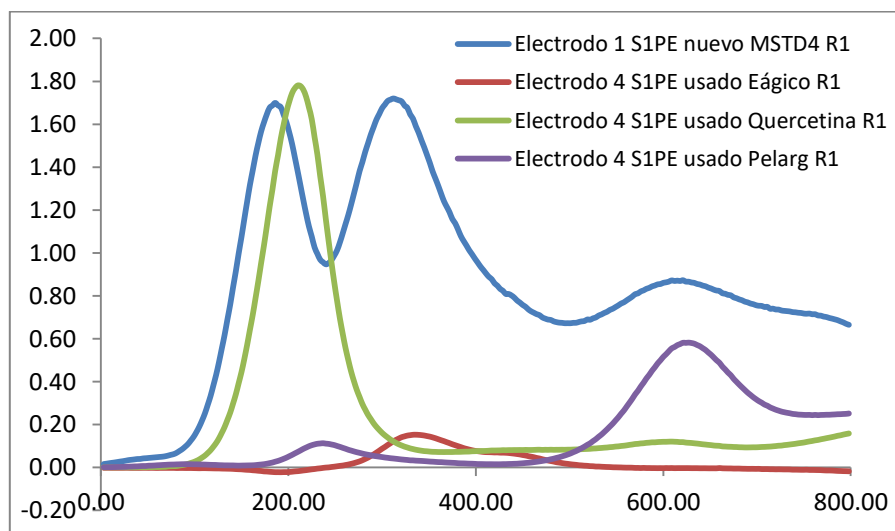


Figura 16. Mezcla de estándares (MSTD4: 20 μM de quercetina, 30 μM de ác. elágico y 40 μM de pelargonidina) y compuestos individuales en MES (25 mM, pH 5.0) para el electrodo S1PE

En la Figura 16 podemos observar que la ventana de potencial en que se oxidan los compuestos bajo estudio (0 a +800 mV) se encuentra comprendida en el rango reportado por Dhroso *et al.* (2010), así como por Newair *et al.* (2017) (+0.4 a +1.5 V y +0.2 a +1.2, respectivamente). Si bien la intensidad de los picos de oxidación para los electrodos usados se ve muy disminuida comparada con la mezcla de estándares (MSTD4) en un electrodo nuevo, los rangos para el potencial de oxidación comparados con los de la mezcla son correspondientes (entre 100 y 150 mV para la quercetina, entre 246 y 480 mV para el ácido elágico y entre 430 y 730 mV para la pelargonidina). El perfil es congruente al presentado en los electrodos SD150.

Newair *et al.* (2017) reportaron para una solución de vino modelo un primer pico de oxidación a potenciales de 130-150 mV, el cual corresponde al pico de oxidación de diversos compuestos como los flavonoides tipo catequina, moléculas oligoméricas y poliméricas (taninos), así como a compuestos fácilmente oxidables como las catequinas, el ácido cafeico y sus derivados, ácido gálico y flavonoles como la quercetina, con grupo catecol o galoilo, mientras que el segundo pico correspondió a las antocianinas. En el presente proyecto se lograron observar tres picos, el primero corresponde a los picos de oxidación de los mismos tipos de compuestos mayoritarios presentes en los vinos tintos evaluados, el segundo al ácido elágico y el tercero correspondiente a las antocianinas.

Los voltamperogramas de la mezcla de estándares o solución modelo (MSTD4), empleando la solución amortiguadora MES (25 mM, pH 5.0) con los diferentes electrodos serigrafados se presenta en la Figura 17. Los electrodos con mejor detección para mezcla de estándares fueron los SD150 (DropSens) y los S1PE (Micrux), los cuales presentan electrodos de trabajo de carbón, auxiliar de carbón para el S1PE y de platino para el SD150. Lo anterior confiere mejor separación en los potenciales de oxidación de los analitos, comparada con la

obtenida para los electrodos serigrafiados de carbón modificados con una sola capa de nanotubos de carbono (SWCNT) y los de carbón, modificados con múltiples capas de nanotubos de carbono (MWCNT) (DropSens). Los electrodos modificados con nanotubos de carbono muestran picos más intensos debido a la presencia de los nanomateriales que poseen gran superficie activa, alta conductividad, resistencia a la pasivación y excelentes propiedades electrocatalíticas (García *et al.*, 2014; Sierra *et al.*, 2017; Sierra *et al.*, 2019). Sin embargo, esta intensidad en la corriente no permite que se observe una separación en los potenciales de oxidación. El electrodo que presenta la mejor detección y separación de los componentes es el electrodo SD150 con electrodo auxiliar de platino.

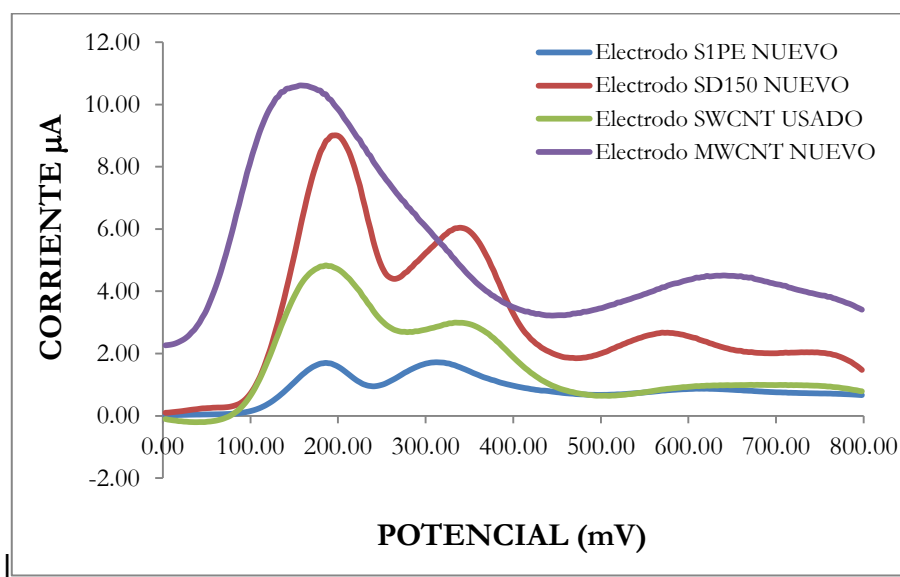


Figura 17. Voltamperogramas para la mezcla de estándares en MES (25 mM, pH 5.0). MSTD4: 20 μM de quercetina, 70 μM de ác. elágico y 100 μM de pelargonidina

En la Figura 18 se presentan los voltamperogramas para el análisis de gotas consecutivas empleando los diferentes electrodos. Para los electrodos S1PE

(Micrux) y SD150 (DropSens) se presenta una disminución marcada en la detección de los picos de oxidación de los analitos entre la medición de la primer gota y las consecutivas, esto debido a la pasivación del electrodo por los analitos evaluados (de Lima *et al.*, 2007; Medvidović-Kosanović *et al.*, 2010; Guiberteau-Cabanillas *et al.*, 2014). Mientras que, para los electrodos de carbono modificados con una sola capa de nanotubos de carbono (SWCNT) y los de carbón modificados con múltiples capas de nanotubos de carbono (MWCNT) (DropSens), no se observa una disminución marcada debido a la disminución de la pasivación del carbón por la presencia de las nano estructuras (Medina-Plaza *et al.*, 2015; Newiar *et al.*, 2017).

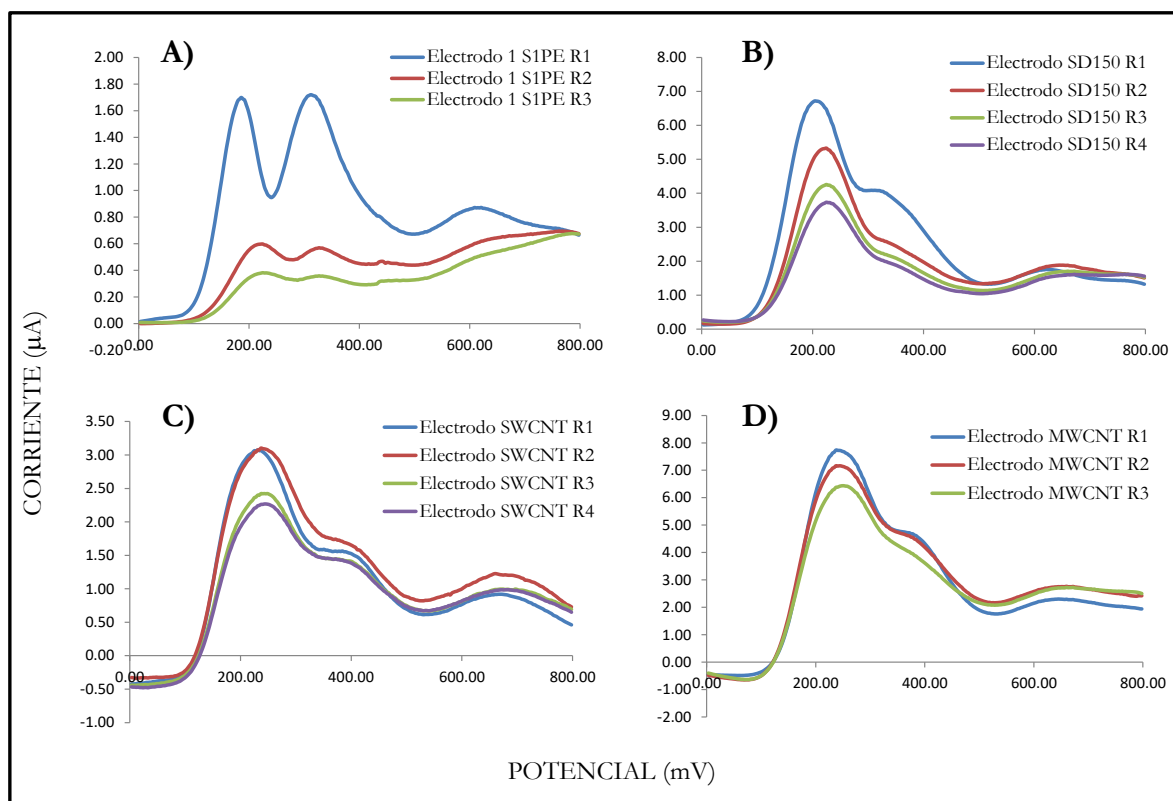


Figura 18. Voltamperogramas de la MST4 en MES (25 mM, pH 5.0) para electrodos S1PE: **A)** nuevo (azul), análisis de gotas consecutivas mismo electrodo (rojo y verde). **B), C)** y **D)** análisis de gotas consecutivas en electrodos usados previamente.

Se evalúa la posibilidad de realizar ciclos de limpieza entre las mediciones para los electrodos serigrafados SD150 (DropSens) y S1PE (Micrux) dado que son los que presentan una mejor separación para los potenciales de oxidación que exhiben los analitos de interés.

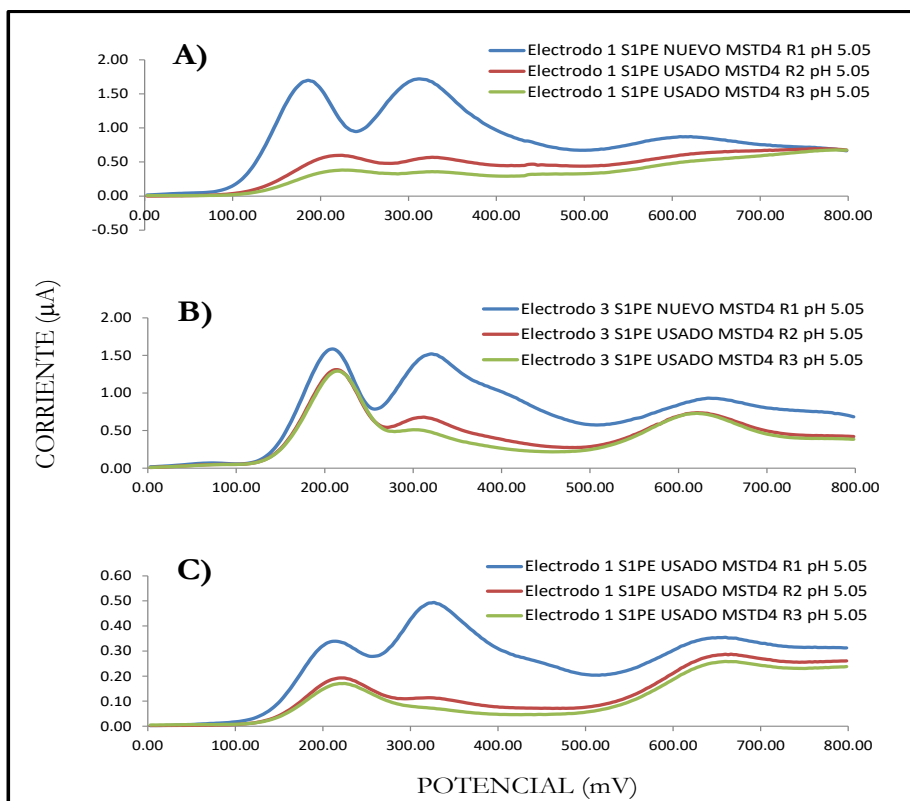


Figura 19. Voltamperogramas para la evaluación de la recuperación de censado en los electrodos S1PE. **A)** Electrodo nuevo con análisis de gotas consecutivas sin ciclos de limpieza. **B)** Electrodo nuevo con ciclos de limpieza entre mediciones. **C)** Electrodo usado, con limpiezas entre mediciones.

La Figura 19 muestra los voltamperogramas obtenidos para la evaluación de la recuperación de censado en los electrodos de trabajo S1PE para la medición de la mezcla estándar o solución modelo (MSTD4: 10 μM de quercetina, 30 μM de

ác. elágico y 40 μM de pelargonidina). Se aprecia que los electrodos usados por primera vez presentan una separación en el potencial de oxidación para los analitos evaluados (voltamperogramas en color azul para las figuras 19 **A** y **B**), sin embargo, la sensibilidad se ve muy disminuida con los análisis de gotas consecutivas (voltamperogramas en color rojo y verde figura 19 **A**). Mientras que, al realizar ciclos de limpieza entre mediciones consecutivas, solo se mantiene la intensidad del pico para la quercetina y el de la pelargonidina (Figura 19**B**). La reutilización de electrodos S1PE (Micrux) posterior a ciclos de limpieza se ve limitada debido a que la intensidad de corriente disminuye considerablemente, aún con los ciclos de limpieza entre mediciones (Figura 19 **C**).

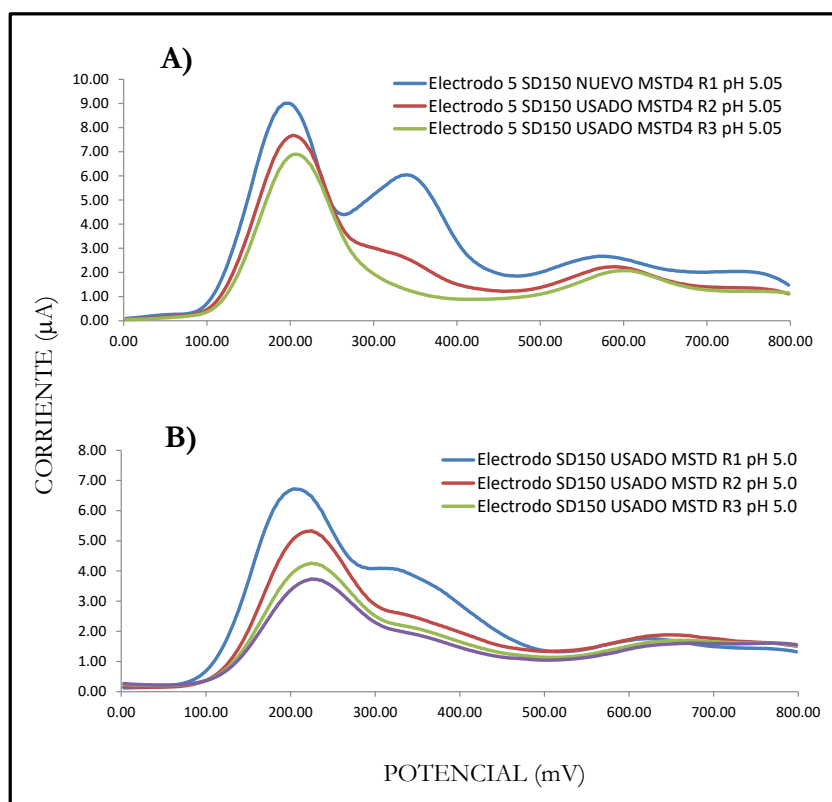


Figura 20. Voltamperogramas para la evaluación de la recuperación de censado en los electrodos SD150. **A)** Electrodo nuevo con análisis de gotas consecutivas sin ciclos de limpieza. **B)** Electrodo usado con limpiezas entre mediciones.

El mismo comportamiento se presenta para los electrodos SD150 (DropSens) (Figura 20). Lo anterior indica que se deberá usar un electrodo por cada medición para ambos tipos de electrodos.

Con el objetivo de lograr una mejor separación de los picos de oxidación para los ácidos fenólicos y flavonoides se evaluó la mezcla de estándares en solución amortiguadora MES, 25 mM y fosfatos 10 mM a diferentes valores de pH (5.0, 8.0 y 9.0) para todos los electrodos.

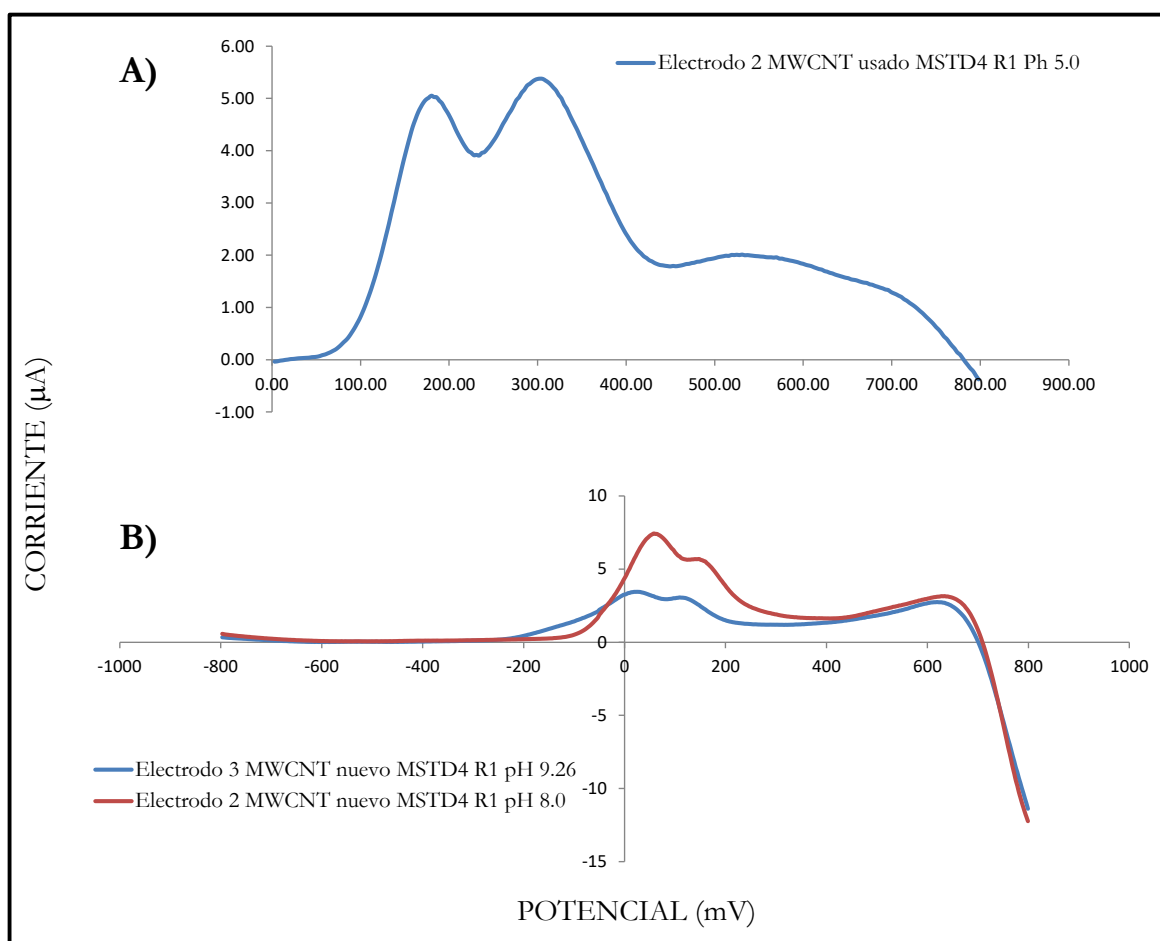


Figura 21. Voltamperogramas de la solución modelo en MES 25 mM. Electrodo MWCNT nuevo (DropSens). **A)** pH 5.0, **B)** pH 8.0 y 9.26

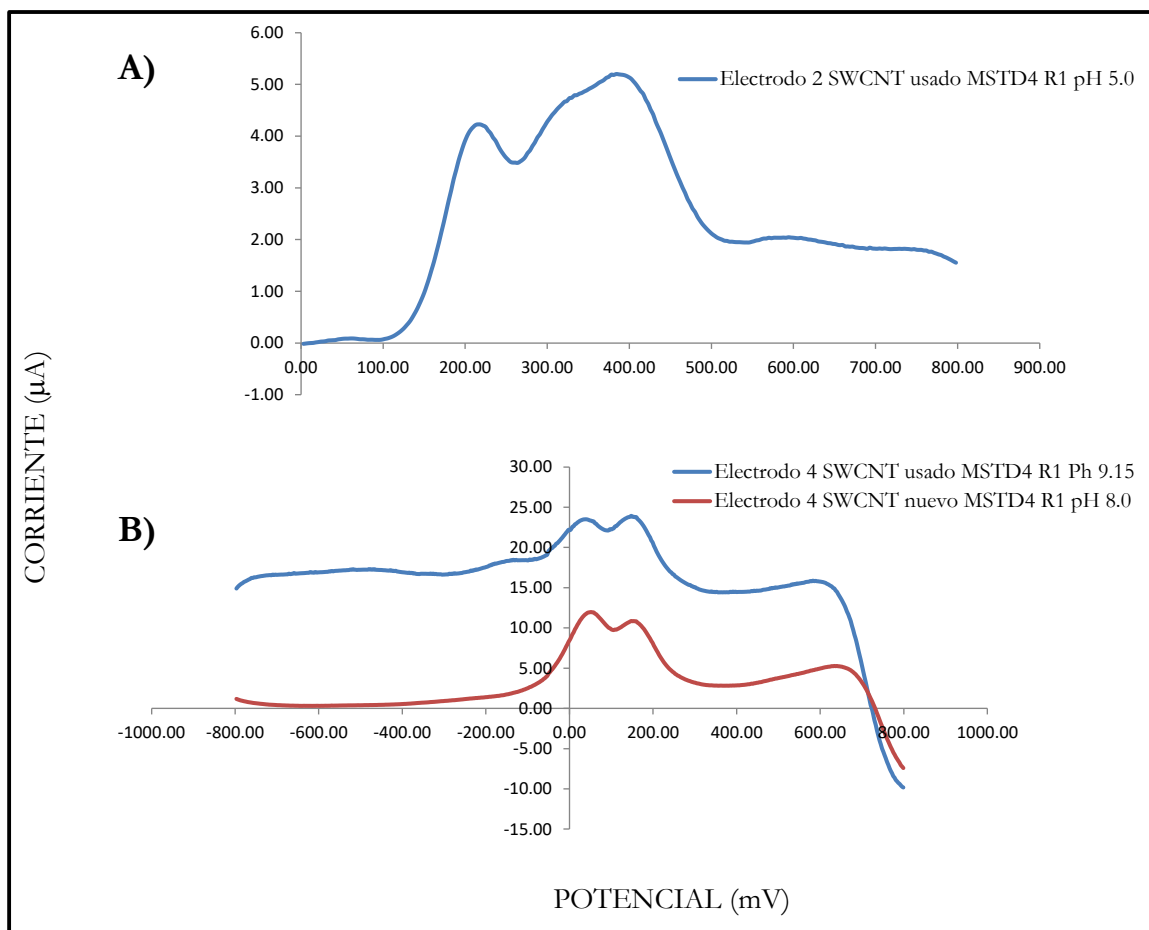


Figura 22. Voltamperogramas de la solución modelo en MES 25 mM. **A)** Electrodo SWCNT nuevo (pH 5.0) y **B)** electrodos SWCNT usados (pH 8.0 y 9.15)

Las Figura 21 y 22 muestran los voltamperogramas obtenidos para los electrodos MWCNT y SWCNT (DropSens), respectivamente. Si bien los potenciales de oxidación se desplazan a valores menores, en este caso valores negativos, dado que los analitos evaluados se oxidan más rápidamente debido a su estado de ionización, no se observa una mejora en la separación de los picos de interés.

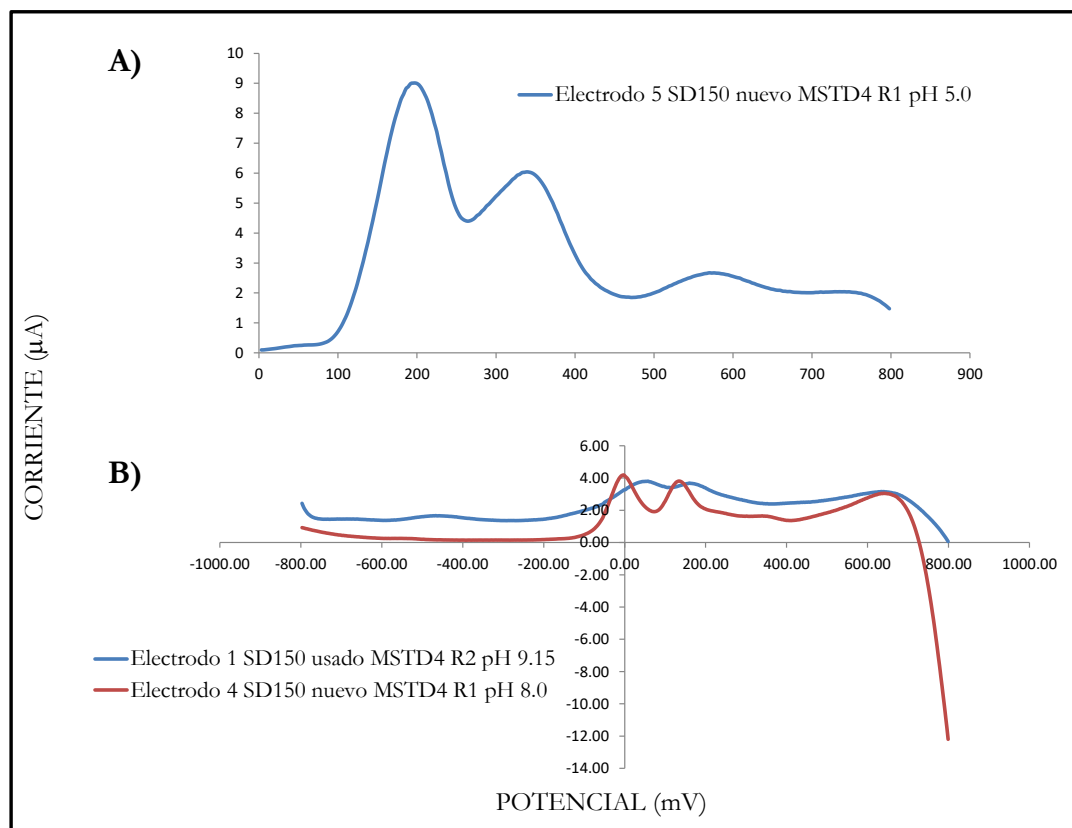


Figura 23. Voltamperogramas de la solución modelo en MES 25 mM para electrodos SD150. **A)** nuevo (pH 5.0), **B)** nuevo (pH 8.0) y usado (pH 9.15)

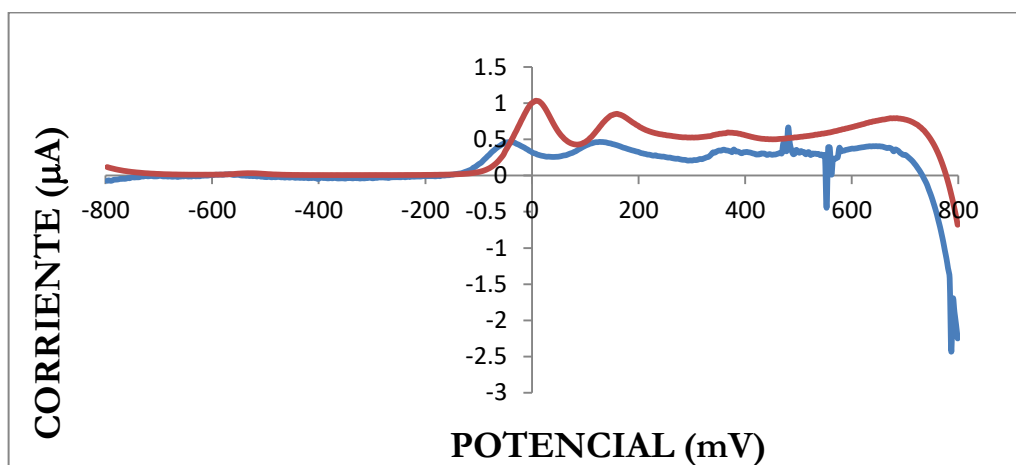


Figura 24. Voltamperogramas de la solución modelo en MES 25 mM para los electrodos S1PE (nuevos).

Las Figuras 23 y 24 muestran los voltamperogramas obtenidos para los electrodos SD150 (DropSens) y S1PE (Micrux). Los electrodos SD150 presentan una ligera separación en los picos de oxidación para los ácidos fenólicos y flavonoides a pH 8.0, mientras que para los S1PE además se observa una ligera mejoría en el pH cercano a 9.0. Debido a lo anterior se evalúan los estándares individuales para comprobar el perfil de oxidación (Figura 25). Todos los picos muestran un desplazamiento a potenciales menores comparados con los observados a pH 5.0. El elágico presenta varios picos de oxidación en la ventana de +300 a +400 mV, mientras que la pelargonidina presenta un pico de oxidación de -100 a 100 mV, en la misma región del voltamperograma que la quercetina. Lo anterior se debe a que mientras más alto es el valor de pH mayor grado de ionización presentan los analitos y son más fácilmente oxidables. La pelargonidina se ve mayormente afectada y es la que presenta mayor desplazamiento (de Lima *et al.*, 2007; Medvidović-Kosanović *et al.*, 2010; Guiberteau-Cabanillas *et al.*, 2014). Dado que el pico de oxidación de la pelargonidina se junta con el de la quercetina, aunado al incremento del tiempo de análisis ya que se requiere ampliar la ventana de trabajo, se opta por permanecer a pH 5.0.

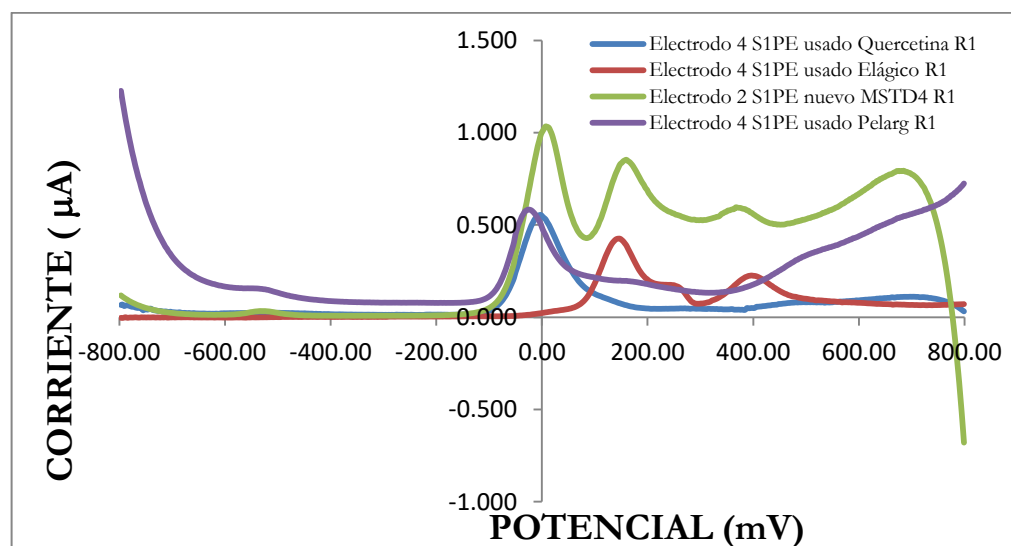


Figura 25. Voltamperogramas de la solución modelo en MES 25 mM (pH 8.0) para electrodos S1PE (nuevos y usados).

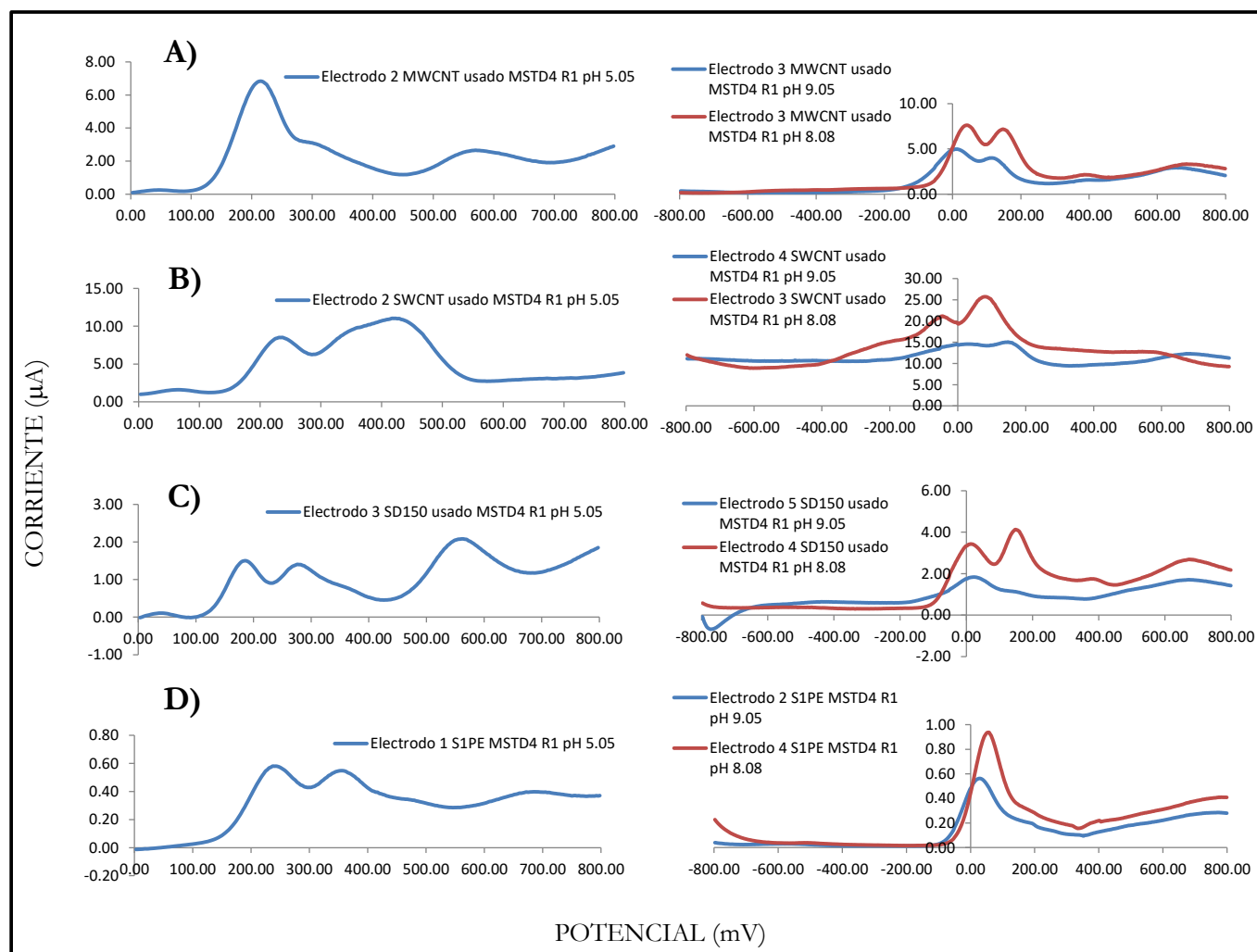


Figura 26. Voltamperogramas de la solución modelo en fosfatos 10 mM para los electrodos: A) MWCNT, B) SWCNT, C) SD150 y D) S1PE.

Con el objetivo de mejorar la separación en el perfil de oxidación de los analitos, se evaluó el comportamiento de la mezcla de estándares en la solución amortiguadora de fosfatos 10 mM a diferentes valores de pH (5.0, 8.0 y 9.0) (Figura 26). No se observan mejoras en los potenciales de oxidación por lo que se decide continuar el análisis con la solución amortiguadora MES, 25 mM a pH 5.0.

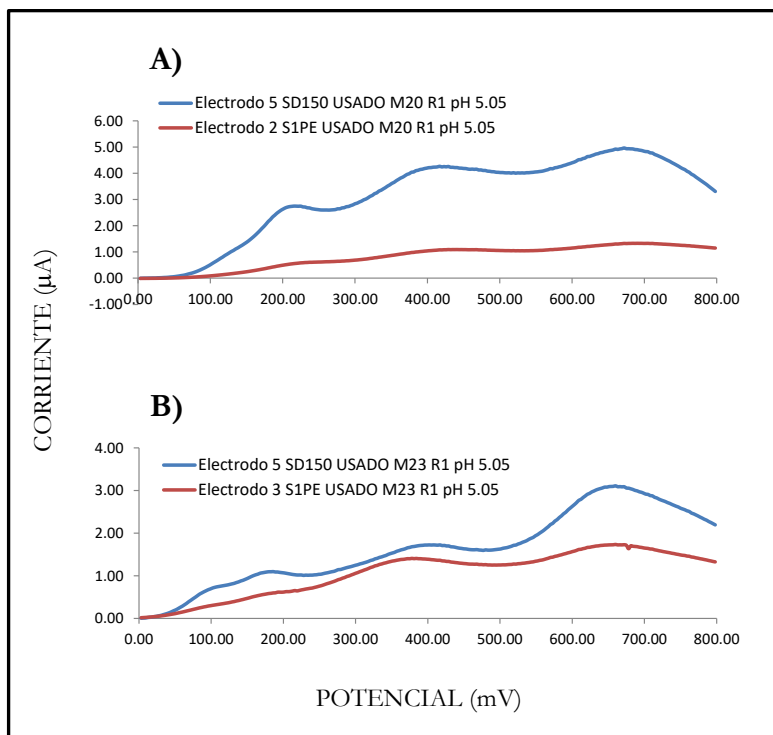


Figura 27. Voltamperogramas obtenidos con los electrodos SD150 y S1PE para la medición de muestras A) 20 (1:10) en MES 25 mM, pH 5.0 y B) 23 (1:10) en MES 25 mM, pH 5.0

La Figura 27 muestra la comparación de los voltamperogramas obtenidos para la muestra M20 empleando los electrodos SD150 y S1PE usados (Fig. 27A), mientras que la parte (Fig. 27 B) muestra el perfil obtenido para la muestra 23 con ambos electrodos. Los electrodos SD150 presentan una mejor medición de los

potenciales de oxidación para los analitos evaluados, incluso aun cuando los electrodos habían sido previamente usados.

En la Figura 28 se presentan los voltamperogramas de las muestras M20 y M23 empleando electrodos serigrafiados SD150. Si bien, el perfil de ambas muestras comprende las tres bandas de los potenciales de oxidación para los analitos evaluados, se observa una clara diferencia en la intensidad de corriente para cada muestra lo cual podría estar relacionado con el contenido. Es necesario evaluar las muestras en electrodos nuevos para constatar lo mencionado con anterioridad.

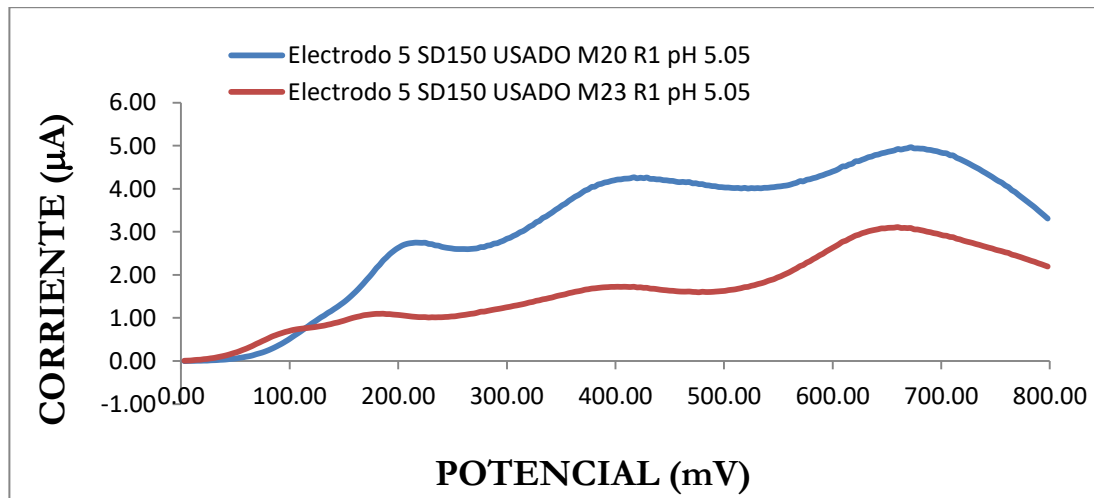


Figura 28. Voltamperogramas de las muestras M20 y M23 en MES 25 mM, pH 5.0 (1:10), empleando electrodos serigrafiados SD150.

Para determinar el comportamiento electroquímico de las muestras se emplearon los electrodos DRP-110 con electrodos de carbono (Figura 29), debido a que su detección es similar a los electrodos SD150 de la misma marca y, además, son más económicos. Dado que la intensidad de corriente en los serigrafiados DRP-110 es menor, se llevó a cabo una concentración previa de las muestras (de 1 a 3 ml) e inmediatamente se realizó la evaluación electroquímica.

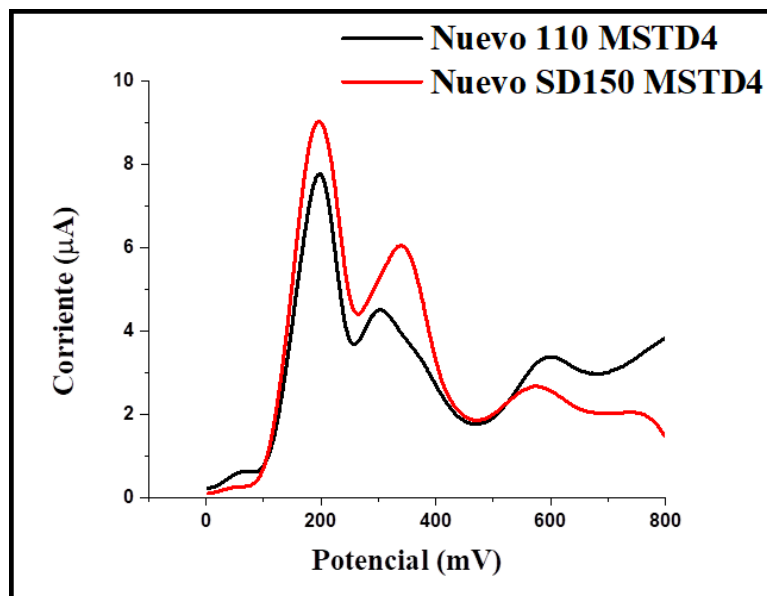


Figura 29. Voltamperogramas para MSTD4: Electrodo serigrafiado DRP-110 (Negro); Electrodo serigrafiado SD150 (Rojo). En MES (25 mM, pH 5.0)

VI. 6.1 Integración manual

Los valores de potencial de oxidación e intensidad de pico se tomaron manualmente en el punto máximo para cada uno de los picos que componen el voltamperograma. Los potenciales de oxidación para quercetina (211.5 ± 2.9 mV), ácido elágico (312.0 ± 8.1 mV) y pelargonidina (622.2 ± 10.12 mV) en la solución modelo (MSTD4) se determinaron como el promedio de todas las mediciones realizadas para las curvas de calibración ($n=10$); mientras tanto, los potenciales para los componentes en los vinos fueron calculados como el promedio de todas las mediciones ($n=14$). Los potenciales de oxidación para quercetina, ácido elágico y pelargonidina en los vinos fueron 217.0 ± 12.4 mV, 431.0 ± 35.5 mV y 681.0 ± 12.3 mV, respectivamente. La comparación del perfil electroquímico de la MSTD4 o solución modelo con los vinos evaluados se presentan en la Figura 30. Debido a la complejidad de las muestras evaluadas se aplicó un modelo de deconvolución gaussiano para un mejor análisis de los datos.

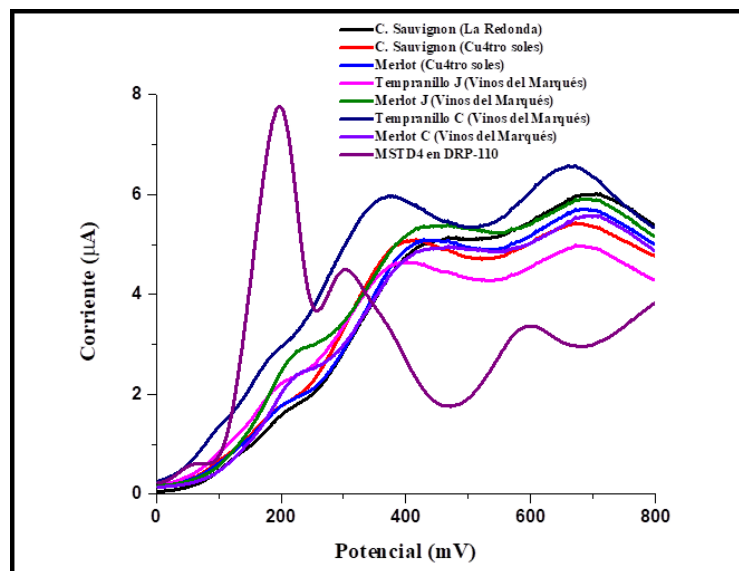


Figura 30. Voltamperometría de pulso diferencial para la MST4 y los diferentes vinos evaluados. **J**: joven; **C**: crianza. En MES (25 mM, pH 5.0). Electrodo serigrafiado DRP-110

VI.6.2 Modelo-deconvolución

Se llevó a cabo una calibración multivariada para obtener contribuciones de analitos individuales y, posteriormente, los métodos de calibración simples se utilizaron en las muestras. Para lo anterior, se ajustaron los potenciales de oxidación aplicando un modelo de deconvolución Gaussiano de los datos (Ec. 1) mediante el programa Origin para todos los voltamperogramas adquiridos.

$$y = y_0 + \frac{Ae^{\frac{-4\ln(2)(x-x_c)^2}{w^2}}}{w\sqrt{\frac{\pi}{4\ln(2)}}} \quad (1)$$

Donde, y_0 es el valor de y en la base del pico n , x_c es el valor de x en el centro del pico n , w es el ancho del pico n a la altura media y A es la amplitud del pico n .

La deconvolución de los componentes presentes en la solución modelo se muestra en la Figura 31. Los valores de potencial de oxidación se calcularon como el promedio de todas las mediciones realizadas para las curvas de calibración (n=10). Los potenciales de oxidación ajustados para quercetina (flavonoles), ácido elágico (elagitaninos) y pelargonidina (antocianinas) fueron 203.5 ± 6.3 mV, 317.3 ± 6.7 mV y 607.0 ± 12.5 mV, respectivamente.

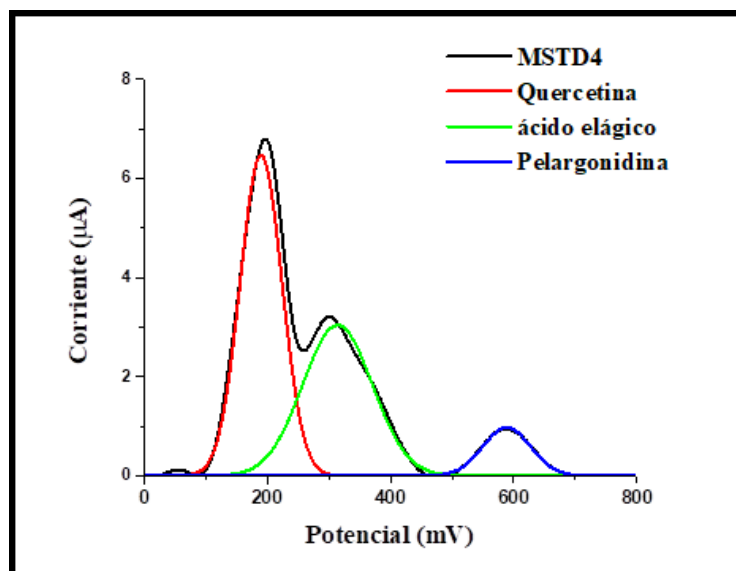


Figura 31. Deconvolución. MSTD4 (Negro); Quercetina, 20 mM (Rojo); Ácido elágico, 70 mM (Verde); Pelargonidina 100 mM (Azul). En MES (25 mM, pH 5.0). Electrodo serigrafiado DRP-110

La deconvolución para el vino Tempranillo crianza (Vinos del Marques) se muestra en la Figura 32. Los potenciales para los componentes en los vinos fueron calculados como el promedio de todas las mediciones (n=14). En todos los vinos evaluados se presentaron desplazamientos en los potenciales de oxidación con respecto a los de la MSTD4. Los potenciales de los vinos fueron 195.3 ± 32.5 mV, 397.0 ± 28.6 mV y 660.4 ± 16.6 mV, para quercetina, ácido elágico y

pelargonidina, respectivamente. Se considera que dichos desplazamientos se deben a la gran diversidad de compuestos presentes en el vino que son capaces de interactuar con compuestos electroactivos debido a la similitud en su estructura química con grupos sacáridos capaces de establecer asociaciones intermoleculares, dando como resultado el desplazamiento de los potenciales (Granato *et al.*, 2011; Joshi *et al.*, 2022). En este contexto, el vino Tempranillo presenta los mayores potenciales de oxidación comparado con los vinos jóvenes. Esto puede deberse a las reacciones químicas del envejecimiento del vino en las que los compuestos fenólicos reaccionan con los metabolitos de la madera de la barrica para formar elagitaninos, galotaninos y flavano-elagitaninos, entre otros (Newair *et al.*, 2018; Rasines-Perea *et al.*, 2019).

La deconvolución de los puntos de la curva de calibración de pelargonidina se presenta en la Figura 33 y la curva de calibración se muestra en la Figura 34.

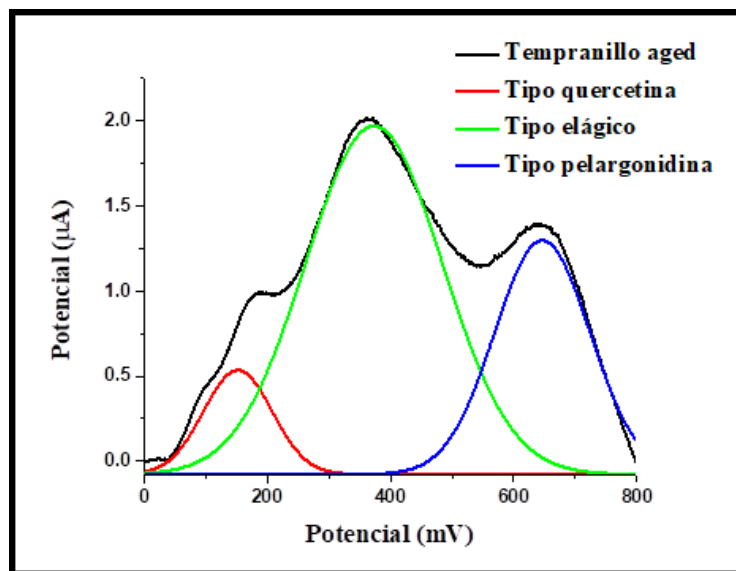


Figura 32. Deconvolución. Muestra Tempranillo crianza (Negro); Quercetina, 20 mM (Rojo); Ácido elágico, 70 mM (Verde); Pelargonidina 100 mM (Azul). En MES (25 mM, pH 5.0). Electrodo serigrafiado DRP-110.

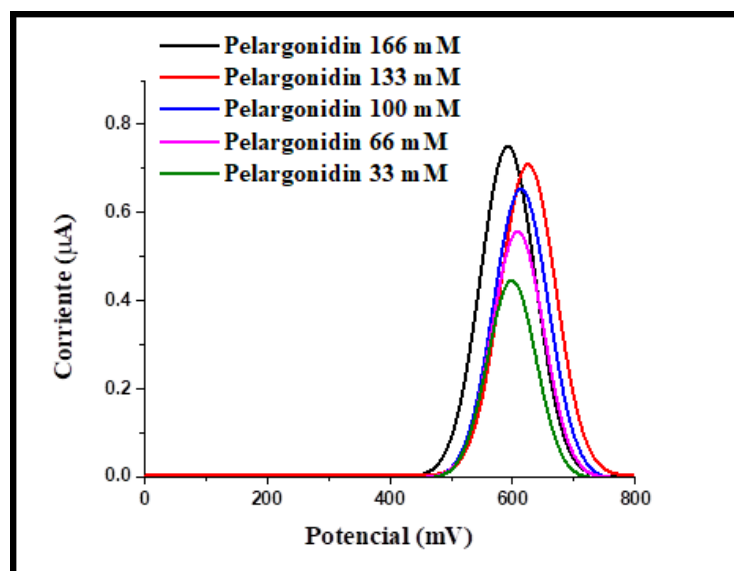


Figura 33. Deconvolución de los diferentes puntos de la curva de pelargonidina

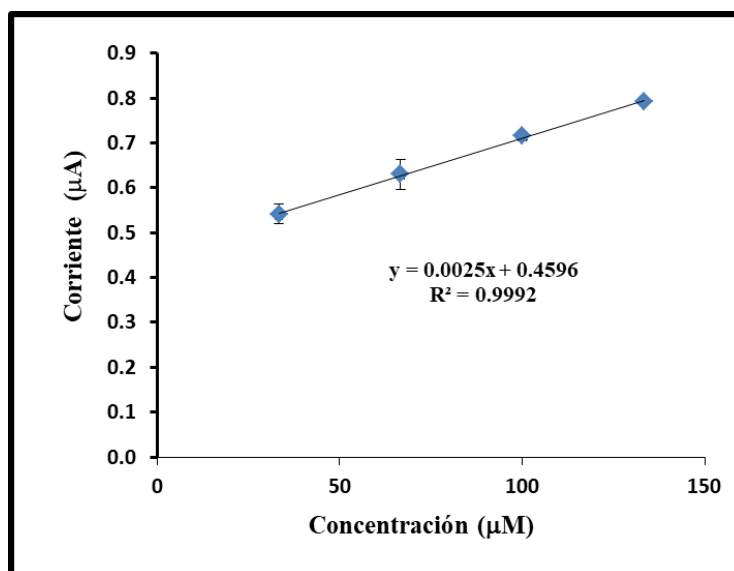


Figura 34. Curva de pelargonidina

VI.6.4 Contenido polifenólico y comparación de métodos

Los contenidos totales de las tres familias seleccionadas, así como el contenido de polifenoles totales de la suma de las tres familias, se muestran en la Tabla 11. El vino de la variedad Tempranillo (Vinos del Marqués) con 6 meses en barrica presentó los mayores contenidos polifenólicos ($25,628.3 \pm 288.6$ mg/L), mientras que los Merlot crianza (mismo viñedo) y C. Sauvignon (La Redonda) tuvieron los valores menores ($7,451.4 \pm 479.3$ mg/L y $6,867.1 \pm 228.8$ mg/L, respectivamente). Por otra parte, en la variedad Tempranillo crianza (Del Marqués) el valor obtenido por el método electroquímico fue 10.2 veces mayor que el obtenido por Folin-Ciocalteu; mientras tanto, en C. Sauvignon (La Redonda) y Merlot crianza (Del Marqués) fue 3 veces mayor. Finalmente, en los vinos restantes fue 4 veces mayor. Pese a lo anterior, el método electroquímico presenta la misma tendencia que el método de Folin-Ciocalteu (Tabla 7). Es importante mencionar que por el método electroquímico se presentan diferencias significativas entre los vinos de la variedad C. Sauvignon de La Redonda ($6,867.1 \pm 228.8$ mg/L) y de Aguascalientes ($10,031.8 \pm 686.9$ mg/L), mientras que con Folin-Ciocalteu no se observan diferencias significativas. Ahora bien, mediante la correlación de Pearson se determinó una relación positiva entre el método electroquímico y Folin-Ciocalteu ($r = 0.8976$, $p = 0.05$), así como con el método de capacidad antioxidante DPPH ($r = 0.8432$, $p = 0.05$). Lo anterior confirma la similitud en el desempeño para las determinaciones realizadas con los diversos métodos aplicados.

Los vinos con mayor contenido de compuestos tipo quercetina (flavonoles) mediante VPD fueron de Vinos del Marqués (Tabla 11). El vino joven de la variedad Merlot (Vinos del Marqués) presenta valores significativamente mayores (60.1 ± 0.3 mg/L) en comparación con el vino de crianza (41.0 ± 1.0 mg/L). Lo anterior sugiere la formación de pigmentos poliméricos, elagitaninos y flavano-elagitanino durante la vinificación y el proceso de conserva (Rentzsch *et al.*, 2009; Rasines-Perea *et al.*, 2019).

Tabla 11. Contenidos fenólicos totales mediante el método electroquímico (mg STD/L)

Viñedo Variedad	<u>La Redonda</u> C. Sauvignon	<u>Cu4tro soles</u> C. Sauvignon	Merlot	Tempranillo	<u>Vinos del Marqués</u> Merlot	Tempranillo [‡]	Merlot [‡]
Tipo de compuesto							
Quercetina (Flavanoles)	25.4 ± 3.7 ^c	34.1 ± 0.8 ^b	16.0 ± 1.7 ^d	34.1 ± 2.2 ^b	60.1 ± 0.3 ^a	60.6 ± 2.1 ^a	41.0 ± 1.0 ^b
Ácido elágico (Elagitaninos)	2134.3 ± 51.1 ^c	2349.6 ± 183.6 ^{bc}	2326.1 ± 14.9 ^{bc}	2458.6 ± 142.0 ^{bc}	2506.3 ± 2.8 ^b	3890.9 ± 29.5 ^a	2252.8 ± 28.9 ^a
Pelargonidina (Antocianinas)	4707.4 ± 181.4 ^e	7648.1 ± 502.5 ^b	7205.3 ± 300.4 ^{bc}	6252.4 ± 428.8 ^{cd}	5902.6 ± 0.5 ^{cde}	21676.7 ± 257.1 ^a	5162.5 ± 442.6 ^a
TOTAL	6867.1 ± 228.8 ^d	10031.8 ± 686.9 ^b	9547.4 ± 283.9 ^b	8745.2 ± 568.6 ^{bc}	8469.0 ± 2.6 ^{bcd}	25628.3 ± 288.6 ^a	7451.4 ± 479.3 ^a

[‡] Vinos de crianza en barrica durante 6 meses

Tendencia similar se observa para los flavonoles totales determinados mediante UPLC-PDA/EMe (55.87 ± 0.51 mg/L y 52.60 mg/L, respectivamente). Sin embargo, la tendencia con respecto a los vinos de la variedad Tempranillo por VPD es inversa a la presentada por el método cromatográfico. El vino Tempranillo joven presenta contenidos menores (34.1 ± 2.2 mg/L) con respecto al vino con 6 meses de crianza (60.6 ± 2.1 mg/L). Mediante la correlación de Pearson se determinó una baja correlación entre estos métodos ($r = 0.2076$, $p = 0.05$). Los valores obtenidos mediante VPD se encuentran en el mismo orden de magnitud que los generados mediante UPLC-DAD-MSe.

La presencia del ácido elágico y sus derivados, elagitanino y galotaninos pueden ser liberados a partir de la madera y ser incorporados en el vino durante la maduración y envejecimiento. Los compuestos mencionados se encuentran relacionados con las reacciones de oxidación que pueden afectar las cualidades organolépticas del vino tinto. Sus contenidos dependen del tipo de madera, el tiempo dentro de la bodega y el tiempo de embotellado (Rasines-Perea *et al.*, 2019). En concordancia con lo anterior, el mayor contenido de compuestos tipo ácido elágico se observa en el vino Tempranillo con 6 meses en bodega ($2,506.3 \pm 2.8$ mg/L), mientras que el de menor valor es C. Sauvignon de La Redonda ($2,134.3 \pm 51.1$ mg/L). En comparación con el contenido de ácido elágico por el método cromatográfico, la tendencia es inversa, siendo los de mayor contenido C. Sauvignon de La Redonda (52.95 ± 0.99 mg/L) y Merlot de Aguascalientes (38.43 ± 0.54 mg/L), mientras que el más bajo fue Merlot joven de Vinos del Marqués (2.41 ± 0.06 mg/L). Lo anterior se confirma con la correlación de Pearson entre estos métodos ($r = -0.7130$, $p = 0.05$). Los valores obtenidos mediante VPD se encuentran en el mismo orden de magnitud que los generados mediante UPLC-DAD-EMe.

Los vinos con mayor contenido de antocianinas (tipo pelargonidina) fueron los Tempranillo con 6 meses de crianza ($21,676.7 \pm 257.1$ mg/L), seguido de los vinos de Aguascalientes, C. Sauvignon con $7,648.1 \pm 502.5$ mg/L y Merlot con $7,205.3 \pm 300.4$ mg/L. Los vinos jóvenes del Marqués variedad Tempranillo, Merlot y Merlot crianza presentaron valores intermedios ($6,252.4 \pm 428.8$, $5,902.6 \pm 0.5$ y $5,162.5 \pm 442.6$ mg/L, respectivamente), mientras que C. Sauvignon de la redonda presentó los menores contenidos ($4,707.4 \pm 181.4$). El vino Tempranillo crianza también fue el de mayor contenido mediante el método de pH diferencial, presentando una respuesta similar para ambos métodos. Lo anterior se confirma con la correlación de Pearson ($r = 0.6360$, $p = 0.05$). Sin embargo, se observa una baja correlación con el método de ABTS ($r = 0.3850$, $p = 0.05$). Lo anterior podría indicar que la capacidad antioxidante evaluada mediante el método electroquímico

está relacionada con el contenido total de compuestos fenólicos más que a un grupo específico de compuestos o familias presentes en el vino.

VI.7 Diferenciación de los vinos evaluados mediante la síntesis verde de nanopartículas de oro (AuNPs)

Se llevó a cabo la síntesis de nanopartículas de oro con los diferentes vinos evaluados. Lo anterior con el objetivo de evaluar su potencial antioxidante así como encontrar alguna diferencia entre las muestras con base en las características de las AuNPs formadas.

La figura 35 muestra la curva sigmoideal para la formación de AuNPs mediante el incremento de la concentración de los estándares quercetina y ácido elágico, representantes de dos familias (flavanoles y elagitaninos) de relevancia presentes en los vinos evaluados. Ambas curvas se ajustan al modelo sigmoideal aplicado. Lo anterior se confirma con los valores de R^2 obtenidos para la quercetina y el ácido elágico (0.96539 y 0.99619, respectivamente).

Se ha reportado previamente que cuanto mayor es el valor de la constante k mayor capacidad antioxidante presenta una muestra o un compuesto (Vilela *et al.*, 2014; Tułodziecka *et al.*, 2016). Para este estudio, ambos estándares presentan alta capacidad antioxidante. Quercetina presenta un mayor valor de k que el ácido elágico (310.03 y 220.57, respectivamente). Lo anterior es indicativo de que la quercetina presenta una mayor velocidad de formación de AuNPs a concentraciones ligeramente menores que el ácido elágico.

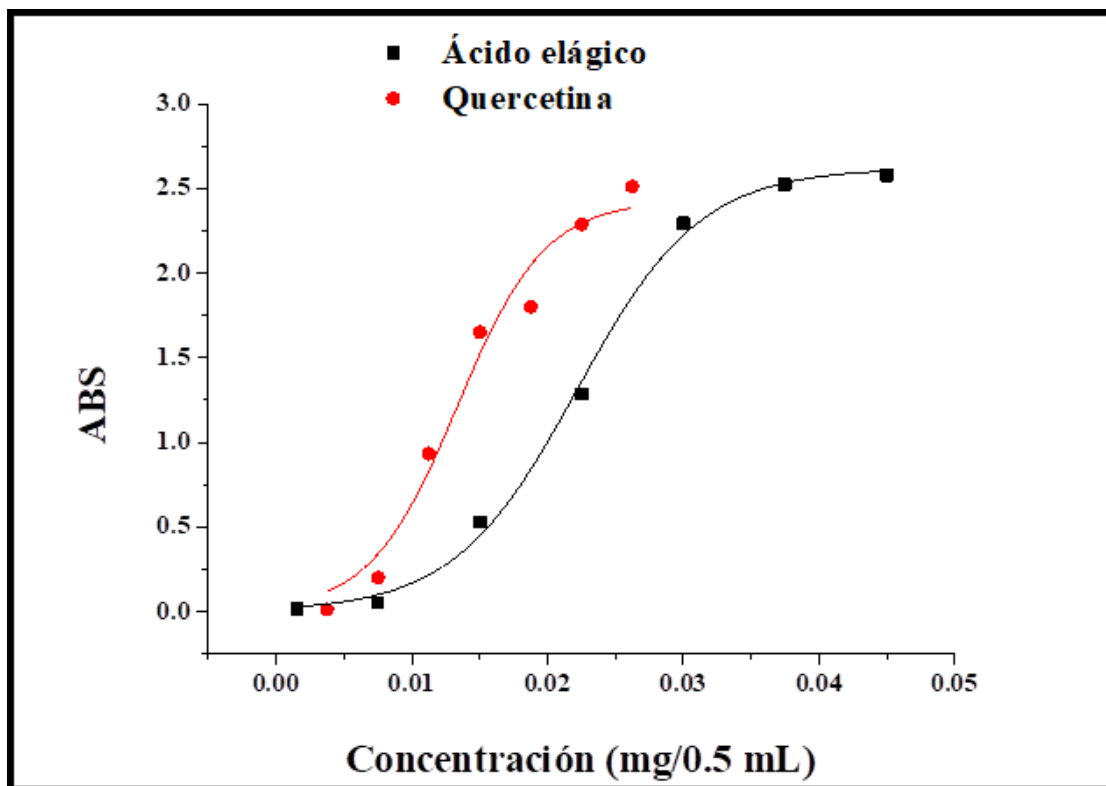


Figura 35. Sigmoideal para las AuNPs formadas mediante el incremento de la concentración de los polifenoles

La Figura 36 muestra la comparación entre las sigmoideales obtenidas con los diferentes vinos evaluados, curvas semejantes a los estándares evaluados, lo que significa que las muestras presentan alta capacidad para formar AuNPs y por ende alta capacidad antioxidante. Las variaciones en la velocidad de formación y en las concentraciones empleadas, son indicativo de la mayor o menor capacidad de cada muestra. Lo anterior se confirma con los valores de la constante k obtenidos para cada tipo o grupo de vino.

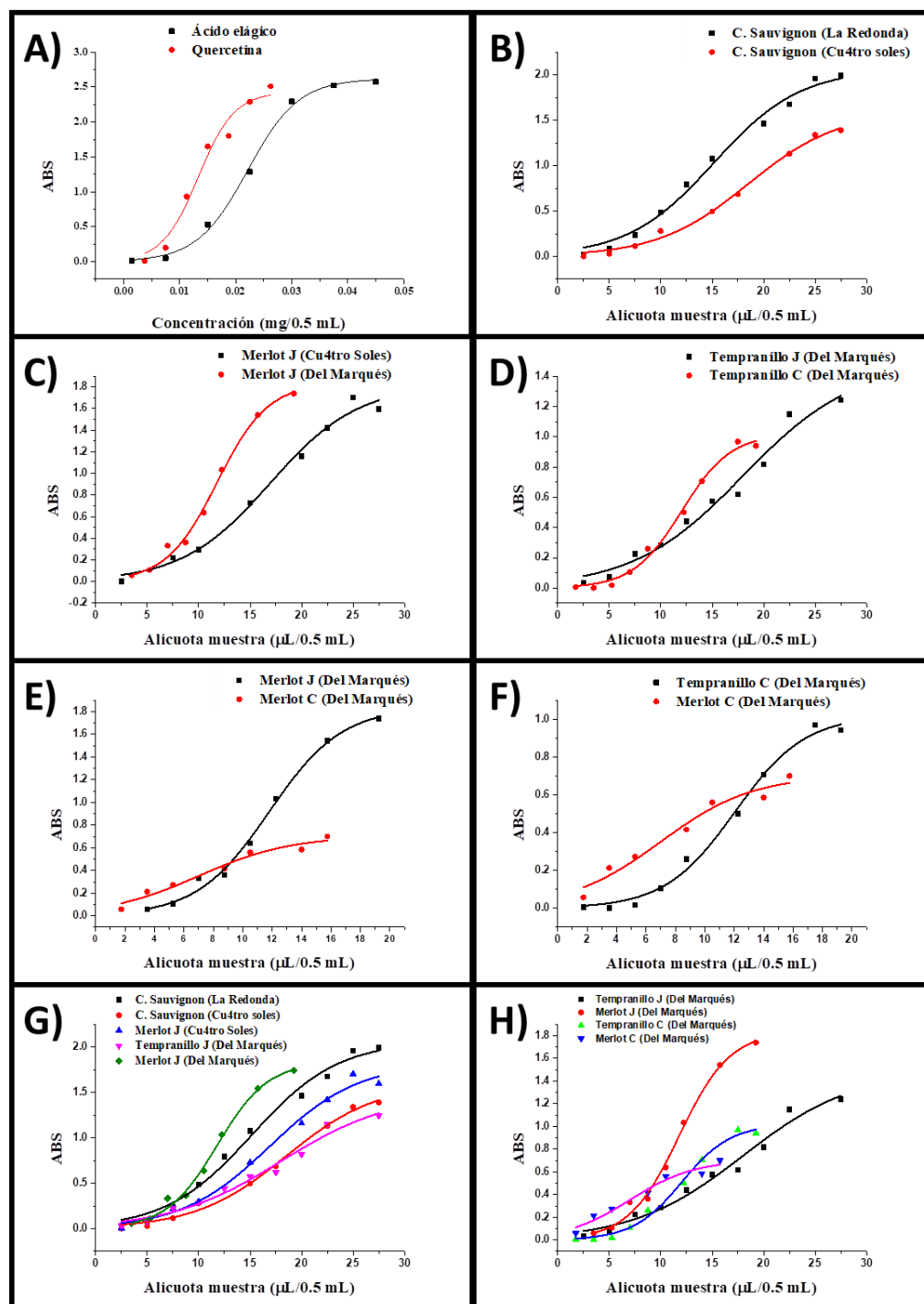


Figura 36. Sigmoidales de **A)** estándares; **B)** C. Sauvignon joven; **C)** Merlot joven; **D)** Tempranillo Joven (J) y crianza (C); **E)** Merlot Joven (J) y crianza (C); **F)** Vinos crianza (C); **G)** Vinos jóvenes; **H)** Vinos crianza (C) y jóvenes (J) Del Marqués.

La tabla 12 muestra los valores obtenidos de la constante k para los vinos evaluados. Como se menciona anteriormente cuanto mayor es el valor de la constante k mayor capacidad antioxidante presenta una muestra. Se determinaron valores bajos de k para la mayoría de los vinos jóvenes evaluados en este proyecto, solo el vino Merlot joven (Del Marqués) presentó un valor en el rango de los vinos crianza del mismo viñedo. El vino de la variedad Tempranillo con 6 meses de crianza presentó el valor más alto (0.4198), en tanto que su vino joven presento el más bajo (0.1861). Lo anterior podría ser de ayuda para la diferenciación entre un vino joven y uno de crianza. Los vinos jóvenes presentan un mayor contenido de compuestos tipo quercetina (flavanoles) mientras que, los vinos de crianza presentan mayor contenido de elagitaninos (ác. Elágico). Al comparar la sigmoidal de la formación de AuNPs para cada estándar y a su vez con los dos tipos de vino, podemos observar un perfil similar de acuerdo a los compuestos mayoritarios presentes en los mismos (Figura 36).

Tabla 12. Listado de vinos con sus respectivos valores de k

VINO EVALUADO	k
<i>C. Sauvignon joven (La Redonda)</i>	0.2384
<i>C. Sauvignon joven (Cu4tro soles)</i>	0.2255
<i>Merlot joven (Cu4tro soles)</i>	0.2331
<i>Tempranillo joven (Del Marqués)</i>	0.1861
<i>Merlot joven (Del Marqués)</i>	0.4051
<i>Tempranillo Crianza (Del Marqués)</i>	0.4198
<i>Merlot Crianza (Del Marqués)</i>	0.3181

La tabla 13 muestra los valores de potencial zeta y el tamaño de partícula determinados para los estándares ácido elágico y quercetina, ambos presentes en los vinos evaluados, así como para las muestras. El ensayo se realizó con diluciones cercanas a 1 de absorbancia.

Tabla 13. Potencial zeta y tamaño de las nanopartículas

Estándar/Vino	Potencial zeta (ζ)	Tamaño
<i>C. Sauvignon joven (La Redonda)</i>	41.80 $\pm$ 6.05	22.78 $\pm$ 2.75
<i>C. Sauvignon joven (Cu4tro soles)</i>	35.80 $\pm$ 4.95	46.67 $\pm$ 38.64
<i>Merlot joven (Cu4tro soles)</i>	34.07 $\pm$ 5.76	18.54 $\pm$ 4.33
<i>Tempranillo joven (Del Marqués)</i>	33.20 $\pm$ 4.76	19.26 $\pm$ 3.09
<i>Merlot joven (Del Marqués)</i>	31.47 $\pm$ 4.70	19.69 $\pm$ 11.58
<i>Tempranillo crianza (Del Marqués)</i>	30.37 $\pm$ 4.96	16.44 $\pm$ 5.67
<i>Merlot crianza (Del Marqués)</i>	31.70 $\pm$ 4.75	12.47 $\pm$ 5.36
Ácido elágico	34.40 $\pm$ 5.56	7.13 $\pm$ 3.95
Quercetina	28.27 $\pm$ 3.07	10.17 $\pm$ 1.49

Acorde a los valores de k , los vinos que formaron nanopartículas más pequeñas son aquellos que presentan un mayor valor de k , por lo tanto, una mayor capacidad para la formación. Los valores para el potencial zeta (28.27-41.80) indican la formación relativamente estable de las AuNPs. Siendo más estables las formadas por el vino de la variedad C. Sauvignon (La Redonda) (Wang *et al.*, 2016; Sangwan & Seth, 2021). El ácido elágico presentó buena estabilidad y el tamaño de partícula más pequeño. Lo anterior nos permite inferir que los vinos de crianza, variedades Tempranillo y Merlot, con un alto contenido de flavonoles y elagitaninos, tienden a generar rápidamente AuNPs de menor tamaño, relativamente estables. Lo anterior debido a la presencia del ácido elágico como grupo funcional base y a los compuestos tipo quercetina que podrían conferir estabilidad y velocidad de formación, respectivamente. Lo que es indicativo de un mayor potencial antioxidante. Sin embargo, se requieren más estudios para evaluar el efecto de la concentración de vino sobre la formación de AuNPs, así como, confirmar el tamaño y dispersión de las mismas empleando Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM, por sus siglas en inglés).

VI.8 Contenido de compuestos fenólicos mediante microsisistemas analíticos (MEC-DE)

VI.8.1 Evaluación del diseño del microsisistema de electroforesis capilar

Se llevó a cabo la evaluación del diseño, viabilidad y hermeticidad de los prototipos 1 a 3 para mejorar el diseño del microchip y la generación de flujo electroosmótico, así como la funcionalidad del prototipo 5 con electrodos fijos (ANEXO I).

Una vez ajustado el diseño, se evaluó el microsisistema prototipo 4 el cual se conforma de una capa de PDMS (4 x 1.7 x 3.3 mm) y la placa de vidrio completa para facilitar su manejo (7.6 x 2.53 x 1.1 mm). A diferencia del anterior todos los reservorios presentan un diámetro de 3 mm (Figura 37).

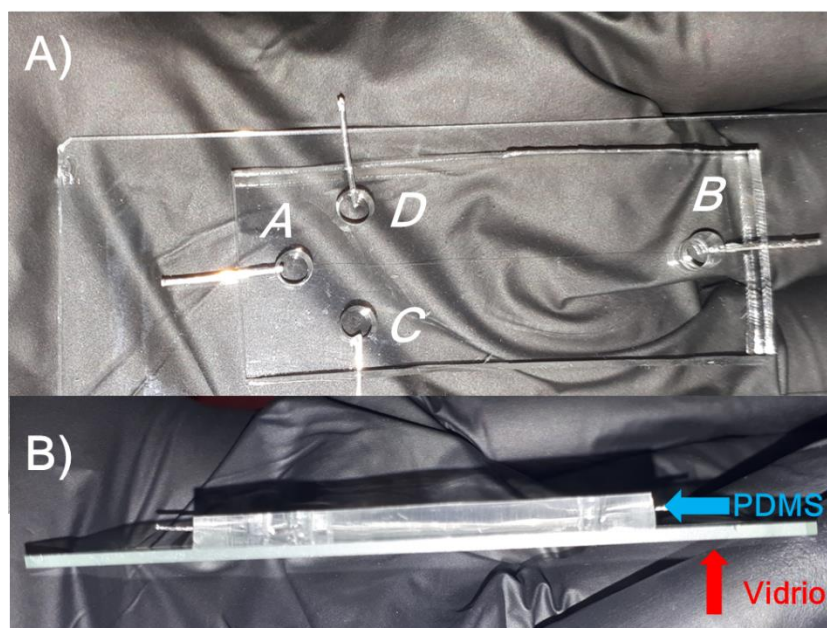


Figura 37. Fotografía del microsisistema prototipo 4. **A)** reservorio para la solución amortiguadora o de separación (**A**), reservorio de salida (**B**), reservorios para muestra (**C** y **D**). **B)** foto de perfil del microsisistema

El incremento en el diámetro de los reservorios facilitó el llenado y posterior acondicionamiento, mientras que el pulido de las puntas en los electrodos disminuyó las fugas en el sistema ya que solo se presentó en el electrodo del reservorio C (Figura 38). El acondicionamiento se llevó a cabo adecuadamente y sin demoras lo cual permitió la generación de un flujo electroosmótico adecuado a partir de todos los reservorios tanto de manera independiente como combinando las secuencias. Se realizó la simulación de inyecciones aplicando 700 V durante 20 segundos a partir del reservorio C al reservorio B para realizar el llenado del brazo con la solución colorida de MES y posteriormente, para el desplazamiento de la alícuota a través del capilar de separación, se aplicaron 1000 V durante 3 minutos a partir del reservorio A al reservorio B (Figura 39). El reservorio A fue previamente llenado con solución no colorida MES para desplazar la alícuota de MES colorido hasta el reservorio B (proceso de separación) y la posterior limpieza del sistema (Figura 40). Se programan 5 inyecciones consecutivas a partir del reservorio C. El mismo proceso se realizó aplicando la misma secuencia y condiciones a partir del reservorio D al B.

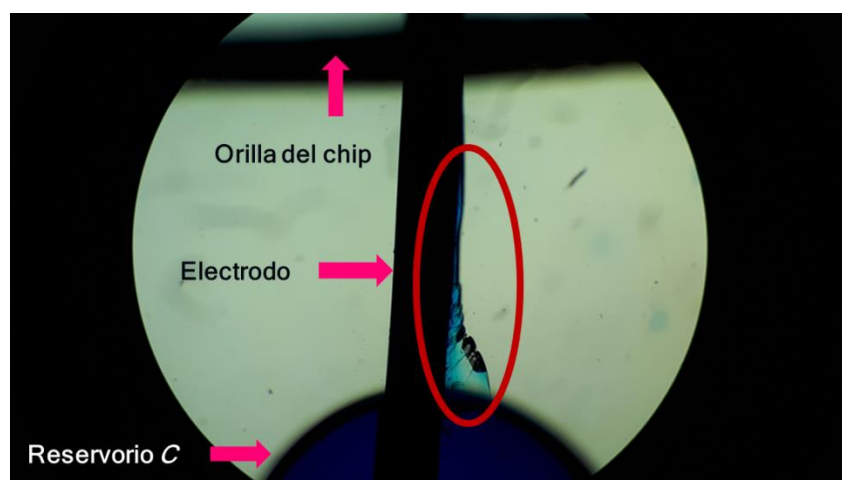


Figura 38. Fotografía de la fuga al costado del electrodo de platino colocado en el reservorio C.

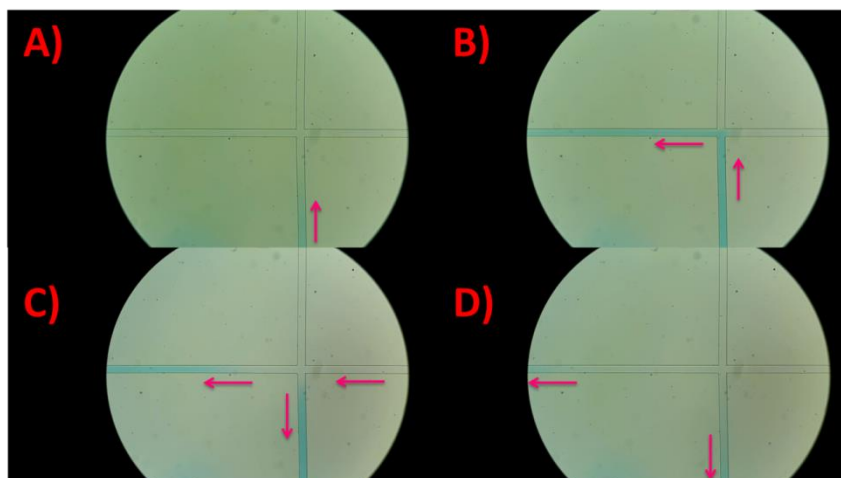


Figura 39. Simulación de inyección **A)** flujo electroosmótico de la solución MES colorida (700 V, 20 s, $D \rightarrow B$; **B)** Llenado del capilar de separación; **C)** y **D)** Limpieza con solución MES no colorida (1000 V, 3 min $A \rightarrow B$). Las flechas indican el sentido del flujo. Imágenes tomadas con objetivo 10X.

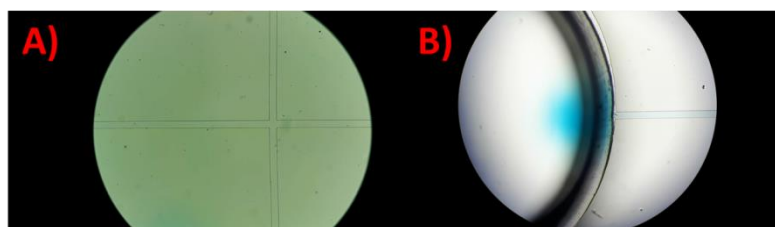


Figura 40. **A)** Limpieza de los capilares (1000 V, 3 min $A \rightarrow B$); **B)** Salida de la alícuota de solución colorida MES desde el capilar de separación al reservorio *B*. Imágenes tomadas con objetivo 10X).

VI.8.2 Evaluación de la celda electroquímica mediante VDP en celda convencional

Para la selección del material a emplear en la celda electroquímica del microsistema, se evaluó la respuesta independiente de los electrodos de trabajo de carbón vítreo y platino (Pt) de 3 mm de diámetro, así como un hilos de platino y

puntilla de microcarbón (Staedtler 0.5 mm) en celda convencional. Se empleó un electrodo cola de cochino como electrodo auxiliar y un electrodo de plata cloruro de plata (Ag/AgCl) como referencia. Además, se evaluó el protocolo de limpieza que permitiera la mejor recuperación de la detección.

VI.8.2.1 Electrodo convencional de trabajo de carbón vítreo y platino (celda convencional)

El voltamperograma de la MSTD4 y los estándares individuales (quercetina, ácido elágico y pelargonidina), se muestran en la Figura 41. Los potenciales de oxidación para quercetina (312 mV), ácido elágico (429 mV) y pelargonidina (723 mV) son coincidentes con los picos encontrados en la MSTD4 (315 mV, 462 mV y 696 mV respectivamente).

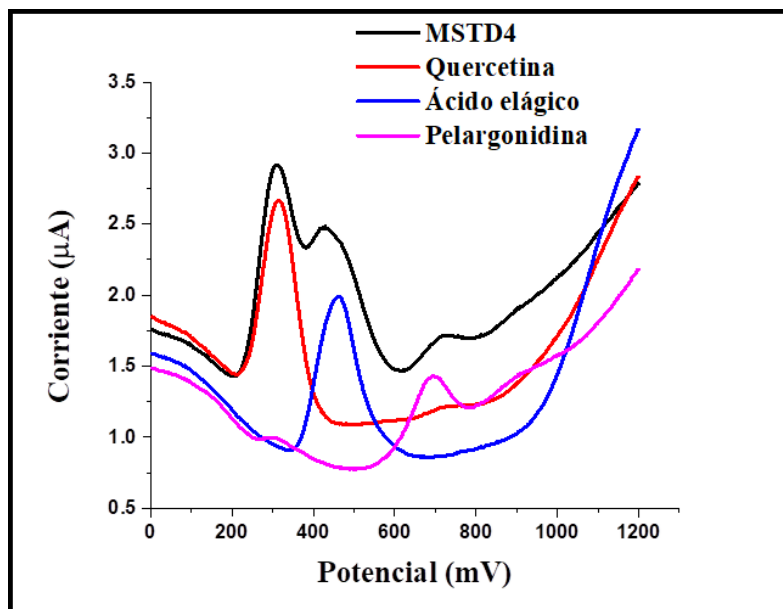


Figura 41. Voltamperogramas para MSTD4 (Negro); Quercetina, 20 mM (Rojo); Ácido elágico, 70 mM (Azul); Pelargonidina 100 mM (Rosa). En MES (25 mM, pH 5.0). Electrodo carbón celda convencional, $\varnothing = 3$ mm

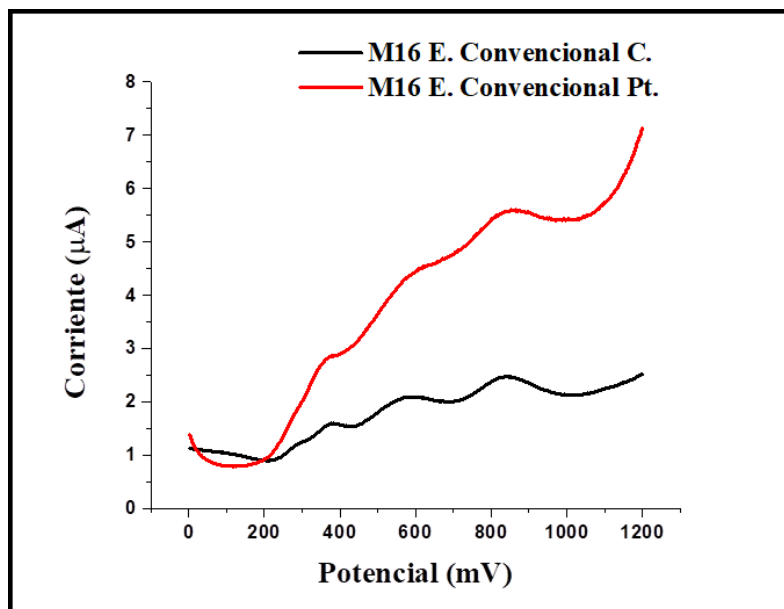


Figura 42. Voltamperogramas para M16: Electrodo convencional carbón (Negro); Electrodo convencional platino (Rojo). En MES (25 mM, pH 5.0). Celda convencional

La comparación de los voltamperogramas de la muestra 16 (vino Tempranillo joven, vinos del Marqués) con los diferentes materiales se muestra en la Figura 42. Se puede observar que la intensidad de corriente es mayor al emplear el electrodo de platino y, si bien la definición o separación entre los picos de oxidación disminuye, podría mejorarse con el proceso de separación previa en el microsistema.

Los voltamperogramas de mediciones consecutivas de la muestra 16, tanto con el electrodo de carbón vítreo (Figura 43) y el electrodo de platino (Figura 44), muestran la reproducibilidad y la recuperación de la detección al realizar 30 ciclos de limpieza (pulido en “8”) entre las mediciones.

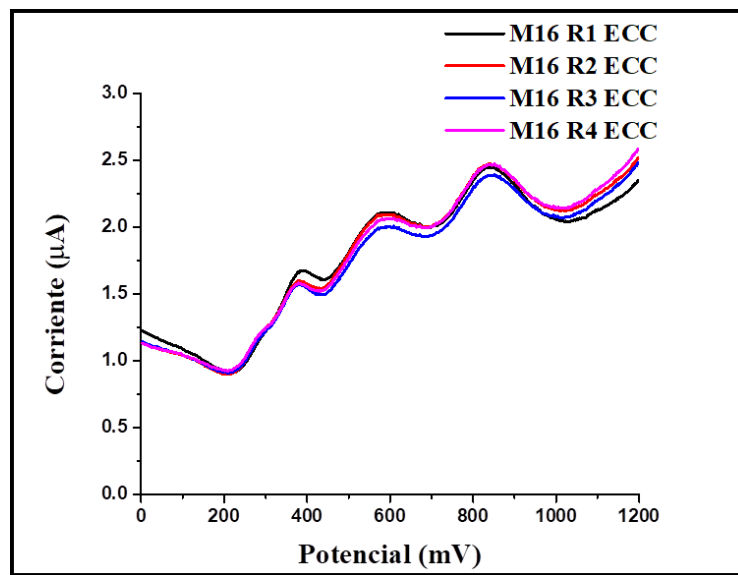


Figura 43. Voltamperogramas para M16 R1 (Negro); M16 R2 (Rojo); M16 R3 (Azul), M16 R4 (Rosa). En MES (25 mM, pH 5.0). Electrodo carbón vítreo, celda convencional

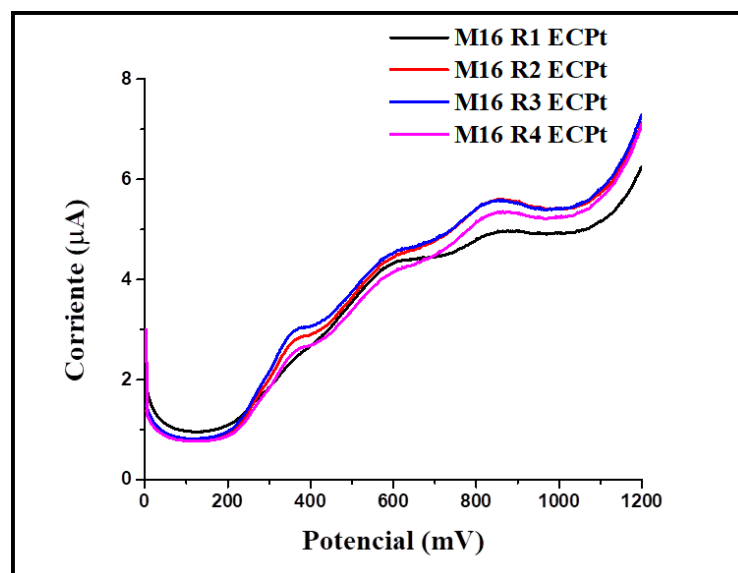


Figura 44. Voltamperogramas para M16 R1 (Negro); M16 R2 (Rojo); M16 R3 (Azul), M16 R4 (Rosa). En MES (25 mM, pH 5.0). Electrodo platino, celda convencional

VI.8.2.2 Electrodo de trabajo: puntilla de microcarbón (Staedtler) e hilo de platino

Se evaluó el desempeño de las puntillas de microcarbón midiendo consecutivamente la MSTD4 o solución modelo sin limpieza entre mediciones. Se presentó pasivación de la superficie, lo que generó la disminución de la detección de los componentes presentes, así como la pérdida de reproducibilidad en la detección (Figura 45). El mismo comportamiento se observó en las mediciones consecutivas de la muestra 16 (vino Tempranillo joven, vinos del Marqués) (Figura 46).

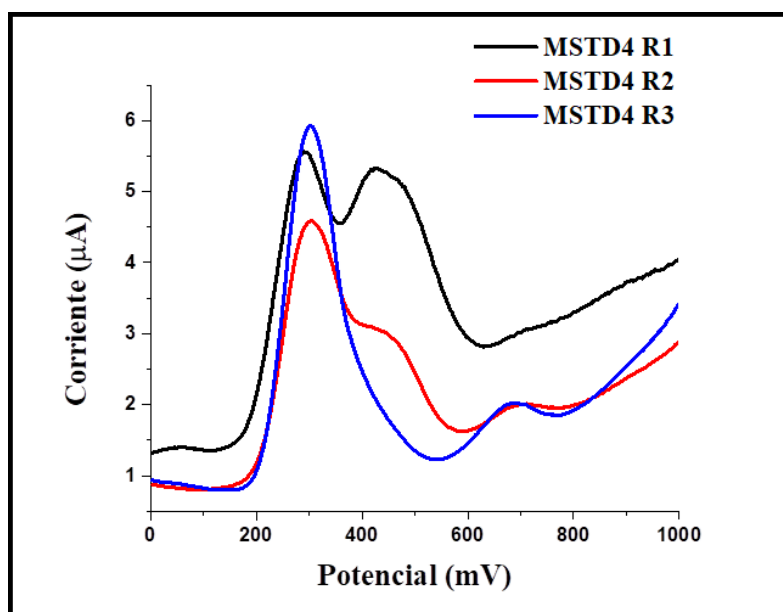


Figura 45. Voltamperogramas para MSTD4 R1 (Negro); MSTD4 R2 (Rojo); MSTD4 R3 (Azul). En MES (25 mM, pH 5.0). Puntilla de micro carbón Staedtler (0.5 mm), celda convencional. Sin ciclos de limpieza entre cada medición.

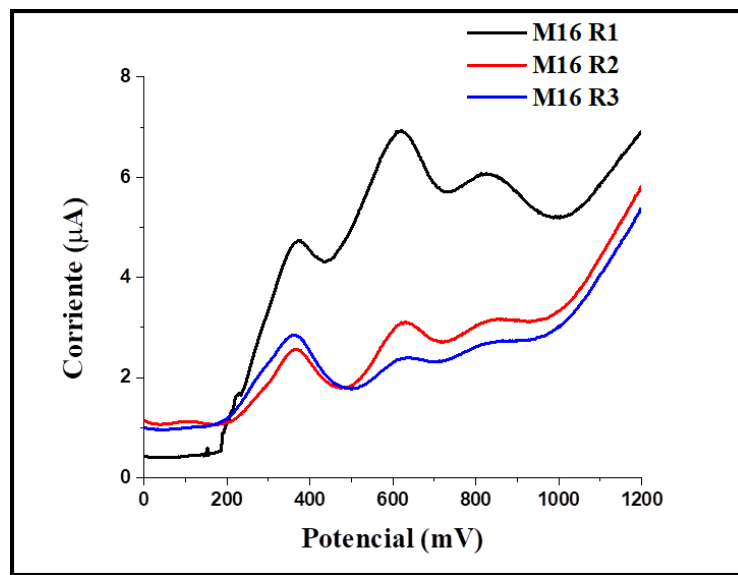


Figura 46. Voltamperogramas para M16 R1 (Negro); M16 R2 (Rojo); M16 R3 (Azul). En MES (25 mM, pH 5.0). Puntilla de micro carbón Staedtler (0.5 mm), celda convencional. Mediciones consecutivas sin ciclos de limpieza intermedios

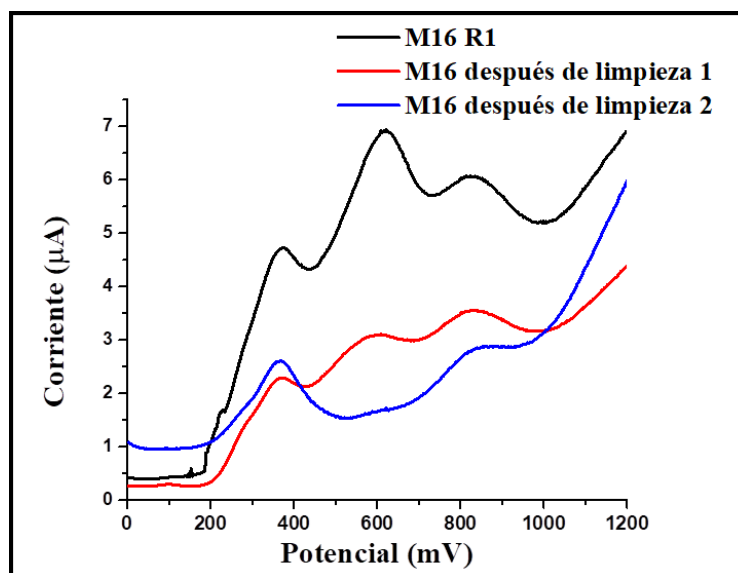


Figura 47. Voltamperogramas para M16 R1 (Negro); M16 con limpieza en KCl 0.1 M (Rojo); M16 con limpieza en H_2SO_4 , 0.5 M (Azul). En MES (25 mM, pH 5.0). Puntilla de micro carbón Staedtler (0.5 mm), celda convencional

Debido a que la puntilla no puede ser pulida, se evaluaron diferentes métodos de limpieza mediante voltamperometría cíclica. En la Figura 47 se presenta el voltamperograma de la muestra 16 con puntilla nueva (línea negra), el voltamperograma de la muestra 16 posterior a 50 ciclos de limpieza mediante VC con cloruro de potasio (KCl, 0.01 M) (línea roja) y en azul, el voltamperograma de la misma muestra después de realizar 50 ciclos de limpieza mediante VC empleando ácido sulfúrico (H_2SO_4 , 0.5 M).

La comparación de los voltamperogramas para la muestra 16 empleando la puntilla de micro carbón (Negro) y el hilo de platino (Rojo) se muestra en la Figura 48. A pesar de que la puntilla de micro carbón nueva presenta mayor detección, se consideró la alta pasivación de la superficie en mediciones consecutivas, por lo que, se empleó el hilo de platino para las siguientes evaluaciones.

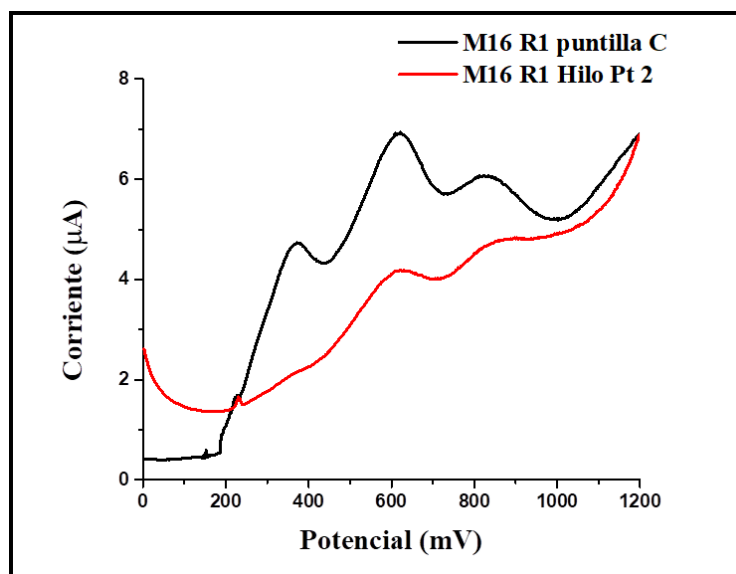


Figura 48. Voltamperogramas para M16 R1 puntilla de micro carbón Staedtler (0.5 mm (Negro); Hilo de platino R1 (Rojo). En MES (25 mM, pH 5.0). Celda convencional

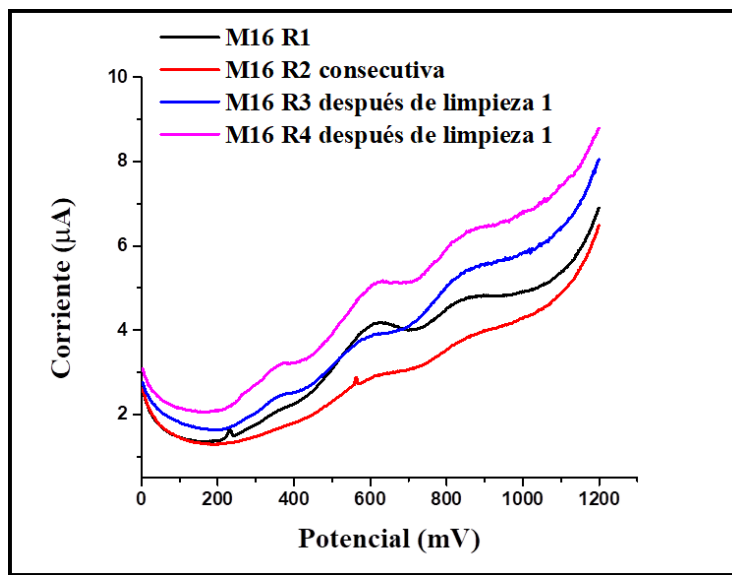


Figura 49. Voltamperogramas para M16 R1 (Negro); M16 R2 seguida sin limpieza (Rojo); M16 R3 con limpieza en KCl, 0.1 M (Azul), M16 R4 con limpieza en KCl 0.1 M (Rosa). En MES (25 mM, pH 5.0). Hilo de platino, celda convencional

En la Figura 49 se compara el voltamperograma de la muestra 16 primera medición (Negro) y la repetición de la muestra sin limpieza previa (Rojo). Se observa la pérdida de la detección, por lo que se decidió a realizar un primer ciclo de limpieza con KCl (0.01 M) y se midió de nueva cuenta la muestra (Azul). Posteriormente, se observó un incremento en la detección una vez más, por lo que se realizó un segundo ciclo de limpieza con KCl y se hizo la medición de la muestra 16 (Rosa).

Posteriormente, el hilo de platino se limpió con ácido sulfúrico e inmediatamente se midió la muestra 17 (vino Tempranillo joven, vinos del Marqués) (Figura 50, en Negro). Dado que la detección de la muestra fue baja, se realizó un ciclo de limpieza mediante VC con KCl (0.01 M) y se midió nuevamente la muestra (Rojo) observándose un incremento considerable en la detección. Finalmente, se realizó una limpieza física del electrodo al colocarlo a la flama de

un soplete y se repitió la medición de la muestra 17 (azul). Con base en lo anterior, se descarta el método de limpieza ácida y se evalúa la reproducibilidad del método empleando KCl y calor.

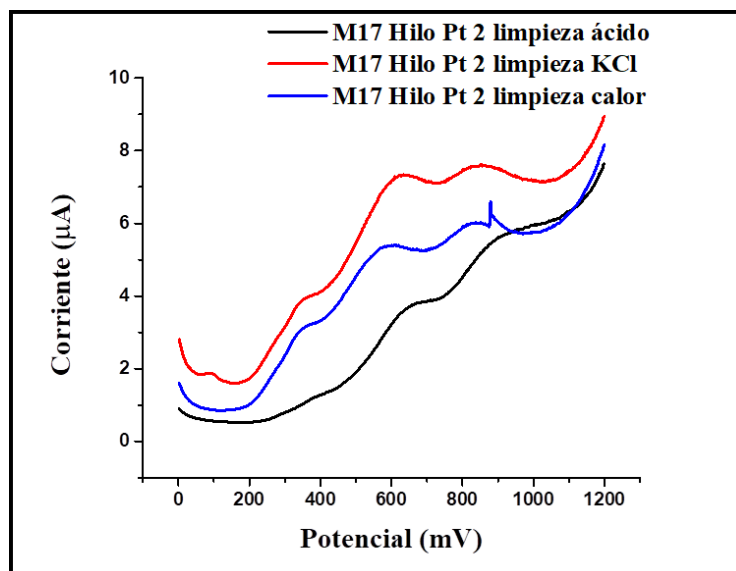


Figura 50. Voltamperogramas de M17: después de limpieza con H_2SO_4 (Negro); después de limpieza con KCl (Rojo); Después de limpieza a la flama con soplete (Azul). Hilo platino, celda convencional en MES (25 mM, pH 5.0)

La Figura 51 muestra la comparación de tres mediciones de la muestra 17 con 50 ciclos de limpieza en KCl (0.01 M) entre mediciones. Se observaron algunas diferencias tanto en intensidad como en el perfil de los picos de oxidación. Para mejorar la reproducibilidad se incrementó el número de ciclos de limpieza a 70 (Figura 52) para la muestra 17 (vino Tempranillo joven, vinos del Marqués) y 100 (Figura 53) para la muestra 20 (vino Merlot joven, vinos del Marqués). Se presentó una mejor reproducibilidad en las mediciones con 100 ciclos, por lo que este método fue seleccionado para las siguientes mediciones.

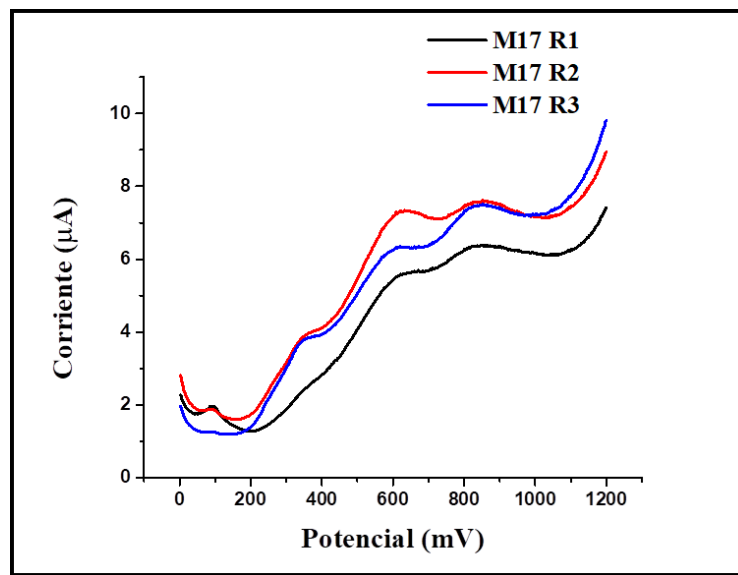


Figura 51. Voltamperogramas para M17 R1 (Negro); M17 R2 (Rojo); M17 R3 (Azul). En MES (25 mM, pH 5.0). Con 50 ciclos de limpieza (KCl, 0.01 M) entre mediciones. Celda convencional con hilo de Pt

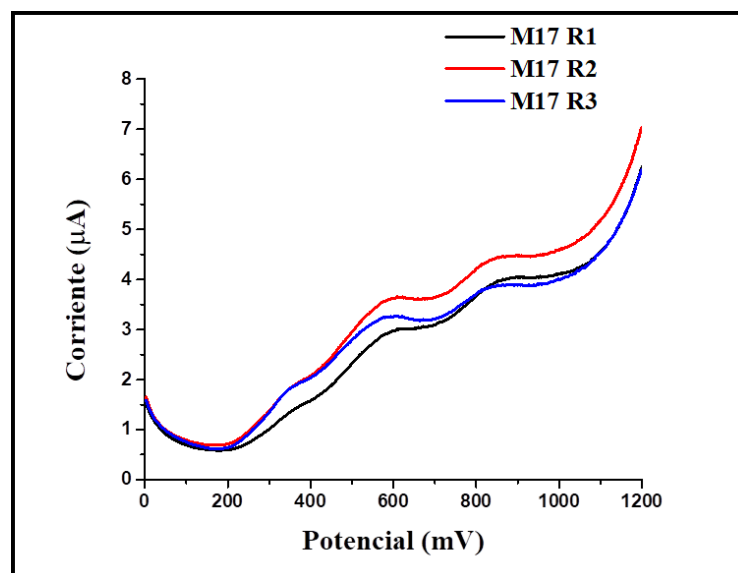


Figura 52. Voltamperogramas para M17 R1 (Negro); M17 R2 (Rojo); M17 R3 (Azul). En MES (25 mM, pH 5.0). Con 70 ciclos de limpieza (KCl, 0.01 M) entre mediciones. Celda convencional con hilo de Pt

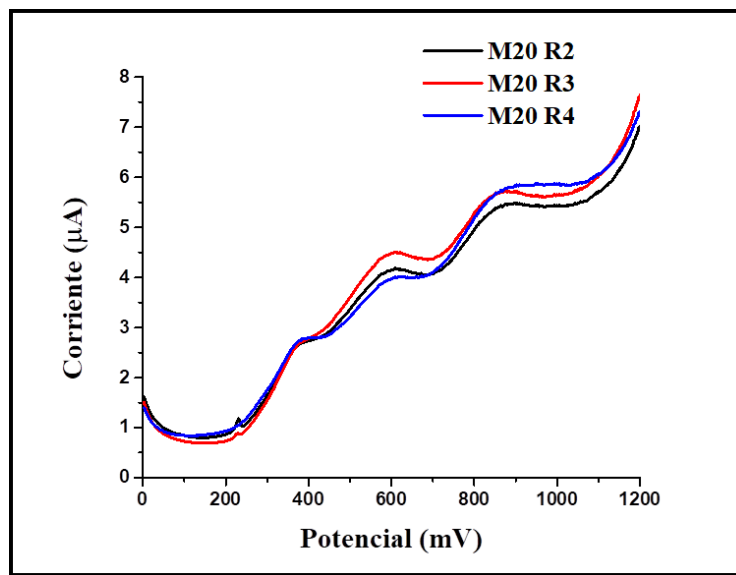


Figura 53. Voltamperogramas para M20 R1 (Negro); M20 R2 (Rojo); M20 R3 (Azul). En MES (25 mM, pH 5.0). Con 100 ciclos de limpieza entre (KCl, 0.01 M) mediciones. Celda convencional, hilo de Pt

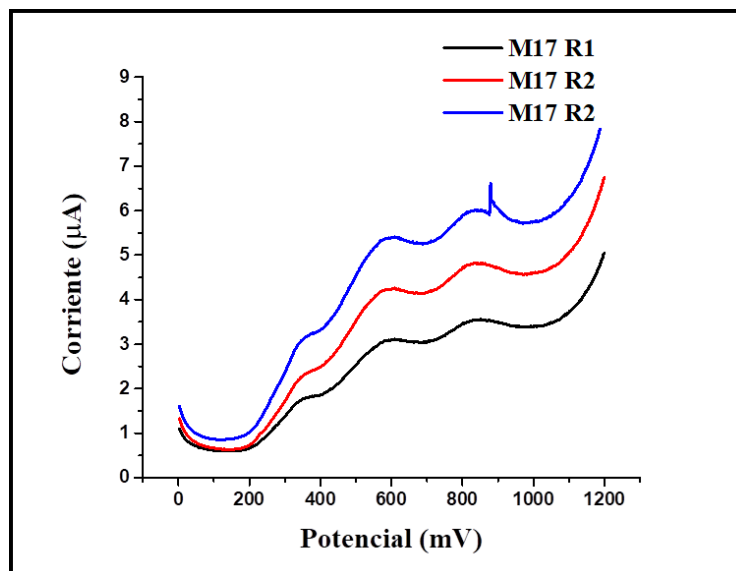


Figura 54. Voltamperogramas para M17 R1 (Negro); M17 R2 (Rojo); M17 R3 (Azul). En MES (25 mM, pH 5.0). Después de limpieza con calor. Celda convencional, con hilo Pt

La baja reproducibilidad empleando calor como método de limpieza se muestra en la Figura 54. Este efecto puede deberse a que existen diversos parámetros a controlar como el tiempo de exposición, la zona de la flama y la temperatura, los cuales modifican la respuesta del sensor.

Debido a la complejidad de las muestras se estudió del primer pico de oxidación (Quercetina/flavanoles) mediante cronoamperometría en celda convencional empleando el electrodo de Ag/AgCl como electrodo de referencia, el cola de cochino de platino como auxiliar, en tanto que para el electrodo de trabajo inicialmente se empleó carbón vítreo y posteriormente de platino (ANEXOII). Sin embargo, se presentaron respuestas similares entre las réplicas del análisis. A concentraciones mayores de 30 μM se presenta precipitación de quercetina lo que provoca una baja detección. Debido a lo anterior se descarta el uso de cronoamperometría para las siguientes evaluaciones en la celda del microsistema.

VI.8.2.3 Electrodo: puntilla de microcarbón (Staedtler), hilo de plata, e hilo de platino

Se evaluó el potencial uso de los electrodos en celda convencional con la siguiente configuración: hilo de platino como electrodo de trabajo, hilo de plata como referencia y puntilla de microcarbón (Staedtler) como auxiliar.

La Figura 55 muestra el voltamperograma obtenido para la solución de referencia ferro/ferri cianuro de potasio (5 mM en H_2SO_4 0.1 M) empleando la celda convencional con las siguientes configuraciones: electrodo de trabajo de carbón vítreo, referencia Ag/AgCl y auxiliar platino (negro); hilo de platino como electrodo de trabajo, referencia Ag/AgCl y auxiliar platino (rojo); así como con electrodo de trabajo hilo de Pt, referencia Ag y puntilla de $\mu\text{carbón}$ como auxiliar (azul).

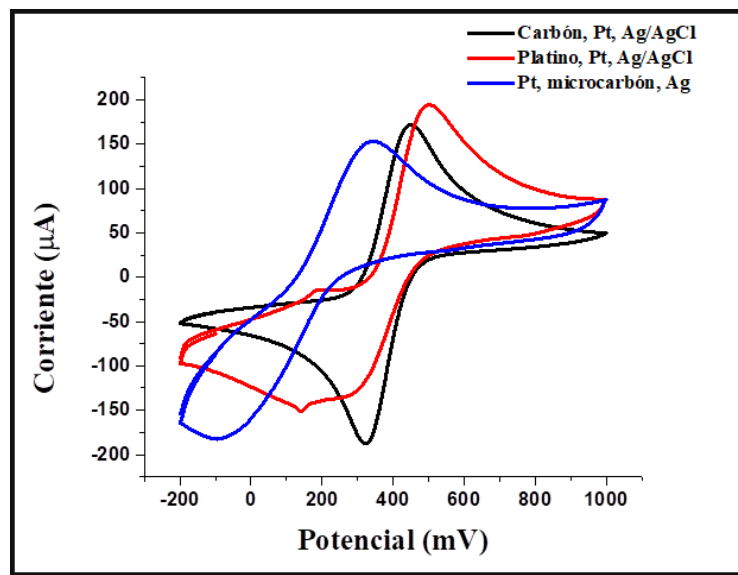


Figura 55. Voltamperogramas de la solución ferro/ferricianuro de potasio con diferentes configuraciones de electrodos en celda convencional.

En las tres mediciones se observa el pico de oxidación del ferro/ferricianuro de potasio. El pico de reducción es menos definido con forme cambian los materiales de los electrodos. El cambio de carbón a platino, como electrodo de trabajo, generó ligeros desplazamientos en los potenciales de oxido/reducción. Con el cambio de Ag/AgCl a Ag como electrodo de referencia y a microcarbón como auxiliar, se presenta un desplazamiento en el pico de oxidación del ferro/ferricianuro de potasio hacia menores potenciales, en tanto que el pico de reducción apenas es perceptible. Lo anterior puede deberse al cambio de los materiales empleados. Dado que se conserva la respuesta para el pico de oxidación con la tercera configuración, se decide evaluar estos electrodos directamente en la celda del microsistema (sin flujo electroosmótico). Es importante mencionar que se realizaron 100 ciclos de limpieza con KCl (0.1M) mediante VC entre cada medición.

VI.8.3 Evaluación de la celda electroquímica del microsistema de electroforesis capilar (MEC)

VI.8.3.1 Electroodos móviles

En la Figura 56 se presenta la comparación entre los voltamperogramas de la solución ferro/ferricianuro de potasio en celda convencional y en la celda del microsistema (Chip prototipo 4). Para ambas mediciones se empleó como electrodo de trabajo el hilo de Pt, referencia el hilo de Ag y la puntilla de μ carbón como auxiliar. En la celda convencional se colocaron 3 ml de la solución ferro/ferricianuro de potasio (5 mM en H_2SO_4 0.1 M), en tanto que para la celda del microsistema se colocaron 20 μL de la solución ferro/ferricianuro de potasio 4.0 mM en MES 25 mM. Se presenta una similitud en el potencial de oxidación y se define el pico de reducción al medir en la celda del microsistema. La diferencia en las intensidades de corriente se debe al cambio en el área de superficie expuesta a la solución. A mayor área de superficie mayor intensidad de corriente. En la celda convencional se sumergió 1 cm aproximadamente de cada electrodo, mientras que en la celda del microsistema se sumergieron alrededor de 3 mm. La celda del microsistema es cónica con un diámetro menor en el fondo del pocillo. Lo anterior impidió introducir los electrodos hasta el fondo ya que se presentaba contacto entre los mismos.

Una vez que se observó respuesta en la celda electroquímica del microsistema, se realizaron mediciones consecutivas con incremento de la concentración del ferro/ferricianuro de potasio en la celda (sin flujo electroosmótico). Se observa un incremento gradual y picos de óxido/reducción definidos (Figura 57).

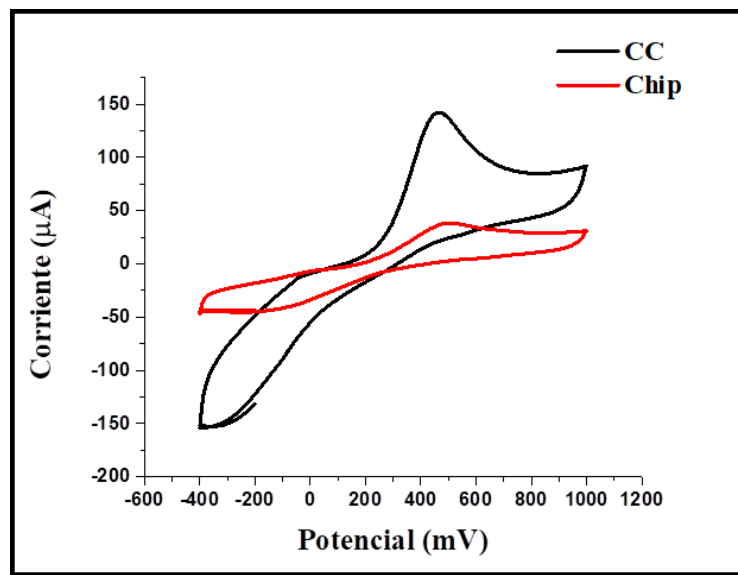


Figura 56. Voltamperogramas de la solución ferro/ferricianuro de potasio en: Celda convencional CC (Negro), celda del microchip (Rojo). Electrodo de trabajo de hilo de Pt, referencia hilo de Ag y auxiliar puntilla μ carbón.

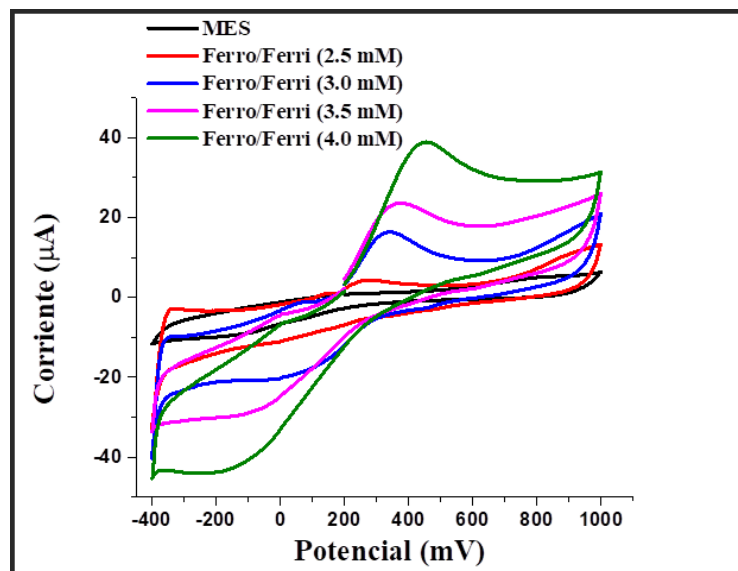


Figura 57. Voltamperogramas de la solución ferro/ferricianuro de potasio con incremento de la concentración. Celda del microsistema (MES 25 mM, pH 5.0). Sin flujo electroosmótico

Una vez que se confirma el sensado adecuado con la solución de ferro/ferricianuro de potasio en la celda del microsisistema, se realiza el acondicionamiento del mismo. El objetivo fue generar flujo electroosmótico y detectar la solución de referencia a la par. Para la generación del flujo electroosmótico y el sensado, la celda del microsisistema debió ser llenada con 20 μL de la solución a medir. Lo anterior provocó que la cantidad de la solución de ferro/ferricianuro de potasio inyectada durante 60 segundos (+ 1000 V, de C a B) se diluyera al llegar al reservorio B y no pudiera ser detectada.

Para compensar la baja detección, se aplicaron +1000 V desde el reservorio C al B durante 25 minutos. Se realizaron mediciones cada 5 minutos. La Figura 58 A) muestra la medición inicial de la solución amortiguadora al tiempo 0, 5 y 10 minutos. Se observa un cambio en el perfil a los 5 minutos, indicando la presencia de la solución de ferro/ferricianuro de potasio en la celda. A los 10 minutos se observa el pico de oxidación en la ventana de potencial para el ferro/ferricianuro de potasio (entre 200 y 600 mV). Con el paso del tiempo la solución de ferro/ferricianuro de potasio se oxidó lo cual provocó la disminución de la señal de oxidación a los 15 y 20 minutos (Figura 58 B).

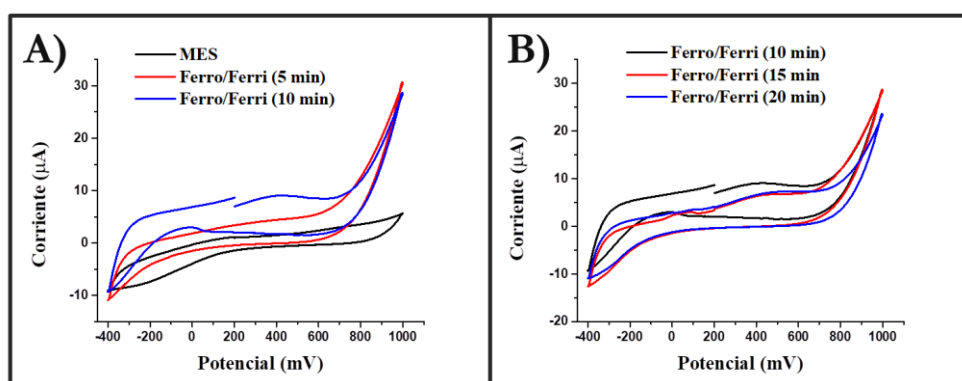


Figura 58. Voltamperogramas a diferentes tiempos de infusión de la solución ferro/ferri diluida en MES 25 mM, pH 5.0

La Figura 59 muestra el voltamperograma obtenido con diferentes diluciones de la muestra de vino M20 (vino Merlot joven, vinos del Marqués, concentrada) en la celda del microsistema directamente (sin generación de flujo electroosmótico). Lo anterior debido a que al realizar la inyección de la muestra a través del sistema no se logró detectar algún cambio. La configuración de la celda fue la misma de la sección anterior (hilo de Pt, hilo de Ag y puntilla de microcarbón)

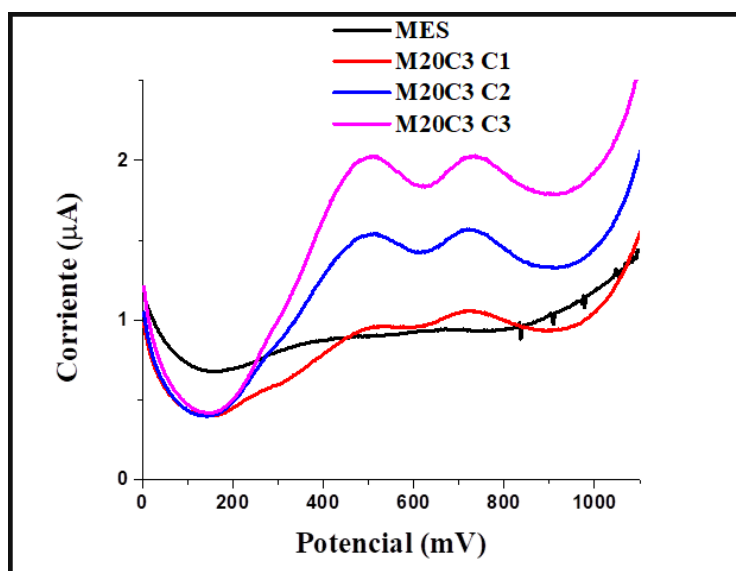


Figura 59. Voltamperogramas de: 20 μL MES 25 mM, pH 5.0 (Negro); M20C3 1:20 (Rojo); M20C3 3:20 (Rojo) y M20C3 5:20 (Azul). Se realizaron 100 ciclos de limpieza con KCl (0.01 M) mediante VC entre las mediciones.

Se evaluó el microsistema prototipo 6 el cual se conforma de una capa de PDMS (4 x 1.7 x 3.3 mm) y la placa de vidrio completa para facilitar su manejo (7.6 x 2.53 x 1.1 mm). A diferencia del prototipo 4, los reservorios A, C y D presentan un diámetro de 3 mm, en tanto que el reservorio B es de 5 mm. La Figura 78 muestra los defectos de sellado entre las placas de vidrio y PDMS (Fig. 60A), así

como los defectos en el reservorio A (Fig. 60B). Se observó la generación de flujo electroosmótico, sin embargo, se presentaron fugas en el sistema. Debido a lo anterior, se empleó la celda para mediciones directamente. A diferencia de las pruebas realizadas en la sección anterior, el electrodo de platino fue doblado de tal manera que 3 mm del hilo se colocaron perpendicularmente a la salida del capilar de separación. Lo anterior con el objetivo de simular la forma de los electrodos fijos e incrementar el área de superficie. La configuración de la celda se muestra en la Figura 60C). Se empleó un hilo de plata como electrodo de referencia, la puntilla de micro carbón como electrodo auxiliar. De manera adicional, se probó un esquema de electrodo de trabajo en forma de resorte para tratar de incrementar el área de superficie (60D).

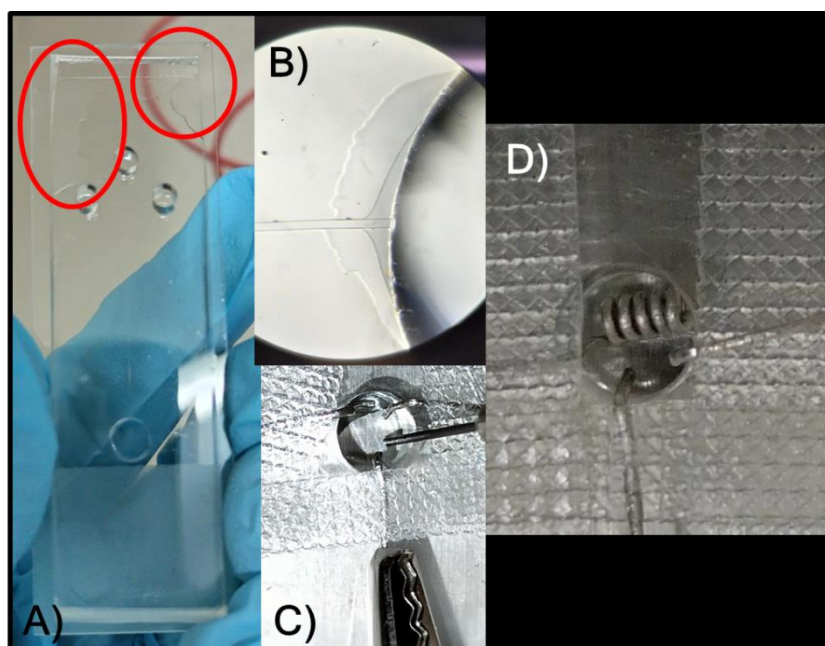


Figura 60. Fotografía del microsistema prototipo 6. A) Marcas del desprendimiento entre las capas del chip (en rojo); B) zonas de fuga del reservorio A; C) Celda con electrodo de trabajo de Pt con dobles, referencia de Ag y Puntilla de micro carbón como auxiliar; D) Esquema con electrodo de trabajo en forma de resorte.

La figura 61 muestra la comparación entre la respuesta electroquímica de la solución de referencia ferro/ferricianuro de potasio con el hilo de platino sin dobles (Negro) y con dobles (Rojo). Se puede observar un incremento en la intensidad de corriente de los picos redox del ferro/ferri cianuro de potasio al emplear el hilo de platino con un dobles a la salida del capilar de separación. Lo anterior se debe al incremento en el área de superficie que está en contacto con la solución de referencia.

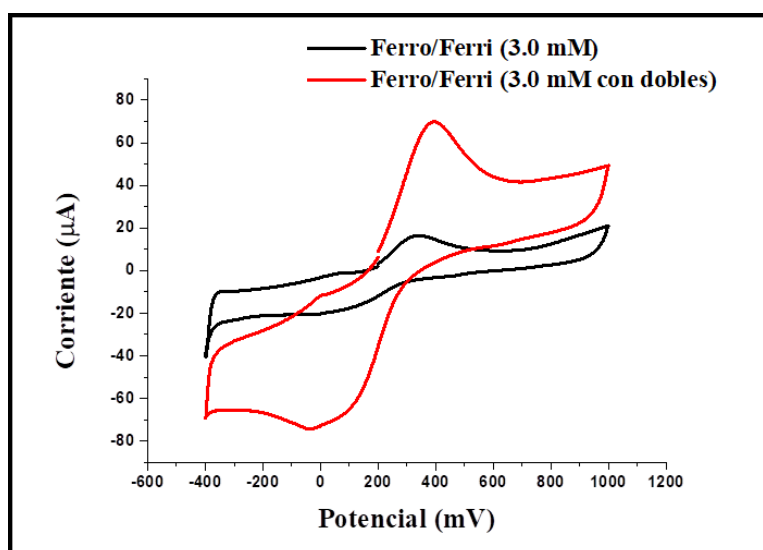


Figura 61. Voltamperometrías cíclicas de la solución ferro/ferri cianuro de potasio empleando el hilo de platino sin dobles (Negro) y con dobles (Rojo).

La Figura 62 muestra la respuesta del electrodo en forma de resorte (cola de cochino) comparado con las configuraciones evaluadas anteriormente. Se observa un pico de oxidación con intensidad de corriente mayor al emplear el hilo de platino con dobles ($69.80 \mu\text{A}$, $[3.0 \text{ mM}]$) que con el hilo sin dobles ($38.90 \mu\text{A}$, $[4.0 \text{ mM}]$). Como era de esperarse la intensidad de corriente se incrementa con el incremento del área de superficie expuesta a la solución evaluada. Aun cuando los potenciales de oxidación/reducción se encuentran en la misma ventana, el potencial del hilo con dobles se desplaza ligeramente hacia potenciales menores

(395 mV) en comparación con el hilo sin doblez y el resorte (454 mV y 557 mV, respectivamente).

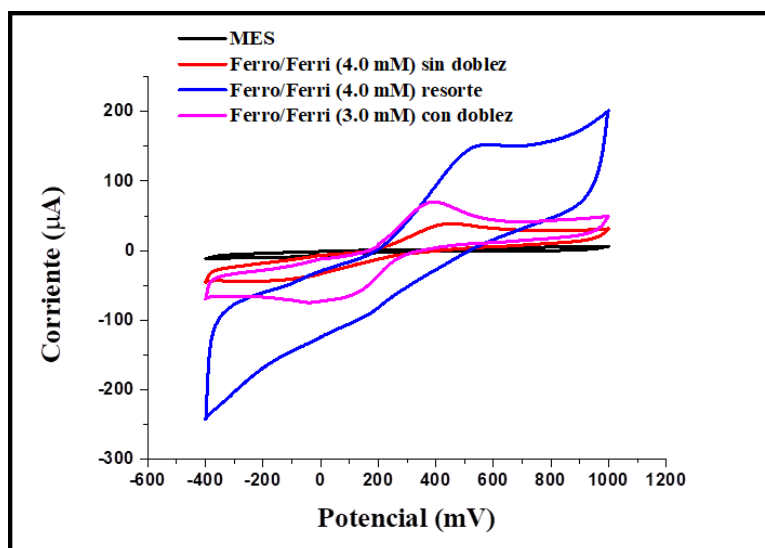


Figura 62. Voltamperometrías cíclicas de la solución ferro/ferri cianuro de potasio empleando las diferentes formas del electrodo de trabajo (Pt).

Para el hilo con forma de resorte, se observa un incremento considerable en la intensidad de corriente del pico de oxidación ($151.83 \mu\text{A}$ [4.0 mA]), sin embargo, se presenta un desplazamiento hacia potenciales mayores (557 mV). El desplazamiento a mayores potenciales implica una disminución en la capacidad para llevar a cabo los procesos redox. En el caso del hilo en resorte puede ser derivado de la descompensación en el sistema; El electrodo de trabajo presenta mayor área de superficie en tanto que área del contra electrodo se mantiene igual para todas las configuraciones (3 mm), descompensando la transferencia de carga e incrementando la resistencia del sistema. Lo cual también se ve reflejado en el pico de reducción que, bajo las condiciones del análisis, solo es detectado empleando el hilo con doblez. Lo anterior indica que la mejor configuración para la microcelda es el hilo con doblez como electrodo de trabajo, el hilo de plata como referencia y la puntilla de micro carbón como auxiliar. Este sistema será probado

en un nuevo chip en el que se pueda generar flujo electroosmótico y realizar inyecciones para la prueba del concepto.

VI.8.3.2 Electrodo fijos: trabajo y referencia de platino, puntilla de microcarbón (Staedtler) o hilo de platino como auxiliar

Se evalúa el microsistema prototipo 7 el cual se conforma de una capa de PDMS (4 x 1.7 x 1.3 mm) y la placa de vidrio completa para facilitar su manejo (7.6 x 2.53 x 1.1 mm). Reservorios de 5 mm. A diferencia del anterior dos de los electrodos se encuentran colocados en el reservorio *B* a la salida del capilar. La Figura 63 A) y B) muestran desprendimiento entre la placa de vidrio y PDMS, así como la fuga de la solución amortiguadora colorida (MES) comprobando que el chip no es funcional para la separación por flujo electroosmótico. En tanto que los incisos C) y D) muestran el montaje de la celda electroquímica.

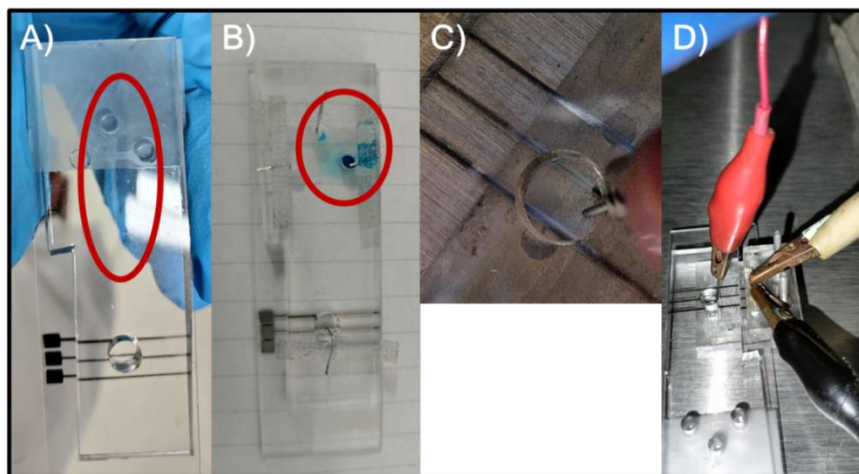


Figura 63. Fotografía del microsistema prototipo 7. **A)** Marcas del desprendimiento entre las capas del chip (en ovalo rojo); **B)** zonas de fuga del sistema (círculo rojo); **C)** Celda con electrodos fijos de trabajo y referencia (Pt), puntilla de micro carbón como auxiliar; **D)** Montaje de la celda.

Debido a las fugas del sistema, la celda electroquímica fue evaluada colocando directamente las soluciones de referencia y/o muestra. La Figura 64 muestra los voltamperogramas cíclicos obtenidos con el incremento de concentración para la solución de referencia ferro/ferricianuro de potasio (sin limpiezas entre mediciones). Los picos de oxidación y reducción del sistema muestran cambios en la intensidad de corriente con el incremento de la concentración (óvalos rojos), sin embargo, se observa un pequeño desplazamiento a potenciales mayores conforme se realizan las mediciones y disminución en el incremento de la corriente dando la impresión de una gradual pasivación del electrodo de trabajo.

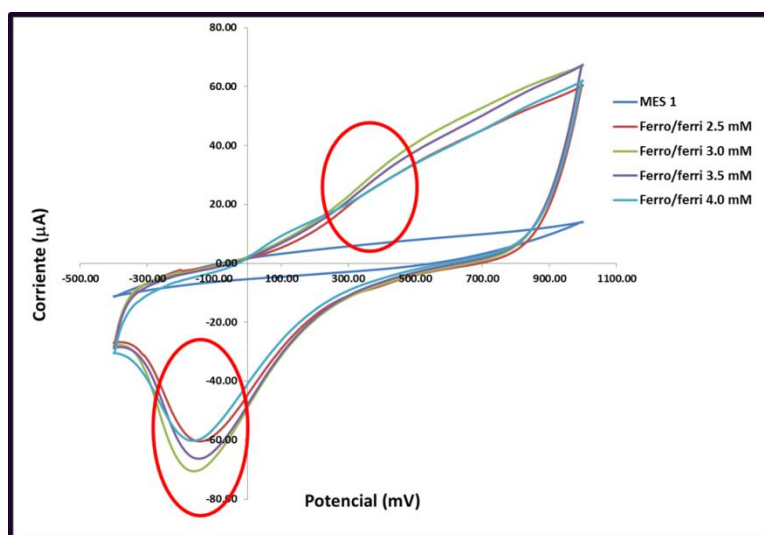


Figura 64. Voltamperometría cíclica de la solución Ferro/ferri cianuro de potasio en celda chip con electrodo de trabajo y referencia fijos de Pt; Puntilla de micro carbón como auxiliar; MES 25 mM, pH 5.0. Sin limpieza entre mediciones

Debido a lo anterior se decide realizar ciclos de limpieza entre las mediciones, sin embargo, se observa una disminución en la intensidad del pico de oxidación, en tanto que el pico de reducción presenta mucha variación en la respuesta (Figura 65).

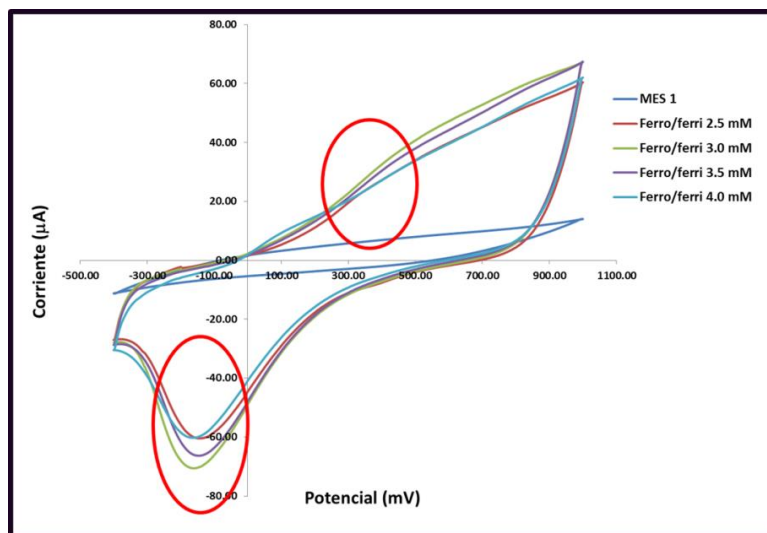


Figura 65. Voltamperometría cíclica de la solución Ferro/ferri cianuro de potasio en celda chip con electrodo de trabajo y referencia fijos de Pt; Puntilla de micro carbón como auxiliar; MES 25 mM, pH 5.0. 100 ciclos de limpieza en KCl.

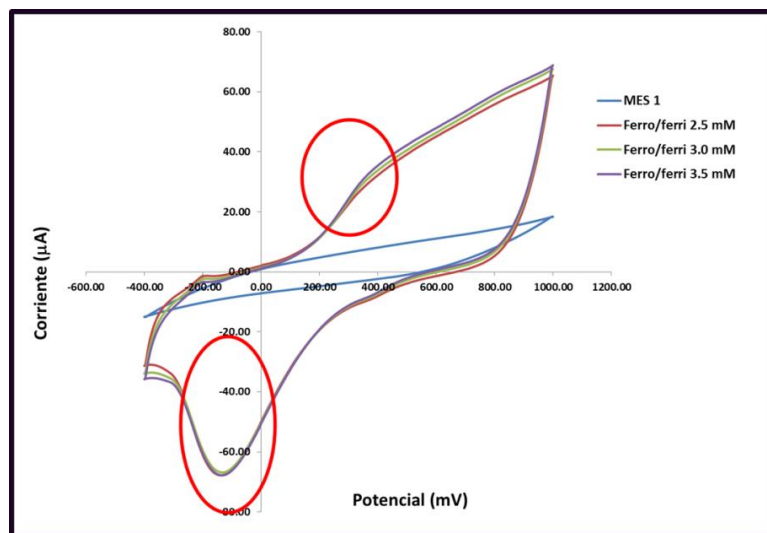


Figura 66. Voltamperometría cíclica de la solución Ferro/ferri cianuro de potasio en celda chip con electrodo de trabajo y referencia fijos de Pt; Hilo de Pt como auxiliar; MES 25 mM, pH 5.0. Sin limpieza entre mediciones

Dado que se espera que el sistema se conforme de tres electrodos de platino y aunado a los resultados anteriores se decide cambiar la puntilla de microcarbón por un hilo de platino como electrodo auxiliar (Figura 66).

Se realizaron mediciones con incremento de concentración de la solución de referencia ferro/ferricianuro de potasio (como en el ensayo anterior). Si bien la intensidad de corriente se encuentra en la misma zona que con la puntilla de microcarbón, se puede observar una menor separación de los picos redox con el cambio de concentración. Inicialmente se pensó en una pasivación del electrodo de trabajo por lo que se repitió el experimento con limpiezas entre las mediciones (Figura 67). Se presentó una pérdida de la señal por lo que se realizó una inspección al microscopio de los electrodos constatando el desprendimiento del electrodo de trabajo (Figura 68). Lo anterior puede deberse a que los ciclos de limpieza fueron muy agresivos llevando al desprendimiento gradual de capas superficiales de Pt y finalmente el gastado y desprendimiento de toda la superficie.

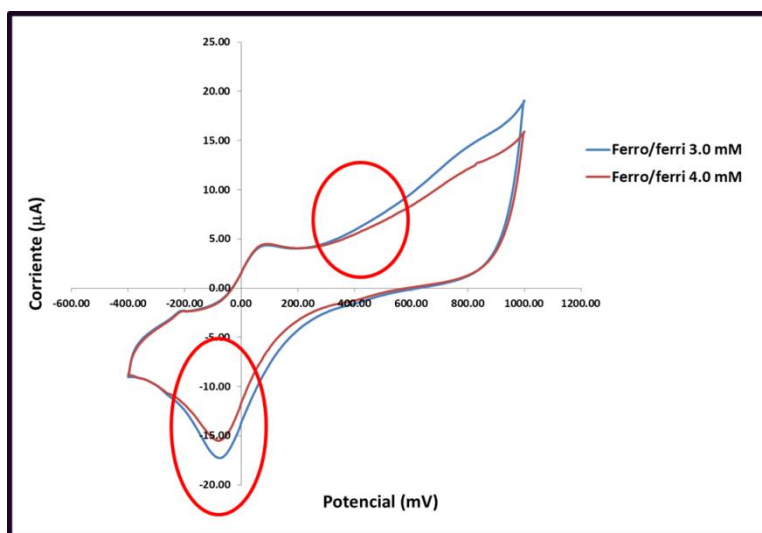


Figura 67. Voltamperometría cíclica de la solución Ferro/ferri cianuro de potasio en celda chip con electrodo de trabajo y referencia fijos de Pt; Hilo de Pt como auxiliar; MES 25 mM, pH 5.0. 100 ciclos de limpieza en KCl

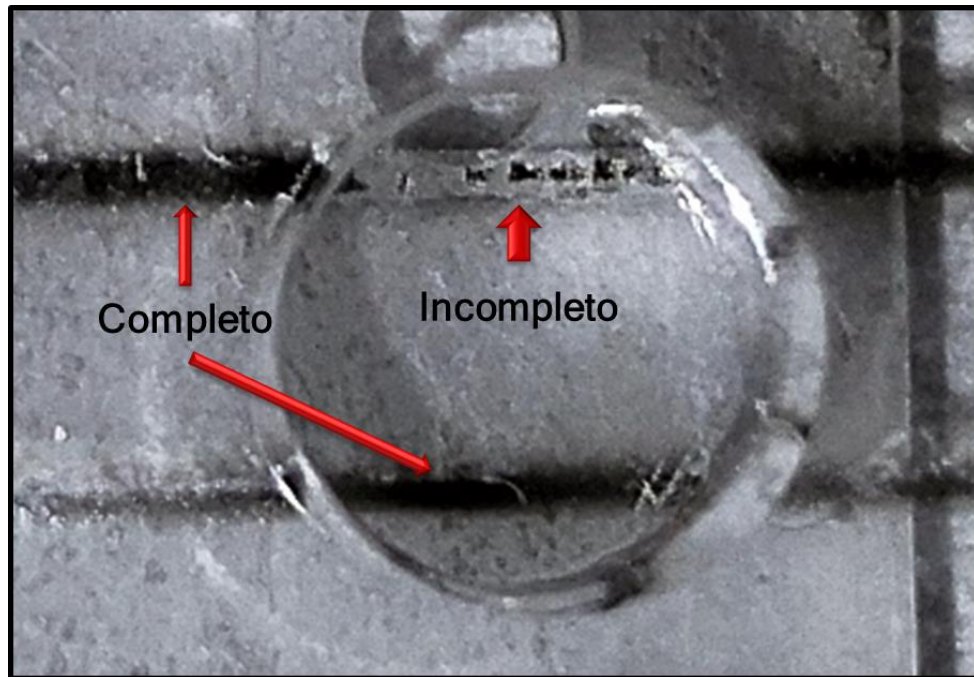


Figura 68. Fotografía de la celda electroquímica mostrando el desprendimiento del electrodo de trabajo.

Por otra parte, los productos generados durante el desarrollo del presente proyecto se encuentran en el ANEXO II

VII. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

Si bien no se presentaron diferencias significativas entre los contenidos totales de antocianinas monoméricas y polifenoles en los vinos, la caracterización química mediante métodos cromatográficos permitió la determinación del perfil de compuestos volátiles y no volátiles de las muestras evaluadas; encontrando que algunos de los compuestos identificados pueden influir en los atributos de calidad del vino. La caracterización química de los vinos evaluados permitió la identificación de ácido gálico, miricetina-3-O-glucosido, isorhametina-3-O-glucosido, ácido fertárico, trans y cis- resveratrol como potenciales compuestos marcadores de vino.

Aun cuando se requiere el análisis de cosechas sucesivas, los resultados de compuestos fenólicos sugieren que la composición química y el contenido podrían proveer información sobre la variedad de uva, el origen geográfico y las prácticas enológicas de los vinos evaluados.

El análisis estadístico confirmó la relación existente entre la composición total de antocianinas monoméricas y polifenoles de los vinos evaluados con respecto a la capacidad antioxidante exhibida mediante los métodos de ABTS y DPPH.

Se implementó un método multiparamétrico para la Voltamperometría Diferencial de Pulso (VDP) empleando electrodos serigrafiados (SPE) con electrodos de carbón, permitiendo la cuantificación de tres familias polifenólicas (Flavonoles, elagitaninos y antocianinas). El contenido de flavan-3-oles disminuye significativamente entre los vinos jóvenes y crianza de la variedad Tempranillo en concordancia con el incremento del contenido de elagitaninos determinado mediante (VDP). La Voltamperometría Diferencial de Pulso no sólo proporciona información sobre la capacidad antioxidante, sino también, permite la cuantificación del contenido total de fenoles/flavonoles, elagitaninos y antocianinas presentes en el vino de manera económica, rápida y confiable.

El vino de crianza variedad Tempranillo se caracterizó por un alto contenido de polifenoles totales y antocianinas tanto por el método espectrofotométrico y el electroquímico. A pesar de que no se encontraron diferencias estadísticas entre la actividad antioxidante de las muestras evaluadas por ABTS y DPPH, el enfoque electroquímico permitió encontrar diferencias con respecto a este potencial.

El método convencional UPLC-MS es, sin duda, una herramienta para determinar el perfil metabolómico de las muestras de vino. Sin embargo, el enfoque electroquímico puede proveer información rápida y confiable en cuanto el contenido de las familias de metabolitos secundarios más representativos que pudiese ayudar mucho a la industria vitivinícola sin la necesidad de un equipo tan costoso como lo es el UPLC-MS.

La evaluación de diversos prototipos de microsistema ha permitido seleccionar las dimensiones adecuadas para mejorar el diseño y con ello lograr la generación de flujo electroosmótico. Los análisis en celda convencional empleando electrodos convencionales de carbón y platino, así como la puntilla de microcarbón y el hilo de platino, mostraron que de emplearse las puntillas como electrodos removibles deberá emplearse puntilla por análisis debido a la pasivación de la superficie. Una mejor opción es emplear el hilo de platino y realizar 100 ciclos de limpieza con KCl mediante VC para recuperar la detección. La configuración con hilo de platino como electrodo de trabajo, hilo de Ag como referencia y la puntilla de μ carbón como auxiliar es una alternativa de electrodos móviles factible.

Un punto a mejorar en el diseño, es el tamaño del reservorio B (celda) de manera que los electrodos puedan colocarse hasta el fondo del pocillo y se disminuya el volumen de solución amortiguadora requerida para la generación de flujo electroosmótico. Lo anterior también incrementará la posibilidad de detectar las pequeñas cantidades mediante una inyección. El microsistema con electrodos fijos de platino presenta mejor desempeño para la detección, sin embargo, para

los tiempos del proyecto, no fue posible realizar todas las evaluaciones requeridas. Lo anterior da pauta a continuar con las evaluaciones en proyectos posteriores.

Como alternativa para la diferenciación de vinos, la formación de AuNPs nos permitió observar una tendencia en los vinos de crianza para formar nanopartículas más pequeñas con relativa estabilidad debido posiblemente a la presencia de flavonoles y elagitaninos con potencial antioxidante.

El análisis de muestras de vino mexicano que se encuentra comercialmente disponible es valioso, ya que representa lo que está al alcance de los consumidores.

Actualmente el laboratorio nacional de micro y nanofluídica se encuentra desarrollando, en impresión 3D, un porta-microchip con todo el sistema electrónico incluido. Lo anterior hará más práctico el sistema y permitirá evaluar la detección con electrodos fijos. Otras alternativas para la detección son las modificaciones de superficie de los electrodos, campo en el que se podrían emplear las AuNPs producidas por los vinos evaluados. Las AuNPs permiten incrementar el área de superficie, la capacidad conductora del material, mejorar el transporte de masa y carga. Aunado a lo anterior, pueden ser aplicadas para la detección selectiva de analitos gracias a su capacidad de funcionalización y conjugación con varias biomoléculas o ligandos, mejorando enormemente la detección, conduciendo al desarrollo de sensores simples, económicos y rápidos para el análisis de alimentos. Por otra parte, debido a sus características terapéuticas y antibacteriales, aunado a su naturaleza inerte y no toxica, las AuNPs pueden ser empleadas para la preservación y seguimiento de la calidad de los alimentos mediante la elaboración de nanoempaques o empaques inteligentes.

Para lo anterior, se requieren trabajos posteriores de tal manera que se mejore la producción de AuNPs modificando las concentraciones de los vinos, así como para su total caracterización empleando metodologías como la microscopia electrónica de transmisión (TEM, por sus siglas en inglés).

VIII. REFERENCIAS

- Aceto, M., Robotti, E., Oddone, M., Baldizzone, M., Bonifacino, G., Bezzo, G., Di Stefano, R., Gosetti, F., Mazzucco, E., Manfredi, M., Marengo, E. (2013). A traceability study on the Moscato wine chain. *Food Chem.* 138:1914–1922.
- Acunha T., Ibáñez C., García-Cañas V., Simó C., Cifuentes A. (2015). Recent advances in the application of capillary electromigration method for food analysis and Foodomics. *Electrophoresis.* 00:1-31
- Acuña-Avila, P. E., Vázquez-Murrieta, M. S., Franco, H. M. O., López-Cortéz, M. S. (2016). Relationship between the elemental composition of grapeyards and bioactive compounds in the Cabernet Sauvignon grapes *Vitis vinifera* harvested in México. *Food Chem.* 203:79-85.
- Agüí L., Yáñez-Sedeño P., Pingarrón J. M. (2008). Role of carbon nanotubes in electroanalytical chemistry: a review. *Anal. Chim. Acta.* 622:11-47.
- Alberts, P., Stander, M. A., Villiers A. (2012). Advanced ultra high pressure liquid chromatography–tandem mass spectrometric methods for the screening of red wine anthocyanins and derived pigments. *J. Chromatogr. A.* 1235:92-102.
- Ali, K., Maltese, F., Choi Y. H., Verpoorte, R. (2010). Metabolic constituents of grapevine and grape-derived products. *Phytochem Rev.* 9:357-378.
- Arévalo, G. (2018). The tourist wine route in Querétaro and Baja California, Mexico: A strategic approach. *Revista Interamericana de Ambiente y Turismo.* 14(2), 122-134.
- AVQ (2023). Cluster vitivinícola en México. Asociación de Viticultores de Querétaro. <https://avq.com.mx/>
- Bouby, L., Figueiral, I., Bouchette, A., Rovira, N., Ivorra, S., Lacombe, T., Pastor, T., Picq, S., Marínval, .P, Terral, J. F. (2013). Bioarchaeological Insights into

- the Process of Domestication of Grapevine (*Vitis vinifera* L.) during Roman Times in Southern France. *PLoS One*. 8(5):e63195(1-13).
- Bronzi, B., Brilli, C., Beone, G. M., Fontanella, M. C., Ballabio, D., Todeschini, R., Consonni, V., Grisoni, F., Parri, F., Buscema, M. (2020). Geographical identification of Chianti red wine based on ICP-MS element composition. *Food Chem*. 315:126248.
- Canizo, B. V., Escudero, L. B., Pellerano, R. G., Wuillouda, R. G. (2019). Quality Monitoring and Authenticity Assessment of Wines: Analytical and Chemometric Methods. In: *Quality Control in the Beverage Industry. The science of Beverage*. 162:514–522.
- Castaldo, L., Narváez, A., Izzo, L., Graziani, G., Gaspari, A., Di Minno, G., Ritieni, A. (2019). Red Wine Consumption and Cardiovascular Health. *Molecules*. 24(19):3626
- Castañeda Moreno, R. (2011). *Nuevas estrategias analíticas basadas en micro y nanotecnología para la determinación de compuestos fenólicos y su capacidad antioxidante en extractos naturales*. (Tesis).
- Castañeda, R., Vilela, D., González, M. C., Mendoza, S., Escarpa, A. (2013). SU-8/Pyrex microchip electrophoresis with integrated electrochemical detection for class-selection electrochemical index determination of phenolic compounds in complex samples. *Electrophoresis*. 34:2129-2135.
- Castro-Palafox, J., Macías-Gallardo, F., & Ozuna, C. (2023). The culture of wine in Mexican gastronomy: Historical background, current context, and perspectives for the future. *Int. J. Gastron. Food Sci*. 100848.
- Cheynier, V., Schneider, R., Salmon, J. M., Fulcrand, H. (2010). Comprehensive Natural Products II: Chemistry and Biology. *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*. 3:1119-1172.

- Chisholm, M. G., Samuels, J. M. (1992). Determination of the impact of the Metabolites of Sorbic Acid on the Odor of a Spoiled Red Wine. *J. Agric. Food Chem.* 40:630-633.
- CMV. (2018a). Consejo Mexicano Vitivinícola. Producción de vino en México 2018. http://uvayvino.org.mx/html/docs/produccion_consumo_vino.pdf
- CMV. (2018b). Comité Nacional del Sistema Producto Uva. Plan rector 2018. https://uvayvino.org.mx/docs/plan_rector_2018.pdf
- CMV. (2020). Curso práctico del vino. Viticultura y enología. Consejo Mexicano Vitivinícola.
- CMV. (2023). Vocaciones. Consejo Mexicano Vitivinícola. <https://uvayvino.org.mx/>
- Corso, M., Perreau, F., Mouille, G., Lepiniec, L. (2020). Specialized phenolic compounds in seeds: structures, functions, and regulations.
- Cosío, S. (2020). Texto video Historia del Vino en México. Curso práctico del vino. Consejo Vitivinícola Mexicano. <http://mfiles.iica.int/CTL/Curso-VINO/Semana%201/videoHistoriaVinoMexico.pdf>
- Crevillen G. A., Pumera M., González M. C., Escarpa A. 2009. Towards lab-on-a-chip approaches in real analytical domains based on microfluidic chips/electrochemical multi-walled carbon nanotube platforms. *Lab Chip.* 9:346-353.
- Costa, N. L., García, L. A., Alves, I., Barbosa, R. (2019). Using Support Vector Machines and neural networks to classify Merlot wines from South America. *Information processing in agriculture.* 6:265–278.
- Croce, R., Malegori, C., Oliveri, P., Medici, I., Cavaglioni, A., Rossi, C. (2020). Prediction of quality parameters in straw wine by means of FT-IR

- spectroscopy combined with multivariate data processing. *Food Chem.* 305:125512.
- de la Cruz-de Aquino, M. A., Martínez-Peniche, R. A., Becerril-Román, A. E., Chávaro-Ortiz, M. del S. (2012). Physical and chemical characterization of red wines produced in Querétaro. *Rev. Fitotec. Mex.* 35(5):61-67.
- de Lima, A. A., Sussichi, E. M., De Giovani, W. F. (2007). Electrochemical and Antioxidant Properties of Anthocyanins and Anthocyanidins. *Croat. Chem. Acta.* 80(1):29-34.
- del Valle, M. (2017). Materials for Electronic Tongues: Smart Sensor Combining Different Materials and Chemometric Tools. In: Cesar Paixão T., Reddy S. (eds) *Materials for Chemical Sensing*. Springer, Cham. 9:227-265.
- Delgado de la Torre, M. P., Priego-Capote, F., Luque de Castro, M. D. (2015). Tentative identification of polar and mid-polar compounds in extracts from wine lees by liquid chromatography-tandem mass spectrometry in high-resolution mode. *J. Mass Spectrom.* 50:826–837.
- Dhroso, A., Laschi, S., Marrazza, G., Mascini, M. (2010). A fast electrochemical technique for characterization of phenolic content in wine. *Anal. Lett.* 43:1190-1198.
- Diaz-Lara, A., Aguilar-Molina, V. H., Monjarás-Barrera, J. I., Vončina, D., Erickson, T. M., & Al Rwahnih, M. (2023). Potential implications and management of Grapevine Viruses in Mexico: A review. *International Journal of Plant Biology.* 14(1):177-189.
- Di Paola-Naranjo, R. D., Baroni, M. V., Podio, N. S., Rubinstein, H. R., Fabani, M. P., Bandini, R. G., Inga, M., Ostera, H. A., Cagnoni, M., Gallegos, E., Gautier, E., Peral-García, P., Hoogewerff, J., Wunderlin, D. A. (2011). Fingerprints of Main Varieties of Argentinean Wines. Terroir Differentiation

- by Inorganic, Organic, and Stable Isotopic Analyses Coupled to Chemometrics. *J. Agric. Food Chem.* 59:7854–7865.
- Dzimitrowicz, A., Jamroz, P., Gil, W., Bojszczak, W., Motyka, A., Pogoda, D., & Pohl, P. (2018). Fermented juices as reducing and capping agents for the biosynthesis of size-defined spherical gold nanoparticles. *Journal of Saudi Chemical Society.* 22(7):767-776.
- Escarpa A. (2014). Lights and shadows on food microfluidics. *Lab Chip.* 14:3213-3224.
- Falleh, H., Oueslati, S., Guyot, S., Dali, A. B., Magné, C., Abdelly, C., Ksouri, R. (2011). LC/ESI-MS/MS characterization of procyanidins and propelargonidins responsible for the strong antioxidant activity of the edible halophyte *Mesembryanthemum edule* L. *Food Chem.* 4:1732-1738.
- Fanzone, M., Peña-Neira, A., Gil, M., Jofré, V., Assof, M., Zamora, F. (2012). Impact of phenolic and polysaccharidic composition on commercial value of Argentinean Malbec and Cabernet Sauvignon wines. *Food Res. Int.* 45:402–414.
- Ferey L., Delaunay N. (2016). Food Analysis on Electrophoretic Microchips. *Sep. Purif. Rev. Reviews.* 45:193-226.
- Flamini, R. (2013). Recent Application of Mass Spectrometry in the Study of Grape and Wine Polyphenols. *ISRN Spectroscopy.* 813563.
- Franco-Bañuelos, A., Contreras-Martínez, C. S., Carranza-Téllez, J., Carranza-Concha, J. (2017). Total Phenolic Content and Antioxidant Capacity of nonative Wine Grapes Grown in Zacatecas, Mexico. *Agrociencia.* 51:661-671.
- Gao, Y., Yu, X., Wang, B., Yin, G., Wang, J., Wang, T., Bi, K. (2021). Based on Multi-Activity Integrated Strategy to Screening, Characterization and

Quantification of Bioactive Compounds from Red Wine. *Molecules*. 26(21):6750.

García M., Batalla P., Escarpa A. (2014). Metallic and polymeric nanowires for electrochemical sensin and biosensing. *TraAc Trends Anal. Chem.* 57:6-22.

Garcia-Hernandez, C., Salvo-Comino, C., Martin-Pedrosa, F., Garcia-Cabezon, C., Rodriguez-Mendez, M. L. (2020). Analysis of red wines using an electronic tongue and infrared spectroscopy Correlations with phenolic content and color parameters. *Food Sci. Technol.* 118:108785.

Garrido, J., Borges, F. (2013). Wine and grape polyphenols - A chemical perspective. *Food Res. Int.* 54:1844–1858.

Garuso, I., Nardini, M. (2015). Polyphenols content, phenolics profile and antioxidant activity of organic red wines produced without sulfurdioxide/sulfites addition in comparison to conventional red wines. *Food Chem.* 179:336-342.

Geana, E. I., Popescu, R., Costinel, D., Dinca, O. R., Ionete, R. E., Stefanescu, I., Artem, V., Bala, C. (2016). Classification of red wines using suitable markers coupled with multivariate statistic analysis. *Food Chem.* 192:1015-1024.

Gomez-Cano, L., Gomez-Cano, F., Dillon, F. M., Alers-Velazquez, R., Doseff, A. I., Grotewold, E., Gray, J. (2020). Discovery of modules involved on the biosynthesis and regulation of maize phenolic compounds. *Plant Sci.* 291:110364.

González-Ballesteros, N., Rodríguez-González, J. B., & Rodríguez-Argüelles, M. (2018). Harnessing the wine dregs: An approach towards a more sustainable synthesis of gold and silver nanoparticles. *J Photochem Photobiol B.* 178:302-309.

- Granato, D., Katayama, F. C. U., Alves de Castro, I. (2011). Phenolic composition of South American red wines classified according to their antioxidant activity, retail price and sensory quality. *Food Chem.* 129:366-373.
- Gubitosa, J., Rizzi, V., Laurenzana, A., Scavone, F., Frediani, E., Fibbi, G., & Cosma, P. (2022). The “end life” of the grape pomace waste become the new beginning: The development of a virtuous cycle for the green synthesis of gold nanoparticles and removal of emerging contaminants from water. *Antioxidants.* 11(5): 994.
- Guerrero, R. F., Valls-Fonayet, J., Richard, T., Cantos-Villar, E. (2020). A rapid quantification of stilbene content in wine by ultra-high pressure liquid chromatography-Mass spectrometry. *Food control.* 108:106821.
- Guiberteau-Cabanillas, A., Godoy-Cancho, B., Bernalte, E., Tena-Villares, M., Guiberteau Cabanillas, C., & Martínez-Cañas, M. A. (2015). Electroanalytical Behavior of Gallic and Ellagic Acid Using Graphene Modified Screen-Printed Electrodes. Method for the Determination of Total Low Oxidation Potential Phenolic Compounds Content in Cork Boiling Waters. *Electroanalysis.* 27(1): 177-184.
- Gutiérrez-Escobar, R., Aliaño-González, M. J., Cantos-Villar, E. (2021). Wine Polyphenols Content and Its Influence on Wine Quality and Properties: A Review. *Molecules.* 26(3):718.
- Hermosín-Gutiérrez, I., Castillo-Muñoz, N., Gómez-Alonso, S., García-Romero, E. Flavonol Profiles for Grape and Wine Authentication. (2011). En: *Progress in Authentication of Food and Wine*. Ebeler, E. S., Takeoka, R. G., Winterhalter, P., Eds. American Chemical Society: Washington, DC. 1081, pp. 113-129.
- Herrero-Latorre, C., Barciela-García, J., García-Martín, S., Peña-Creciente, R. M. (2019). Detection and quantification of adulterations in aged wine using

RGB digital images combined with multivariate chemometric techniques. *Food Chem.* X3:100046.

Hjelmeland, A. K., King, E. S., Ebeler, S. E., Heymann, H. (2013). Volatile Profiling of U.S. Cabernet Sauvignon Wines Using HS-SPME and the Agilent 5975 Series GC/MSD System: Relating the Chemical Profile to Sensory Properties. Nota de aplicación Agilent technologies: Departament of Viticulture & Enology, University of California, Davis, CA.

Hosu, A., Vasile-Mircea, C., Cimpoiu, C. (2014). Analysis of total phenolic, flavonoids, anthocyanins and tannins content in Romanian red wines: Prediction of antioxidant activities and classification of wines using artificial neural networks. *Food Chem.* 150:113-118.

Jackson, R. S., (2020). *Wine science*. Fifth edition. *Principles and Applications. Food science and technology*. Academic Press.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128161180010011>

Joshi, T., Deepa, P.R., Sharma, P.K. (2022). Effect of Different Proportions of Phenolics on Antioxidant Potential: Pointers for Bioactive Synergy/Antagonism in Foods and Nutraceuticals. *Proc. Natl. Acad. Sci., India, Sect. B Biol. Sci.* <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.144>

Kherif, F., & Latypova, A. (2020). Principal component analysis. In *Machine learning* (pp. 209-225). Academic Press.

Kilmartin, P. A. (2016). Electrochemistry applied to the analysis of wine: A mini review. *Electrochem commun.* 67:39-42.

Kim G., Lim J., Mo C. (2016). Applications of Microfluidics in the Agro-Food Sector: A Review. *J. of Biosystems Eng.* 42:116-125.

Kolniak-Ostek, J., Oszmiański, J. (2015). Characterization of phenolic compounds in different anatomical pear (*Pyrus communis* L.) parts by ultra-performance

- liquid chromatography photodiode detector-quadrupole/time of flight-mass spectrometry (UPLC-PDA-Q/TOF-MS). *J. Mass Spectrom.* 392:154-163.
- Kovachev N., Canals A., Escarpa A. (2010). Fast and Selective Microfluidic Chips for Electrochemical Antioxidant Sensing in Complex Samples. *Anal. Chem.* 82:2925-2931.
- Kumar, S., Singh, A., Kumar, B. (2017). Identification and characterization of phenolics and terpenoids from ethanolic extracts of *Phyllanthus* species by HPLC-ESI-QTOF-MS/MS. *J. Pharm. Anal.* 7:214-222.
- Laitila, J. E., Suvanto, J., Salminen, J-P. (2019). Liquid chromatography–tandem mass spectrometry reveals detailed chromatographic fingerprints of anthocyanins and anthocyanin adducts in red wine. *Food Chem.* 294:138–151.
- Lanzellotto, C., Favero, G., Antonelli, M. L., Tortolini, C., Cannistraro, S., Coppari, E., Mazzei, F. (2014). Nonstructured enzymatic biosensor based on fullerene and gold nanoparticles: Preparation, characterization and analytical applications. *Biosens Bioelectron.* 55:430-437.
- Liang, NN., Pan QH., He, F., Wang, J., Reeves, M. J., Duan, CQ. (2013). Phenolic Profiles of *Vitis davidii* and *Vitis quinquangularis* Species Native to China. *J. Agric. Food Chem.* 61(25):6016-6027.
- Lingua, M. S., Fabani, M. P., Wunderlin, D. A., Baroni, M. V. (2016). From Grape to Wine: Changes in Phenolic Composition and its Influence on Antioxidant Activity. *Food Chem.* 208:228-238.
- López, B. E. De bodegas y viñedos. (2016). Publicación de la Secretaría de Medio Ambiente. Bordeando el Monte. Núm. 40. Junio 2016. https://www.sema.gob.mx/descargas/manuales/Bordeando_40.pdf

- Lukić, I., Radeka, S., udić-Leto. I., Bubola, M., Vrhovsek, U. (2019). Targeted UPLC-QqQ-MS/MS profiling of phenolic compounds for differentiation of monovarietal wines and corroboration of particular varietal typicity concepts. *Food Chem.* 300:125251.
- Masár, M., Poliaková, K., Danková, M., Kaniansky, D., Stanislawski, B. (2005). Determination of organic acids in wine by zone electrophoresis on a chip with conductivity detection. *J. Sep. Sci.* 28:905-914.
- Mato, I., Suárez-Luque, S., Huidobro, J. F. (2005). A review of the analytical methods to determine organic acids in grape juices and wines. *Food Res. Int.* 38:1175-1188.
- Medina-Plaza, C., García-Hernández, C., de Saja, J. A., Fernández-Escudero, J. A., Barajas, E., Medrano, G., García-Cabezón, C., Martin-Pedrosa, F., Rodriguez-Mendez, M. L. (2015). The advantages of disposable screen-printed biosensors in a bioelectronic tongue for the analysis of grapes. *Food Sci. Technol.* 62:940-947.
- Medvidović-Kosanović, M., Šeruga, M., Jakobek, L., Novak, I. (2010). Electrochemical and Antioxidant Properties of (+)-Catechin, Quercetin and Rutin. *Croat. Chem. Acta.* 83(2):197-207.
- Milovanovic, M., Žeravík, J., Obořil, M., Pelcová, M., Lacina, K., Cakar, U., Petrovic, A., Glatz, Z., Skládal, P. (2019). A novel method for classification of wine based on organic acids. *Food Chem.* 284:296-302.
- Miranda-Castilleja, D. E., Ortiz-Barrera, E., Arvizu-Medrano, S. M., Ramiro-Pacheco, J., Aldrete-Tápia, J. A., Martinez-Peniche, R. Á. (2015). Aislamiento, Selección e Identificación de levaduras *Saccharomyces spp.* Nativas de Viñedos en Querétaro, México. *Agrociencia.* 49:759-773.

- Molina-Quijada, D. M. A., Medina-Juárez, L. A., González-Agilar, G. A., Robles-Sánchez, R. M., Gámez-Meza, M. (2010). Compuestos fenólicos y actividad antioxidante de cáscara de uva (*Vitis vinifera* L.) de mesa cultivada en el noroeste de México. Phenolic compounds and antioxidant activity of table grape (*Vitis vinifera* L.) skin from northwest Mexico. *CyTA-J. of Food*. 8:57–63.
- Molinero-Abad, B., Alonso-Lomillo, A. M., Domínguez-Redondo, O., Arcos-Martínez, M. J. (2015). Simultaneous amperometric determination of malic and gluconic acids in wine using screen-printed carbon electrodes. *Sens. Actuators B Chem*. 211:250-254.
- Monteiro de Lima, C., Sousa, F. D. D., Elias, P. G., de Araújo, G. A., Ugulino, M. C., Dias, D. P. H. G. (2020). Digital image-based tracing of geographic origin, winemarker, and grape type for red wine authentication. *Food Chem*. 312:126060.
- Mubarak, A. D., Thajunddin N., Jeganathan K., Gunasekaran M. 2011. Plant Extract Mediated Synthesis of Silver and Gold Nanoparticles and its Antibacterial Activity against Clinically Isolated Pathogens. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 85:360-365.
- Nan, L., Guo, M., Chen, S., Li, Y., Cui, C., Song, Y., Huang, J., Chen, G. (2019). Effect of Peduncle on Aroma of Cabernet Sauvignon Dry Red Wine. *AIP Conf. Proc*. 2079:020008.
- Nava, D. (2004). Historia de los vinos mexicanos. Gestipolis. <https://www.gestipolis.com/historia-de-los-vinos-mexicanos/>
- Nemser, B., Kalita, D., Yashin, A. Y., Yashin, Y. I. (2022). Chemical Composition and Polyphenolic Compounds of Red Wines: Their Antioxidant Activities and Effects on Human Health-A Review. *Beverage*. 8:1.

- Newair, E. F., Kilmartin, P. A., Garcia, F. (2017). Square wave voltammetric analysis of polyphenols content and antioxidant capacity of red wines using glassy carbon and disposable carbon nanotubes modified screen-printed electrodes. *Eur. Food Res. Technol.* DOI: 10.1007/s00217-018-3038-z
- Nikovaev A. V., Kartsova L.A., Filimonov V. V. (2015). A Microfluidic Chip for the Determination of Polyphenolic Antioxidants. *J. of Analytical Chem.* 70:983-988.
- OIV-MA-AS2-10 method. (2013). Compendium of international methods of wine and must analysis. Pp 117.
- OIV. (2019). State of the vitiviniculture world market. <http://www.oiv.int/public/medias/6779/state-of-the-viticulture-world-market-oiv-2019-congress-pr.pdf>
- OIV. (2020a). Conferencia de prensa. Situación actual del sector vitivinícola a nivel mundial en 2019. <http://www.oiv.int/es/actualidad-de-la-oiv/situacion-actual-del-sector-vitivinicola-a-nivel-mundial>
- OIV. (2020b). Producción en vino 2020. Primeras estimaciones. <https://www.oiv.int/js/lib/pdfjs/web/viewer.html?file=/public/medias/7536/es-producci-n-de-vino-primeras-estimaciones-oiv-2020.pdf>
- Panighel, A., Flamini, R. (2014). Applications of Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography/Mass Spectrometry (SPME-GC/MS) in the Study of Grape and Wine Volatile Compounds. *Molecules.* 19:21291-21309.
- Parejo, I., Jauregui, O., Sánchez-Rabaneda, F., Viladomat, F., Bastida, J., Codina, C. (2004). Separation and Characterization of Phenolic Compounds in Fennel (*Foeniculum vulgare*) Using Liquid Chromatography-Negative Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 52:3679-3687.

- Pascale, R., Acquavia, M. A., Cataldi, T. R. I., Onzo, A., Coviello, D., Bufo, S. A., Scrano, L., Ciriello, R., Guerrieri, A., Bianco, G. (2020). Profiling of quercetin glycosides and acyl glycosides in sun-dried peperoni di Senise peppers (*Capsicum annuum* L.) by a combination of LC-ESI (-)-MS/MS and polarity prediction in reverse-phase separations. *Anal. Bioanal. Chem.* 12:3005-3015.
- Pasvanka, K., Tzachristas, A., Proestos, C. (2019) Quality Tools in Wine Traceability and Authenticity. *Quality Control in the Beverage Industry*. Pp. 289-334.
- Pereira, L., Gome, S., Castro, C., Eiras-Dias, J. E., Brazão, J., Graça, A., Fernandez, J. R., Martins-Lopes, P. (2017). High Resolution Melting (HRM) applied to wine authenticity. *Food Chem.* 216:80-86.
- Pizarro, C., Pérez-del-Notario, N., González-Sáiz, J. M. (2007). Determination of Brett character responsible compounds in wines by using multiple headspace solid-phase micro extraction. *J. Chromatogr. A.* 1143:176-181.
- Raposo, R., Chinnici, F., Ruiz-Moreno, M. J., Puertas, B., Cuevas, F. J., Carbú, M., Guerrero, R. F., Ortíz-Somovilla, V., Moreno-Rojas, J. M., Cantos-Villar, E. (2018). Sulfur free red wines through the use of grapevine shoots: Impact on the wine quality. *Food Chem.* 243:453-460.
- Rasines-Perea, Z., Jacquet, R., Jourdes, M., Quideau, S., Teissedre, P-L. (2019). Ellagitannins and Flavano-Ellagitannins: Red Wines Tendency in Different Areas, Barrel Origin and Ageing Time in Barrel and Bottle. *Biomolecules.* 9(8):316.
- Rentzsch, M.; Wilkens, A.; Winterhalter, P. Non-flavonoid Phenolic Compounds. En: *Wine Chemistry and Biochemistry*. Moreno-Arribas M. V., Polo, M. C., Eds. Springer Science+Business Media: New York, NY, 2009, pp. 509-527.

- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., Dubourdieu, D. (2006). Handbook of Enology Volume II. The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments. Inglaterra, John Wiley & Sons Ltd.
- Rodriguez, S., De Lamo, B., García-Hernández, C., García-Cabezón, C., & Rodríguez-Méndez, M. L. (2018). Novel Method for the Identification of the Variety of Grape Using Their Capability to Form Gold Nanoparticles. *Beverages*. 4(2): 26.
- Rodríguez-Cabo, T., Rodríguez, I., López, P., Ramil, M., Cela, R. (2014). Investigation of liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry performance for identification and determination of hydroxylated stilbenes antioxidants in wine. *J. Chromatogr. A*. 1337:162-170.
- SAGARPA (2016). Se reincorporará México a la Organización Internacional de la viña y el vino. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. <https://www.gob.mx/agricultura/prensa/se-reincorpora-mexico-a-la-organizacion-internacional-de-la-vina-y-el-vino>
- SAGARPA. (2023). Industria de la viña y el vino, motor de crecimiento y empleo para 15 entidades del país: Agricultura. Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural. Comunicado. <https://www.gob.mx/agricultura/prensa/industria-de-la-vina-y-vino-motor-de-crecimiento-y-empleo-para-15-entidades-del-pais-agricultura?idiom=es>
- Sangwan, S., & Seth, R. (2021). Synthesis, characterization and stability of gold nanoparticles (AuNPs) in different buffer systems. *J. Clust. Sci.* 33:749–764.
- SECTUR. (2018). SECTUR y SAGARPA participarán en el “Tercer Festival de Vino Mexicano Tinto MX”, Edición Otoño.

<https://www.gob.mx/sector/prensa/sector-y-sagarpa-participaran-en-tercer-festival-de-vino-mexicano-tinto-mx-edicion-otono>

SIAP. (2019), *Panorama agroalimentario 2019*, Ciudad de México, México: Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. <https://federacion-anech.org/2019/11/14/atlas-agroalimentario-2019/>

SIAP. (2020), *Panorama agroalimentario 2020*, Ciudad de México, México: Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. <https://www.inforural.com.mx/wp-content/uploads/2020/11/Atlas-Agroalimentario-2020.pdf>

SIAP. (2022). Producción de uva en México 2022. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/771603/Produccion_Uva_en_Mexico.pdf

Sierra T., Crevillen A. G., Escarpa A. (2017). Derivatization reagents for electrochemical detection in amino acid, peptide and protein separation: The hidden electrochemistry?. *Electrophoresis*. 38:2695-2703.

Sierra T., Crevillen A. G., Escarpa A. (2019). Electrochemical detection based on nanomaterials in CE and microfluidic. *Electrophoresis*. 40:113-123.

Singleton, V. L., Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* (16), 144-158.

Slegers, A., Angers, P., Ouellet, É., Truchon, T., Pedneault, K. (2015). Volatile Compounds from Grape Skin, Juice and Wine from Five Interspecific Hybrid Grape Cultivars Grown in Québec (Canada) for Wine Production. *Molecules*. 20:10980-11016.

- Stozhko, N. Y., Bukharinova, M. A., Khamzina, E. I., Tarasov, A. V., Vidrevich, M. B., & Brainina, K. Z. (2019). The effect of the antioxidant activity of plant extracts on the properties of gold nanoparticles. *Nanomaterials*. 9(12):1655.
- Sun, J., Liang, F., Bin, Y., Li, P., Duan, C. (2007). Screening Non-colored Phenolics in Red Wines using Liquid Chromatography/Ultraviolet and Mass Spectrometry/Mass Spectrometry Libraries. *Molecules*. 12(3):679-693.
- Teixeira, N., Mateus, N., de Freitas, V., Oliveira, J. (2018). Wine industry by-product: Full polyphenolic characterization of grape stalks. *Food Chem*. 268:110-117.
- Terral, J. F., Tabard, E., Bouby, L., Ivorra, S., Pastor, T., Figueiral, I., Picq, S., Chevance, J. B., Jung, C., Fabre, L., Tardy, C., Compan, M., Bacilieri, R., Lacombe, T., & This, P. (2010). Evolution and history of grapevine (*Vitis vinifera*) under domestication: new morphometric perspectives to understand seed domestication syndrome and reveal origins of ancient European cultivars. *Ann. Bot.* 105(3), 443–455.
- This, P., Lacombe, T., Thomas, M. (2006). Historical origins and genetic diversity of wine grapes. *Trends Genet.* 22(9):511-519.
- Tohge, T., Yonekura-Sakakibara, K., Niida, R., Watanabe-Takahashi, A. & Saito, K. (2007). Phytochemical genomics in *Arabidopsis thaliana*: A case study for functional identification of flavonoid biosynthesis genes. *Pure Appl. Chem.* 79(4): 811-823.
- Tułodziecka, A., & Szydłowska-Czerniak, A. (2016). Development of a novel gold nanoparticle-based method to determine antioxidant capacity of Brassica oilseeds, white flakes and meal. *Food Chem*. 208: 142–149.
- Usman, A. I., Abdul Aziz, A., Abu Noqta, O. (2018). Application of green synthesis of gold nanoparticles: A review. *Jurnal Teknologi*, 81(1) 171-182.

- Vilela, D., Castañeda, R., González, M.C., Mendoza, S., Escarpa, A. (2014). Fast and reliable determination of antioxidant capacity based on the formation of gold nanoparticles. *Microchimica Acta*. 182: 105-111.
- Valentin, L., Barroso, L. P., Barbosa, R. M., de Paulo, G. A., Castro, I. A. (2020). Chemical typicality of South American red wines classified according to their volatile and phenolic compounds using multivariate analysis. *Food Chem.* 302:125340.
- Verhoeven D., Assen N., Goldbohm R. A., Dorant E., Vantveer p., Hermus R. J. J., Vandenbrandt P. A. (1997). Vitamins C and E, retinol, beta-carotene and dietary fibre in relation to breast cancer risk: a prospective cohort study. *Br. J. Cancer*. 75:149-155.
- Versari, A., Lauri, F. V., Ricci, A., Laghi, L., Parpinello, G. P. (2014). Progress in authentication, typification and traceability of grapes and wine by chemometric approaches. *Food Res Int.* 60:2-18.
- Visioli, F., Panaite, S.A., Tomé-Carneiro, J. (2020). Wine's Phenolic Compounds and Health: A Pythagorean View. *Molecules*. 25(18):4105.
- Wang J., Scampicchio M., Blasco A. J., Arribas A. S., Mannino S., Escarpa A. (2006). Nanoparticle-Based Assays of Antioxidant Activity. *Anal. Chem.* 78:2060-2063.
- Wang, W., Ding, X., Xu, Q., Wang, J., Wang, L., & Lou, X. (2016). Zeta-potential data reliability of gold nanoparticle biomolecular conjugates and its application in sensitive quantification of surface absorbed protein. *Colloids Surf. B Biointerfaces*, 148:541-548.
- Wattenberg L. W. (1983). Inhibition of neoplasia by minor dietary constituents, *Cancer Res.*, 52:2448s-2453s.

- Willemse, C. M., Stander, M. A., Vestner, J., Tredoux, A. G. J., de Villiers, A. J. (2015). Comprehensive two-dimensional HILICxRP-LC-UV-MS analysis of anthocyanins and derived pigments in red wine. *Anal. Chem.* 87(24):12006-12015.
- Witkowska, N. E., (2016) Electronic Tongue Systems for the Analysis of Beverages. In: Analysis of Samples of Clinical and Alimentary Interest with Paper-based Devices. Springer Theses (Recognizing Outstanding Ph.D. Research). Springer, Cham. 3:109-182.
- Wojdyło, A., Samoticha, J., Nowicka, P., Chmielewska, J. (2018). Characterisation of (poly) phenolic constituents of two interspecific red hybrids of Rondo and Regent (*Vitis vinifera*) by LC-PDA-ESI-MS QTof. *Food Chem.* 239:94-101.
- Wrolstad, R. E.; Giusti, M. M. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. In *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons, 2001, (F1.2.1-F1.2.13).
- Yoo, Y. J., Prenzler, P. D., Saliba, A. J., Ryan, D. (2011). Assessment of Some Australian Red Wines for Price, Phenolic Content, Antioxidant Activity, and Vintage in Relation to Functional Food Prospects. *J. Food Sci.* 76:C1355.
- Zanuttin, F., Gurian, E., Ignat I., Fornasaro, S., Calabretti, A., Bigot, G., Bonifacio, A. (2019). Characterization of white wines from north-eastern Italy with surface-enhanced Raman spectroscopy. *Talanta.* 203:99–105.
- Zeng, L., Tessèdre, P. L., Jourdes, M. (2015). Structures of polymeric pigments in red wine and their derived quantification markers revealed by high-resolution quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 30:81–88.

- Zerbib, M., Jean-Paul, M., Meudec, E., Le Guernevé, C., Lepak, A., Nidetzky, B., Cheynier, V., Terrier, N., Saucier, C. (2018). New flavanol O-glycosides in grape and wine. *Food Chem.* 266:441-448.
- Zhang, X. K., Li, S. Y., Zhao, X., Pan, Q. H., Shi, Y., Duan, C. Q. (2020). HPLC-MS/MS-based targeted metabolomic method for profiling of malvidin derivatives in dry red wines. *Food Res. Int.* 134:10922.
- Ziółkowska, A., Waśowicz, E., Jelén, H. H. (2016). Differentiation of wines according to grape variety and geographical origin based on volatiles profiling using SPME-MS and SPME-GC/MS methods. *Food Chem.* 213:714-720.

ANEXO I

Para la evaluación de viabilidad y hermeticidad de microsistema prototipo 1 elaborado con PDMS/vidrio, el microsistema fue previamente acondicionado y finalmente llenado con solución amortiguadora MES (25 mM, pH 5.0). La Figura 1 **A)** muestra la imagen del microsistema completo (4 x 1.7 x 3.1 mm), las letras indican los reservorios ($\varnothing$ 2 mm) presentes en el mismo, así como las capas de vidrio (1.1 mm) y polidimetilsiloxano (2 mm de PDMS) que conforman al sistema (Figura 1 **B)**)

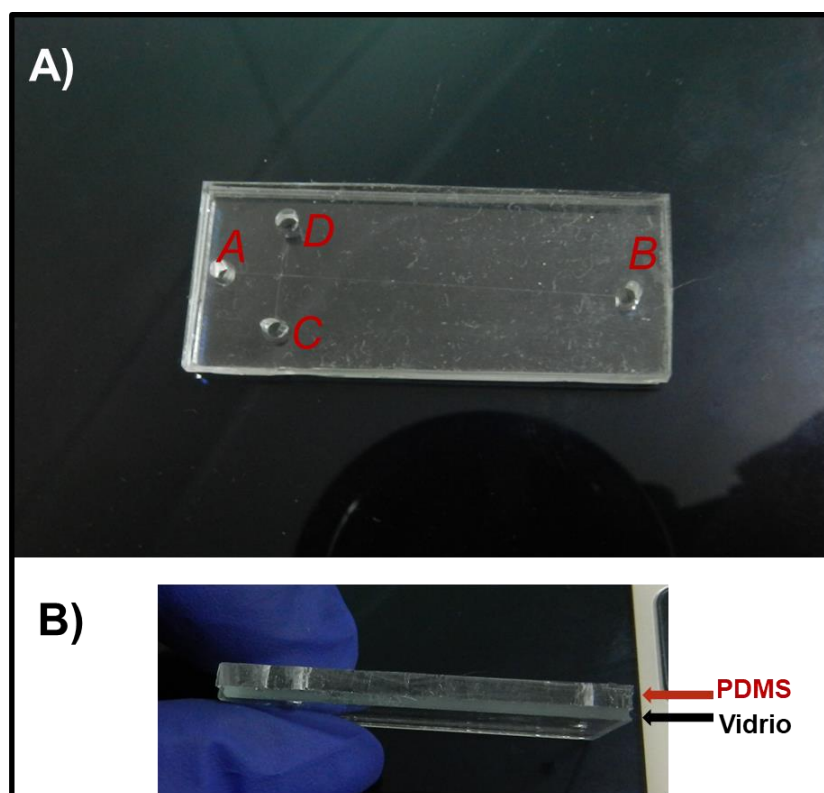


Figura 1. Fotografía del microsistema prototipo 1. **A)** reservorio de solución amortiguadora o de separación **A**, reservorio de salida **B**, reservorios de muestra **C** y **D**. **B)** foto lateral del microsistema

La Figura 2 muestra las fotografías del reservorio A en el microsistema bajo microscopio óptico con objetivos 4 y 10X. En la figura **A)** se puede observar la diferencia en el diámetro de los reservorios elaborados en la placa de vidrio (mayor diámetro) y en el PDMS (menor diámetro), mientras que en la figura **B)** se puede observar, en un ovalo rojo, la parte que queda vacía del reservorio después del acondicionamiento. Lo anterior podría deberse a la diferencia de diámetros entre las partes que conforman el microsistema.

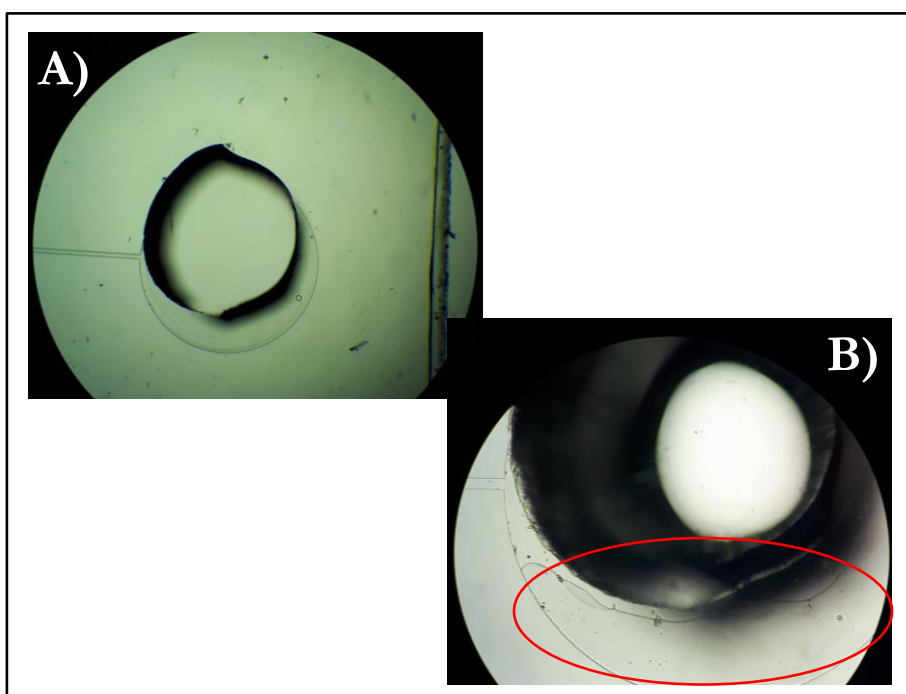


Figura 2. Fotografías del reservorio A en el microsistema 1. **A)** Vacío, previo a montarlo en el porta-microchip (objetivo 4X) y **B)** con solución amortiguadora MES, 25 mM, pH 5.0, posterior a colocarlo dentro del porta-microchip (objetivo 10X).

De igual manera que en el reservorio A, el reservorio C presenta un diámetro diferente en la placa de PDMS al realizado en el vidrio (Figura 3 **A)**. Se encontró una fibra incrustada tanto en el reservorio como entre las placas del (Figura 3 **B)**. La fibra absorbe el líquido contenido en el reservorio promoviendo su

desplazamiento hacia las zonas que rodean la fibra (Figura 3 **C**). Aunado a lo anterior, la fibra obstruye el paso correcto de la solución amortiguadora generando burbujas en el interior del brazo (Figura 3 **D**).

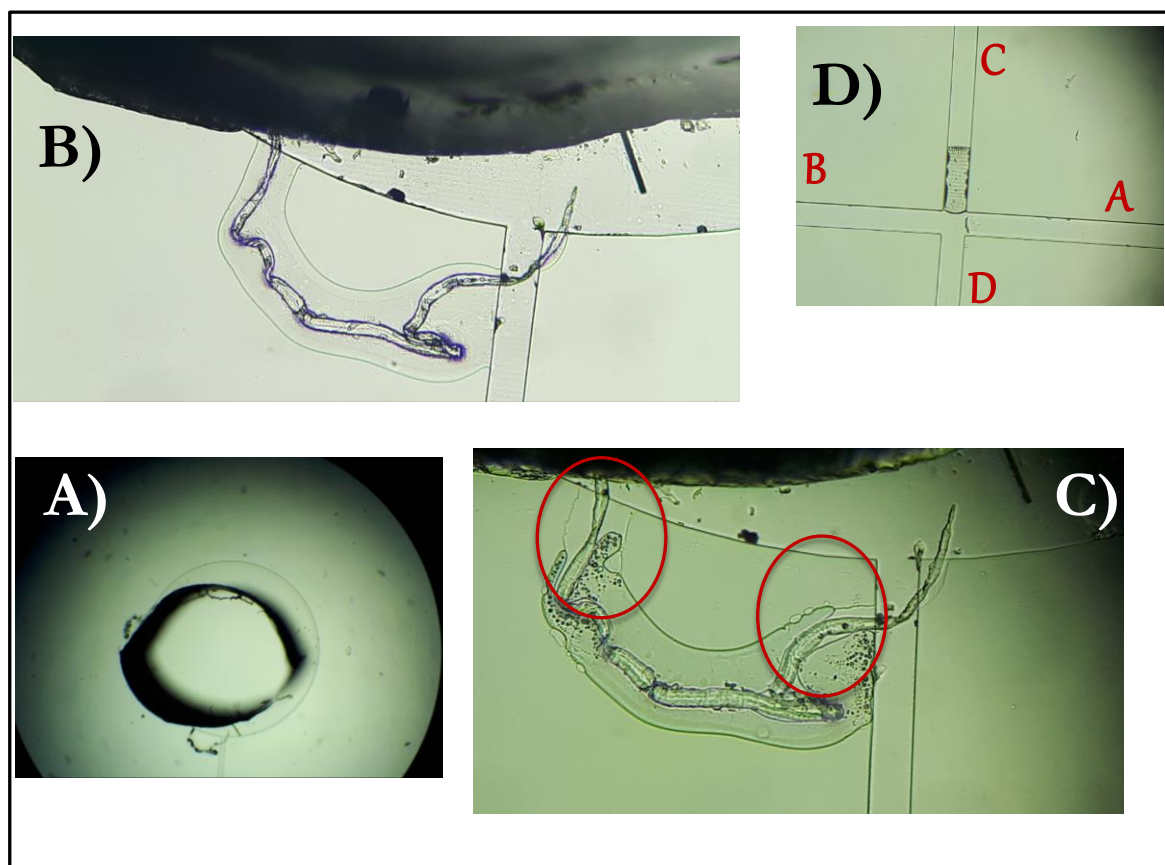


Figura 3. Fotografías del reservorio C en el microsistema 1. **A)** Vacío, previo a montarlo en el porta-microchip (objetivo 4X) y **B)** con solución amortiguadora MES, 25 mM, pH 5.0, posterior a colocarlo dentro del porta-microchip (objetivo 10X). **C)** Fugas del reservorio C y **D)** burbuja genera en el brazo del reservorio.

La Figura 4, muestra las fotografías tomadas al reservorio D vacío, previo a montarlo en el interior del porta-microchip (Fig. 4 **A**). La presencia de fibras y partículas dentro del reservorio y entre las placas del microsistema se observa en

la ampliación con objetivo 10X (Fig. 4 **B**), mientras que las fugas de la solución amortiguadora se alcanzan a percibir un poco en la zona circulada en rojo (Fig. 4 **C**). La Figura 5, muestra los espacios vacíos en los reservorios aún después del acondicionamiento y llenado de capilares para los reservorios A y D.

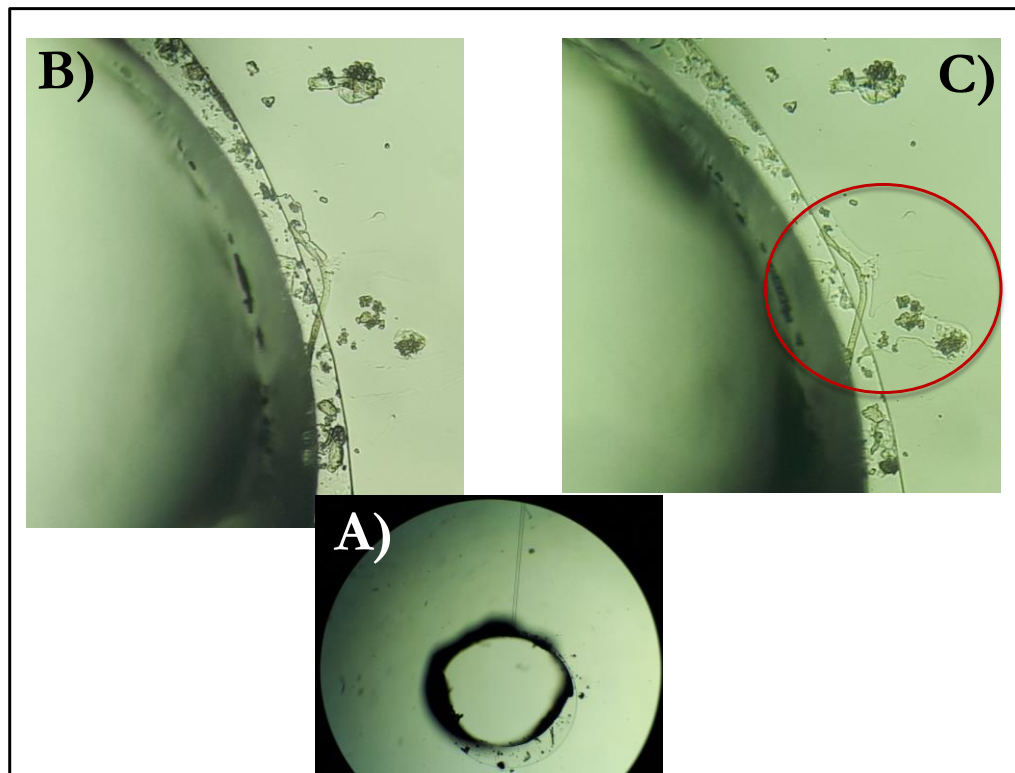


Figura 4. Fotografías del reservorio *D* en el microsistema 1. **A)** Vacío, previo a montarlo en el porta-microchip (objetivo 4X), **B)** vacío posterior a colocarlo en el porta-microchip (objetivo 10X) y **C)** con solución amortiguadora MES, 25 mM, pH 5.0 (objetivo 10X).

Las fotografías del reservorio *B* o de salida al capilar de separación se muestran en la Figura 6. Además de la diferencia en los diámetros en los reservorios de las placas del microsistema (Fig. 6 **A**), se puede observar un objeto

que obstruye la salida del capilar (Fig. 6 **B**). Lo anterior genera flujos inconstantes en el sistema.

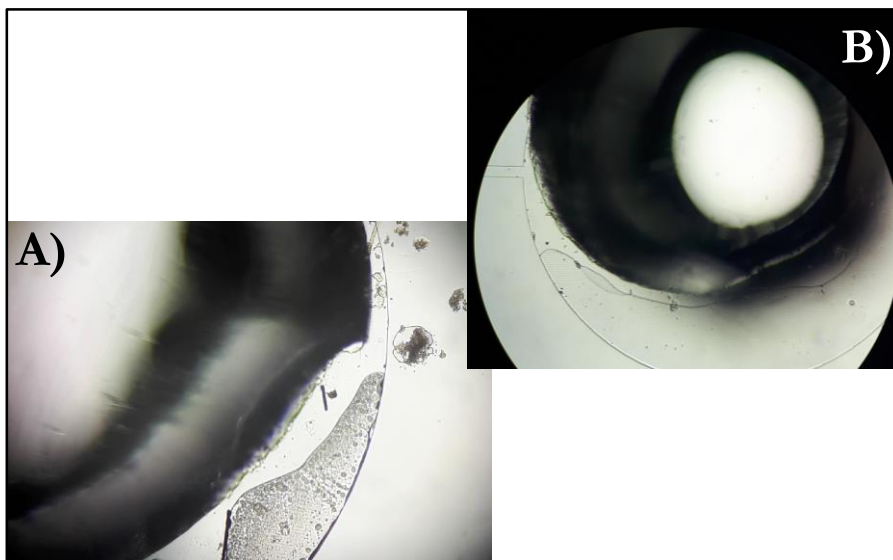


Figura 5. Fotografías de los reservorios llenos con MES (25 mM, pH 5.0). **A)** Reservorio *D* (objetivo 10X), **B)** reservorio *A* (objetivo 10X)

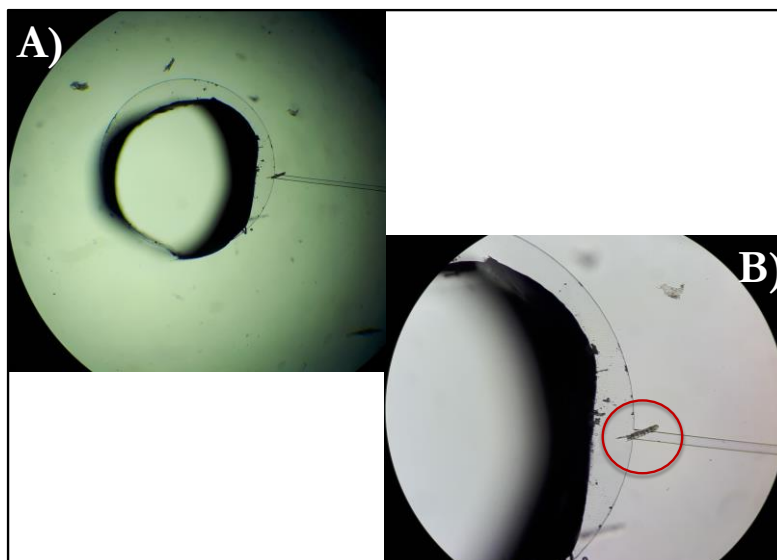


Figura 6. Fotografías del reservorio *B* vacío **A)** previo a colocarlo en el porta-microchip (objetivo 4X), **B)** en el interior del porta-microchip (objetivo 10X)

En general, el llenado de capilares y reservorios fue incompleto y difícil de realizar, esto podría deberse a la diferencia de diámetros y la poca alineación entre los reservorios del microsistema con los reservorios del porta-microchip (no se presentan las fotografías). Las fibras y partículas contribuyeron a la generación de burbujas y por lo tanto un flujo inconstante.

Debido a lo anterior, se realizaron pruebas con un segundo prototipo mejorando la limpieza de los capilares, sin embargo, se presentaron los mismos inconvenientes para el acondicionamiento debido a que, pese a que se mejoró la alineación con el porta-microchip, no se logró una alineación adecuada para todos los reservorios aunado a la diferencia de diámetros en los mismos.

Para mejorar el sistema y disminuir los inconvenientes presentados se descarta el uso de la carcasa o porta-chip y se trabaja en la implementación del sistema eléctrico incrustado en el cuerpo del dispositivo.

Se evaluó el microsistema prototipo 3 el cual estaba conformado por una capa de PDMS (4 x 1.7 x 3.3 mm) y la placa de vidrio sin cortar (7.6 x 2.53 x 1.1 mm). Se dejó la placa de vidrio completa para una mejor manipulación del sistema. Los electrodos de platino fueron incrustados hasta los reservorios. Todos los reservorios fueron realizados con un diámetro de 1 mm. Una vez que se realizó el acondicionamiento se observó un llenado incorrecto del reservorio debido a que la punta de la micropipeta topaba con los electrodos evitando que la solución amortiguadora se lograra depositar desde el fondo del reservorio complicando el acondicionamiento del sistema. Por otra parte, se observaron fugas de la solución amortiguadora MES, a partir de los reservorios y a través del canal de incrustación de los electrodos hacia afuera del microsistema. La Figura 7C muestra el goteo de la solución colorida MES en uno de los costados del microsistema (círculo rojo). Lo anterior pudo deberse a que al realizar el corte en los extremos del alambre de platino quedaron pequeñas imperfecciones provocando que el PDMS se rasgara

al momento de la incrustación dejando un canal más amplio alrededor de los electrodos por donde se fugó la solución colorida (Figura 7 **A** y **B**).

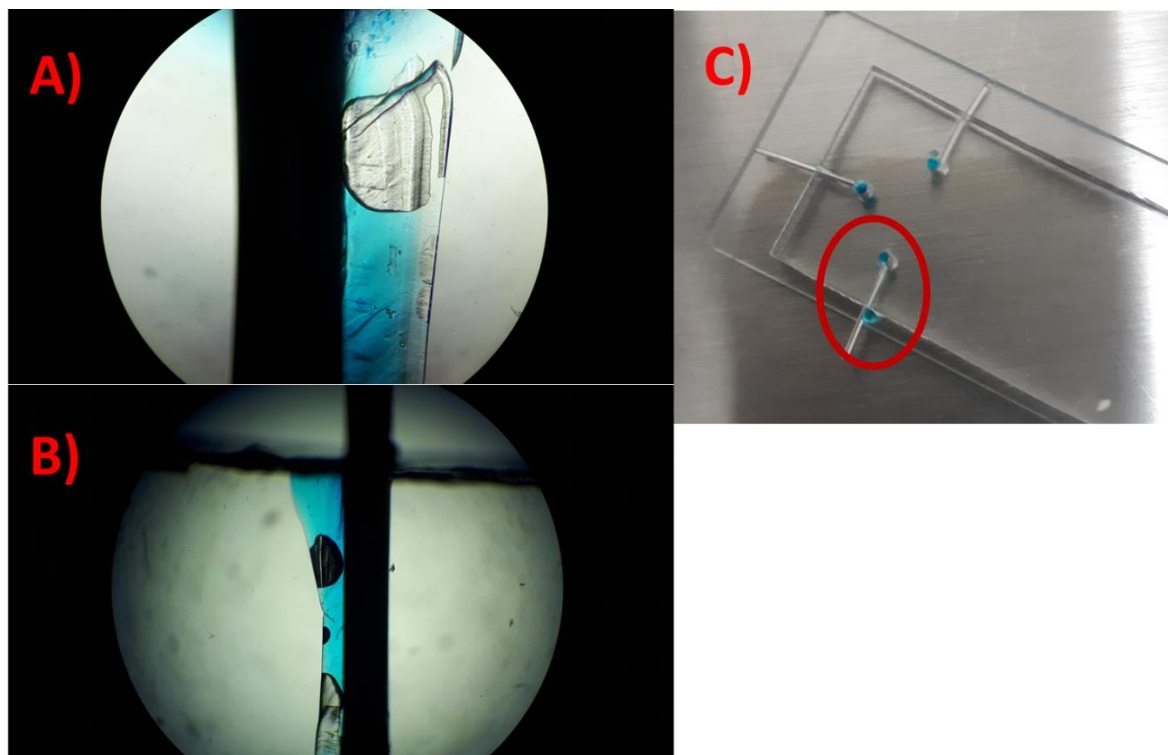


Figura 7. Electrodos del reservorio C en el microsistema prototipo 3 observados con objetivo 10X en el área cerca al **A)** reservorio; **B)** orilla de la placa de PDMS y **C)** Toma del microsistema una vez llenados los reservorios con la solución colorida de MES. En círculo rojo la gota que se fuga a la salida del electrodo C.

A pesar de las fugas, se logró generar un flujo electroosmótico al aplicar 500 V durante 2 minutos entre el reservorio C y el B. La Figura 8**A** muestra el llenado del reservorio C con la solución colorida de MES así como el capilar sin coloración debido al acondicionamiento previo con MES sin colorante. La Figura 8**B** muestra el cruce de los capilares previamente acondicionados con MES sin

colorante, mientras que el flujo electroosmótico de la solución MES colorida, así como el llenado del brazo y capilar de separación se muestran en la Figura 8C.

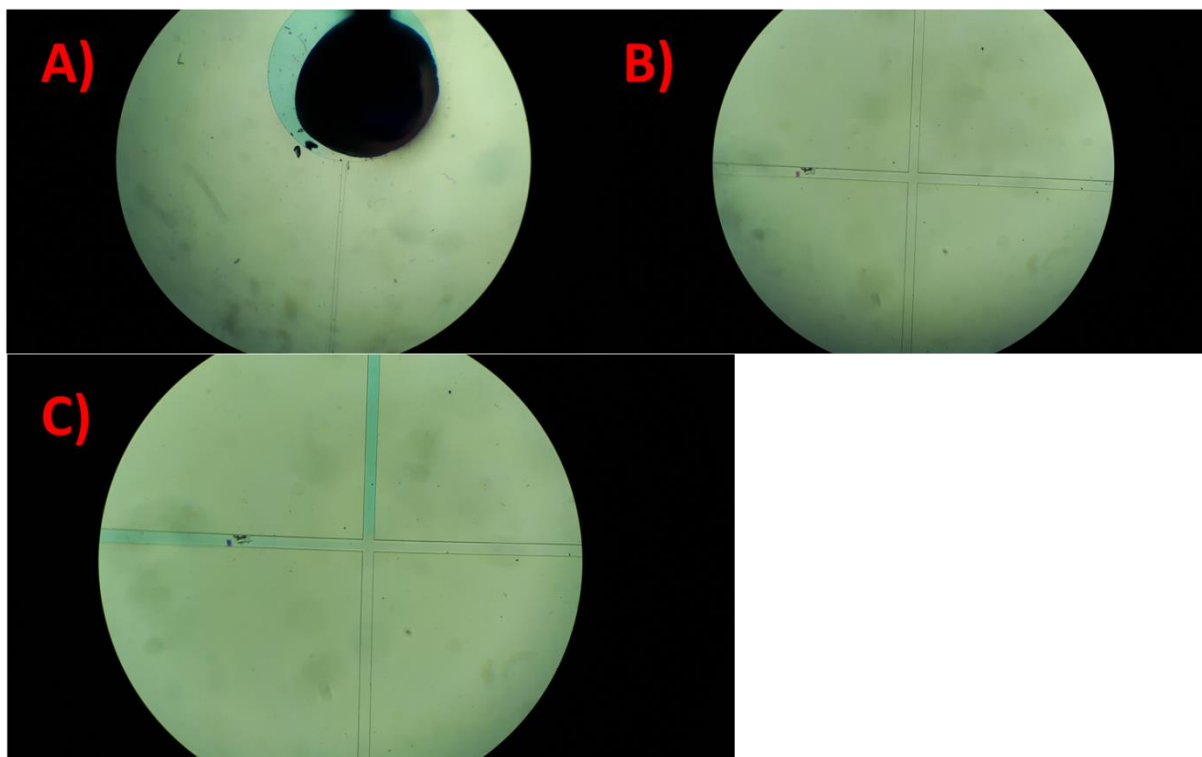


Figura 8. Imágenes con objetivo 4X del microsistema prototipo 3 **A)** llenado reservorio *C* previo a la aplicación del voltaje, **B)** Cruce de los capilares sin coloración y **C)** llenado del brazo y capilar de separación después de aplicar 500 V por 2 minutos (de *C* a *B*)

La figura 9 muestra la limpieza de los capilares con solución MES no colorada al aplicar 500 V durante 2 minutos, desde el reservorio *A* al *B* (Fig. 9A); llenado del reservorio *D* y brazo con solución MES colorada al aplicar 500 V desde el reservorio *D* al *B* (Fig. 9B), desplazamiento de la solución colorada MES a través

del brazo y su acercamiento al cruce del capilar (Fig. 9C), así como el llenado del capilar de separación con la solución colorida MES (Fig. 9D).

La limpieza en el cruce de los capilares posterior al paso de la solución no colorida MES al aplicar 500 V desde el reservorio A al B durante 2 minutos se muestra en la Figura 10A, en tanto que, el flujo electroosmótico para el llenado de los brazos y capilar de separación con la solución colorida MES después de aplicar 500 V durante 2 min desde los reservorios C y D al B simultáneamente se muestra en la Figura 10B.

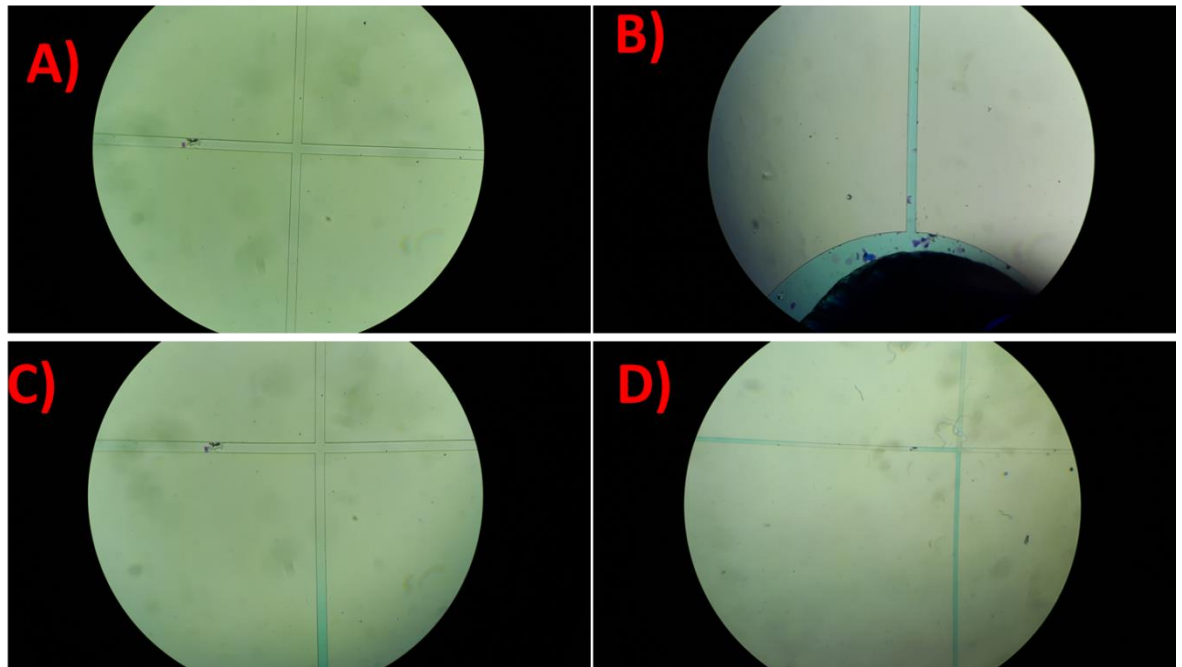


Figura 9. Etapas del flujo electroosmótico en el microsistema prototipo 3 **A)** Limpieza con solución no colorida MES después de aplicar 500 V durante 2 min del reservorio A al B; **B), C) y D)** Flujo electroosmótico de la solución colorida MES después de aplicar 500 V desde el reservorio D a B, durante 2 min.

Con el objetivo de eliminar las complicaciones durante el acondicionamiento generadas por el pequeño volumen de los reservorios se decide incrementar el diámetro a 3 mm, mientras que los electrodos fueron pulidos en las puntas para evitar el rasgado del PDMS al colocarlos y por ende evitar o disminuir las fugas en el microsistema prototipo 4.

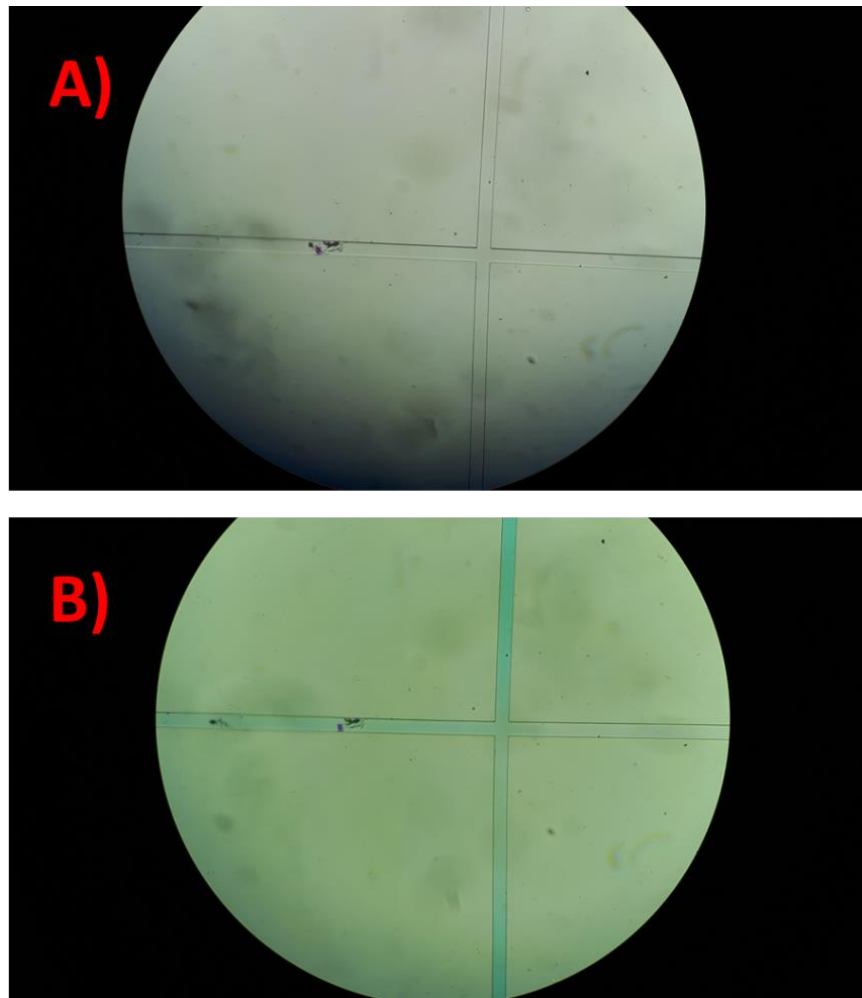


Figura 10. Etapas del flujo electroosmótico de ambos brazos **A)** Cruce de los capilares posterior a la limpieza aplicando 500 V por 2min del reservorio A al B; **B)** Flujo electroosmótico de la solución colorida MES al aplicar 500 V durante 2 min tanto del reservorio C y D al B (Imágenes tomadas con objetivo 10X).

Se evalúa el microsistema prototipo 5 el cual se conforma de una capa de PDMS (4 x 1.7 x 1.3 mm) y la placa de vidrio completa para facilitar su manejo (7.6 x 2.53 x 1.1 mm). A diferencia del anterior todos los reservorios presentan un diámetro de 5 mm (Figura 11).

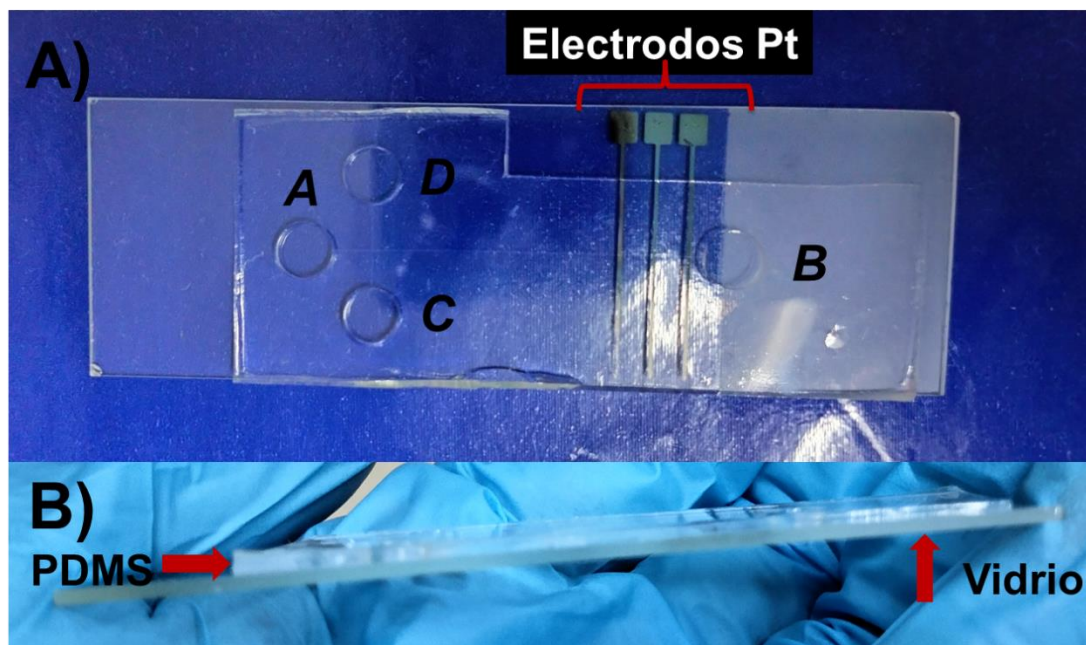


Figura 11. Fotografía del microsistema prototipo 5. **A)** reservorio para la solución amortiguadora o de separación (**A**), reservorio de salida (**B**), reservorios para muestra (**C** y **D**). **B)** foto de perfil del microsistema

El incremento en el diámetro de los reservorios en combinación con la disminución del grosor de la capa de PDMS permitió el llenado y posterior acondicionamiento con NaOH 0.1 M y limpieza del sistema con agua desionizada. Sin embargo, el acondicionamiento con MES 25 mM, pH 5.0, no se llevó a término debido a que la placa de PDMS se desprendió de la placa de vidrio, provocando el desplazamiento de las soluciones entre las capas arrastrando microfibras que se intercalaron en los capilares y la remoción de uno de los electrodos de platino

(Figura 12). El prototipo 5 se descartó, actualmente se realizan modificaciones al diseño.

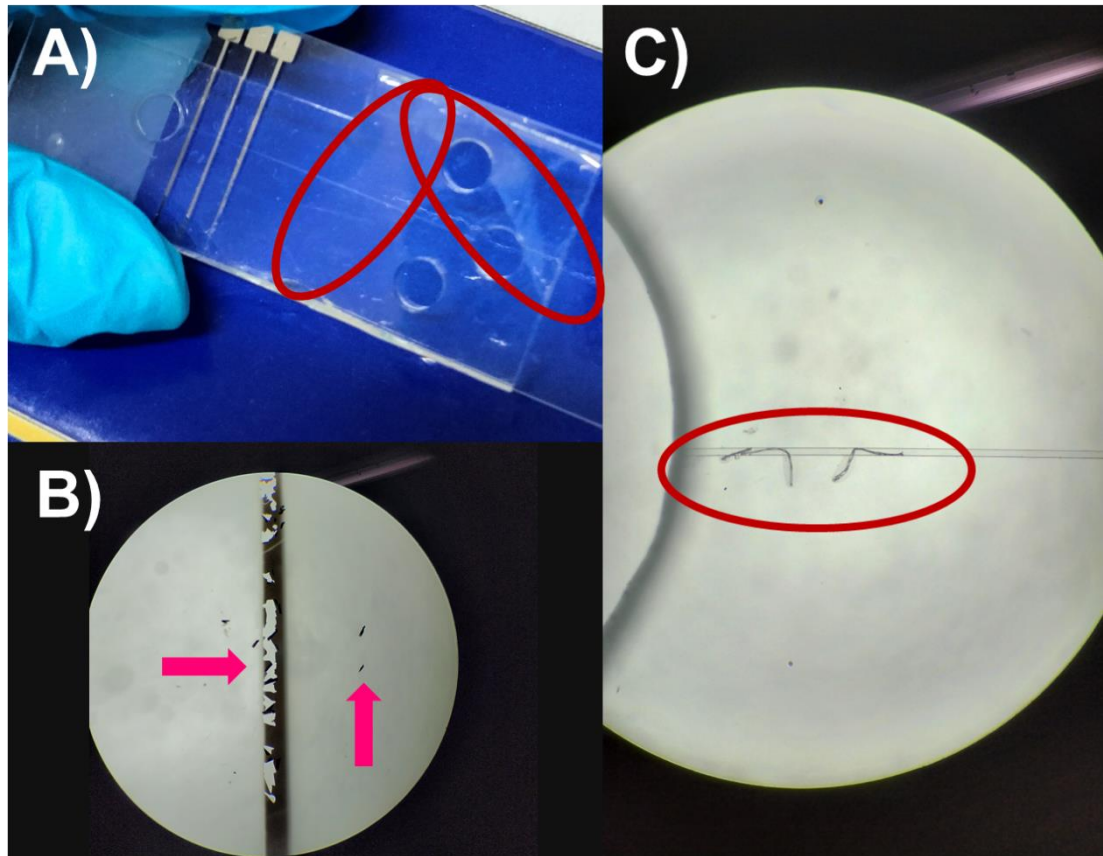


Figura 12. Fotografía del microsistema prototipo 5 dañado. **A)** Marcas del desprendimiento entre las capas del chip (en óvalos rojos); **B)** zonas de desprendimiento del electrodo de Pt (indicado por flechas); **C)** microfibras que se intercalaron en el capilar entre las capas (óvalo rojo).

ANEXO II

Para analizar la respuesta inicial del sistema se realizó un ensayo de voltamperometría cíclica para la solución de referencia ferro/ferri cianuro de potasio. Se observó el pico de oxidación con un máximo a un potencial de 450 mV, en tanto que el de reducción se presentó a 320 mV. Con base en lo anterior se eligió un potencial previo a las reacciones redox (270 mV) y previo al máximo de la oxidación y a la reducción (400 mV) (Figura 1).

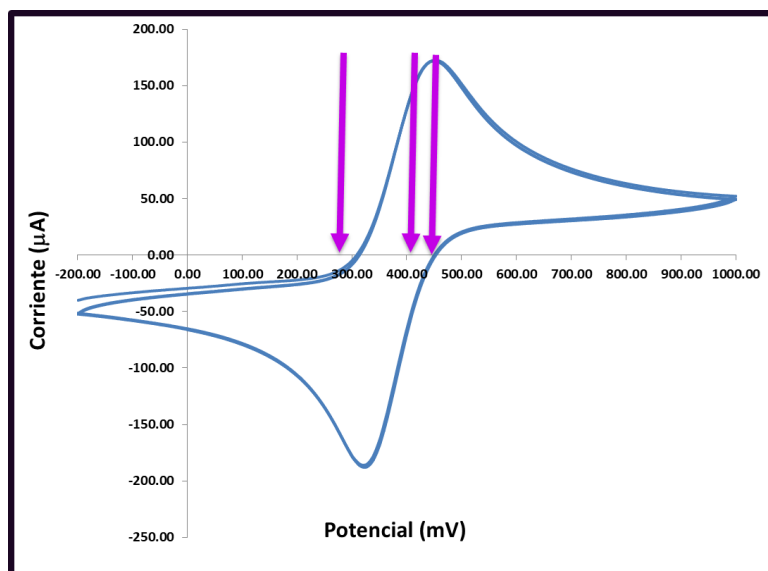


Figura 1. Voltamperometría cíclica de la solución Ferro/ferri cianuro de potasio (5 mM) en celda convencional (CC) con electrodo de trabajo de carbón vítreo, referencia de Ag/AgCl y cola de cochino Pt como auxiliar; MES 25 mM, pH 5.0.

La Figura 2 muestra la cronoamperometría de la solución de referencia ferro/ferri cianuro de potasio a 270 mV (Fig. 66A) y 400 mV (Fig. 66B). Se observa un cambio gradual con el incremento de la concentración. En ambos sistemas se presenta separación entre las mediciones confirmando la viabilidad del sistema.

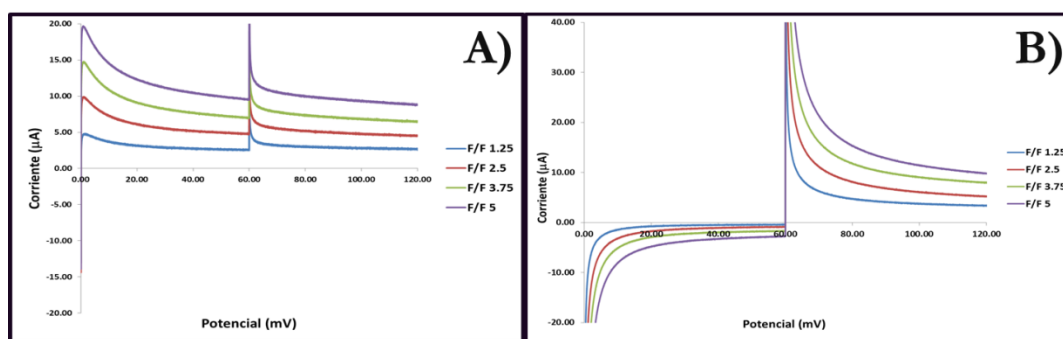


Figura 2. Cronoamperometría (CA) de la solución Ferro/ferri cianuro de potasio a A) 270 mV y B) a 400 mV. En celda convencional con electrodo de trabajo de Pt, referencia de Ag/AgCl y cola de cochino Pt como auxiliar; MES 25 mM, pH 5.0.

Se prosiguió a realizar un barrido de potenciales previos al máximo del pico de oxidación de la quercetina mediante cronoamperometría Figura 3. Se emplearon soluciones de 20 μM (Fig. 67A) y 30 μM (Fig. 67B) con el objetivo de determinar el potencial y la concentración con mejor respuesta. Para ambas concentraciones no se observa separación entre las mediciones a diferentes potenciales.

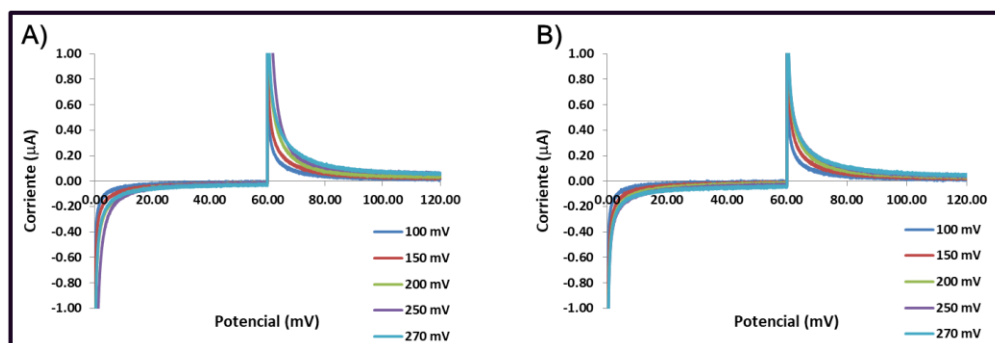


Figura 3. Cronoamperometría (CA) de la solución de quercetina A) 20 μM y B) 30 μM . Celda convencional con electrodo de trabajo de carbón vítreo, referencia de Ag/AgCl y cola de cochino Pt como auxiliar; MES 25 mM, pH 5.0.

Debido a lo anterior, se sustituyó el electrodo de carbón vítreo por uno de platino. La Figura 4 muestra el barrido de potenciales para una solución de quercetina 30 μM . Al comparar la respuesta con el electrodo de carbón vítreo, se observa una mayor separación entre los potenciales empleando el electrodo de platino. Con base en el ensayo anterior se toman los potenciales de 250 y 270 mV para evaluar la respuesta a cambios de concentración (Figura 5). Se observa una mayor separación entre concentraciones a 270 mV, por lo que se decide realizar los siguientes experimentos a este potencial.

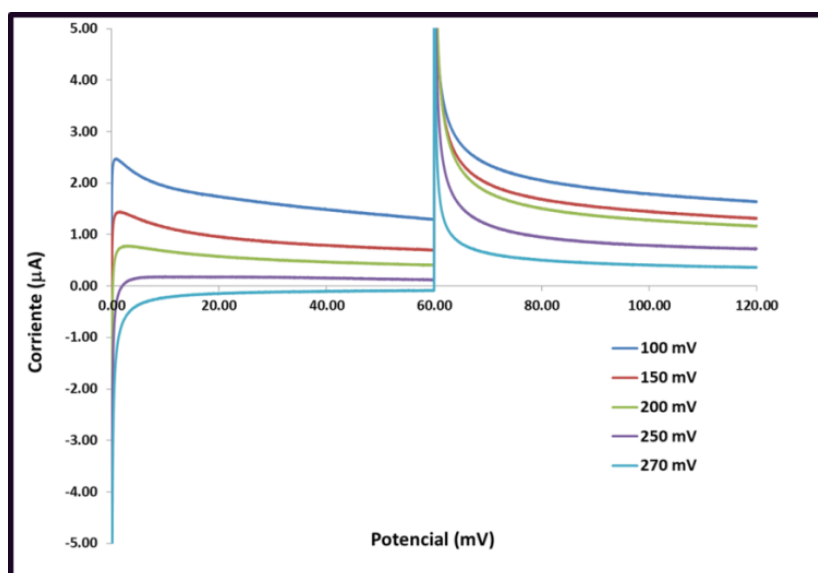


Figura 4. Cronoamperometría (CA) de la solución de quercetina 30 μM , en celda convencional con electrodo de trabajo de Pt, referencia de Ag/AgCl y cola de cochino Pt como auxiliar; MES 25 mM, pH 5.0.

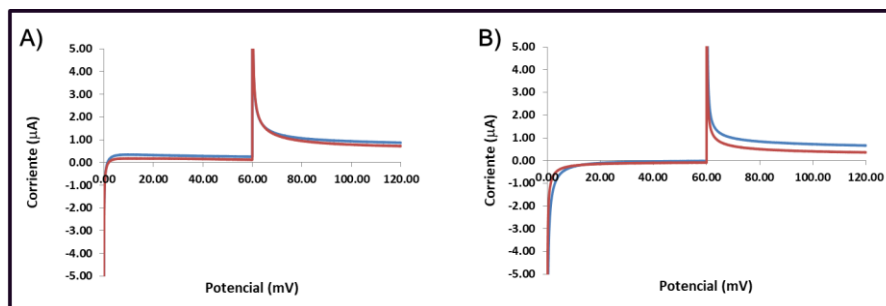


Figura 5. Cronoamperometría (CA) de la solución de quercetina. Azul: 30 μM y Rojo: 20 μM . A) 250 mV y B) 270 mV. Celda convencional con electrodo de trabajo de carbón vítreo, referencia de Ag/AgCl y cola de cochino Pt como auxiliar; MES 25 mM, pH 5.0.

Para descartar la interferencia de otros analitos en la respuesta del sistema se evaluó la adición de ácido elágico 70 μM a la solución de quercetina a diferentes concentraciones (20 y 30 μM). La Figura 6 muestra la respuesta al cambio de concentración en presencia del ácido elágico, así como la dispersión entre la réplica de cada concentración.

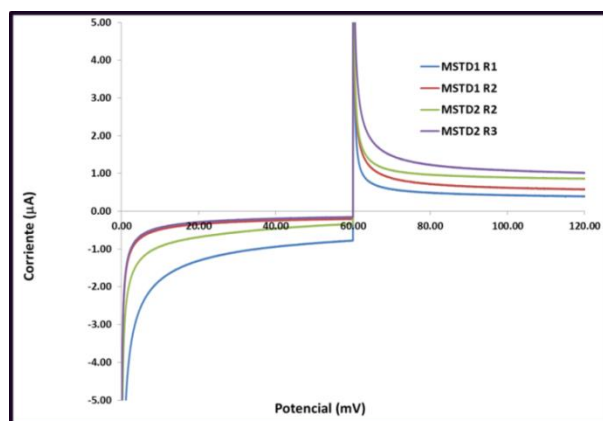


Figura 6. Cronoamperometría (CA) de MST1: quercetina (20 μM) con ácido elágico (70 μM) y MST2: quercetina (30 μM) con ácido elágico (70 μM). Celda convencional con electrodo de trabajo de Pt, referencia de Ag/AgCl y cola de cochino Pt como auxiliar; MES 25 mM, pH 5.0. Potencial aplicado 270 mV.

Con base en lo anterior se decidió realizar el análisis a una concentración mayor (40 μM) y compararla con la de 20 μM . Lo anterior para definir la diferencia entre los cambios de concentración adecuada para la elaboración de una curva de calibración. Sin embargo, la respuesta a 40 μM presenta una variación considerable entre las réplicas (Figura 7). Finalmente, se evaluaron soluciones de quercetina 10 μM y 90 μM (Figura 8). Nuevamente se presentaron respuestas similares entre las réplicas. Es importante mencionar que a concentraciones mayores de 30 μM se presenta precipitación de quercetina lo que puede estar provocando una baja detección a mayores concentraciones y por ende no se observan cambios entre dichas concentraciones. Debido a lo anterior se descarta el uso de cronoamperometría para las siguientes evaluaciones en la celda del microsistema.

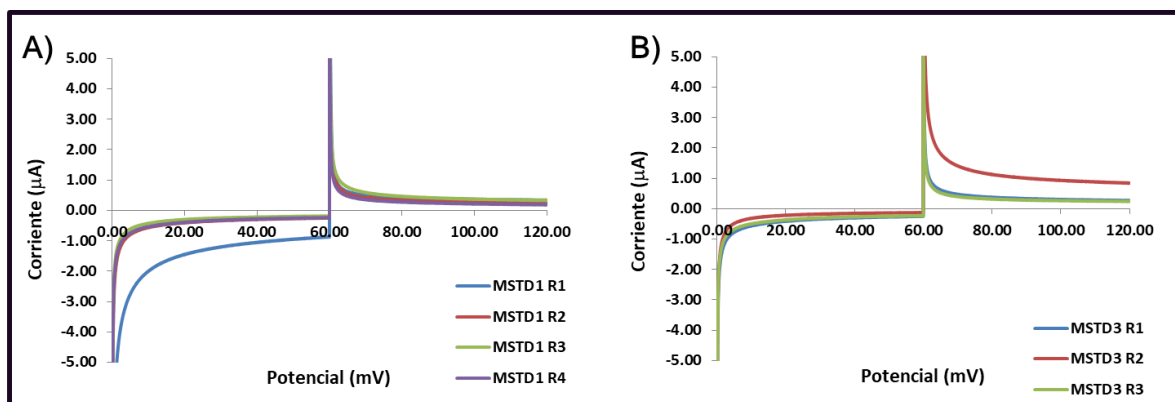


Figura 7. Cronoamperometría (CA) de MSTD 1: quercetina (20 μM) con ácido elágico (70 μM) y MSTD3: quercetina (40 μM) con ácido elágico (70 μM). Celda convencional con electrodo de trabajo de Pt, referencia de Ag/AgCl y cola de cochino Pt como auxiliar; MES 25 mM, pH 5.0. Potencial aplicado 270 mV.

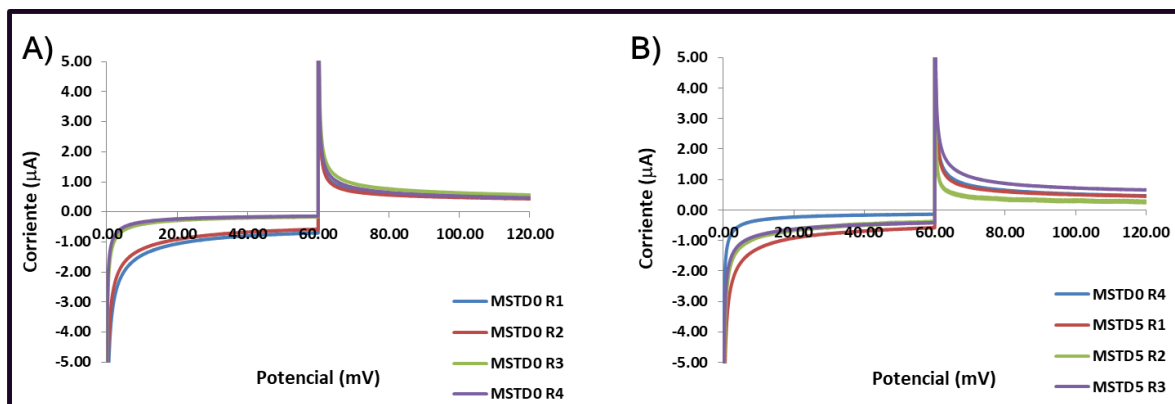


Figura 8. Cronoamperometría (CA) de MSTD 0: quercetina (10 μ M) con ácido elágico (70 μ M) y MSTD 5: quercetina (90 μ M) con ácido elágico (70 μ M). Celda convencional con electrodo de trabajo de Pt, referencia de Ag/AgCl y cola de cochino Pt como auxiliar; MES 25 mM, pH 5.0. Potencial aplicado 270 mV

ANEXO III

1) Asistencia a congresos nacionales





TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



4 CONGRESO NACIONAL DE POSGRADO *de Ingeniería Bioquímica*

CONSTANCIA

Otorgado a:

Raquel Castañeda Moreno

POR LA PRESENTACIÓN DEL TRABAJO EN MODALIDAD CONFERENCIA CORTA:
Caracterización química de la composición volátil y no volátil de vinos tintos de la zona centro de México

EN EL: **4to CONGRESO NACIONAL DE POSGRADO DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA**
CELEBRADO DEL 12 AL 14 DE OCTUBRE DEL 2022.



M.C. GABRIEL MÁRQUEZ ROJAS
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE
INGENIERÍA BIOQUÍMICA Y
AMBIENTAL



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA

TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO
en Celaya

DEPTO. DE INGENIERÍA
BIOQUÍMICA Y AMBIENTAL

DR. HUMBERTO RAMÍREZ MEDINA

COORDINADOR DEL 4TO CONGRESO NACIONAL
DE POSGRADO DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA



CONACYT

FOLIO 4CNPBQ22-CC003

2) Participación como profesora invitada

Querétaro, Qro. a 17 de marzo de 2021

A quien corresponda:

Se hace constar que la M. en C. y estudiante de doctorado, Raquel Castañeda Moreno, impartió al grupo de la materia de Enología del semestre 2020-2 dentro de la carrera de Ing. en Biotecnología, la conferencia denominada: "Métodos modernos de análisis instrumental de mostos y vinos" con una duración de dos horas.

Se extiende la presente a petición de la interesada y para los fines que a ésta convengan a los diez y siete días del mes de marzo de 2021.

ATENTAMENTE

"Educo en la Verdad y en el Honor"



Ramón Álar Martínez Peniche

Titular de la materia



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE QUÍMICA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO



Santiago de Querétaro, 4 de junio de 2021

**Comité de Sinodales
Presente**

Por este conducto hago de su conocimiento que la M. en C. Raquel Castañeda Moreno participó como profesora invitada en el Curso de Tópicos Selectos (Identificación y cuantificación de metabolitos secundarios) del programa de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos del cual soy profesor titular. La M. en C. Raquel presentó el tema correspondiente a HPLC. El curso corresponde al semestre 2021-01 y se oferta a los estudiantes de segundo semestre del programa.

Sin más por el momento, reciban saludos cordiales.

Atentamente

Dra. Sandra Olimpia Mendoza Díaz
Profesor-Investigador
Posgrado de Alimentos
smendoza@uaq.mx

3) Participación como investigadora anfitriona



4) Cursos impartidos



5) Actividades de retribución social



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química
A través de la Jefatura de Investigación y Posgrado
Otorga

CONSTANCIA

a: **Raquel Castañeda**, Luis A. Godínez,
Janet Ledesma-García, Pedro Vázquez-Landaverde,
Guadalupe Loarca-Piña, Sandra Mendoza

Por la elaboración y presentación del cartel de Investigación y Posgrado:

Caracterización electroquímica de vino tinto de Querétaro y Aguascalientes

En el marco de la celebración de la Semana Cultural 2023 de la Facultad, que se llevó a cabo del 15 al 17 de noviembre.



SAC12023004

6) Artículo de investigación JCR

Article

J. Mex. Chem. Soc. 2023, 67(4)
Special Issue
©2023, Sociedad Química de México
ISSN-e 2594-0317

Chemical Characterization and Antioxidant Evaluation of Young and Aged Wines from Aguascalientes and Queretaro

Raquel Castañeda¹, Luis A. Godínez², Janet Ledesma-García³, Pedro Vázquez-Landaverde⁴,
Guadalupe Loarca-Piña¹, Sandra Mendoza^{1*}

¹Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos, Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, Santiago de Querétaro, Querétaro, México.

²Centro de Investigación en Química para la Economía Circular, Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México.

³División de Investigación y Posgrado, Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro.

⁴Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada, Instituto Politécnico Nacional Unidad Querétaro, Colinas del Cimatario, Querétaro, Querétaro, México.

*Corresponding author: Sandra Mendoza, e-mail: smendoza@uaq.mx

Received March 14th, 2023; Accepted June 26th, 2023.

DOI: <http://dx.doi.org/10.29356/jmcs.v67i4.2001>

This contribution is dedicated to professors Elsa, Joan, Ignacio, Jorge, Yunny, and Omar, who pioneered the electrochemical field in Mexico guiding its development in the academy and industry. Thanks for inspiring us all and being the light of many curious minds.

Abstract. Red wine is distinguished by a high economic and cultural value and therefore, its reliable characterization is important to assess its quality and authentication. Currently, Mexican wine consumption is growing due to wine tourism initiatives, then the determination of the chemical profile of commercial selected samples of young and aged red wines produced at wineries from Queretaro and Aguascalientes was performed. Seventy-eight nonvolatile compounds were identified by ultra performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry. Three main families of secondary metabolites (Flavonols, ellagitannins and anthocyanins) were quantified by differential pulse voltammetry using carbon screen printed electrodes (SPEs). Tempranillo aged wine from Vinos del Marqués, Queretaro, showed the highest content of total polyphenols and anthocyanins from the evaluated wine samples. This research contributes to the knowledge of the chemical profile of commercial selected samples from wineries that belong to Mexican wine routes in a consolidated and experimental stage.

Keywords: Mexican red wine; electrochemical characterization; total polyphenols; differential pulse voltammetry; antioxidant activity.

Resumen. El vino tinto se distingue por un alto valor económico y cultural y, por lo tanto, su caracterización confiable es importante para evaluar su calidad y autenticación. Actualmente, el consumo de vinos mexicanos se encuentra en crecimiento debido a las iniciativas de enoturismo, por ello, se llevó a cabo la determinación del perfil químico de muestras comerciales seleccionadas de vinos tintos jóvenes y de conserva producidos en bodegas de Querétaro y Aguascalientes. Se identificaron setenta y ocho compuestos no volátiles mediante cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas. Tres familias principales de metabolitos secundarios (flavonoles, elagitaninos y antocianinas) fueron cuantificadas mediante voltamperometría de pulso diferencial utilizando electrodos serigrafados (SPEs) de carbón. El vino

403

Special Issue: Tribute to the electrochemical emeritus researchers of SNI