

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

MEMORIA DE TÍTULO

**FACTORES QUE INCIDEN EN LAS RUTAS BIOSINTÉTICAS DE
COMPUESTOS RESPONSABLES DE AROMAS EN FRUTOS DE *Vitis Vinifera***

JAVIERA VILLARROEL MEZA

SANTIAGO – CHILE

2013

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

MEMORIA DE TÍTULO

**FACTORES QUE INCIDEN EN LAS RUTAS BIOSINTÉTICAS DE
COMPUESTOS RESPONSABLES DE AROMAS EN FRUTOS DE *Vitis vinifera***

**FACTORS AFFECTING THE BIOSYNTHETIC PATHWAYS OF COMPOUNDS
RESPONSIBLE FOR FLAVORS IN FRUITS OF *Vitis vinifera***

JAVIERA VILLARROEL MEZA

SANTIAGO – CHILE

2013

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

Título

**FACTORES QUE INCIDEN EN LAS RUTAS BIOSINTÉTICAS DE COMPUESTOS
RESPONSABLES DE AROMAS EN FRUTOS DE *Vitis vinifera***

Memoria para optar al título profesional de:
Ingeniero Agrónomo

Mención: Enología.

Javiera Villarroel Meza

Profesores Guías	Calificaciones
Sr. Elías Obreque S. Ingeniero Agrónomo, Dr.	6,5
Sr. Álvaro Peña N. Ingeniero Agrónomo, Enólogo, Dr.	7,0
Profesores Evaluadores	
Sr. Italo Chiffelle G. Bioquímico, Dr.	7,0
Sr. José Luis Henríquez S. Ingeniero Agrónomo, M.S. Ph D.	6,3

Santiago, Chile

2013

AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer profundamente a mi madre y mi padre por toda la dedicación que me han dado durante toda mi existencia, por su apoyo, comprensión, amor, y valores que han hecho que hoy sea la persona que soy.

También quiero agradecer a mis abuelitos que siempre han estado conmigo apoyándome en todas mis decisiones, así como también a todas mis amigas que siempre han creído en mí y que son una parte importante en mi vida, y por supuesto a Dios, por ser mi guía espiritual en la vida.

En cuanto a lo que es la universidad, quiero agradecer a todos los académicos que son parte de la carrera de Agronomía, en especial a los profesores de la mención de Enología, por entregar todos sus conocimientos, consejos y por dar una excelente formación profesional, y al profesor Sr. Elías Obrequé por su dedicación, tiempo y apoyo.

Y por último, agradecer al proyecto U-Inicia 11/05 de la Universidad de Chile y los proyectos Fondecyt 11121322 y 1110832.

INDICE

Resumen.....	6
Palabras Claves.....	6
Abstract.....	7
Key words.....	7
Introducción.....	8
Objetivo.....	9
Materiales y Métodos.....	10
Resultados y Discusión.....	11
Composición de la baya.....	12
Factores que afectan los compuestos sintetizados durante la maduración.....	15
Metoxipirazinas.....	19
1.1. Definición.....	19
1.2. Ruta de síntesis.....	19
1.3. Localización y clasificación en bayas de <i>Vitis vinifera</i>	20
1.4. Factores que inciden en el contenido de metoxipirazinas en las bayas.....	22
Terpenos.....	26
2.1. Definición.....	26
2.2. Ruta de síntesis.....	26
2.3. Localización y clasificación en bayas de <i>Vitis vinifera</i>	28
2.4. Factores que inciden en el contenido de terpenos en las bayas.....	30
Norisoprenoides.....	33
3.1. Definición.....	33
3.2. Ruta de síntesis.....	33
3.3. Localización y clasificación en bayas de <i>Vitis vinifera</i>	36
3.4. Factores que inciden en el contenido de norisoprenoides en las bayas.....	37
Tioles.....	41

4.1. Definición.....	41
4.2. Ruta de síntesis.....	41
4.3. Localización y clasificación en bayas de <i>Vitis vinifera</i>	42
4.4. Factores que inciden en el contenido de tioles en las bayas.....	44
Discusión.....	45
Conclusiones.....	48
Bibliografía.....	49

RESUMEN

Las bayas de *Vitis vinifera* L. están constituidas por diversos compuestos, tales como azúcares, ácidos orgánicos, compuestos fenólicos y aromáticos. Los compuestos aromáticos más importantes corresponden a las metoxipirazinas, terpenos, norisoprenoides y tioles, los que en su conjunto forman parte del aroma primario del vino. Las rutas biosintéticas que definirán la composición y concentración de estos compuestos estarán fuertemente afectadas por diversos factores.

A pesar de la importancia de lo anteriormente descrito, existe limitada información compilatoria acerca de las distintas rutas de síntesis de cada uno de estos compuestos y más aún de los diferentes factores que las afectan. Además, en algunos casos la información disponible es contradictoria

En este estudio se describieron las rutas biosintéticas de los compuestos responsables de la fracción aromática de bayas de *Vitis vinifera* y se analizaron los principales factores que inciden en la síntesis de aromas. Para ello, se recopilaron las investigaciones existentes en que se hiciera referencia a este tema de estudio.

Los tópicos tratados en este estudio fueron: definición del compuesto aromático, descripción de las rutas metabólicas, clasificación de los aromas y análisis de los factores que inciden en su contenido. En este último punto, los factores analizados fueron la exposición a la luz, clima, altitud, vigor y riego, rendimiento, fertilidad, tipo de cosecha y manejos agronómicos, dentro de los que destacan, el raleo de hojas, sistema de conducción y raleo de racimos.

De acuerdo a los resultados de este estudio es posible concluir que la mayoría de las rutas biosintéticas de los compuestos aromáticos son claramente conocidas. Sin embargo, la ruta de biosíntesis de las metoxipirazinas es aún poco clara. Asimismo, los factores analizados en este estudio, tienen efecto importante sobre el contenido de compuestos aromáticos en las bayas, y cada compuesto aromático responde de forma diferente a un factor específico.

PALABRAS CLAVES

- Metoxipirazinas
- Terpenos
- Norisoprenoides
- Tioles

ABSTRACT

The berries of *Vitis vinifera* are constituted by different compounds, such as sugars, organic acids, phenolic and aromatic compounds. The most important aromatic compounds correspond to the methoxypyrazines, terpenes, norisoprenoids and thiols, which together form part of primary aroma of the wine. The biosynthetic pathways that define the composition and concentration of these compounds will be strongly affected by several factors.

Despite the importance of the above described, there is limited information about the various routes of synthesis of each of these compounds and further of the different factors that affect each one of them. Moreover, in some cases the information available is contradictory.

The topics covered in this study were: definition of the aromatic compound, description of metabolic pathways, classification of aromas and analysis of the factors that influence their content. On this last point, the factors analyzed were exposure to light, climate, altitude, vigor and irrigation, yield, fertility, type of harvest and agricultural management, highlighting, leaf thinning, conduction system and cluster thinning.

According to the results of this study, it is possible conclude that most of the biosynthetic pathways of the aromatic compounds are clearly known. However, the biosynthetic pathway of methoxypyrazines is still unclear. Also, the factors discussed in this study have important effect on the content of aromatic compounds in the berries, and each aromatic compound responds differently to a specific factor.

Key words:

- Methoxypyrazine
- Terpenes
- Norisoprenoid
- Thiol

INTRODUCCIÓN

El vino corresponde a una solución hidroalcohólica que contiene cientos de compuestos que provienen de la uva o de la elaboración del vino y su guarda. En cuanto a los compuestos presentes en la uva, se encuentran los azúcares, ácidos orgánicos, compuestos fenólicos, compuestos nitrogenados, minerales, polisacáridos y compuestos aromáticos (Dharmadhikari, 1994).

Según la norma UNE, el aroma de un alimento es definido como una propiedad organoléptica perceptible por vía indirecta por el órgano olfativo durante la degustación (Chamorro y Losada, 2002). En el vino definir el aroma resulta de una gran complejidad, debido a que principalmente es el resultado final de una larga secuencia biológica, bioquímica y tecnológica, además de tener un elevado número de constituyentes volátiles que se presentan desde algunos nanógramos hasta miligramos por litro (Flanzy, 2003; Sánchez *et al.*, 2007).

Los compuestos aromáticos presentes en bayas de *Vitis vinifera* son fundamentalmente cuatro, que corresponden a las metoxipirazinas, terpenos, norisoprenoides y tioles (Flanzy, 2002; Hidalgo, 2002). Estos compuestos forman parte del aroma primario del vino y otorgan características del tipo varietal.

El contenido de cada uno de estos compuestos depende principalmente de las condiciones de la planta durante el período de maduración de la baya (Belancic y Agosin, 2007), por lo que los factores que inciden en su contenido son variados. Uno de estos, corresponden a factores climáticos (Marais *et al.*, 1991), y dentro de ellos el de mayor relevancia, es la exposición a la luz (Hashizume y Samuta, 1999). Otros factores de igual importancia corresponden a los de tipo agronómico, dentro de los que destacan prácticas tales como la poda (Chapman *et al.*, 2004), deshoje (Zoecklein *et al.*, 1998), sistema de conducción (Sala *et al.*, 2004), riego (Qian *et al.*, 2009) y fertilización (Lisenmeier y Lohnertz, 2007),

Al ser diversos los factores que afectan el contenido de un compuesto aromático, hoy en día existen pocos estudios específicos respecto a los factores que inciden en las rutas biosintéticas de los compuestos responsables en bayas de *Vitis vinifera*, y en algunos casos la información es contradictoria. Debido a lo anterior surge la necesidad de un estudio que recopile la mayor parte de los antecedentes, de modo de entregar una revisión de investigaciones, además de una visión más completa a lo que respecta un compuesto aromático en particular.

Objetivo

Describir las rutas biosintéticas de compuestos responsables de la fracción aromática de bayas de *Vitis vinifera* y analizar los principales factores que inciden en la síntesis de aroma.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de estudio

El estudio se llevó a cabo en las dependencias de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

Materiales

Para cumplir con el objetivo planteado se utilizó todo material relacionado con el tema, como libros, tesis, revisiones bibliográficas y artículos científicos de revistas ISI y SCIELO.

Método

La metodología adoptada en este estudio, consistió en una primera instancia en buscar y recopilar todo el material que pudiese contribuir a la investigación. Una vez obtenido el material, se procedió a leer, y clasificar de acuerdo a su utilidad para la investigación. El material seleccionado fue analizado de modo de extraer la información más consistente, y generar posibles discusiones. Finalizado lo anterior, se comenzó a redactar el escrito de acuerdo a los objetivos propuestos.

Los tópicos analizados fueron los siguientes:

- Descripción de la composición química de la baya.
- Maduración de la baya.
- Factores que afectan los compuestos sintetizados durante la maduración
- Definición de cada compuesto en estudio.
- Ruta de síntesis.
- Localización y clasificación.
- Análisis de los factores que inciden en el contenido de cada compuesto.
- Conclusiones

RESULTADOS

Composición de la baya

La baya de la vid, está compuesta por tres tipos de tejidos, que corresponden a la piel, pulpa y semillas (Figura 1). La composición de cada uno de estos tejidos, puede variar al cambiar el tamaño de la baya, por la relación superficie/volumen (Kennedy, 2002). En relación a la piel, está formada por 6 a 7 capas de células con paredes gruesas, la cual es recubierta por una capa cerosa denominada cutícula, que le otorga protección a la baya. Un segundo tejido corresponde a la pulpa, la cual ocupa un volumen cercano al 60% del total de la baya. Este tejido se caracteriza por poseer células con grandes vacuolas, las cuales contienen el jugo celular. Un último tejido son las semillas que se localizan en el centro, y que contienen el embrión que permitirá perpetuar la especie (Dharmadhikari, 1994).

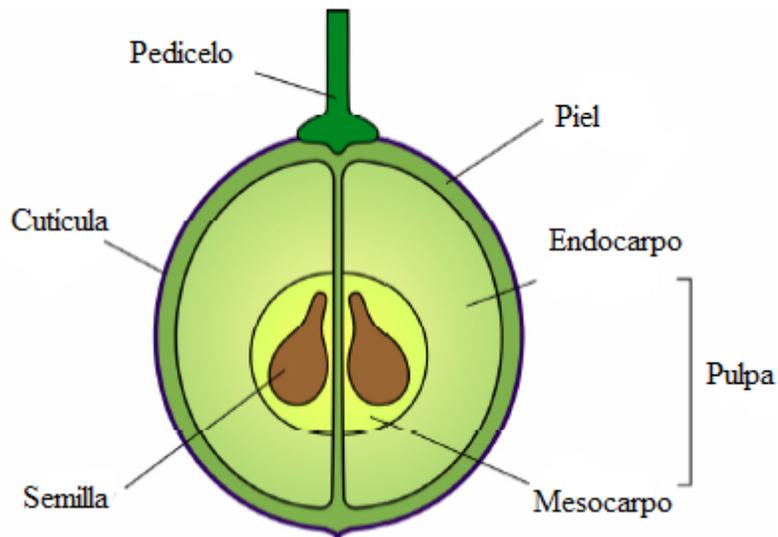


Figura 1. Estructura de la baya (Conde *et al.*, 2007)

La baya se encuentra compuesta principalmente por:

Azúcares: son compuestos que pertenecen al grupo químico de las hexosas (contienen 6 átomos de carbono), y se encuentran esencialmente representados por la glucosa y la fructosa. Estos azúcares son ocupados por las levaduras durante la fermentación alcohólica, obteniéndose etanol y dióxido de carbono.

En la baya también existe la presencia de pentosas tales como la xilosa y la arabinosa, pero estos azúcares no son fermentescibles por las levaduras vínicas (Blouin y Guimberteau, 2003).

Ácidos orgánicos: estos compuestos tienen un efecto favorable en la fermentación, en el “flavor”, color, gusto y envejecimiento del vino (Amerine, 1964), y en la estabilidad tartárica y pH. Los ácidos más importantes son el tartárico, el málico y en menor cantidad el cítrico. En general durante la maduración de la baya, los ácidos disminuyen, pudiendo encontrarse en forma libre o salificada. La disminución se debe a la respiración de estos o a su transformación en azúcares (Hidalgo, 2002).

Compuestos fenólicos: corresponde a un grupo de compuestos que son estructuralmente diversos y presentes en diferentes cantidades. Ellos juegan un papel importante en la determinación del color, astringencia y amargor del vino. También se encuentran involucrados en las reacciones de pardeamiento de las bayas y en el vino tienen un rol clave en el envejecimiento y maduración (Dharmadhikari, 1994).

Compuestos nitrogenados: son compuestos que contienen nitrógeno y pueden estar presentes de forma orgánica e inorgánica tanto en la baya como en el vino. Los compuestos nitrogenados más significativos son los aminoácidos, los péptidos y proteínas. La importancia del contenido de nitrógeno en el mosto se debe a que corresponde a una fuente de nutrientes para las levaduras y bacterias lácticas. Además el nitrógeno influye en la formación de biomasa, la tasa de fermentación y la producción de ciertos productos, que pueden afectar las propiedades sensoriales del vino (Dharmadhikari, 1994). Independiente del grado de madurez, la composición cualitativa y cuantitativa del nitrógeno, depende de numerosos factores vitícolas tales como la naturaleza del suelo, la cepa, el portainjerto, la fertilización nitrogenada, y el estado sanitario (Flanzy, 2003)

Minerales: corresponden a ciertos elementos que proceden del cultivo y son tomados disueltos en agua por las raíces de la vid. Estos se dividen en macroelementos, cuya función es plástica dentro de la fisiología de la vid. En este grupo se incluyen el nitrógeno, fósforo, azufre, potasio, cloro, sodio, calcio y magnesio. El otro grupo corresponde al de los microelementos, los cuales tienen una actividad catalizadora de reacciones, destacando el hierro, zinc, boro, manganeso, níquel, cobalto, aluminio, entre otros. La importancia del estudio de estos elementos es que pueden causar alteraciones sensoriales en el vino (Hidalgo, 2002).

Polisacáridos: estos compuestos pueden poseer diversos orígenes en el vino, y existen diferentes tipos según la sanidad de la uva. Por ejemplo, la uva sana contiene pectinas y gomas, y las uvas botritizadas gomas y glucanos. El polisacárido más importante corresponde a la pectina, la cual está presente en las paredes celulares de pieles y pulpas. Este polisacárido se compone de unidades de ácido galacturónico y su importancia radica que en abundancia imposibilitan algunos procesos tales como la clarificación espontánea y la decantación de los mostos (Blouin y Guimberteau, 2003; Nunan *et al.*, 1998). Con

respecto a los glucanos, estos provocan muchos problemas tales como mayor síntesis de ácido acético, problemas de clarificación y colmatación de filtros (Flanzy, 2002).

Compuestos aromáticos: corresponden a compuestos que están presentes en la baya y que son traspasados al vino. Estos pertenecen al grupo de aromas primarios del vino. En este grupo se encuentran las metoxipirazinas, los terpenos, los norisoprenoides y los tioles (Flanzy, 2003; Hidalgo, 2002). Otros aromas presentes en el vino corresponden a los secundarios y terciarios. Los aromas secundarios, son aquellos producidos por el proceso de fermentación, mientras que los terciarios son los aromas que resultan de la transformación del aroma durante la crianza (Rapp y Mandery, 1986).

Maduración de la baya

La maduración de la baya es un proceso que consta de tres etapas, una etapa previa a la pinta, seguida de una fase de latencia y una última posterior a la pinta (Conde *et al.*, 2007). El crecimiento de la baya sigue una curva del tipo doble sigmoidea (Figura 2).

La primera etapa se caracteriza por presentar un rápido crecimiento del pericarpio, la cual se debe inicialmente a la división celular y a la expansión, y más tarde ocurre solamente por expansión de las células. En esta etapa las bayas acumulan ácidos orgánicos, una pequeña cantidad de azúcar, y se mantienen con una coloración verde. Adicionalmente la baya acumula ácidos hidroxicinámicos, taninos, minerales, aminoácidos y compuestos aromáticos, principalmente metoxipirazinas (Kennedy, 2002) (Figura 2).

La segunda etapa se conoce como una etapa de retraso o latencia del desarrollo, ya que hay una desaceleración del crecimiento, a excepción de las semillas. Luego se reanuda el crecimiento con el inicio de la etapa III, entrando en un período de expansión celular (Dokoozlian y Kliewer, 1996), que coincide con un período de cambio de color de la baya, conocido como pinta. En la etapa III, la baya acumula rápidamente azúcar, y disminuye la concentración de ácidos orgánicos, como por ejemplo el ácido málico (Hunter *et al.*, 1991) (Figura 2).

En cuanto a los azúcares, se acumulan principalmente fructosa y glucosa (Kalua y Boss, 2009), y también se comienzan a producir algunos compuestos aromáticos que contribuyen al componente volátil del “flavor” de las bayas, como algunas clases de terpenos, y también precursores aromáticos (Kennedy, 2002).

Como se mencionó anteriormente dentro de la baya se pueden encontrar compuestos aromáticos tales como metoxipirazinas, terpenos, así como también norisoprenoides y compuestos azufrados (Hidalgo, 2002), los cuales son responsables del aroma varietal presente en el vino. Estos compuestos son importantes ya que imparten características distintivas a las cepas.

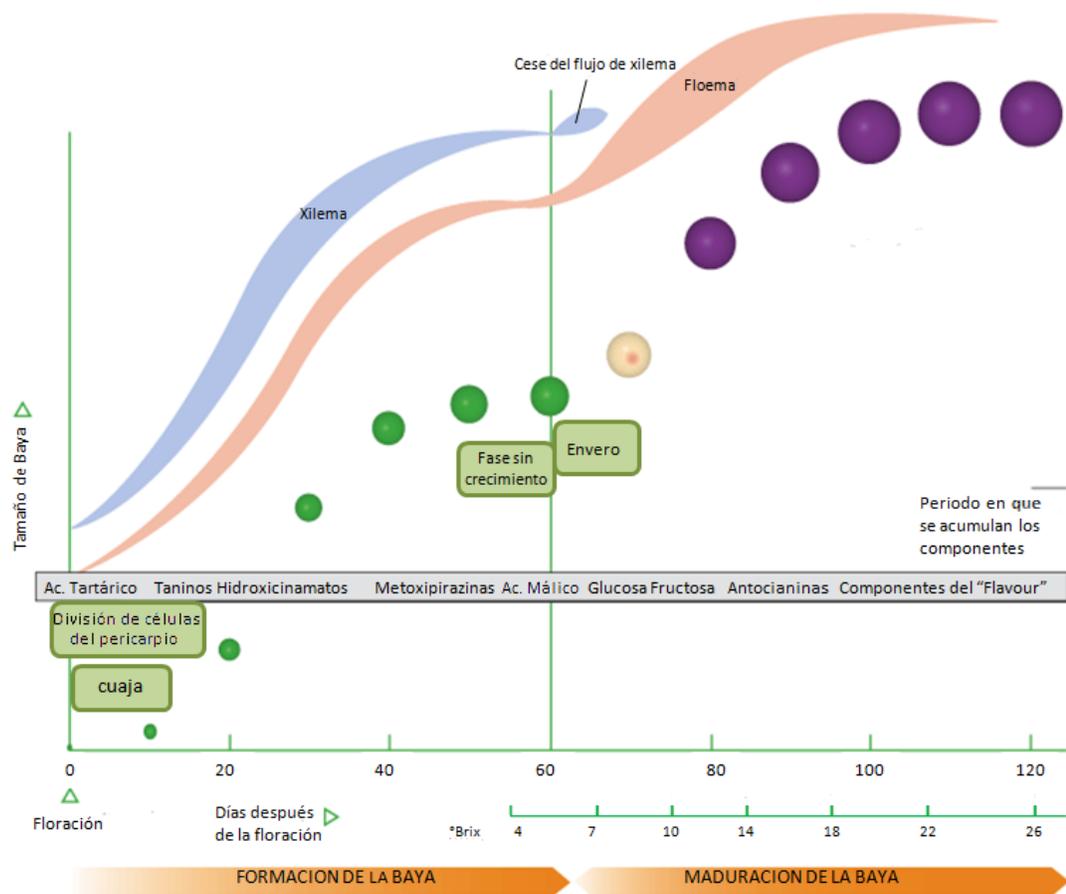


Figura 2. Curva de crecimiento y desarrollo de la baya. El diagrama muestra el tamaño relativo y el color de las bayas en intervalos de 10 días después de floración. También se muestran los períodos en que se acumulan compuestos en la baya (Fuente: Kennedy, 2002).

Factores que afectan los compuestos sintetizados durante la maduración

Exposición a la luz

El efecto que tiene la luz en la planta de *Vitis vinifera* es múltiple, ya sea influyendo los procesos de inducción y diferenciación floral, afectando el proceso fotosintético (Smart *et al.*, 1988) y las rutas de síntesis de metabolitos primarios (azúcares, ácidos orgánicos, aminoácidos) y secundarios (compuestos fenólicos y aromáticos).

Se ha encontrado que la exposición a la luz aumenta generalmente el contenido total de sólidos solubles, antocianos, fenoles, y disminuye la acidez en la baya. Por otro lado se ha encontrado que el aumento de la sombra reduce notablemente la maduración, reduciéndose además el azúcar, los fenoles, y la concentración de antocianos (Smart *et al.*, 1988). También se ha observado que el mayor impacto de la luz en las bayas, en cuanto a la coloración y ablandamiento, sería durante las etapas iniciales del crecimiento, observándose una reducción y retraso de la maduración cuando la fruta se cultiva sin luz en las etapas I y II de crecimiento de la baya (Dokoozlian y Kliewer, 1996).

En cuanto al sombreado, algunos autores han encontrado retrasos en la maduración cuando las bayas se encuentran bajo estas condiciones (Smart, 1985; Reynolds *et al.*, 1986). Coinciden con lo anterior Morrison y Noble (1990) al encontrar una disminución del crecimiento y una tasa de acumulación de azúcares más lenta en condiciones de mayor sombreado.

Manejos agronómicos

Para mejorar la luminosidad en la planta, existen diferentes manejos, dentro de los que se incluyen el deshoje, desbrote, sistema de conducción, etc., así como también otros tratamientos para mejorar la carga frutal de la planta como el raleo de racimos

El deshoje, es una técnica utilizada para mejorar la luminosidad, el microclima del racimo y la ventilación en la planta, el cual afecta las características de la baya. Se ha encontrado que las bayas expuestas tienden a tener mayor contenido de sólidos solubles, y baja acidez en comparación de aquellas protegidas (Kliewer y Bledsoe, 1987). Poni *et al.* (2006), encontraron que la composición de la baya fue mejorada con la eliminación de hojas, observando un aumento de los asimilados disponibles y un aumento de la relación pulpa/piel, que se tradujo en una mayor concentración de antocianos y taninos.

Con respecto al sistema de conducción en la planta de vid, este involucra una manipulación de la forma de la planta, observándose diferencias en el área foliar y consecuentemente, en la habilidad de la planta para fotosintetizar. Adicionalmente alterando el microclima de la

canopia, el sistema de conducción tiene muchos impactos como en la diferenciación de la yema, exposición del racimo, en el estado hídrico de la planta y en la transpiración de las hojas. Lo anterior tiene gran influencia en el rendimiento y en las características de la composición de la baya (Reynolds y Vanden Heuvel, 2009).

En cuanto al raleo de racimos, éste consiste en eliminar racimos, afectando la relación fuente sumidero. Esta técnica es utilizada para mejorar el balance entre el crecimiento vegetativo y la carga frutal de la planta, con el objeto de estabilizar el rendimiento y mejorar las características de la baya (Palliotti y Cartechini, 2000).

Clima

En vitivinicultura, el clima ha sido descrito en tres niveles, un nivel macro a escala regional, un segundo nivel denominado mesoclima a escala de sitio y un tercer nivel que corresponde al microclima de la canopia (Deloire *et al.*, 2005, citado por Mehmel, 2010). El macroclima es descrito en un área amplia o en una región por un largo periodo usando datos anuales, estacionales y de meses. El mesoclima es más específico debido a las diferencias de altitud, inclinación de la pendiente, distancia a los cuerpos de agua y es usado para describir el clima específico de un viñedo, mientras que el microclima está estrechamente relacionado con la canopia y abarca las condiciones ambientales de luz, temperatura, humedad y lluvia, y tiene un efecto pronunciado en la composición y calidad del vino (Marais *et al.*, 1999).

El estudio de este factor en las investigaciones existentes se ha relacionado estrechamente a las temperaturas de un lugar en especial. Según las condiciones climáticas que se presenten en una zona, la composición de la baya varía, por lo que los aromas también. Por ejemplo se ha encontrado que el aroma vegetativo característico de Sauvignon blanc es mejorado bajo condiciones de temporadas frías (Marais, 1994).

Algunos autores tales como Marais *et al.* (2001), han intentado construir un modelo para predecir la calidad aromática tanto de las uvas como la de los vinos, basándose en datos del microclima de una zona específica.

Altitud

La importancia del estudio de este factor se debe a que dependiendo de la ubicación del viñedo, hay factores climáticos asociados que varían. Uno de los factores de mayor consideración corresponde a la temperatura, ya que tiene una importante influencia en la fenología de las plantas, y ésta disminuye con el aumento de la altitud. Se ha encontrado que la temperatura disminuye alrededor de 0,6 °C cada 100 metros (Barry, 1981; citado por Ziello *et al.*, 2009).

Otros efectos asociados con el incremento de la altitud son: disminución progresiva de la superficie de terreno, disminución de la presión atmosférica e incremento de la radiación solar durante condiciones de cielo despejado (Korner, 2007).

Vigor y Riego

El vigor en la planta puede ser medido por el tamaño, el diámetro de brote, número de brotes, largo de entrenudos, largo de brotes y número de racimos (Peña-Neira *et al.*, 2004), y es afectado por el riego, el potencial del suelo, el sistema de conducción, la fertilización, el vigor genético propio de cada cultivar, entre otros factores.

Se ha encontrado que un alto vigor después de envero reduce la calidad de la baya, debido a la competencia por los fotoasimilados entre el crecimiento de los brotes y el rápido crecimiento de las bayas durante la etapa III de crecimiento de la baya (Bravdo, 2001).

En cuanto al riego, ésta es una práctica que consiste en suministrar agua a la planta, y tiene un efecto directo en el turgor de la célula, el cual controla el crecimiento vegetativo así como también el crecimiento de la baya. El control del turgor durante la temporada de crecimiento permite regular la carga del cultivo (Bravdo, 2001).

En relación a lo anterior, se han realizado estudios con el objeto de correlacionar el estado hídrico de la planta con los perfiles aromáticos que pueda presentar el vino. En esta materia, Chapman *et al.* (2005), realizaron un estudio en el cual se midieron los atributos sensoriales de vinos de la variedad Cabernet Sauvignon de vides con diferentes estados hídricos, encontrando que los vinos con un tratamiento de riego mínimo presentaron aromas a frutos rojos y mora, pasas, mermelada y bayas cocidas, y aquellos con tratamiento de riego presentaron perfiles aromáticos que correspondieron más al de tipo vegetal.

Rendimiento

En la vid el incremento del rendimiento tiende a disminuir la calidad del vino, y a su vez puede tener un efecto perjudicial para la vida de la planta en términos de largo plazo (Springett, 2001). Se ha observado que el sobre rendimiento atrasa la maduración, retiene la acidez, la síntesis de antocianos, la acumulación de azúcar, y limita el desarrollo del “flavor”, disminuye los rendimientos posteriores y acorta la vida de la planta. Otras investigaciones también concuerdan en que una sobre carga conlleva a una reducción de las características del vino, disminuye la intensidad del color, cenizas totales, contenido de prolina, aminoácidos y reduce la fertilidad de yemas (Bravdo *et al.*, 1984).

Fertilización

La fertilización es una práctica utilizada para manejar el estado nutricional de la planta. La fertilidad del suelo depende principalmente del agua, nitrógeno disponible, y su relación con la profundidad del suelo. Una limitación en el nitrógeno reduce el vigor, el peso de la baya y el rendimiento e incrementa el azúcar de la baya, el contenido de antocianos y taninos (Kliewer, 1971).

Se ha encontrado que un aumento en la nutrición de las plantas conduce a un aumento en el vigor y altos rendimientos, disminuyendo las características organolépticas del vino (Jackson y Lombard, 1993; Spayd *et al.*, 1993).

En cuanto al nitrógeno se ha observado que un alto contenido de nitrógeno lleva a una mayor acidez, y altos niveles de antocianos (Ewart y Kliewer, 1977). Otros autores han encontrado que un aumento en la fertilización nitrogenada, conlleva a un retraso en la acumulación de sólidos solubles, además de un aumento del pH tanto para el mosto y vino (Spayd *et al.*, 1994). Christensen *et al.* (1994), también observaron una disminución en el contenido de sólidos solubles con el aumento de la fertilización nitrogenada. Un exceso de fertilización causa efectos indeseados en la composición de la baya y del vino, puesto que afectaría la maduración de la baya. Sin embargo, es necesaria para la fructificación de la vid, y en los mostos tiene efecto sobre la fermentación para las levaduras.

Tipo de Cosecha

Existen dos tipos de cosechas para los viñedos, que corresponden a la cosecha manual y la cosecha mecanizada. La cosecha mecanizada es una técnica que permite reducir los costos, pero esto depende de la ubicación del viñedo, el valor de la cosecha, la disponibilidad y costo de la mano de obra, además de la eficiencia de la eliminación de frutos (Clary *et al.*, 1990). Los beneficios de este tipo de cosecha es que permite una rápida recolección en un tiempo óptimo, el traslado es rápido.

La cosecha manual en comparación con la anterior, posee beneficios para los cultivares de piel delgada que tienden a romperse fácilmente, tales como Semillón, permitiendo seleccionar las bayas, descartando las inmaduras, las pasificadas y las podridas. Sin embargo las desventajas que posee es que tiene un costo más elevado, es lenta, se detiene con el mal tiempo y no es continua (Jackson, 2008).

METOXIPIRAZINAS

1.1 Definición

Las metoxipirazinas son compuestos nitrogenados que proceden del metabolismo de los aminoácidos (Conde *et al.*, 2007), tales como la valina y leucina (Mc Iver *et al.*, 1986; Gallois *et al.*, 1998, citado por Hashizume *et al.*, 2001). Estos compuestos son importantes en variedades tales como Cabernet Sauvignon, Merlot, Sauvignon blanc (Méndez *et al.*, 2008) y Carménère (Belancic y Agosin, 2007).

1.2 Ruta de síntesis

La biosíntesis de metoxipirazinas, en plantas aún es poco clara (Vallarino *et al.*, 2011). Sin embargo existe una hipótesis al respecto, la cual fue propuesta por Murray (1975). En un primer paso involucraría una reacción de condensación en una especie de alfa-dicarbonilo con una cadena ramificada aminoácida (por ejemplo leucina) (Figura 3A) o con su correspondiente amida del aminoácido para formar 3-alkil-2-hidroxipirazina y su tautómero 3-alkil-2-hidroxipirazinona (Figura 3B). El último paso correspondería a una metilación de dichas formas, en la cual estaría a cargo la enzima *O*-metiltransferasa, en presencia de la *S*-adenosil-*L*-metionina como grupo donador del metil (Hashizume *et al.*, 2001). La acción de la *O*-metil transferasa estaría regulada por la acción de dos genes (Vallarino *et al.*, 2011). Los productos finales serían 3-alkil-2-metoxipirazina (Figura 3C) y *S*-adenosilhomocisteína

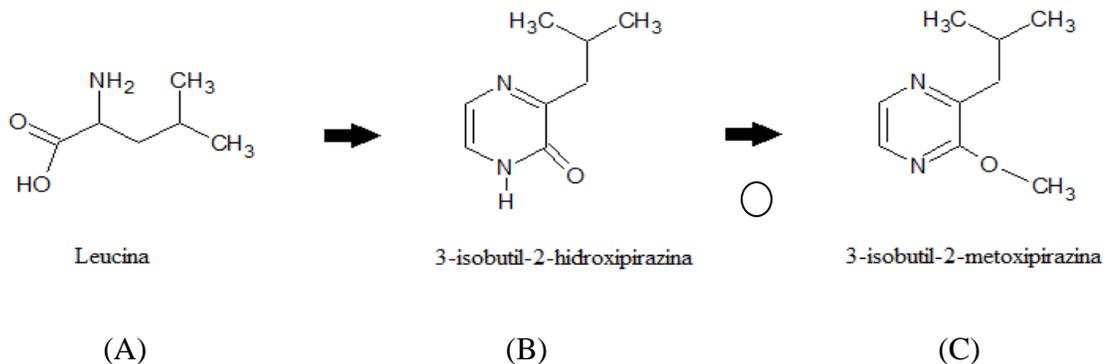


Figura 3. Síntesis de la 3-isobutil-2-metoxipirazina, a partir del aminoácido leucina.
 ○ Intervención de la enzima *O*-metiltransferasa, en presencia de la *S*-adenosil-*L*-metionina como grupo donador de metil (Fuente: Eggers, 2006).

En relación a su degradación Ryona *et al.*, (2010), proponen que existiría un paso inverso, en el cual la 3-isobutil-2-metoxipirazina se desmetilizaría a 3-isobutil-2-hidroxipirazina, o a su isómero 3-isobutil-2-hidroxipirazinona durante la maduración de la baya (Figura 4).

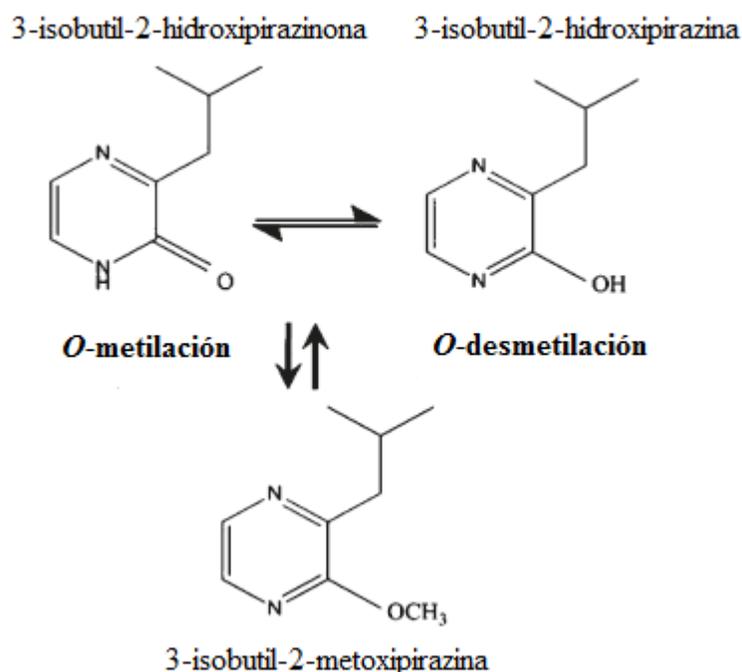


Figura 4. Último paso de biosíntesis y degradación propuesto por Ryona *et al.* (2010), a través de reacciones de *O*-metilación y *O*-desmetilación. Se propone tanto como para 3-isobutil-2-hidroxipirazina y su tautómero 3-isobutil-2-hidroxipirazinona.

1.3 Localización y clasificación en bayas de *Vitis vinifera*

Las metoxipirazinas se localizan en mayor porcentaje en pieles (67%) y semillas (32%), y en una pequeña cantidad en la pulpa (1%) (Roujou de Boubée, 2002), acumulándose esencialmente en la primera etapa de maduración de la baya (Kennedy, 2002) (Figura 5). Roujou de Boubée (2003), encontró que la síntesis de metoxipirazinas en bayas de la variedad Cabernet Sauvignon, parecía ocurrir entre la cuaja de la baya y dos a tres semanas antes de la pinta, encontrando que estos compuestos además se localizan tanto en hojas y bayas antes de la pinta, postulando a que el transporte de estos compuestos podría ser desde las hojas vía floema.

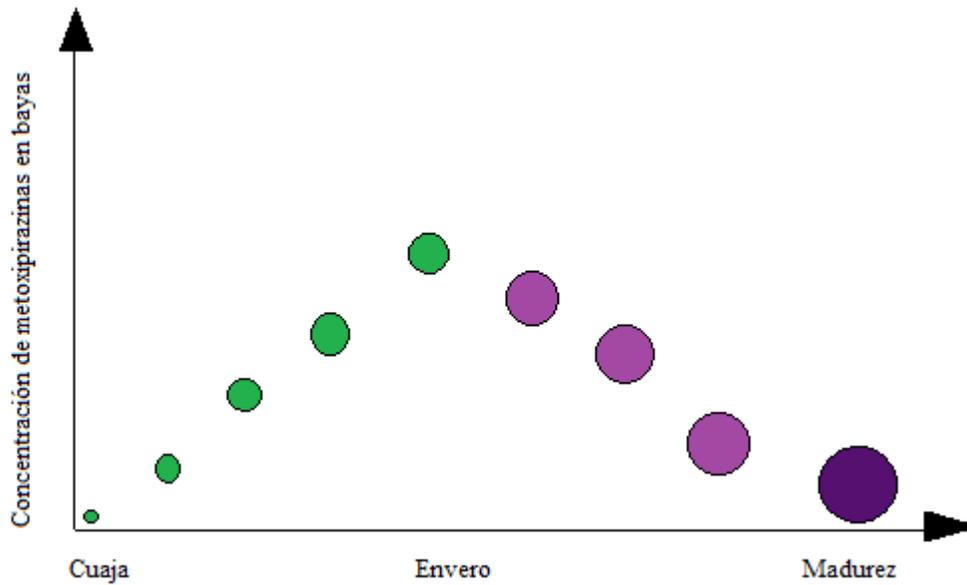
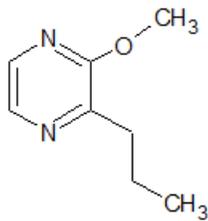


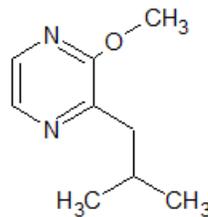
Figura 5. Acumulación de metoxipirazinas y degradación en bayas con el tiempo. El cambio de color es debido a la pinta, y el de tamaño se debe al crecimiento de la baya (Fuente: Fertel, 2011).

En bayas de *Vitis vinifera* se han identificado principalmente tres metoxipirazinas que corresponden a 3-isobutil-2-metoxipirazina (IBMP), 3-secbutil-2-metoxipirazina (SBMP) y por último la 3-isopropil-2-metoxipirazina (IPMP) (Figura 6) (Allen *et al.*, 1995).

3-isopropil-2-metoxipirazina



3-isobutil-2-metoxipirazina



3-secbutil-2-metoxipirazina

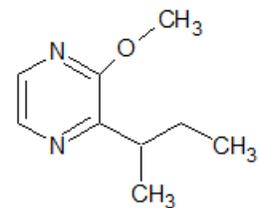


Figura 6. Nombre y representación química de las tres metoxipirazinas más importantes en bayas de *Vitis vinifera* (Fuente: Sala *et al.*, 2004).

En el cuadro 1 se resumen las características de las tres metoxipirazinas más importantes en *Vitis vinifera*.

Cuadro 1. Características de las tres metoxipirazinas más importantes en *Vitis vinifera*.

Compuesto	Umbral sensorial en agua (ng/L)	Umbral sensorial en vino (ng/L)	Descriptor	Referencias
IBMP	2	10-15	Verde- Pimiento Verde-Vegetal	Allen <i>et al.</i> , 1988; Maga, 1990; Seifert <i>et al.</i> , 1970; Roujou de Boubée <i>et al.</i> , 2000; Kotseridis <i>et al.</i> , 1988.
IPMP	2	2	Tierra- Espárrago- Papas	Maga, 1990; Boelens y Germet, 1995; Maga, 1989; Kotseridis <i>et al.</i> , 1999; Seifert <i>et al.</i> , 1970
SBMP	1	muy por debajo del umbral de detección	Verde-Pimiento-Hojas de Hiedra	Boelens y Germet, 1995.- Maga, 1989; Mihara y Masuda, 1988; Murray <i>et al.</i> , 1970; Murray y Whitfield, 1975.

Como se ha descrito anteriormente, las metoxipirazinas aportan al vino aromas herbáceos, y además están presentes en otros vegetales tales como arvejas, papas y remolachas (Marais, 1994). Su aroma es generalmente asociado al pimiento, hojas, hojas de hiedra, vegetal, arvejas, espárragos, ginseng, asado y rancio (Sala *et al.*, 2004). Los aromas a pimiento verde se consideran más típicos de la IBMP, mientras que los de espárrago a la IPMP (Sala *et al.*, 2004).

1.4 Factores que inciden en el contenido de metoxipirazinas en las bayas

Los factores que pueden afectar la presencia de metoxipirazinas en las bayas son variados. Dentro de ellos se encuentran el clima, suelo y estado de madurez de la baya (Belancic y Agosin, 2007). En el clima se encuentran las condiciones de temperatura (Lacey *et al.*, 1991) y luz (Ryona *et al.*, 2008, Hashizume y Samuta, 1999). En el suelo la disponibilidad de agua y la fertilidad. Otros factores son la densidad de plantación (Sala *et al.*, 2005), el sistema de conducción (Sala *et al.*, 2004), el riego (Sala *et al.*, 2005), vigor (Sala *et al.*, 2005; Noble *et al.*, 1995), rendimiento (Chapman *et al.*, 2004), prácticas culturales tales como la poda (Roujou de Boubée *et al.*, 2002), raleo de racimos (Roujou de Boubée, 2002), deshoje (Scheiner *et al.*, 2010). También tendrían efecto en el contenido final en el vino, las técnicas de vinificación dadas por el tiempo de contacto de las pieles con el mosto.

Esta revisión se enfocará principalmente en los factores más estudiados que son la exposición a la luz, el clima, altitud, vigor y rendimiento.

Exposición a la luz

Diversos estudios han demostrado que la luz afecta el contenido de metoxipirazinas en las bayas. Ryona *et al.* (2008), evaluaron el efecto de la exposición en la acumulación y degradación de IBMP en la variedad Cabernet Franc. Los brotes de 27 vides fueron eliminados con el fin de crear regiones con alta y baja exposición a la luz dentro de la planta. Los resultados obtenidos muestran que los racimos con mayor exposición a la luz presentaron menores concentraciones de IBMP en la etapa previa a la pinta. Sin embargo no se observó una degradación de la IBMP, después de la pinta, lo cual indicaría que la luz del sol es fundamental para la acumulación de IBMP, pero no para la degradación.

De la misma forma, un estudio realizado por Roujou de Boubée *et al.* (2000), encontró la misma tendencia al observar una disminución en el contenido de IBMP, en las variedades Cabernet Sauvignon y Merlot, al aplicar distintos tratamientos tales como, desbrote, eliminación de laterales, eliminación de hojas y raleo de racimo. Según estos autores, es importante llevar a cabo la eliminación de hojas tempranamente (cuaja a pinta), ya que después, se corre el riesgo de cosechar bayas con un marcado aroma vegetal.

Del mismo modo, Sala *et al.* (2004), evaluaron la influencia del sistema de conducción (sistema en espaldera y sistema globet) y la exposición a la luz sobre el contenido de metoxipirazinas en bayas de Cabernet Sauvignon. El tratamiento de sombreado consistió en proteger los racimos artificialmente. Los autores encontraron que el contenido de IBMP disminuyó en las bayas con mayor exposición, concluyendo que los racimos que fueron protegidos de la luz desde principio de pinta, resultaron en vinos con un contenido significativamente mayor de metoxipirazinas.

Coincidiendo con los estudios anteriores Scheiner *et al.* (2010), encontraron que la eliminación temprana de hojas basales (10 a 40 días después de anthesis), reducía la acumulación de IBMP en Cabernet Franc y Merlot en la etapa previa a la pinta.

En relación al mismo tema Hashizume y Samuta (1999), evaluaron los efectos del desarrollo de la baya y la exposición a la luz en la concentración de metoxipirazinas (IPMP e IBMP), en las variedades Cabernet Sauvignon, Merlot, Pinot Noir, Muscat Bailey, Semillon, Sauvignon blanc, Chardonnay y Riesling, bajo el efecto de luz artificial y una solución de cloruro de calcio, la cuál podría inhibir la formación de metoxipirazinas en bayas. Los resultados mostraron que la concentración de metoxipirazinas en bayas inmaduras fue mayor que en bayas maduras y su concentración dependió del cultivar. Otro resultado fue que la concentración de metoxipirazinas aumentó en bayas inmaduras (30 días después de anthesis) y expuestas a luz fluorescente. Por otro lado, en las bayas muestreadas a los 50 a 70 días después de anthesis, disminuyó la concentración de metoxipirazinas bajo la misma condición de luz fluorescente. Un segundo tratamiento consistió en tratar bayas inmaduras en una solución de cloruro de calcio, encontrándose que la concentración de metoxipirazinas se mantuvo estable en ausencia de luz, pero no así en presencia de luz, ya que la concentración disminuyó. Los autores concluyeron que la luz tendría dos efectos

opuestos en la concentración de metoxipirazinas en bayas, promoviendo la formación en bayas inmaduras y fotodescomponiendo en bayas maduras.

Del mismo modo, Gómez (2010), estudio el efecto de la luz solar sobre la concentración de metoxipirazinas en bayas de la variedad Carménère, concordando en que la luz solar afecta la concentración de metoxipirazinas, y que además el momento fenológico de exposición a la luz es determinante en el comportamiento de metoxipirazinas.

Clima

Los estudios existentes respecto a la influencia de la temperatura en el contenido de metoxipirazinas en bayas son escasos y se han referido principalmente a los climas existentes en las zonas evaluadas.

Marais *et al.* (1999), encontraron que los niveles de metoxipirazinas en la variedad Sauvignon blanc fueron mayores en las regiones con climas más fríos (Elgin, Winckler II) y con tratamiento de sombreado. Coincidiendo con lo anterior, Lacey *et al.* (1991) encontraron que las bayas provenientes de zonas frías, en este caso Adelaida, Australia (temperatura promedio 19,4°C) tuvieron el mayor contenido de metoxipirazinas (8,6 a 15,9 ng/L), en comparación a las otras zonas evaluadas que presentaban mayor temperatura promedio.

Altitud

En metoxipirazinas se ha evaluado este efecto relacionándolo estrechamente a la variación de la temperatura según la altitud y el estudio de este factor ha sido escaso.

Falcao *et al.* (2007), evaluaron la influencia de la temperatura en cinco viñedos de diferentes altitudes en la concentración de IBMP en la variedad Cabernet Sauvignon durante dos temporadas. El estudio se llevó a cabo en Santa Catarina (Brasil) y los viñedos estudiados se ubicaron a las siguientes altitudes: 1415 metros, 1350 metros, 1160 metros, 960 metros y 774 metros. Los resultados muestran que la concentración de IBMP fue mayor a los 1415 m de altitud, el cual presentó las temperaturas más bajas (por ejemplo en la temporada 2004, 11°C promedio en el invierno y 15,8°C en verano). Otra observación es que se obtuvo una correlación positiva entre la altitud del viñedo y el contenido de metoxipirazinas.

Vigor

Es importante mencionar, que el vigor es un efecto del riego, y que el mismo induce un mayor crecimiento de la planta.

Sala *et al.* (2005), sometieron a vides de la variedad Cabernet Sauvignon a dos tratamientos. El primero consistió en un control (sin riego) y el segundo en riego de 6 L/hora por un total de 4 horas a la semana durante 6 semanas (durante el período de maduración de la baya). Ellos encontraron que las vides que fueron sometidas al tratamiento de riego, presentaron un contenido más alto de metoxipirazinas (3,9 ng/L de 3-isobutil-2-metoxipirazina a la cosecha), que aquellas que no fueron regadas.

El mismo efecto fue observado por Tandonnet *et al.* (1996) al someter a las vides a distintas condiciones de riego, encontrando que el riego condujo a un incremento significativo en la concentración de IBMP en los vinos, ya que habría inducido vigor en las plantas. En relación al mismo tema, Noble (1995) encontró una fuerte correlación entre el alto vigor, la baja intensidad lumínica del follaje y la alta intensidad del aroma vegetativo, relacionado con la concentración de IBMP en Cabernet Sauvignon.

Rendimiento

En cuanto a este factor, existen pocos estudios y se ha evaluado su efecto principalmente de forma sensorial, asociando los aromas vegetales a la presencia de metoxipirazinas.

Una investigación realizada por Chapman *et al.* (2004a) en la que se evaluaron los atributos sensoriales de vinos Cabernet Sauvignon de vides con diferentes rendimientos, encontraron que los vinos elaborados con uvas provenientes de vides que fueron podadas a menor número de yemas (bajo rendimiento), presentaron más aromas a vegetal, aromas a pimiento, amargor y astringencia en comparación de aquellos vinos provenientes de uvas de vides con mayores rendimientos, donde predominaron los aromas afrutados. En los diferentes tratamientos de raleo de racimo, se observó que en el tratamiento con mayor rendimiento, la astringencia y amargor disminuyeron, sin tener variaciones en los aromas. Los autores concluyeron que cuando el rendimiento es manipulado por la poda, hay menor rendimiento y los vinos son más astringentes, más vegetales y menos afrutados. En cambio cuando el rendimiento es manipulado por el raleo de racimo, hay poco efecto en el aroma del vino, es decir, la poda de invierno es una manera eficaz para modificar los atributos del aroma del racimo.

Otro estudio realizado por Chapman *et al.* (2004b), en que se evaluó el efecto del rendimiento al aplicar diferentes tratamientos de poda de invierno a vides de la variedad Cabernet Sauvignon, encontró que los tratamientos de poda afectaron directamente el rendimiento, y que el aumento del rendimiento, disminuyó la concentración de IBMP. Los resultados indicaron que la concentración de IBMP en vinos de la variedad Cabernet Sauvignon está en función inversa al rendimiento del cultivo.

TERPENOS

2.1. Definición

Los terpenos constituyen el mayor grupo de productos secundarios en las plantas y derivan de la unión de elementos de cinco carbonos que contienen un esqueleto carbonado ramificado del isopentano. Su elemento estructural básico se conoce como isopreno (Taiz *et al.*, 2006). Los terpenos además de contribuir al aroma en las plantas, también están involucrados en procesos importantes tales como estructuras de membrana, reguladores de crecimiento y en la defensa o respuesta al estrés de la planta (Schwab *et al.*, 2008).

2.2. Ruta de síntesis

Los terpenos se sintetizan a partir de metabolitos primarios, a través de dos rutas, la del ácido mevalónico, donde tres moléculas de acetil- CoA se condensan para formar ácido mevalónico que reacciona hasta formar isopentil difosfato (IPP). La segunda ruta es a partir del metileritritol fosfato (MEP), que genera también IPP. La primera ruta ocurre en el citosol y la segunda en los cloroplastos.

El isopentil difosfato y su isómero dimetilalil difosfato (DMAPP) son los precursores en la biosíntesis de terpenos en reacciones de condensación catalizadas por una serie de enzimas prenil transferasas (geranil difosfato sintasa, farnesil difosfato sintasa, geranilgeranil difosfato sintasa), que darán lugar a los prenil difosfatos tales como el geranil difosfato (GPP), precursor de monoterpenos, el farnesil difosfato (FPP) precursor de sesquiterpenos y el geranil difosfato (GGPP), precursor de diterpenos (Figura 7).

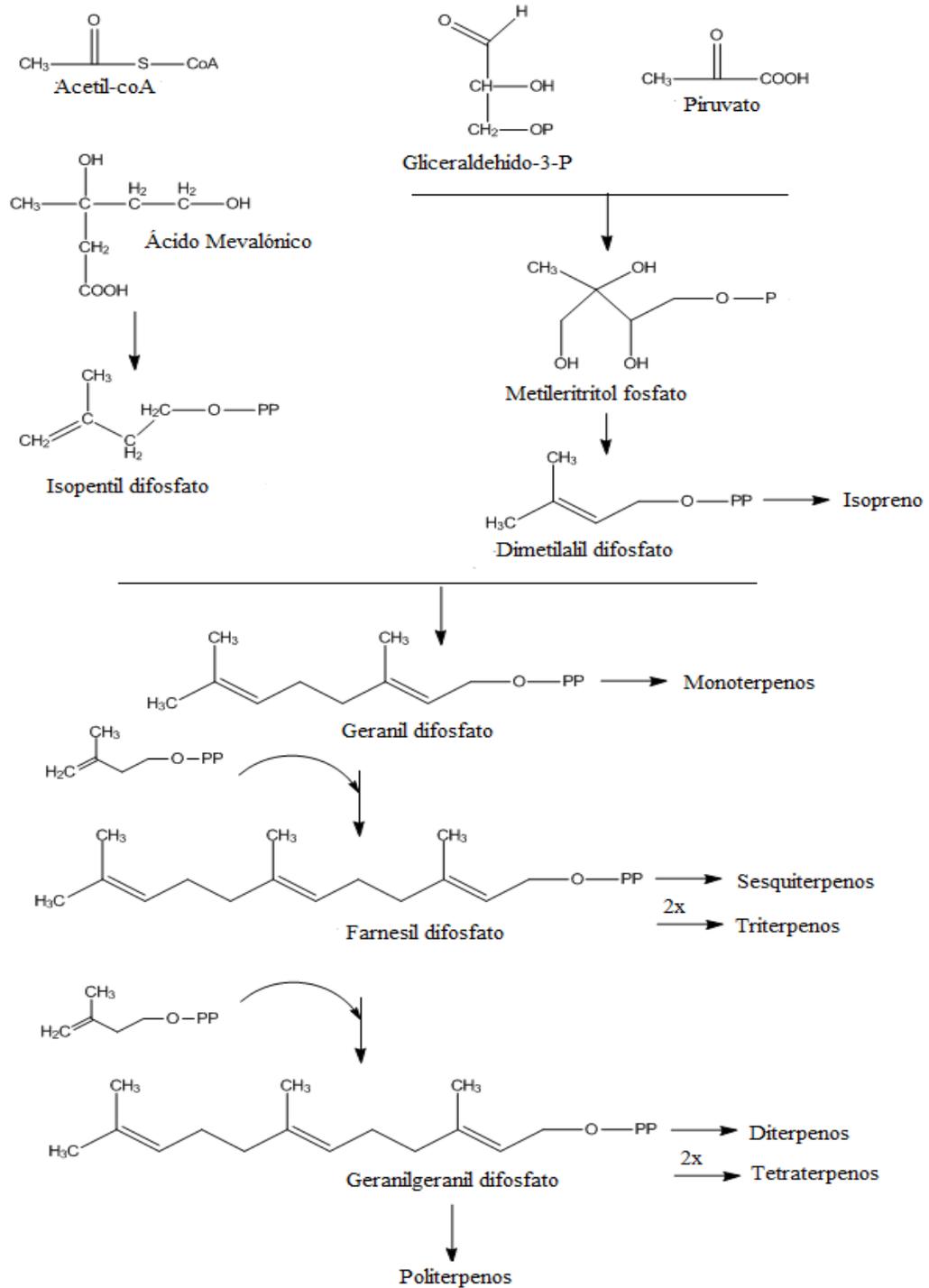


Figura 7. Síntesis y clasificación de terpenos según la unidad de isopreno que contienen (Fuente: Ávalos y Pérez-Urria, 2009).

2.3. Localización y clasificación en bayas

Los terpenos se ubican fundamentalmente en las últimas capas de células de la piel de la baya, tocando casi toda la pulpa. Sin embargo, en variedades muy aromáticas (Moscatel), también se encuentran en la pulpa (Hidalgo, 2003). Se ha observado que además se encontrarían en las hojas de la vid, bajo forma glicosilada combinada, siendo precursores de los terpenos libres aromáticos. En general, todos los terpenos ligados están presentes en la baya cuando esta se encuentra inmadura, y comienzan a liberarse con la maduración, empezando a ser detectables al comienzo de la pinta. La acumulación de terpenos libres volátiles y de terpenos potencialmente volátiles procede en paralelo con la acumulación de azúcar, descartándose una dependencia mutua entre ambos procesos.

El 90% de los terpenos se encontraría de la forma ligada, mientras que solo un 10% estaría de forma libre. Su distribución en las pieles y pulpa cambia constantemente durante la maduración de la baya (Park *et al.*, 1991). Con respecto a este tema Wilson *et al.* (1986), estudiaron la distribución de monoterpenos en las variedades Moscatel de Alejandría, Frontignac blanco y Traminer, concluyendo que tanto el aroma libre como el potencial no solo estaría en las pieles sino que también en el jugo y su distribución dependería de la variedad.

Según Kalua y Boss (2009), la síntesis de terpenos en el caso de la variedad Cabernet Sauvignon, predominarían en la etapa temprana del desarrollo de la baya (postcuaaja), lo cual indicaría que estos compuestos se sintetizarían en esta etapa, ya sea como precursores o productos finales.

Los terpenos se clasifican según el número de átomos de carbono que posea el compuesto, siendo los más simples, los monoterpenos ($C_{10}H_{16}$) con 10 átomos de carbono, seguido de los sesquiterpenos ($C_{15}H_{24}$), con más de 15 átomos de carbono, los diterpenos ($C_{20}H_{32}$), con 20 átomos de carbono, luego vienen los triterpenos ($C_{30}H_{48}$), con 30 átomos de carbono, los tetraterpenos ($C_{40}H_{56}$), con 40 átomos de carbono (se encuentran los carotenoides) y por último los politerpenos, que contienen más de 8 unidades de isopreno.

En la baya de *Vitis vinifera* los monoterpenos son los más importantes, y se pueden encontrar en forma de aldehídos, ácidos, ésteres e hidrocarburos simples (Hidalgo, 2003). Los monoterpenos con mayores propiedades odorantes en las bayas son los terpenoles, y dentro de estos, se encuentran el linalol, alfa-terpineol, citronelol, nerol, geraniol y el hortenol (Conde *et al.*, 2007) (Figura 8). En cuanto a los aldehídos terpénicos destacan el geraniol, el neral o citronelal. De los hidrocarburos terpénicos, existe el limoneno, p-cimeno, y el α -terpineno.

Existen también formas polihidroxiladas de monoterpenos, o polioles odorantes libres. La característica más significativa de los polioles es que, a pesar de que estos compuestos no tienen ninguna contribución directa al aroma, algunos de ellos son reactivos y se pueden

liberar con gran facilidad para dar volátiles potentes y agradables. Por ejemplo el diendol, puede dar ho-trienol y oxido de nerol (Mateo y Jiménez, 2000).

Cuadro 2. Características de los monoterpenos más importantes en *Vitis vinifera*.

Monoterpenos	Umbral sensorial	Descriptor	Referencia
Linalol	100 µg/L	Rosa	Rapp y Mandery, 1986.
α-terpineol	400-500 µg/L	Herbáceo	Ribéreau-Gayon, Boidron y Terrier, 1975
Citronelol	2-12 µg/L	Cítrico	Ribéreau-Gayon, Boidron y Terrier, 1975
Nerol	400-500 µg/L	Rosa	Ribéreau-Gayon, Boidron y Terrier, 1975
Geraniol	100 µg/L	Pelargonio	Ribéreau-Gayon, Boidron y Terrier, 1975
Ho-trienol	110 µg/L	Tilo	Simpson, 1979

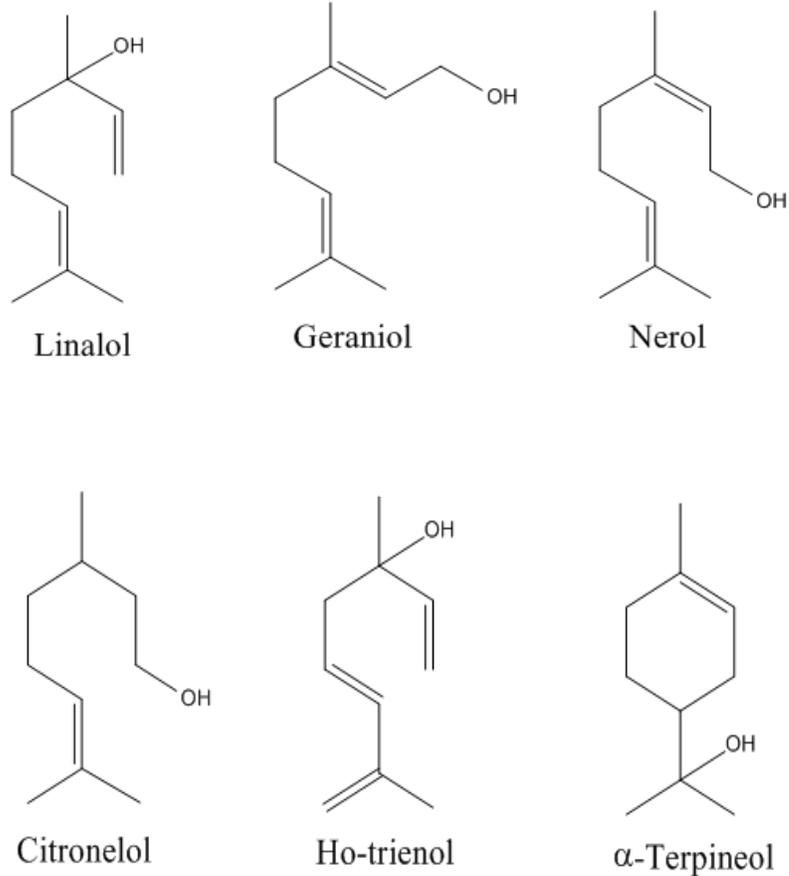


Figura 8. Los monoterpenos más importantes en *Vitis vinifera* (Fuente: Hidalgo, 2003).

Existe una clasificación de las variedades de vid basada en la concentración de monoterpenos, la que se divide de la siguiente manera: 1) Variedades Moscateles de “Flavor” intenso, en la cual la concentración total de monoterpenos libres puede ser mayor a 6 mg/L; 2) Variedades no Moscateles pero aromáticas con una concentración total de monoterpenos de 1-4 mg/L, se incluyen las variedades Traminer, Huxel y Riesling; 3) Variedades neutras que no dependen de la concentración de monoterpenos para su “flavor”, se incluyen numerosas variedades tales como Cabernet Sauvignon, Sauvignon blanc, Merlot, Syrah y Chardonnay (Conde *et al.*, 2007; Mateo y Jiménez, 2000; Versini *et al.*, 1989).

2.4. Factores que inciden en el contenido de terpenos en la baya

Exposición a la luz

Según los diversos estudios, la tendencia es que las bayas con mayor exposición a la luz presentan un mayor contenido de terpenos. Con respecto a lo anterior, Zoecklein *et al.* (1998), evaluaron el efecto de la eliminación de hojas en la zona frutal en bayas de la variedad Riesling. El tratamiento fue aplicado desde la segunda a la tercera semana después de floración. En este trabajo se observó que el deshoje incrementó el porcentaje de penetración de la luz dentro de la canopia en la zona frutal, obteniéndose que las concentraciones de monoterpenos ligados (nerol, geraniol y linalol), fueran mayores en el tratamiento en que se aplicó un tratamiento de deshoje.

Reynolds y Wardle (1997), también coinciden con la tendencia, al investigar el efecto de la exposición en la acumulación de monoterpenos en las bayas. Ellos sometieron a tres tratamientos de exposición a la luz a vides de la variedad Gewürztraminer. Estos tratamientos consistieron en dejar el racimo totalmente expuesto, parcialmente expuesto y totalmente sombreado. Los autores señalaron que las concentraciones de terpenos volátiles y potencialmente volátiles fueron mayores en racimos completamente expuestos a través del curso de la maduración, encontrando el pico de las concentraciones a los 20 días después de pinta. Los mismos autores, observaron que el contenido de terpenos potencialmente volátiles fue mayor en racimos totalmente expuestos, mientras que el contenido de terpenos libres volátiles tendió a ser mayor en los tratamientos de sombreado parcial y total de racimos (Reynolds y Wardle, 1989).

De la misma forma Skinkis *et al.* (2010) concuerdan con los autores anteriores, al estudiar el efecto de la exposición a la luz en la concentración de monoterpenos en bayas y vinos del cultivar Traminette (híbrido de Gewürztraminer). Los tratamientos aplicados consistieron en sombrear los racimos por capas de hojas y cubriendo de forma sintética. Los autores encontraron que la fruta proveniente de racimos totalmente expuestos tuvo una concentración de un 30% mayor de terpenos potencialmente volátiles comparándola con la fruta del tratamiento de mayor sombreado.

Por su parte Macaulay y Morris (1993) al realizar una manipulación del posicionamiento de los brotes y eliminar las hojas basales en racimos de la variedad Moscatel dorada, observaron que en cosecha los racimos expuestos tuvieron niveles mayores de terpenos potencialmente volátiles en la pulpa y fracciones en la piel, y las uvas sombreadas tuvieron bajos niveles de terpenos libres volátiles en la piel y fracciones en la pulpa.

En relación al mismo tema Bureau *et al.* (2000a), sometieron a diferentes tratamientos de sombreado artificial, tanto a racimos como plantas de la variedad Syrah durante dos temporadas. Se encontró que en las bayas de las vides sombreadas (50 y 70 %) tendieron a tener un menor contenido de terpenoles ligados que en el tratamiento de exposición directa. De la misma manera, Bureau *et al.* (2000b), estudiaron el efecto de la luz en el ambiente del racimo y de la vid en la variedad Moscatel de Frontignan, encontrando que los racimos sombreados artificialmente mostraron niveles más bajos de monoterpenoles. Belancic *et al.* (1997), encontraron que la mayor cantidad de monoterpenoles se obtuvo en el tratamiento con un sombreado artificial de 50% en las variedades Moscatel de Alejandría y Moscatel rosada, difiriendo del estudio de Bureau *et al.* (2000a), en que la mayor exposición obtuvo el mayor contenido de monoterpenoles. Cabe señalar que ambos estudios coincidieron en un punto, al encontrar que el menor contenido de monoterpenoles fue en el tratamiento de mayor sombreado.

Según los estudios presentados, se ha observado un mayor contenido de terpenos bajo condiciones de mayor exposición. Sin embargo, un efecto contrario observaron Reynolds *et al.* (1996), al aplicar diferentes tratamientos de eliminación de hojas (45 días después de floración) a diferentes sistemas de conducción para la variedad Riesling, encontrando que la eliminación de hojas redujo consistentemente los terpenos volátiles libres y los terpenos potencialmente volátiles.

Sistema de conducción

Con respecto a este tema, Zoecklein *et al.* (2008), evaluaron el efecto del posicionamiento vertical de los brotes, y el efecto de los sistemas de conducción Smart- Dyson y Doble cortina de Genova en la variedad Viognier. En el estudio se encontró que el mayor contenido de linalol, y α -terpineol, se obtuvo del sistema de conducción Smart-Dyson, y específicamente en la parte superior. Este sistema presentó un número relativamente elevado de capas de hojas y un porcentaje relativamente bajo de racimos expuestos. Los autores atribuyen el resultado obtenido a que podría deberse a que una temperatura menor en la fruta podría hacer posible la acumulación de compuestos con bajo peso molecular y menor punto de evaporación (por ejemplo, linalol, α -terpineol), ya que en la zona donde se realizó la investigación, Norte de Virginia es considerada una zona cálida (1900 unidades de calor sobre una base de 10°C) por lo que se habría moderado el efecto de la temperatura. Los autores también rectifican que en regiones con períodos de maduración que son cálidos como Virginia, la máxima concentración de compuestos

volátiles ocurriría en la fruta con una exposición de la fruta moderada en lugar de pleno sol o sombra completa.

Norisoprenoides

3.1. Definición

Los norisoprenoides son compuestos con 13 átomos de carbono que derivan de la degradación oxidativa de los carotenoides, que corresponden a terpenos con 40 átomos de carbono (Conde *et al.*, 2007), estos son expresados fotosintéticamente en tejidos activos de las plantas como parte del fotosistema II. La mayor parte de los carotenoides en las bayas actúan como pigmento de luz, mientras que en otras especies participan en la protección de la planta. Los norisoprenoides son compuestos importantes en variedades tales como Chardonnay, Cabernet Sauvignon, Syrah, Sauvignon blanc, Chenin blanc, Semillon y Riesling.

3.2 Ruta de síntesis de norisoprenoides

Es importante recordar que los norisoprenoides proceden de la degradación de los carotenoides, y los carotenoides corresponden a tetraterpenos

En resumen la formación de carotenoides comienza con la biosíntesis del isopentil difosfato (IPP) obtenido de la condensación del piruvato y del gliceraldehído-3-fosfato, vía metileritritol fosfato. Esta ruta se lleva a cabo en los cloroplastos y es común con la biogénesis de isoprenos, monoterpenos y diterpenos, mientras que la síntesis de sesquiterpenos y tetraterpenos ocurre en el citoplasma por la clásica ruta que comienza desde la acetil coenzima A al IPP por la vía del ácido mevalónico. El IPP es convertido en su isómero el dimetilalil difosfato (DMAPP) por la IPP isomerasa, y estos dos compuestos son el comienzo para la síntesis de varios terpenos, hasta la formación de geranylgeranyl difosfato, que luego por la acción de la enzima fitoeno sintasa, se origina el fitoeno. La acción de la fitoeno desaturasa y de la γ -carotenodesaturasa llevan a la formación del licopeno. El licopeno corresponde a un carotenoide no cíclico que contiene 11 dobles enlaces (Baumes *et al.*, 2002). Luego por la acción de la ϵ y/o β ciclasas, se forma el α o β -caroteno respectivamente. Oxidaciones secuenciales de estas dos moléculas, realizadas por la ϵ y/o β -caroteno hidroxilasas y zeantina epoxidasa dan lugar a las xantofilas (carotenoides oxigenados).

El ciclo de las xantofilas implica interconversiones de depoxidación y epoxidación de tres xantofilas; zeaxantina (Figura 9A), anteraxantina (Figura 9B) y violaxantina (Figura 9C). Estas reacciones son catalizadas por dos enzimas, la zeantinaepoxidasa y la violaxantina de-epoxidasa (Kamffer, 2009) (Figura 9). Este ciclo está involucrado en la fotoprotección de fotosistemas por la disipación de energía por exceso de excitación. Este ciclo solamente parece ser activo en la baya al término de pinta (Baumes *et al.*, 2002).

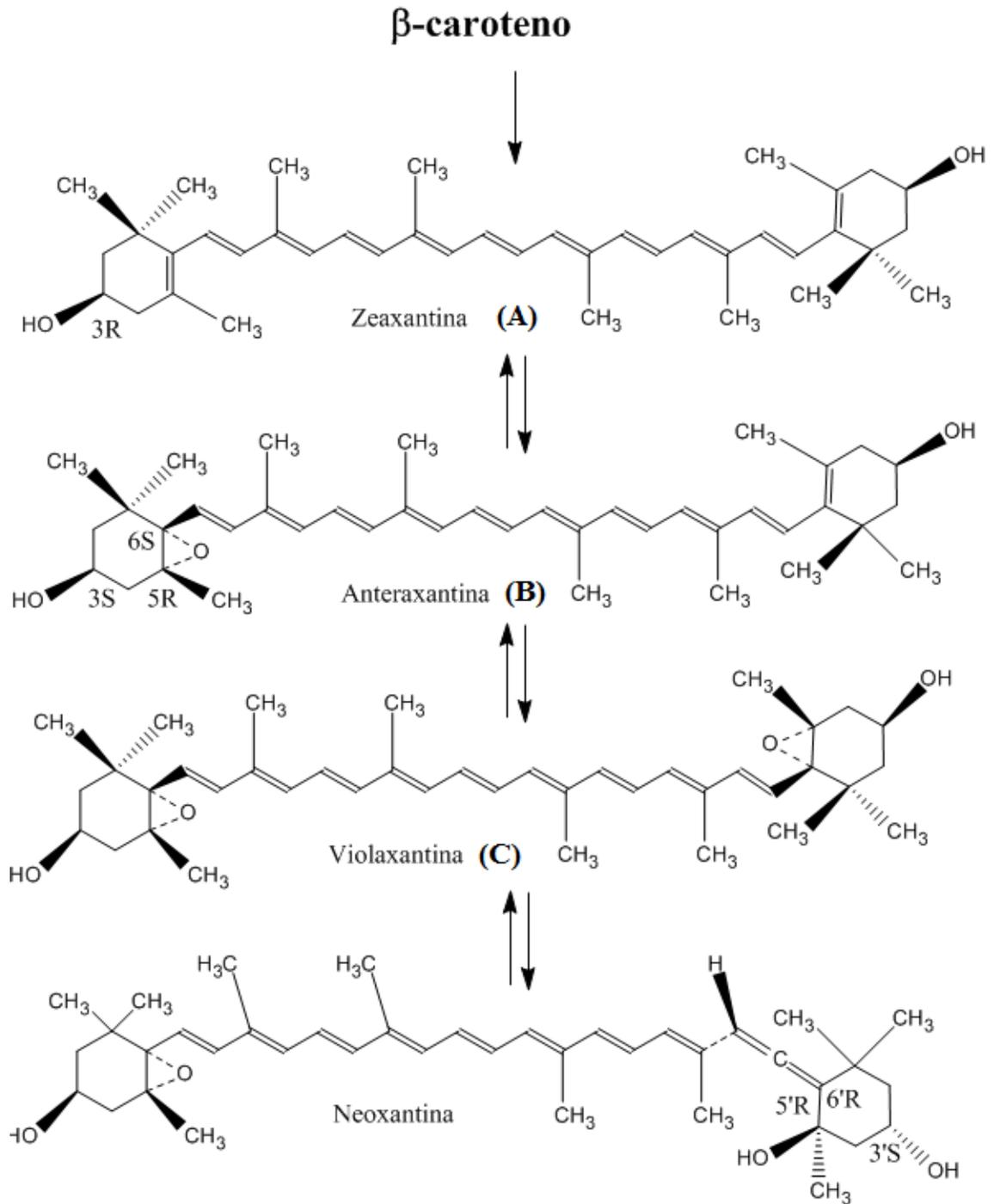


Figura 9. Formación de xantofilas a partir del β -caroteno. (Fuente: Baumes *et al.*, 2002).

Baumes *et al.* (2002) proponen una ruta de degradación de carotenoides a norisoprenoides, la cual está compuesta por tres pasos consecutivos. El primero involucra una degradación enzimática de los carotenoides por enzimas oxidasas, obteniéndose norisoprenoides carbonilos, los cuales poseen la estructura matriz de los carotenoides (Figura 10). El segundo paso comprende una modificación por enzimas oxidasas y reductasas, y el último, concierne la glicosilación por enzimas glicosiltransferasas de los norisoprenoides, quedando con un grupo hidroxilo. En la figura 11 se resume la formación de norisoprenoides a partir del α y β -caroteno.

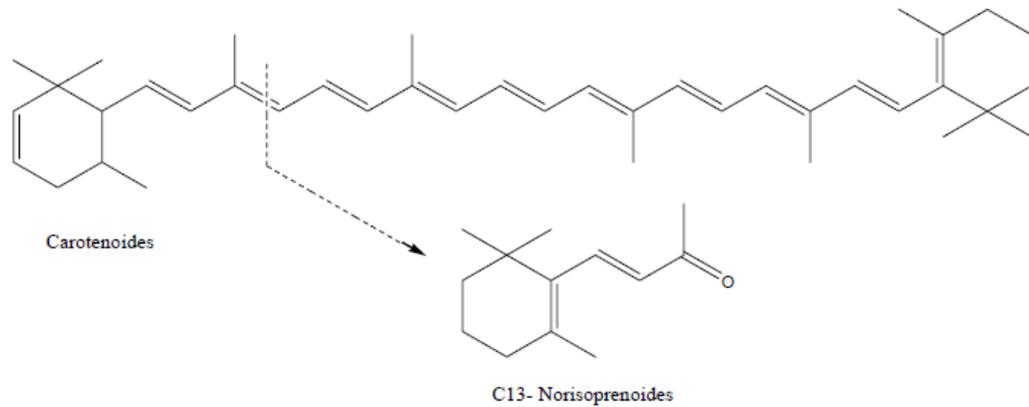


Figura 10. Ruptura de carotenoides conducente a la formación de C-13 norisoprenoides en uvas (Fuente: Méndez, 2009).

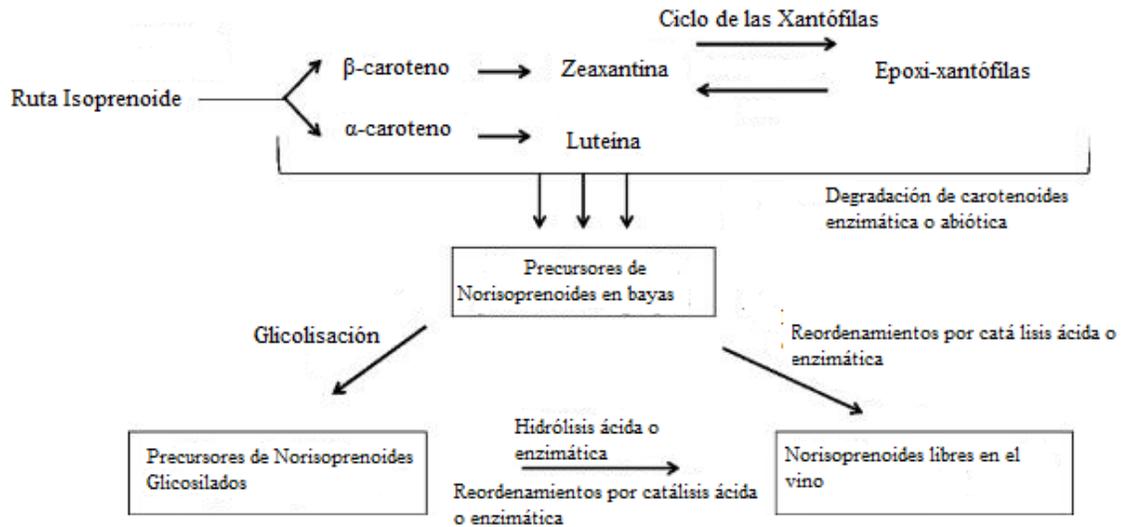


Figura 11. Esquema simplificado de la ruta biosintética de formación de carotenoides. Además se muestra el mecanismo general por el cual los norisoprenoides son formados por los carotenoides en bayas y vino (Kwasniewski *et al.*, 2010).

3.3 Localización y Clasificación en bayas de *Vitis vinifera*

Los carotenoides se localizan en los plastos de las células de la pulpa y hollejo (Flanzy, 2002). Estos se clasifican en dos grupos: carotenos y xantofilas, los carotenos solo contienen átomos de carbono e hidrógeno, mientras que las xantófilas contienen además oxígeno. En la baya los carotenoides que existen son la luteína, el β -caroteno, la neoxantina, la flavoxantina, la violaxantina, 5,6-epoxiluteína y la luteoxantina. Los carotenoides son producidos mayormente en la primera etapa de crecimiento de la baya hasta pinta, y luego son degradados entre pinta y madurez, para dar origen a los norisoprenoides (Baumes *et al.*, 2002; Fariña *et al.*, 2010).

Los norisoprenoides desde el punto de vista químico se dividen en dos formas: megastigmanas y no megastigmanas. Las formas megastigmanas son norisoprenoides oxigenados en el carbono 7 (serie de las damascenonas) o en el carbono 9 (serie de las iononas).

Los norisoprenoides se localizan fundamentalmente en las pieles y pueden encontrarse en la baya unidos a glucosa (forma no volátil), pudiendo ser encontrados durante la vinificación (Kwasniewski *et al.*, 2010).

Cuadro 3. Aromas que presentan los norisoprenoides más importantes en *Vitis vinifera*

Norisoprenoide	Umbral sensorial	Descriptor	Referencia
β -damascenona	9 ng/L en agua	Floral-Fruta Exótica	Ohkloff, 1978.
1,1,6-trimetil-1,2-dihidronaftaleno (TDN)	20 ng/L en vino	Keroseno	Belitz y Grosch, 1992.
Vitispirano	80 ng/ L en vino	Alcanfor	Simpson, 1978.
β -ionona	90 ng/L en vino modelo	Violeta	Kotseridis <i>et al.</i> , 1999

De los norisoprenoides mencionados anteriormente, se ha encontrado que el TDN está estrechamente asociado al aroma de envejecimiento de los vinos de la variedad Riesling y también se ha asociado a vides de la misma variedad cultivadas en zonas cálidas, hallándose cantidades considerables de TDN, lo que en efecto podría provocar algunas dificultades.

3.4 Factores que inciden en la biosíntesis de norisoprenoides y carotenoides

Exposición a la luz

En relación a la exposición, se ha evaluado el contenido de carotenoides y norisoprenoides, encontrándose que el contenido de los primeros es mayor a la sombra, mientras que para los norisoprenoides los resultados varían según el norisoprenoide que se esté midiendo.

En cuanto a los carotenoides, Oliveira *et al.*, (2004), encontraron que el contenido de carotenoides fue consistentemente mayor en uvas a la sombra, que las expuestas a la luz directa del sol tanto para las variedades María Gómez y Laureiro. Del mismo modo, Steel y Keller (2000), encontraron que los niveles de carotenoides fueron menores en vides de la variedad Cabernet Sauvignon que fueron sometidas a un tratamiento de luz UV reducida.

Referente a los norisoprenoides, Ristic *et al.* (2007), evaluaron el efecto del sombreado del racimo en la composición de vinos de la variedad Syrah. El tratamiento se aplicó antes de floración. Al evaluar la composición del vino (con 8 meses de envejecimiento) se encontró que no hubo diferencias significativas en el contenido de β -damascenona libre tanto en el tratamiento control como en el tratamiento de sombreado. Sin embargo en el contenido de β -ionona fue significativamente mayor en el control (1,74 μ g/L), que en el tratamiento de sombreado (1,24 μ g/L), mientras que no se encontró TDN en ningún vino.

Por otra parte, Marais *et al.* (1992a), evaluaron el efecto de la exposición a la luz y sombra en los niveles de norisoprenoides durante la maduración de bayas de la variedad Chenin blanc y Weisser Riesling, y en vinos de la última variedad. Los tratamientos consistieron en exponer los racimos a luz natural y sombreado (por las hojas) por un período de tres semanas. Los resultados muestran que la concentración de norisoprenoides fue significativamente más alta en bayas expuestas al sol que en las bayas sombreadas (por ejemplo en el contenido de TDN, a luz directa fue de 61,32 ng/L, mientras que a la sombra de 29,14 ng/L). Además, se observó un aumento significativo en la concentración de norisoprenoides en la madurez (tratamiento a la sombra aumentó de 5,34 ng/L a 7,1 ng/L durante la maduración).

Lee *et al.* (2007), evaluaron el efecto de la exposición a la luz y el microclima en la concentración de norisoprenoides en bayas y vinos de la variedad Cabernet Sauvignon. Los resultados mostraron que el tratamiento con mayor exposición tuvo una mayor intensidad de luz y temperatura, y mostró una alta concentración de TDN y vitispirano. Asimismo, cuando las hojas fueron eliminadas, las concentraciones de norisoprenoides se correlacionaron positivamente y linealmente con el incremento de la exposición a la luz. En el tratamiento de mayor sombreado, hubo también una alta concentración de norisoprenoides (β -damascenona).

Kwasniewski *et al.* (2010), evaluaron el tiempo en cuál se debía manipular la luminosidad del ambiente del racimo durante el desarrollo de la baya. Para llevar a cabo el estudio se eliminaron las hojas de la zona frutal en vides de la variedad Riesling en 3 períodos, a 2, 33 y 68 días después de cuaja y se comparó con un control. Se midió el perfil de carotenoides a media temporada y en madurez. Los resultados mostraron que hubo un alto contenido de norisoprenoides en las bayas en el período de 33 días después de cuaja, especialmente en el contenido de vitispirano (56 ng/L). Por otro lado el contenido de β -damascenona disminuyó a los 68 días después de la cuaja. Otra observación fue que el tratamiento de eliminación de hojas a los 33 días después de cuaja incrementó significativamente la zeaxantina (142 ng/kg), en las bayas de Riesling a mitad de temporada, el TDN total (195 ng/L) y el vitispirano en jugo de bayas maduras, y el TDN libre y total en vinos terminados, concluyendo que la eliminación de hojas temprano o tarde no tuvo efecto.

Clima

En cuanto a los carotenoides, Marais *et al.* (1991), encontraron que el contenido de luteína y β -caroteno, fueron mayores en bayas de la variedad Weisser Riesling, obtenidas de zonas más cálidas, tales como Robertson (2178 días-grado) y Lutzville (2229 días-grado), ambas ubicadas en Sudáfrica.

En relación a los norisoprenoides, Marais *et al.* (1992b), evaluaron el contenido de norisoprenoides libres y ligados en vinos de la variedad Weisser Riesling provenientes de diferentes regiones de Sudáfrica, tales como Constantia (Winkler I/II), Durbanville (Winkler III), Stellenbosh (Winkler III/IV), Paarl (Winkler IV), Robertson (Winkler IV),

Worcester (Winkler IV), y Vredendal (Winkler V). También se evaluaron en vinos de Alemania (Pfalz, Winkler I) e Italia (Trentino: Winkler II y Friuli: Winkler III). En el estudio se encontró que el mayor contenido de TDN libre fue en los vinos provenientes de Sudáfrica, en los que las condiciones climáticas se caracterizan por una alta temperatura promedio y varias horas de sol.

Altitud

Al igual que lo comentado con respecto a este factor en metoxipirazinas, se ha relacionado estrechamente la altitud con la variación de temperatura.

Oliveira *et al.* (2004), evaluaron el efecto de la altitud en las variedades Touriga Franca y Touriga Nacional, en viñedos a baja altitud (terrazas de 85 a 90 m), en 2 viñedos a altura media (145-155 m), y en dos viñedos a alta altitud (180 y 210 m). Se encontró que las bayas de vides plantadas en terrazas de alta elevación (baja temperatura, alta humedad), contenían altos valores de carotenoides. Los autores explican este resultado al hecho de que con temperatura baja, el crecimiento de la baya es lento, por lo que pudo haber una disminución en la degradación de los carotenoides en el periodo de maduración

Riego

Sin duda el riego ha sido uno de los factores de mayor estudio en cuanto a norisoprenoides y carotenoides. Anteriormente se mencionó el efecto que tiene el riego en la planta, y que éste se encuentra fuertemente relacionado con el vigor de la misma. Se ha encontrado en la mayoría de las investigaciones que el riego disminuiría tanto el contenido de carotenoides y norisoprenoides.

Para los carotenoides, Oliveira *et al.* (2003), evaluaron la relación entre los compuestos carotenoides en las bayas y el estado hídrico de la planta en la variedad Touriga Nacional. Las muestras fueron tomadas de vides plantadas, en un suelo A con alta retención de agua, y un suelo B, con baja retención de agua. Los tratamientos de riego correspondieron a un control sin riego y otro tratamiento de riego en que se aplicó el 60% de la evapotranspiración de referencia. Los resultados muestran que para el suelo A, el contenido total de carotenoides fue similar para los dos tratamientos de riego. Por su parte, para el suelo B, con tratamiento de riego, los niveles de carotenoides fueron aproximadamente un 60% más bajo que los encontrados en el tratamiento sin riego. Los autores sugieren que las características del suelo tienen una mayor influencia que el riego en la concentración de carotenoides en las bayas.

Bindon *et al.* (2007), evaluaron el efecto de dos tratamientos de riego en la variedad Cabernet Sauvignon. El primero consistió en aplicar riego reducido, alternando un lado y luego el otro, el segundo fue un tratamiento control en que se regaron ambos lados de la planta. Los resultados encontrados muestran que los carotenoides más abundantes en la

baya fueron el β -caroteno y la luteína, y siguieron el patrón típico encontrado en otras variedades, disminuyendo después de pinta. Se encontró que la concentración de carotenoides fue mayor en la fruta extraída de vides en el tratamiento de riego parcial. La misma tendencia se observó para los norisoprenoides, al aumentar su concentración bajo el tratamiento de riego parcial (para la β -damascenona bajo tratamiento de riego parcial se obtuvo 30,03 ng/baya y sin tratamiento fue de 28,17 ng/baya). El aumento en el contenido de norisoprenoides en la baya fue para las dos temporadas de estudio. A partir de lo anterior, los investigadores sugieren que a pesar de que hubo una disminución en el peso de baya en las dos temporadas de estudio, es probable que los cambios bioquímicos inducidos por el tratamiento de riego reducido fueron causados por cambios en la concentración de norisoprenoides, en lugar de que solamente fuera por el peso de la baya. Adicionalmente, se observó que el tratamiento de riego reducido, aumentó la incidencia de la luz en la zona frutal, pudiendo también influenciar el contenido de carotenoides y norisoprenoides.

En otro estudio realizado con la variedad Syrah, se evaluó la influencia de la desecación parcial de la zona radicular, encontrándose que la concentración de norisoprenoides β -damascenona, β -ionona, y TDN se incrementaron en un 30% bajo esta condición durante las dos temporadas, sugiriendo que el efecto de prácticas de déficit hídrico afectarían la fisiología y el vigor de la planta, y consecuentemente los compuestos en las bayas (Bindon, 2004).

Qian *et al.* (2009), evaluaron el impacto del déficit de riego en la composición de vino de la variedad Merlot, sometiendo a las plantas a diferentes tratamientos de riego. Las evaluaciones fueron durante tres temporadas. Se encontró que los vinos producidos a partir de vides sometidas al tratamiento de déficit hídrico tenían mayor cantidad de vitispirano y β -damascenona durante las tres temporadas de tratamiento.

Fertilización

Lisenmeier y Löhnertz (2007), midieron los cambios de los niveles de norisoprenoides, para distintos tratamientos de fertilización nitrogenada (0, 60 y 150 kg N/Há) en vinos de la variedad Riesling. Ellos encontraron que la fertilización nitrogenada condujo a bajas concentraciones de TDN. Contrario al resultado anterior, las concentraciones de β -damascenona se incrementaron con la fertilización. En el caso de la concentración de vitispirano, no se observaron diferencias significativas.

TIOLES

4.1 Definición

Los tioles corresponden a compuestos azufrados con una función tiol (mercaptano), que pueden formarse en la fermentación alcohólica (Hidalgo, 2003), encontrándose casi ausentes en el mosto. Su aroma es revelado por las levaduras durante la fermentación alcohólica (Tominga *et al.*, 1998), a partir de precursores de cisteína (Peyrot des Gachons *et al.*, 2005). Estos compuestos participan en el aroma de cientos de variedades, especialmente Sauvignon blanc, Semillon, Manseng y Riesling (Tominga *et al.*, 2000).

Los tioles más importantes en Sauvignon blanc, son el 4-mercapto-4-metil-2-pentanona, 4-mercapto-4-metil-2-pentanol y el 3-mercapto-1-hexanol (Figura 11).

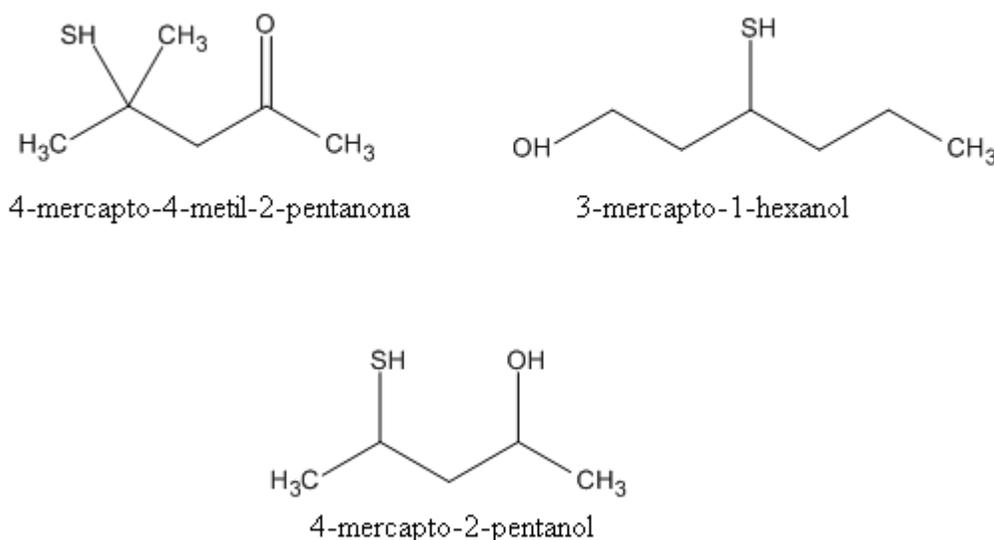


Figura 11. Tioles más importantes presentes en el vino (Fuente: Eggers, 2006).

4.2 Ruta de síntesis

Los tioles son formados a partir de conjugados de S-cisteína (Tominga *et al.*, 1998) (Figura 12), o partir de conjugados de S-glutación (Peyrot des Gachons *et al.*, 2002). Las levaduras son las responsables de la revelación.

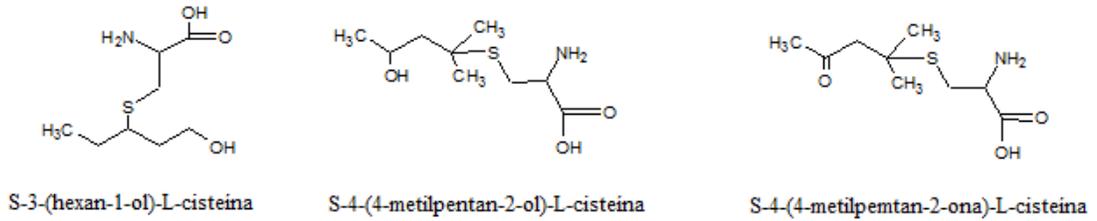


Figura 12.- Estructura de los precursores de conjugados de S-cisteína (Fuente: Eggers, 2006).

La formación del tiol 3-mercaptohexan-1-ol, partiría de la degradación de su precursor, el S-3-(hexan-1-ol), el cual sería degradado por las levaduras durante la fermentación alcohólica, por medio de la ruptura del enlace carbono-azufre catalizada por la enzima B-liasa (Luisier *et al.*, 2008) (Figura 13).

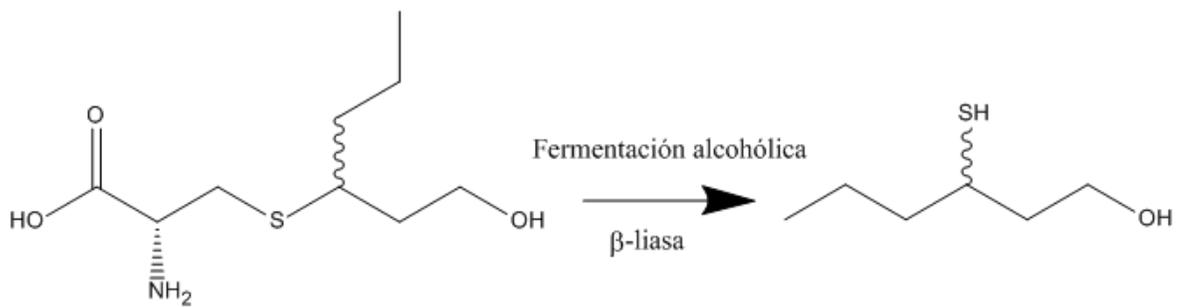


Figura 13. Ruta de formación del 3-mercaptohexan-1-ol durante la fermentación alcohólica (Fuente: Luisier *et al.*, 2008).

4.3 Localización y clasificación

Los tioles se encuentran en la baya como conjugados de S-cisteína (Conde *et al.*, 2007), encontrándose ausentes en la baya bajo la forma volátil, y son revelados por las levaduras durante la fermentación alcohólica (Murat *et al.*, 2001). También en las bayas pueden encontrarse unidos a aminoácidos y glutatión (Subileau *et al.*, 2008). Dentro de la baya su distribución difiere de acuerdo al tipo de precursor, siendo independiente del tipo de precursor. Peyrot des Gachons *et al.* (2002) encontraron que los precursores 4-mercapto-4-metilpentan-2-ona y 4-mercapto-metilpentan-2-ol fueron equivalentes tanto en el jugo como en la piel, mientras que en el precursor 3-mercaptohexan-1-ol fue ocho veces mayor en la piel.

Kobayashi *et al.* (2010), encontraron una muy baja cantidad de precursores de tioles tanto en tallos como semillas en la variedad Koshu, pero observaron su acumulación en bayas y hojas a las 11 semanas después de floración, destacando que el mayor contenido en el jugo de las bayas fue entre las semanas 16 a 18 después de floración.

Se ha estudiado la ubicación de estos compuestos en las pieles de Sauvignon blanc, con el objeto de interpretar las consecuencias del contacto de las pieles, en el aroma potencial de mostos de Sauvignon blanc (Peyrot des Gachons *et al.*, 2002). Es importante señalar que la distribución de los precursores difiere de acuerdo al tipo de precursor, siendo independiente de la etapa de maduración de la baya.

Roland *et al.* (2011), estudiaron la distribución de los precursores de tioles varietales en uvas de las variedades Melon B. y Sauvignon blanc, observando que para Sauvignon blanc los precursores se encontraron tanto en la pulpa como en la piel, mientras que en la variedad Melon B. solamente el S-3-(1-hexanol) fue detectado en la pulpa, y los otros fueron encontrados solo en la piel.

La mayoría de los estudios de tioles se han realizado en la variedad Sauvignon blanc. Por lo anterior resulta interesante evaluar si pasa lo mismo con otras variedades. Tominga *et al.* (2000), estudiaron la contribución de tioles volátiles en vinos de distintas variedades de *Vitis vinifera*. Las variedades estudiadas fueron Gewürztraminer, Pinot gris, Riesling, Moscatel, Silvaner y Pinot blanc de Alsacia, Colombard del suroeste de Francia, Petit Manseng de la apelación de Jurancon y Semillon de la apelación de Barsac. Los autores concluyeron que existen similitudes químicas de tioles entre los vinos evaluados y Sauvignon blanc.

Cuadro 4. Clasificación y generalización de los tioles más importantes en *Vitis vinifera*.

Precursor	Compuesto químico	Umbral Sensorial (ng/L)	Concentración en vinos (ng/L)	Descriptor	Referencia
4-mercapto-4-metil-2-pentanona	S-4-(4-metilpentan-2-ona)-L-cisteína	0,8	4-44	caja de madera escoba	Peyrot des Gachons <i>et al.</i> , 2002. Darriet <i>et al.</i> , 1995.
4-mercapto-4-metil-2-pentanol	S-4-(4-metilpentan-2-ol)-L-cisteína	55	0-100	ralladura de cítrico	Peyrot des Gachons <i>et al.</i> , 2002.
3-mercapto-1-hexanol	S-3-(hexan-1-ol)-L-cisteína	60	600-1200	fruto de la pasión	Peyrot des Gachons <i>et al.</i> , 2002, Tominga <i>et al.</i> , 2000.

4.4 Factores que inciden en contenido de tioles en bayas de *Vitis vinifera*

Suelo y fertilidad

Peyrot des Gaschons *et al.* (2005), encontraron que el aroma potencial en vides de la variedad Sauvignon blanc (dado por precursores de conjugados de cisteína), fue mayor en las que presentaron un déficit hídrico leve. Además el mayor contenido se obtuvo de suelos con nitrógeno moderado, y se observó que el estrés hídrico severo parece limitar el aroma potencial.

Choné *et al.* (2006), evaluaron el efecto del estado de nitrógeno en vides de la variedad Sauvignon blanc, encontrando que el mayor contenido de precursores de conjugados de cisteína se obtuvo con el tratamiento en que se suministró nitrógeno (60 kg/ há). Lacroux *et al.* (2008), coinciden con lo anterior al encontrar que hubo un aumento de los tioles volátiles en vinos de la variedad Sauvignon blanc cuando se suministró una dosis de nitrógeno y azufre vía foliar.

Tipo de cosecha

Allen *et al.* (2011), evaluaron el impacto del tipo de cosecha en el contenido de tioles en vinos Sauvignon Blanc de diferentes localidades de Marlborough (Nueva Zelanda). Los resultados encontrados fueron que los vinos cosechados de forma manual obtuvieron concentraciones de tioles 5 a 10 veces menores con respecto a los vinos en los que sus uvas fueron cosechadas mecánicamente.

Estrés ambiental

Kobayashi *et al.* (2011), encontraron que al someter a bayas de vid a golpes de calor, golpes de frío, radiación UV y estimulación biológica, se incrementó el contenido de S-3-(hexan-1-ol)-glutación y de S-3-(hexan-1-ol)-L-cisteína, sugiriendo que el estrés medio ambiental aumenta el contenido de estos precursores.

DISCUSIÓN

Las bayas de *Vitis vinifera* están compuestas por una gran diversidad de constituyentes entre los cuales destacan los compuestos aromáticos. Éstos se clasifican en primarios (aquellos que provienen de la materia prima y maceraciones prefermentativas), secundarios (los que son generados durante los procesos fermentativos) y terciarios (producidos durante la crianza en barrica y botella). Entre los compuestos aromáticos primarios de mayor relevancia destacan las metoxipirazinas, terpenos, norisoprenoides y tioles, los cuales son sintetizados en diferentes fases de la curva maduración de la baya, y éstos son afectados por diversos factores, tales como luz, manejos agronómicos, clima, temperatura, altitud, vigor, riego, rendimiento, fertilización y tipo de cosecha.

En el caso de las metoxipirazinas los factores más estudiados que afectan su síntesis son la luz, altitud, temperatura, disponibilidad de agua y rendimiento. De acuerdo a la información disponible, se puede apreciar que una menor exposición a la luz, una mayor disponibilidad de agua de riego y menor temperatura y rendimiento provocarían un aumento en el contenido de estos compuestos. Esto se relacionaría estrechamente con el efecto de estos factores sobre la ruta de biosíntesis de estos compuestos, la cual es limitadamente conocida. De igual forma, es interesante señalar que algunos de estos factores pueden afectar directamente la síntesis de metoxipirazinas, mientras que otros podrían influir indirectamente. Por ejemplo, un menor rendimiento productivo se ha asociado a un mayor crecimiento vegetativo, lo que podría generar cambios en la temperatura, luz y/o humedad de la zona frutal. Con esto, el rendimiento afectaría indirectamente la síntesis de metoxipirazinas mediante la modificación de las condiciones medioambientales de las bayas del racimo frutal. Del mismo modo el riego tiene un efecto indirecto, al inducir el vigor de la planta, modificando el equilibrio entre lo vegetativo y lo productivo, por ende el contenido de metoxipirazinas en las bayas.

Para los terpenos, es interesante señalar que el factor de mayor estudio que afecta su disponibilidad es la exposición a la luz. Se ha observado un mayor contenido de terpenos bajo condiciones de mayor exposición lumínica en diferentes variedades de *Vitis vinifera*. No obstante lo anterior, algunos autores han observado que al eliminar hojas en vides con diferentes sistemas de conducción, se reducen consistentemente los terpenos volátiles libres y los terpenos potencialmente volátiles. Ambas observaciones en conjunto, indicarían que una relación directa entre la concentración de terpenos y exposición de la luz, y el efecto de la luz sobre estos compuestos, dependería directamente de las condiciones experimentales de cada estudio. Así, algunos estudios utilizarían deshoje, posicionamiento de brotes y sombreados artificiales para evaluar el efecto a la luz sobre los compuestos aromáticos, lo que evitaría el consenso en los resultados.

Con respecto al efecto del sistema de conducción, se ha observado que algunos sistemas podrían aumentar la disponibilidad de estos compuestos. Sin embargo, es importante señalar que el sistema de conducción modificaría las condiciones microclimáticas del

racimo tales como, luz, humedad o temperatura, lo que podría generar una modificación en la disponibilidad de los terpenos. Así, el sistema de conducción afectaría indirectamente la concentración de estos compuestos al modificar la disponibilidad de factores directos.

Por otra parte, los norisoprenoides son compuestos de alta relevancia en algunas variedades de *Vitis vinifera* que proceden de la degradación de los carotenoides. Diversos autores mencionan que los norisoprenoides son compuestos lumínico-dependientes. Sin embargo, el efecto de la luz dependería fuertemente del tipo de norisoprenoide, lo que indicaría una especificidad de la luz sobre la disponibilidad de algunos compuestos. Es importante señalar que diversos estudios evalúan directamente el efecto de la luz o indirectamente, mediante deshojes u otras modificaciones del microclima, lo que podría influir en los resultados diferenciales de los estudios.

Existe limitada información acerca del efecto de la altitud y fertilización como factores preponderantes en la disponibilidad de norisoprenoides. Sin embargo, se ha asociado una mayor altitud con una mayor disponibilidad de carotenoides y una mayor fertilización con un menor contenido de TDN. No obstante lo anterior, es muy probable que el efecto observado se deba a la modificación de otros factores ambientales y no a un efecto directo de los parámetros de altitud y fertilización nitrogenada, los cuales solo generarían condiciones vegetativas de la canopia que alterarían el microclima frutal. Uno de los parámetros más evaluados, es la disponibilidad de agua de riego sobre la biosíntesis de norisoprenoides. La mayoría de los estudios muestran una relación indirecta entre el riego y estos compuestos. Esta observación es de alta relevancia, ya que a pesar de las distintas condiciones edáficas, cultivares de *Vitis vinifera* y manejos agronómicos, los estudios son consistentes en demostrar el efecto del riego sobre la disminución en el contenido de norisoprenoides.

Finalmente, y pese a la importancia de los tioles como compuestos aromáticos, los estudios referentes a los factores vitivinícolas y enológicos que afectan el contenido de tioles son muy escasos. Se ha señalado que un déficit hídrico, fertilización nitrogenada moderada, cosecha mecanizada y el estrés medioambiental aumentan el contenido de estos compuestos.

En general, se puede observar que existen algunos factores ampliamente estudiados y que existe consenso en cuanto a su efecto sobre algunos compuestos aromáticos. Sin embargo, es interesante señalar que existe una gran cantidad de factores escasamente estudiados, debido probablemente a las dificultades en la cuantificación y aislación de las variables.

Por otro lado, es importante notar que aunque la mayoría de los factores son evaluados individualmente, existe limitada información acerca del efecto aditivo o sinérgico que involucre a dos o más factores. Esto representaría un importante desafío investigativo, ya que probablemente una gran cantidad de los efectos de estos factores se ve amplificado en presencia de otro factor, lo que dificultaría la comprensión de la influencia individual de todos los parámetros. Asimismo, es probable que alguno de estos factores se vea afectado

antagónicamente por otro factor, lo que incidiría directamente en la disponibilidad de estos compuestos aromáticos.

Otro punto interesante, está referido al efecto directo o indirecto de los factores mencionados. A pesar que la mayoría de los estudios concluyen acerca de los efectos directos de estos parámetros, es muy probable que muchos de ellos sean sólo factores indirectos que podrían modificar la disponibilidad de los factores que incidirían directamente sobre la síntesis de los compuestos aromáticos.

Finalmente, es importante profundizar en el momento e intensidad de la aplicación de un factor específico durante la maduración de la baya, ya que ambos podrían influir sobre las rutas de síntesis de los compuestos aromáticos. Tal como se mencionó, estos compuestos se sintetizan en diferentes fases de la curva de maduración de baya, lo cual es decisivo a la hora de realizar algún manejo agronómico, ya que, podría influir fuertemente sobre la síntesis y disponibilidad de estos compuestos.

CONCLUSIONES

- La mayoría de las rutas biosintéticas de los compuestos aromáticos son claramente conocidas. Sin embargo, la ruta de biosíntesis de las metoxipirazinas es aún poco clara.
- Los factores analizados en este estudio, tienen efecto importante sobre el contenido de compuestos aromáticos en las bayas, y cada compuesto aromático responde de forma diferente a un factor específico.
- El efecto de la luz sobre las metoxipirazinas, terpenos y norisoprenoides, es el factor que ha sido más estudiado y este se comportaría de modo diferente en los tres compuestos.
- Es interesante observar, que en la mayoría de los estudios los efectos de los factores analizados podría deberse más a un efecto indirecto que propio del factor.
- El momento de aplicación de algún manejo agronómico es determinante para aumentar o disminuir algún compuesto en particular.
- A pesar del importante aporte de cada uno de las investigaciones analizadas, es necesario profundizar en la evaluación de una mayor cantidad de factores y considerar el efecto de la interacción entre los factores sobre la concentración de cada compuesto.

BIBLIOGRAFÍA

Allen, M., M. Lacey, Harris, R., and W. Brown. 1988. Sauvignon Blanc varietal aroma. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 292: 51-56.

Allen, M., M. Lacey, R. Harris, R. and W. Brown. 1991. Contribution of methoxypyrazines to Sauvignon blanc wine aroma. *American Journal of Enology and Viticulture* 42: 109-112.

Allen, M., M. Lacey and S. Boyd. 1995. Methoxypyrazines in red wines: occurrence of 2-methoxy-3-(1-methylethyl) pyrazine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43: 769-772.

Allen, T., M. Herbst-Johnstone, M. Girault, P. Butler, G. Logan, S. Jouanneau, S. Nicolau and P. Kilmartin. 2011. Influence of grape harvesting steps on varietal thiol aromas in Sauvignon blanc wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59(19): 10641-10650.

Amerine, M. 1964. Acids, grapes, wines and people. *American Journal of Enology and Viticulture* 15:106-115.

Ávalos, A. E. and Pérez-Urria. 2009. Metabolismo secundario de plantas. Serie Fisiología Vegetal 2(3): 119-145. Facultad de Biología, Universidad Complutense, Madrid. Disponible en: http://eprints.ucm.es/9603/1/Metabolismo_secundario_de_plantas.pdf . Leído el 20 de octubre del 2011.

Belancic, A., E. Agosin, A. Ibacache, E. Bordeu, R. Baumes, A. Razungles. and C. Bayonove. 1997. Influence of sun exposure on the aromatic composition of Chilean muscat grapecultivars Moscatel de Alejandría and Moscatel rosada. *American Journal of Enology and Viticulture* 48(2): 181-186

Belancic, A. and E. Agosin. 2007. Methoxypyrazines in grapes and wines of *Vitis vinifera* cv. Carménere. *American Journal of Enology and Viticulture* 53(4):462-469.

Belitz, H. and W. Grosch. 1992. *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*. Springer Verlag, Berlin.

Baumes, R., J. Wirth, S. Bureau, Y. Gunata and A. Razungles. 2002. Biogenesis of C13-norisoprenoid compounds: experiments supportive for an apo-carotenoid pathway in grapevines. *Analitica Chimica Acta* 458 (12): 3-14.

Bindon, K., P. Dry and B. Loveys. 2007. Influence of plant water status on the production of C-13 norisoprenoid precursors in *Vitis vinifera* L. Cv. Cabernet Sauvignon grape berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 4493-4500.

- Bindon, K. 2004. Influence of partial rootzone drying on aspects of grape and wine quality. Thesis for the degree doctor of philosophy, School of agriculture and wine, University of Adelaide, Australia. 220 p.
- Blouin, J. y G. Guimberteau. 2003. Maduración y madurez de la uva. Primera edición. Editorial Mundi-Prensa, Madrid, España. 151 p.
- Boelens, M. and L. Gemert. 1995. Structure-activity relationships of natural volatile nitrogen compounds. *Perfumer Flavorist* 20:63-76.
- Bravdo, B., Y. Hepner, C. Loinger, S. Cohen and H. Tabacman. 1984. Effect of crop level on growth, yield and wine quality of a high yielding Carignane vineyard. *American Journal of Enology and Viticulture* 35 (4): 247-252.
- Bravdo, B. 2001. Review Paper: Effect of cultural Practices and environmental factors on fruit and wine quality. *Agriculturae Conspectus Scientificus* 66(1): 13-20.
- Bureau, S., R. Baumes and A. Razungles. 2000 a. Effects of vine or bunch shadings on the glycosylated flavor precursors in grapes of *Vitis vinifera* L. Cv. Syrah. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48 (4): 1290-1297.
- Bureau, S., R. Baumes and A. Razungles. 2000b. The aroma of muscat of Frontignan grapes: effect of the light environment of vine or bunch on volatiles and glycoconjugates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 80 (14): 2012-2020.
- Chamorro, M. y M. Losada. 2002. Tecnología de los alimentos. Análisis sensorial de los quesos. Editorial Mundi-prensa, Madrid, España. 235 p.
- Chapman, D., J. Thorngate, M. Matthews, J. Guinard and S. Ebeler. 2004. Yield effects on 2-methoxy-3-isobutylpyrazine concentration in Cabernet Sauvignon using a solid phase microextraction gas chromatography/mass spectrometry method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 5431- 5435.
- Chapman, D., M. Matthews and J. Guinard. 2004. Sensory attributes of Cabernet Sauvignon wines made from vines with different crop yields. *American Journal of Enology and Viticulture* 55 (4): 3025-3034.
- Chapman, D., E. Roby, S. Ebeler, J. Guinard and M. Matthews. 2005. Sensory attributes of Cabernet Sauvignon wines made from vines with different water status. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 11:339-347.
- Clary, C., R. Steinhauer, J. Frisinger and T. Peffer. 1990. Evaluation of machine-vs hand-harvested Chardonnay. *American Journal of Enology and Viticulture* 41 (2): 176-181.

Christensen, L., M. Bianchi, W. Peacock and D. Hirschfeld. 1994. Effect of nitrogen fertilizer timing and rate on inorganic nitrogen status, fruit composition, and yield of grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture* 45 (4): 377-387.

Choné, X., V. Lavigne-Cruège, T. Tominga, C. Van Leeuwen, C. Castagnède, C. Sauceri, C. and D. Dubourdieu. 2006. Effect of vine nitrogen status on grape aromatic potencial: flavor precursors (s-cysteine conjugates), glutathione and phenolic content in *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon blanc grape juice. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* 40(1): 1-6.

Conde, C., P. Silva, N. Fontes, A. Dias, R. Tavares, M. Sousa, A. Agasse, S. Delrot and H. Gerós. 2007. Biochemical changes throughout grape berry development and fruit and wine quality. *Global Science Books* 1:1 (June 2007) 1-22.

Darriet, P., T. Tominga, V. Lavigne, J. Boidro and D. Dubourdieu. 1995. Identification of a powerful aromatic component of *Vitis vinifera* L. var. Sauvignon wines: 4-Mercapto-4-methylpentan-2-one. *Flavour Fragrance Journal* 10:385-392.

Dharmadhikari, M. 1994. Composition of grapes. *Vineyard and Vintage Review*, Missouri State University, 9 (7/8): 3-8. United States of America. Disponible en: <<http://www.extension.iastate.edu/wine/sites/www.extension.iastate.edu/files/wine/compositionofgrapes.pdf>>.

Dokoozlian, N. and W. Kliewer. 1996. Influence of light on grape berry growth and composition varies during fruit development. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 121 (5): 869-874.

Eggers, 2006. Varietal Aroma Compounds: In course notes, Department of Chemistry, University of British Columbia, Canada. Disponible en: <http://people.ok.ubc.ca/neggers/Chem422A/VARIETAL%20AROMA%20COMPOUNDS.pdf>. Leído el 2 de Septiembre del 2011.

Ewart, A. and W. Kliewer. 1977. Effects of controlled day and night temperatures and nitrogen on fruit-set, ovule fertility, and fruit composition of several wine grape cultivars. *American Journal of Enology and Viticulture* 28: 88-95.

Falcao, L., G. de Revel, M. Perello, A. Moutsiou, M. Zanús and M. Bordignon-Luiz. 2007. A survey of seasonal temperatures and vineyard altitude influences on 2-methoxy-3-isobutylpyrazine, C-13-norisoprenoids, and the sensory profile of Brazilian Cabernet Sauvignon wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 3605–3612.

Fariña, L., F. Carrau, E. Boido, E. Disegna and E. Dellacasa. 2010. Carotenoid profile evolution in *Vitis vinifera* cv. Tannat grapes during ripening. *American Journal of Enology and Viticulture* 61 (4): 451-456.

Fertel, T. 2011. Cluster thinning effects on methoxypyrazines, resveratrol and berry chemistry in *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon. Thesis for the degree of Master on Science in agriculture, with specialization in crop science. California Polytechnic State University, Faculty of California Polytechnic State University, California, U.S.A. 68 p.

Flanzy, C. 2003. Enología fundamentos científicos y tecnológicos. Segunda edición. Editorial Mundi-Prensa, Madrid, España. 782 p.

Gómez, C. 2010. Efecto de la luz solar sobre la concentración de metoxipirazinas en bayas del cv. Carménère. Tesis magíster en Ciencias Agropecuarias. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile. 51p.

Hashizume, K. and T. Samuta. 1999. Grape maturity and light exposure affect berry methoxypyrazine concentration. American Journal of Enology and Viticulture 50 (2): 194-198.

Hashizume, K., K. Tozawa, M. Endo and I. Amarak. 2001. S- adenosyl- L- methionine-dependent O-methylation of 2- hydroxyl-3-alkyl-pyrazine biosynthesis. Bioscience, biotechnology and biochemistry 65: 795-801.

Hidalgo, J. 2002. Tratado de enología. Tomo I. Editorial Mundi-Prensa, Madrid, España. 756 p.

Hunter, J., O. de Villiers and J. Watts. 1991. The effects of partial defoliation on quality characteristics of *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon grapes 1. Sugars, acids and pH. South African Journal of Enology and Viticulture 12 (1): 42- 50.

Jackson, D. and P. Lombard. 1993. Environmental and management practices affecting grape composition and wine quality - A review. American Journal of Enology and Viticulture 44(4): 409-430.

Jackson, R. 2008. Wine science. Principles and applications. Third edition. Academic Press Elsevier Editorial, California, U.S.A. 751 p.

Kamffer, Z. 2009. Carotenoid and chlorophyll content of *Vitis vinifera* cv. Merlot grapes during ripening with reference to variability in grapevine water status and vigour. Thesis for the degree of Master of agricultural sciences. Stellenbosch University

Kalua, C. and P. Boss. 2009. Evolution of volatile compounds during the development of Cabernet Sauvignon grapes (*Vitis vinifera* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry 57: 3818-3830.

Kennedy, J. 2002. Understanding grape berry development. Practical Winery and Vineyard Journal 24(4):14-23.

Kliewer, W. 1971. Effect of nitrogen on growth and composition of fruits from “Thompson Seedless” grapevines. *Journal of American Horticulture Science* 96:816-819.

Kliewer, M. and A. Bledsoe. 1987. Influence of hedging and leaf removal on canopy microclimate, grape composition, and wine quality under California conditions. *Acta Horticulturae* 206: 157-168.

Kobayashi, H., H. Takase, K. Kaneko, F. Tanzawa, R. Takata, S. Suzuki and T. Konno. 2010. Analysis of S-3- (Hexan-1-ol)-glutathione and S-3-(hexan-1-ol)-L-cysteine in *Vitis vinifera* L.cv. Koshu for Aromatic Wines.

Kobayashi, H., H. Takase, Y. Suzuki, F. Tanzawa, R. Takata, K. Fujita, M. Kohno, M. Mochizuli, S. Suzuki and T. Konno. 2011. Environmental stress enhances biosynthesis of flavor precursors, S-3-(hexan-1-ol)-glutathione and S-3-(hexan-1-ol)- L-cysteine, in grapevine through glutathione S-transferase activation. *Journal of Experimental Botany* 62(3): 1325-1336.

Kounduras, S., V. Marinos, A. Gkoulioti, Y. Kotsederis and C. van Leeuwen. 2006. Influence of vineyard location and vine water status on fruit maturation of non-irrigated cv. Agiotiko (*Vitis vinifera*). Effects on wine phenolic and aroma components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 5077-5086.

Korner, C. 2007. The use of altitude in ecological research. *Trends in Ecology and Evolution* 22 (11): 569- 574.

Kotseridis, Y., A. Anocibar, A. Bertrand and J. Doazan. 1988. An analytical method for studying the volatile compounds of Merlot noir clone Wines. *American Journal of Enology and Viticulture* 49: 44-48.

Kotseridis, Y., A. Anocibar-Beloqui, C. Bayonove, R. Baumes and A. Bertrand. 1999. Effects of selected viticultural and enological factors on levels of 2-methoxy-3-isobutylpyrazine in wines. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* 33:19-23.

Kwasniewski, M, J. Van Heuvel, B. Pan and G. Sacks. 2010. Timing of cluster Light environment manipulation during grape development affects C-13 norisoprenoid and carotenoid concentrations in Riesling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58 (11): 6841-6849.

Lacey, M., M. Allen, R. Harris and W. Brown. 1991. Methoxypyrazines in Sauvignon blanc grapes and wines. *American Journal of Enology and Viticulture* 42: 103-108.

Lacroux, F., O. Tregouat, C. Van Leeuwen, A. Pons, T. Tominga, V. Lavigne-Cruege and D. Dubourdieu. 2008. Effect of foliar nitrogen and sulphur application on aromatic expression

of *Vitis vinifera* L.cv. Sauvignon Blanc. Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin.42:3.

Lee, S., M. Seo, J. Cotta, D. Block, N. Dokoozlian and S. Ebelet. 2007. Vine microclimate and norisoprenoid concentration in Cabernet Sauvignon grapes and wines. American Journal of Enology and Viticulture 58(3): 291-301.

Lisenmeier, A. and O. Löhnertz. 2007. Changes in norisoprenoid levels with long- term nitrogen fertilisation in different vintages of *Vitis vinifera* var. Riesling wines. South African Journal of Enology and Viticulture 28 (1): 17-24.

Luisier, J., H. Buettner, S. Volker, T. Rausis and F. Urban. 2008. Quantification of cysteine S- conjugate of 3-sulfanylhexas-1-ol in must and wine of Petite Arvine vine by stable isotope dilution analysis. Journal of Agricultural and Food Chemistry 56 (9): 2883-2887.

Macaulay, L.E. and J.R. Morris. 1993. Influence of cluster, exposure and winemaking processes on monoterpenes and quality of Golden Muscat. American Journal of Enology and Viticulture 48: 190-193.

Maga J. 1989. Sensory and stability properties of added methoxypyrazines to model and authentic wines. Flavors and off-flavors. Pp. 61-70. In: Proceedings of the 6th Intl. Flavor Conference. Rethymnon, Crete, Greece. July 5-7, 1989. Elsevier. Rethymnon, Crete, Greece

Maga, J. 1990. Sensory and stability properties of added methoxypyrazines to model and authentic wines. In flavours and Off –Flavours, Pp. 61-70. In: Proceeding of the 6^o International Flavor Conference. Amsterdam, Netherlands. 1990. Elsevier. Amsterdam, Netherlands.

Marais, J., C. Van Wyk and A. Rapp. 1991. Carotenoid levels in maturing grapes as affected by climatic regions, sunlight and shade. South African Journal of Enology and Viticulture 12 (2): 64-69.

Marais, J., C. Van Wyk and A. Rapp. 1992a. Effect of sunlight and shade on norisoprenoid levels in maturing Weisser Riesling and Chenin blanc grapes and Weisser Riesling wines. South African Journal of Enology and Viticulture 13 (1): 23- 32.

Marais, J., G. Versini, G., C. Van Wyk and A. Rapp. 1992b. Effect of region on free and bound monoterpene and C13-Norisoprenoid concentrations in Weisser Riesling wines. South African Journal of Enology and Viticulture 13: 71-77

Marais, J. 1994. Sauvignon blanc cultivar Aroma – A review. South African Journal of Enology and Viticulture 15(2): 41-45.

Marais, J., J. Hunter and P. Haasbroek. 1999. Effect of canopy microclimate, season and region on Sauvignon blanc grape composition and wine quality. *South African Journal of Enology and Viticulture* 20: 19-30.

Marais, J., F. Calitz and P. Haasbroek. 2001. Relationship between microclimatic data, aroma component concentration and wine quality parameters in the prediction of Sauvignon blanc wine quality. *South African Journal of Enology and Viticulture* 22 (1): 22-26.

Mateo, J. and M. Jiménez. 2000. Review: Monoterpenes in grape juice and wines. *Journal of Chromatography* 881: 557-567.

Mehmel, T. 2010. Effect of climate and soil water status on Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.) grapevines in the Swartland region with special reference to sugar loading and anthocyanin biosynthesis. Thesis of the degree of Master of agriculture sciences. Stellenbosh University, Faculty of AgriSciences. Stellenbosh, South Africa, 2010. 186 p.

Méndez, M., M. Cleary and N. Dokoozlian. 2008. Understanding extended berry maturation: Implications of fruit sugar content on aroma precursors and green aromas in red wine grapes. Pp 54-55. In: *Proceedings of the 2° Annual National Viticulture Research Conference*. Davis, California, EEUU. July 9-11, 2008. University of California. Davis, California, EEUU.

Méndez, M.L. 2009. El aroma del vino. *Isagoge* (6). Disponible: <http://isagoge.atspace.com/documentos/Archivo_isagoge6/EL_AROMA_DEL_VINO.pdf>. [Consultado 17 de agosto del 2012].

Mihara, S. and H. Masuda. 1988. Structure-odor relationships for disubstituted pyrazines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 36:1242-1247.

Morrison, J. and A. Noble. 1990. The effects of leaf and cluster shading on the composition of Cabernet Sauvignon grapes and on fruit and wine sensory properties. *American Journal of Enology and Viticulture* 41 (3): 193-200.

Murat T., L. Masneuf, P. Darriet, V. Lavigne and D. Dubourdieu. 2001. Winemaking importance of the *Saccharomyces cerevisiae* yeast strains on the varietal aroma liberation of Sauvignon blanc. *American Journal of Enology and Viticulture* 52:136-139.

Murray, K. E., J. Shipton and F.B. Whitfield. 1970. 2-Methoxypyrazines and the flavor of green peas (*Pisum sativum*). *Chemistry and Industry Journal* 7: 897-898.

Murray, K.E and F.B. Whitfield, F.B. 1975. The occurrence of 3-alkyl-2-methoxypyrazines in raw vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 26: 973-986.

- Noble, A., D. Elliott-Fisk and M. Allen. 1995. Vegetative flavor and methoxypyrazines in Cabernet Sauvignon. Pp 226-234. In: Fruit Flavors: Biogenesis, Characterization, and Authentication; ACS Symposium Series 596. Washington DC, EEUU. May 5, 1995. American Chemical Society. Washington DC, EEUU.
- Nunan, K., I. Sims, A. Bacic, S. Robinson and G. Fincher. 1998. Changes in cell wall composition during ripening of grape berries. *Plant Physiology* 118 (3): 783 -792.
- Ohkloff, G. 1978. Importance of minor components in flavors and fragrances. *Perfum. Flavor* 3:11-22.
- Oliveira, C., A.C. Silva, M. Mendes, T. Hogg, F. Alves and P. Guedes de Pinho. 2003. Carotenoid compounds in grapes and their relationship to plant water status. . *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 5967-5971.
- Oliveira, C., A.C. Ferreira, P. Costa, J. Guerra, and P. Guedes de Pinho. 2004. Effect of some viticultural parameters on the grape carotenoid profile. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 4178- 4184.
- Palliotti, A. and A. Cartechini. 2000. Cluster thinning effects on yield and grape composition in different grapevine cultivars. *Acta Horticulturae* 512:111-119.
- Park, S., J. Morrison, D. Adams and A. Noble. 1991. Distribution of free and glycosidically bound monoterpenes in the skin and mesocarp of muscat of Alexandria grapes during development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 39: 514-518.
- Peña-Neira, A., M. Dueñas, A. Duarte, T. Hernández, I. Estrella and E. Loyola. 2004. Effects of ripening stages and of plant vegetative vigor on the phenolic composition of grapes (*Vitis vinifera* L.) cv. Cabernet Sauvignon in the Maipo Valley (Chile). *Vitis* 43: 51-57.
- Peyrot des Gachons, C., C. Van Leeuwen, T. Tominaga, J. Soyer, J. Gaudillère and D. Dubourdieu. 2005. Influence of water and nitrogen deficit on fruit ripening and aroma potential of *Vitis vinifera* L. cv Sauvignon blanc in field conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 85:73-85
- Peyrot des Gachons, C., T. Tominga and D. Dubordieu. 2002. Localization of s-cysteine conjugates in the berry: Effect of skin contact on aromatic potential of *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon blanc must. *American Journal of Enology and Viticulture* 53:2
- Poni, S., L. Casalini, F. Bernizzoni and C. Intrieri. 2006. Effects of early defoliation on shoot photosynthesis, yield components, and grape composition. *American Journal of Enology and Viticulture* 57: 397-407.

- Qian, M., Y. Fang and K. Shellie. 2009. Volatile composition of Merlot wine from different vine water status. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57: 7459–7463.
- Rapp, A. and H. Mandery. 1986. Wine Aroma. *Experientia* 42 (8): 873-884.
- Reynolds, A., R. Pool and R. Mattick. 1986. Influence of cluster exposure on fruit composition and wine quality of Seyval blanc grapes. *Vitis* 25: 85-95.
- Reynolds, A. and D. Wardle. 1989. Influence of microclimate on monoterpene levels of Gewurztraminer. *American Journal of Enology and Viticulture* 40 (3): 149-154.
- Reynolds, A., D. Wardle and A. Naylor. 1996. Impact of training system, vine spacing, and basal leaf removal on Riesling. vine performance, berry composition, canopy microclimate, and vineyard labor requirements. *American Journal of Enology and Viticulture* 47 (1): 163-176.
- Reynolds, A. and D. Wardle. 1997. Flavour development in the vineyard: Impact of viticultural practices on grape monoterpenes and their relationship to wine sensory response. *South African Journal of Enology and Viticulture* 18 (1): 3-18.
- Reynolds, A. and J. Van de Heuvel. 2009. Influence of grapevine training systems on vine growth and fruit composition: A Review. *American Journal of Enology and Viticulture* 60 (3): 251-268.
- Ribéreau- Gayon, P., J. Boidron and A. Terrier. 1975. Aroma of muscat grape varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 23: 1042-1047.
- Ristic, R., M. Downey, P. Ilands, K. Bindon, L. Francis, M. Herderich and S. Robinson. 2007. Exclusion of sunlight from Shiraz grapes alters wine colour, tannin and sensory properties. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 13: 53–65
- Roland, A., R. Schneider, F. Charrier, F. Cavelier, M. Rossignol and A. Razungles. 2011. Distribution of varietal thiol precursors in the skin and the pulp of Melon B. and Sauvignon blanc grapes. *Food Chemistry*, 125 (1): 139–144.
- Roujou de Boubee, D., C. Van Leeuwen and D. Dubourdieu. 2000. Organoleptic impact of 2-methoxy-3-isobutylpyrazine on red Bordeaux and Loire wines. Effect of environmental conditions on concentrations in grapes during ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48 (10): 4830-4834.
- Roujou de Boubee, D., A. Cumsille, M. Pons and D. Dubourdieu. 2002. Location of 2-Methoxy-3-isobutylpyrazine in Cabernet Sauvignon grape bunches and its extractability during vinification. *American Journal of Enology and Viticulture*, 53: 1-5.
- Roujou de Boubee, D. 2003. Research on 2-methoxy-3-isobutylpyrazine in grapes and

wine. Amorim Academy Competition, 21pp.

Ryona, I., B. Pan, D. Intrigliolo, A. Lakso and G. Sacks. 2008. Effects of clusters light exposure on 3-isobutyl-2-methoxypyrazine accumulation and degradation patterns in red wines grapes (*Vitis vinifera* L. Cv. Cabernet Franc). Journal of Agricultural and Food Chemistry 56: 10838-10846.

Ryona, I., S. Lecler and G. Sacks. 2010. Correlation of 3- isobutyl-2-methoxypyrazine to 3-isobutyl-2-hydroxypyrazine during maturation of bell pepper (*Capsicum annuum*) and wine grapes (*Vitis vinifera*). Journal of Agricultural and Food Chemistry 58: 9723-9730.

Sala, C., O. Busto, J. Guash and F. Zamora. 2004. Influence of vine training and sunlight exposure on the 3-alkyl-2-methoxypyrazines content in musts and wines from the *Vitis vinifera* variety Cabernet Sauvignon. Journal of Agricultural and Food Chemistry 52: 3492-3497.

Sala, C., O. Busto, J. Guash and F. Zamora. 2005. Contents of 3-alkyl-2-methoxypyrazines in musts and wines from *Vitis vinifera* variety Cabernet Sauvignon: influence of irrigation and plantation density. Journal of Agricultural and Food Chemistry 85: 1131-1136

Sánchez, E., M. Díaz- Maroto, M. González, A. Soriano-Pérez and M. Pérez-Coello. 2007. Aroma profile of wines from Alillo and Muscat grape varieties at different stages of ripening. Food Control 18: 398-403.

Scheiner, J., G. Sacks, B. Pan, S. Ennahli, L. Tarlton, L. Wise, S. Lerch and J. Vanden Heuvel. 2010. Impact of severity and timing of basal leaf removal on 3-isobutyl-2-methoxypyrazine concentrations in red winegrapes. American Journal of Enology and Viticulture 61 (3): 358-364.

Schwab, W., R. Davidovich-Rikanati and E. Lewinsohn. 2008. Biosynthesis of plant-derived flavor compounds. The plant journal 54: 712-732

Seifert, R.M., R.G. Buttery, D.G. Guadagnil, D.R. Black and J.G. Harris. 1970. Synthesis of some 2-methoxy-3-alkylpyrazines with strong bell pepper like odors. Journal of Food and Agricultural Chemistry 18: 246-249.

Simpson, R. 1978. 1,1,6 Trimethyl-1,2-dihydronaphthalenean important contributor to the bottle aged bouquet of wine. Chemistry and Industry 37.

Simpson, R. 1979. Aroma Compounds of bottle aged white wine. Vitis 18: 148-154.

Skinkis, P., B. Bordelon and E. Butz. 2010. Effects of sunlight exposure on berry and wine monoterpenes and sensory. American Journal of Enology and Viticulture 61: 147-156.

Smart, R. 1985. Principles of grapevine canopy microclimate manipulation with implications for yield and quality. A review. *American Journal of Enology and Viticulture* 36 (3): 230-239.

Smart, R. and W. Kliewer. 1987. Influence of light on composition and quality of grapes. In *grapevine canopy and vigor management*. *Acta Horticulture* 206:37-43.

Smart, R., S. Smith and R. Winchester. 1988. Light quality and quantity effects on fruit ripening for Cabernet Sauvignon. *American Journal of Enology and Viticulture* 39 (3): 250-258.

Spayd, S., R. Wample, R. Stevens, R. Evans and A. Kawakami. 1993. Nitrogen fertilization of white Riesling in Washington: effects on petiole nutrient concentration, yield, yield Components, and vegetative growth. *American Journal of Enology and Viticulture* 44(4): 378-386.

Spayd, S., R. Wample, R. Evans, R. Stevens, B. Seymour and C. Nagel. 1994. Nitrogen fertilization of white Riesling grapes in Washington. Must and wine composition. *American Journal of Enology and Viticulture*, 45: 34 – 41.

Springett, M. 2001. *Raw ingredients in the processed Foods: The influence of Agricultural Principles and Practices*. First edition. Springer. 320 p.

Steel C. and M. Keller. Influence of UV-radiation on the carotenoid content of *Vitis vinifera* tissues. *Biochemical Society Transactions* 28(6): 883-885.

Subileau, M., R. Schneider, J.M.Salmon, and E. Degryse. 2008. New insights on 3-mercaptohexanol (3MH) biogenesis in Sauvignon blanc wines: cys-3MH and (E)- hexen-2-al are not the major precursors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56 (19): 9230-9235.

Taiz, L y E, Zeiger. 2006. *Fisiología Vegetal*. Tercera Edición. Publicacions de la Universitat Jaume I de Castellón. 1338 p.

Tandonnet, J., N. Ollat, M. Neveux and J. Renoux. 1996. Effect of three levels of water supply on the vegetative and reproductive development of merlot and Cabernet Sauvignon grapevines. *Acta Horticulturae* 493: 301-307.

Tominga, T., R. Baltenweck-Guyot, K. Peyrot des Gachons and D. Dubourdiou. 2000. Contribution of volatile thiols to the aromas of white wines made from several *Vitis vinifera* grape varieties. *American Journal of Enology and Viticulture* 51 (2): 178-181.

Tominga, T., K. Peyrot des Gachons and D. Dubordieu. 1998. A new type of flavor precursors in *Vitis Vinifera* L.cv. Sauvignon blanc: s-cysteine conjugates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46 (12): 5215-5219.

Vallarino, J., X. López Cortez, J. Dunlevy, P. Boss, F. González-Nilo and Y. Moreno. 2011. Biosynthesis of methoxypyrazines: elucidating the structural/ functional relationship of two *Vitis vinifera* O-methyltransferases capable of catalyzing the putative step of the biosynthesis of 2-alkyl-2-methoxypyrazine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 7310-7316.

Versini G., A. Rapp, C. Volkmann and A. Scienza. 1989. Flavour compounds of clones from different grape varieties. Pp 513-524. In: Proceedings of the 5th International Symposium on Grape Breeding. St. Martin/ Pfalz, FR, Germany 12-16 September, 1989. *Vitis Special Issue*. St. Martin/ Pfalz, FR, Germany.

Wilson, B., C.R. Strauss and P.J. Williams. 1986. The distribution of free and glycosidically-bound monoterpenes among skin, Juice, and a pulp fractions of some white grape varieties. *American Journal of Enology and Viticulture* 37 (2): 107-111.

Ziello, C., N. Estrella, M. Kostova, E. Koch and A. Menzel. 2009. Influence of altitude on phenology of selected plant species in the Alpine region (1971-2000). *Climate research* 39: 227-234.

Zoecklein, B.W., T.K. Wolf, N.W. Duncan, J.M. Judge and M.K. Cook. 1992. Effects of fruit zone leaf removal on yield, fruit composition, and fruit rot incidence of Chardonnay and white Riesling (*Vitis Vinifera* L.) grapes. *American Journal of Enology and Viticulture* 43 (2): 139- 148.

Zoecklein, B.W., T.K. Wolf, J.E. Marcy and Y. Jasinski. 1998. Effect of fruit zone leaf thinning on total glycosides and selected aglycone concentrations of Riesling (*Vitis vinifera* L.) grapes. *American Journal of Enology and Viticulture* 49 (1): 35-43.

Zoecklein, B.W., T. Wolf, L. Pélanne, M.K Miller and S.S. Birkenmaier. 2008. Effect of vertical shoot-positioned, smart-dyson and geneva double curtain training systems on Viognier grape and wine composition. *American Journal of Enology and Viticulture* 59 (1): 11-21.