



**REVISIÓN DOCUMENTAL SOBRE EL USO DE *Botrytis cinerea* EN LA  
ELABORACIÓN DE VINOS BLANCOS BOTRITIZADOS.**

**ANDREA VIVIANA FONSECA ENCISO  
CRISTIAN DAVID MORALES CASTAÑO**

**UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO  
BOGOTÁ D.C.**

**2018**

**REVISIÓN DOCUMENTAL SOBRE EL USO DE *Botrytis cinerea* EN LA  
ELABORACIÓN DE VINOS BLANCOS BOTRITIZADOS.**

**Elaborado:**

**ANDREA VIVIANA FONSECA ENCISO  
CRISTIAN DAVID MORALES CASTAÑO**

**ASESOR DE TRABAJO DE GRADO INTERNO:  
PhD. JUDITH ELENA CAMACHO KURMEN**

**UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO  
BOGOTÁ D.C.  
TRABAJO DE GRADO  
2018**

## DEDICATORIA

*Dedicamos este pequeño paso en el cual culmina nuestra formación académica,  
A Dios y a todas las personas que participaron directa e indirectamente en este  
proceso que nos permite alcanzar este gran logro.*

*A nuestros padres por su constante motivación y por habernos dado esta gran  
oportunidad para alcanzar una meta más en nuestras vidas,  
A nuestras familias por brindarnos su amor incondicional,  
A los profesores por sus conocimientos, a nuestros amigos y pareja por ser el  
apoyo moral en la conclusión de este trabajo.*

## **AGRADECIMIENTOS**

*A mis padres y mis hermanos por darme su apoyo incondicional para alcanzar esta meta.*

*A la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca por la formación integral y profesional que nos brindó durante estos 5 preciados años.*

*A la docente Judith Elena Camacho Kurmen quien nos brindó todo su apoyo y nos abrió sus puertas para la culminación exitosa de este trabajo.*

**Andrea Viviana Fonseca Enciso**

*A mis padres y hermano por su apoyo moral durante estos 5 años de estudio.*

*A la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, en especial a todos los docentes que de una forma u otra fueron guías en este sendero de aprendizaje.*

*A la docente Judith Elena Camacho Kurmen, la cual con su esmero y conocimiento nos permitió culminar este trabajo.*

**Cristian David Morales Castaño**

## CONTENIDO

	<b>pág.</b>
RESUMEN.....	13
INTRODUCCIÓN.....	14
2. OBJETIVOS.....	16
2.1 OBJETIVO GENERAL.....	16
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	16
3. ANTECEDENTES.....	17
4. MARCO TEÓRICO .....	30
4.1 LA VID .....	30
4.1.1 Condiciones de crecimiento.....	31
4.1.2 La uva: aspectos generales.....	33
4.1.3 Variedades de uvas .....	34
4.1.4 Maduración de la uva y la vendimia.....	35
4.2 VINO.....	37
4.2.1 Clasificación de los vinos.....	37
4.2.2 Proceso de elaboración del vino blanco botritizado.....	38
4.3 <i>Botrytis cinerea</i> .....	42
4.3.1 Cultivo de <i>B. cinerea</i> .....	45
4.4 PROPIEDADES ANTIOXIDANTES Y OTRAS PROPIEDADES DEL VINO BOTRITIZADO.....	45
4.4.1 Enzima lacasa .....	46
4.4.2 Estilbenoides .....	47
4.5 MARCO LEGAL.....	48
4.5.1 Decreto número 1686 del 9 de agosto del 2012.....	48

4.5.2 NTC 293. Bebidas alcohólicas. Vino. Definiciones y clasificación .....	48
4.5.3 NTC 708. Bebidas alcohólicas. Vinos de frutas .....	49
4.5.4 NTC 223. Bebidas alcohólicas. Vinos. ticas permitidas en la elaboración	49
4.5.5 NTC 2980. Bebidas alcohólicas. Mostos para la elaboración de vinos.....	49
4.5.6 NTC 1244. Bebidas alcohólicas. Vino de mesa .....	49
5. DISEÑO METODOLÓGICO .....	50
5.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN .....	50
5.2. UNIVERSO, POBLACIÓN Y MUESTRA. ....	50
5.2.1 Universo .....	50
5.2.2 Población.....	50
5.2.3 Muestra.....	50
5.3 HIPÓTESIS.....	50
5.4 VARIABLES.....	50
5.4.1 Variables dependientes .....	50
5.4.2 Variables independientes .....	50
5.5 METODOLOGÍA DE TRABAJO.....	50
5.5.1 Bases de datos .....	51
5.5.2 Búsqueda y revisión de información .....	51
5.5.3 Criterios de selección de la bibliografía revisada .....	51
5.5.4 Criterios de exclusión .....	51
5.5.5 Fases de la investigación .....	51
5.5.6 Encuesta.....	52
5.5.7 Organización sistemática documental .....	53
5.5.8 Tratamiento estadístico .....	53
6. RESULTADOS .....	54
6.1 REVISIÓN DOCUMENTAL.....	54

Fase 1: Proceso microbiológico y su desarrollo en la uva.....	65
Fase 2: Proceso bioquímico causado por el hongo en el fruto.....	72
Fase 3. Beneficios que brinda el vino botritiz y su posible aplicación en Colombia .....	78
7. DISCUSIÓN.....	88
8. CONCLUSIONES.....	93
RECOMENDACIONES.....	94
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	95
ANEXOS.....	103

## Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1. Clasificación taxonómica de <i>B. cinerea</i> .....	45
Tabla 2. Variables de tablas de frecuencia .....	53
Tabla 3. Clasificación de la información por autor, título, año, fases, idioma, país, tipo de investigación y formato. ....	54
Tabla 4. Recopilación de temáticas más relevantes. ....	64
Tabla 5. Cepas usadas en los estudios. ....	68
Tabla 6. Compuestos aromáticos presentes en el vino botritizado VS un vino no botritizado de denominación Amarone. ....	74
Tabla 7. Aminas biógenas en el vino botritizado. ....	76
Tabla 8. Aminas biógenas en vino Chardonnay especial (sin botritizar).....	76
Tabla 9. Ficha técnica del vino con denominación Sauternes que proviene de la región de Burdeos - Francia. ....	77
Tabla 10. Beneficios del vino botritizado. ....	82



## Lista de figuras

	Pág.
Figura 1. Árbol taxonómico del género <i>Vitis</i> . .....	31
Figura 2. Cultivo de planta de la vid.....	32
Figura 3. Anatomía de la uva o baya. ....	34
Figura 4. Variedades de uvas empleadas en vinos botritizados.....	35
Figura 5. Diagrama de la fermentación alcohólica.....	41
Figura 6. Resumen del proceso de elaboración de vino blanco botritizado.....	42
Figura 7. <i>B. cinerea</i> en microscopía. Conidióforo marrón.....	43
Figura 8. Ciclo biológico de <i>B. cinerea</i> . ....	44
Figura 9. Esquema de la actividad de la lacasa sobre la quinona. ....	46
Figura 10. Frecuencia por año de publicación, de las fuentes consultadas.....	61
Figura 11. Frecuencia por tipo, de las fuentes consultadas.....	61
Figura 12. Frecuencia por País investigador, de las fuentes consultadas. ....	62
Figura 13. Frecuencia por idioma, de las fuentes consultadas.....	63
Figura 14. Frecuencia por tipo de investigación, de las fuentes consultadas. ....	63
Figura 15. Frecuencia de aplicación por fase, de las fuentes consultadas.....	64
Figura 16. Morfología macroscópica y microscópica de <i>B. cinerea</i> .....	67
Figura 17. Rayado en cámara de Neubauer.....	69
Figura 18. Microfisuras peristomales.....	71
Figura 19. Proceso oxidativo. ....	79
Figura 20. Fermentación alcohólica, láctica, maloláctica.....	80
Figura 21. Aminas biógenas.....	81
Figura 22. Encuesta pregunta uno.....	84
Figura 23. Encuesta pregunta dos.....	84
Figura 24. Encuesta pregunta tres.....	85
Figura 25. Encuesta pregunta Cuatro.....	86
Figura 26. Encuesta pregunta Cinco. ....	86
Figura 27. Encuesta pregunta seis. ....	87

## Lista de Anexos

Pág.

Anexo 1. Requisitos específicos de los vinos de frutas .....	103
Anexo 2. Requisitos específicos de los vinos de frutas .....	103
Anexo 3. Tabla de frecuencia por año de publicación, de las fuentes consultadas ....	104
Anexo 4. Tabla de Frecuencia por tipo, de las fuentes consultadas.....	104
Anexo 5. Tabla de Frecuencia por País investigador, de las fuentes consultadas. ....	104
Anexo 6. Tabla de Frecuencia por idioma, de las fuentes consultadas. ....	105
Anexo 7. Tabla de Frecuencia por metodología investigativa, de las fuentes consultadas. ....	105
Anexo 8. Tabla de Frecuencia de aplicación por fase, de las fuentes consultadas. ...	105
Anexo 9. Encuesta vinos botritizados .....	106
Anexo 10. Tabla encuesta pregunta uno. ....	107
Anexo 11. Tabla encuesta pregunta dos. ....	107
Anexo 12. Tabla encuesta pregunta tres. ....	107
Anexo 13. Tabla encuesta pregunta cuatro .....	108
Anexo 14. Tabla encuesta pregunta cinco.....	108
Anexo 15. Tabla encuesta pregunta seis.....	108
Anexo 16. Composición de los agares .....	109
Anexo 17. Cartilla vinos botritizados.....	110

## RESUMEN

La elaboración de vinos ha acompañado al hombre desde tiempos ancestrales, llegando hasta la producción de vinos de cosecha tardía afectados por el hongo *Botrytis cinerea* generando beneficios en el vino, aun cuando es considerado como plaga para los cultivos. Por esto el objetivo general de este trabajo fue realizar una revisión documental sobre el uso del hongo en la producción del vino botritizado.

La información obtenida se organizó por año, idioma, país, tipo de investigación y formato, además se realizó una encuesta en Expovinos 2017. Se consultaron 96 fuentes bibliográficas, dentro de las cuales se incluyeron artículos, libros, trabajos de grado y la legislación relacionada.

El proceso microbiológico reportó el uso de diferentes cepas, condiciones del inóculo, clases de uvas y condiciones de infección para obtener el vino botritizado. El proceso bioquímico reportó la importancia de la fase oxidativa y fermentativa. También se reportaron los beneficios del vino a la salud por su contenido de antioxidantes y los aportes que le hace la podredumbre noble a las características organolépticas del vino. La encuesta realizada permitió establecer el interés de la industria vinícola nacional sobre este producto (100%), destacándose que solo el 33% conoce el proceso de infección y producción.

Esta revisión documental permitió conocer la producción de vino botritizado y los diferentes parámetros a tener en cuenta. En Colombia podría producirse este vino realizando investigación en cepas nativas, uvas, condiciones del cultivo (invernadero), para lo cual se deja a disposición una cartilla producto de esta revisión.

**Palabras claves:** Hongo, podredumbre noble, bioproceso, beneficios y vino.

**Estudiantes:** Andrea Viviana Fonseca Enciso y Cristian David Morales Castaño.

**Asesor:** Judith Elena Camacho Kurmen, PhD.

## INTRODUCCIÓN

La producción de vinos lleva acompañando al humano desde tiempos prehistóricos por esto se han modificado las técnicas para la elaboración de vinos pasando de lo tradicional a lo singular, como lo es la elaboración de vinos dulces de mesa en los cuales se utiliza a *Botrytis cinerea* un hongo que en el campo de la agricultura es considerado como una plaga, debido a que es causal de la podredumbre gris o moho gris, afectando a más de 200 tipos de cultivos a nivel mundial (86) incluyendo el de la uva, en Colombia ocasiona graves pérdidas económicas estimadas alrededor del 30% del total de la producción y entre un 40% a 50% en condiciones de alta humedad, incluso en poscosecha este patógeno es aún más agresivo, afectando al 95% de los frutos 48 horas después de cosechados y que puede traer consigo la pérdida total del mismo. (87)

Por otro lado *B. cinerea* al desarrollarse en ambientes relativamente secos trae beneficios para el cultivo de uva y para la producción de vinos pues es en estas condiciones es donde su fase sexual (podredumbre noble) se produce. El hongo brinda al vino cualidades como mejor aroma (haciéndolo más dulce) y un tacto cremoso, así como le aporta agentes antioxidantes.

El aprovechamiento de este hongo es una técnica usada en países europeos como Alemania, Hungría y Francia. La técnica se basa en la producción de vino utilizando uvas afectadas por *B. cinerea*, razón por la cual estos vinos fueron denominados como “vinos botrizados” y han sido ampliamente reconocidos por su calidad a nivel mundial.

Esta técnica actualmente es aplicada en países que cuentan con una temperatura ambiental de unos 22°C y una humedad relativa de 40-48%, razón por la cual puede ser aplicada en Colombia, pues el país se encuentra en una zona geográfica con gran variedad climática debido a que cuenta con distintos pisos térmicos, siendo factible su producción en el país, además se pueden usar invernaderos que ayuden a adecuar las condiciones para la producción de estos vinos, que de ser aprovechada por el sector

vinícola de Colombia promete ser una estrategia para diversificar la producción de vinos en el país.

En esta revisión se destacan los factores esenciales para el desarrollo de la podredumbre noble, incluyendo los tipos de cepas y uvas utilizadas en este proceso, las rutas metabólicas y la bioquímica ocurrida durante la producción, las condiciones ambientales, siendo éstas un factor crítico ya que si no se presentan de forma adecuada se promoverá el desarrollo de la podredumbre gris la cual dañará el cultivo; es por esto que la implementación adecuada de este hongo conlleva a la producción de uno de los mejores vinos en todo el mundo.

El desarrollo de este trabajo pretende promover en la industria colombiana este producto de interés biotecnológico en viñedos que sean capaces de adecuar sus condiciones de infraestructura para la producción de vino botritizado, para incentivar la investigación y apoyo por parte del sector empresarial vinícola colombiano en cuanto a variedad de cultivos, cepas nativas, así como el ajuste de condiciones del cultivo adecuadas en invernaderos, para lo cual se deja como producto de esta revisión una cartilla donde se incluye la información recopilada en esta investigación.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GENERAL

Realizar una revisión documental que permita conocer el uso de *Botrytis cinerea* en la elaboración del vino botritizado.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comprender el proceso microbiológico en la producción del vino.
- Describir el proceso oxidativo que ocurre durante la producción del vino, causado por enzimas producidas por *Botrytis cinerea*.
- Establecer los beneficios que poseen los vinos botritizados mediante el uso de una plaga como una alternativa de producción vinícola en Colombia.

### 3. ANTECEDENTES

La presente revisión incluye fuentes literarias acerca del hongo *Botrytis cinerea*, el proceso bioquímico que sucede dentro de la vid cuando es afectada por la forma sexual del hongo, la cual es conocida como “podredumbre noble” también una línea de tiempo en la cual se relatan los avances en el desarrollo de esta técnica vinícola que se viene aplicando desde el siglo XV hasta el año presente (2017), de tal manera que al día de hoy son más conocidas las bondades de este tipo de vino y la cantidad de beneficios que puede traer su consumo para la salud humana.

El primer país en producir vinos botritizados fue Hungría, país en el cual se viene produciendo el vino Tokaji, vino que en tiene 2 variedades Szamorodni y Aszú, se produce con uvas botritizadas, las cuales son cultivadas hasta el día de hoy en la región de Tokaj-Hegyalja al nordeste de Hungría (1). Para los años de 1881 Greger, anuncia la popularidad y fama que para el siglo XIII ya tenía los vinos producidos en la región de Tokaj-Hegyalja y para el año 1930 se reportó una producción anual de 21000 a 80000 galones de vino dulce botritizado producido en esta región. (2)

Francia fue el segundo país en orden cronológico en aplicar la producción de vinos botritizados, en el siglo XVIII, esta producción estuvo ampliamente extendida por la región de Bordeaux en la zona de Sauternes, esto durante los años 1845 y para el año de 1872 según lo registrado por Dupré y Thudichum, la producción de vinos botritizados ya estaba estandarizada por la región de Bordeaux, tanto que para aquél entonces no solo la zona de Sauternes estaba produciendo vinos, sino que además las zonas de Bergerac, Montbazillac y otros distritos en la zona de Gironde, Gaillac , el norte de Toulouse y hacia el este de Bordeaux; además el proceso descrito por aquellos, no distaba mucho del que es aplicado al día de hoy. (2)

En Estados Unidos, en el estado de California, hacia el año de 1896 Hilgard anota que las uvas que no están muy afectadas por *B. cinerea* pueden aún ser usadas para la producción de vinos secos, para el año de 1944, Amerine y Wrinkler, durante el periodo de 1935 y 1941 produjeron 90 vinos usando para tal fin uvas del tipo Semillon,

de la cual concluyen que es muy recomendable su uso para la producción de vinos en el estado de California, debido a que dicha variedad no tiene una gran susceptibilidad a la infección por *B. cinerea*. En 1951 Nelson recalca lo compleja que es la infección de *B. cinerea* para los cultivos de uva, describiendo también la importancia que tiene, el fumigar los frutos cosechados que estarán algún tiempo almacenados, pues era común la aparición de la enfermedad también producida por el hongo, en la cual la piel de la fruta se ablanda y es fácilmente retirada (2).

Hacia el año 1982 ya se conocía las cualidades desecantes que *B. cinerea* ejercía sobre el fruto de la vid, con esto se ocasiona un aumento de la concentración de azúcares lo cual es medido con técnicas de densitometría y de acidez (usando un potenciómetro) sobre el mosto producidos con frutos afectados en distintas proporciones por el hongo y concluye además que este es capaz de producir un compuesto conocido como botricina, la cual puede inhibir la actividad de levaduras, evitándose así una sobre-fermentación en el vino que dé como resultado un sabor en exceso agrio (3).

En California, durante el año de 1991, trabajaron en la Inmunodetección y cuantificación de *B. cinerea* en uvas de vino cosechadas en este año, realizándose un inmunoensayo enzimático que consiste en implementar anticuerpos conjugados de peroxidasa de rábano picante unidos a anticuerpos policlonales de conejo dirigidos contra *B. cinerea* (anti-Bc IgG), el cual permite la detección de antígenos de este hongo de forma más rápida y específica de *B. cinerea* aunque puede detectar otros hongos que comparten epítopes similares perdiendo así su especificidad. (4)

En Italia en 1995 se evaluaron los efectos que producían los polisacáridos de *Botryotinia fuckeliana* (*B. cinerea*) en el cultivo *in vitro* de uvas de mesa. Los polisacáridos extracelulares como glucanos, quizás juegan un papel importante en la defensa de la planta frente al hongo y que en altas concentraciones podría ser fatales para el hongo, donde se determinó que los polisacáridos influyen en la pérdida de clorofila en las uvas otorgándoles un color café, aunque el mecanismo por el que



sucede esto no es bien conocido, además se comprobó que estos polisacáridos no tienen alto impacto en la uva y que cuentan con una alta resistencia a la infección por el hongo.(5)

Durante el año de 1996, Bavaresco, *et al*, realizan un estudio acerca de la correlación existente entre el aumento en la concentración de fitoalexinas producidas por la uva con el desarrollo de *B. cinerea* sobre la planta, para lo cual inoculan uvas de las variedades Castor y Huxelrebe con una suspensión de conidias a una concentración de  $10 \times 10^5$  conidias/mL de las cepas SAR 2116 y 2228 de *B. cinerea*, tras lo cual se midió mediante Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC) la concentración de fitoalexinas 25 días después de la inoculación, llegada la fase de envero y en la fase de madurez de la fruta. Los autores concluyen que es evidente la diferencia en la concentración de fitoalexinas en las uvas de variedad Castor en especial después de 25 días de inoculación con respecto al control de uva no inoculada. (6)

En las publicaciones revisadas que datan del año 2000 en adelante se encuentran amplios registros de técnicas que permitieron cuantificar e identificar compuestos químicos de los vinos botritizados.

En el año 2000, el equipo de investigadores de Hajós establece un bajo nivel de aminos como método eficaz para verificar la legitimidad de los vinos botritizados, tal es el caso del vino Tokaji-Azsú, del cual establecen un bajo nivel de histamina mediante HPLC (7).

Se realiza un estudio acerca de la concentración y tipo de metales que se pueden encontrar en los vinos producidos en las distintas zonas de la región de Tokaji en Hungría. Este estudio concluye que los metales más abundantes en estos vinos son: El Aluminio, el Calcio, Manganeso y Hierro; mientras que la concentración de metales pesados como el Plomo, el Cadmio es mínima. Por tanto, esto comprueba la seguridad de los vinos botritizados producidos en Hungría. (8)

En el año de 2004, se realiza un estudio acerca de las diferencias entre los compuestos aromáticos de dos vinos producidos con uvas botritizadas provenientes de dos distintas zonas de la región de Tokaji - Hungría (*Dorgó e Illés*). Este proceso fue realizado usando tecnología (GC - MS). Tras el análisis de resultados, se concluye que la variedad de compuestos aromáticos en ambos vinos era similar, aunque el vino proveniente de la zona de Dorgó se hallaba más concentrado, esto explicado por una mayor exposición de la zona a la luz solar y las altas temperaturas (9).

En el año 2006 Nikfardjam, *et al*, ya conocían los beneficios que poseía el vino botritizado, puesto que se realizó un estudio en el cual se comparaba el vino Tokaj con un vino alemán y mediante técnicas de cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) pudieron precisar que la cantidad de antioxidantes en el vino Tokaj es mayor en 8 mmol/L, con respecto a la cantidad de antioxidantes presentes en el vino alemán que es de 2.8 mmol/L (10).

Un estudio publicado durante el 2006, el cual buscaba reconocer cual enantiómero de los compuestos 3-mercaptohexan-1-ol (3MH) y 3-mercaptohexil-acetato (3MHA) se hallaba con más frecuencia en los vinos realizados con uvas sanas y en vinos botritizados. El estudio utilizó una columna de cromatografía quiral, tras esto se obtiene que mientras el vino realizado con uvas sanas contenía una mezcla racémica (igual proporción de enantiómeros) de 3MH, por otra parte, los vinos botritizados contienen una proporción del 30:70 de los enantiómeros de 3MH (con una predominancia de la forma dextrógira, lo cual confiere un aroma frutal a maracuyá). Con este estudio se explica la razón del olor frutal del vino botritizado. (11)

En el año 2007 se descubren 3 nuevos alcoholes sulfanílicos, los cuales fueron identificados a partir de vinos botritizados, la identificación de los alcoholes fue realizada usando espectrometría de masas y cromatografía de gases (GC-MS), los nuevos compuestos son: 2-metil-3-sulfanilbutan-1-ol (con olor a cebolla), 2-metil-3-sulfanilpentan-1-ol (olor cítrico) y 3-sulfanilheptan-1-ol (olor a jugo de uva), estos 3 nuevos alcoholes identificados contribuyen al olor característico del vino botritizado.(12)

De manos de Lavigne *et. al.* durante el año 2008, pudo ser determinada la presencia de 8 µg/L de sotolona (4,5-dimetil-3-hidroxi-2(5) H-furanona), molécula de tipo lactona con un aroma intenso a curry, la cual forma parte del conjunto de compuestos volátiles azufrados que proveen el aroma en el vino, es de agregar también, que dicha lactona es uno de los productos que se tienen como resultado del proceso oxidativo ocasionado por *B. cinerea* en los vinos botritizados. (13)

También durante 2008, se realiza un ensayo de ELISA, con el fin de cuantificar la presencia de antígenos de *B. cinerea*, así como medir la actividad de lacasa presente en el fruto mediante el método de SO-2 independiente de alto rendimiento, el análisis mostró una positiva relación entre la actividad de lacasas y la presencia de antígenos del hongo, también mostró una mayor actividad de la enzima en los frutos cosechados durante la temporada de otoño, indicando esto, la mejor temporada para cosechar el fruto. (14)

Fedrizzi, *et al*, realizan un ensayo acerca de las diferencias bioquímicas entre vinos Amarone producidos con uvas sanas y mezclas de uvas sanas con uvas botritizadas 20% y 40% respectivamente a un volumen de vino de 10 litros. La identificación de los compuestos de los vinos fue realizada mediante GC-MS y HPLC. Se encuentra entonces que mientras que la concentración de ácidos grasos era más alta en los vinos realizados con uvas sanas, el incremento de acetatos de isoamilo y fenetilo (ambos compuestos ésteres con aromas frutales) fue limitado en los vinos realizados con uvas botritizadas, esto debido a la actividad de esterases producidas por *B. cinerea* y que persisten incluso después de proceso de maduración del vino. (15)

En el 2010, se hallan 3 nuevos tioles volátiles: 3-sulfanilpentan-1-ol (3SP), 3-sulfanilheptan-1-ol (3SHp), and 2-metil-3-sulfanilbutan-1-ol (2M3SB), los cuales fueron identificados en el vino Sauternes blanc, mediante GC – MS. Los anteriores son productos de fermentación de 3 compuestos conjugados S-cisteina, los cuales se hallan contenidos en el fruto, dichos conjugados son: S-3-(pentan-1-ol)-l-cisteina (P-3SP), S-3-(heptan-1-ol)-l-cisteina (P-3SHp), S-3-(2-metilbutan-1-ol)-l-cisteina (P-

2M3SB); los cuales son producidos por la planta como forma de defensa contra el hongo, por tanto la infección y desarrollo de la podredumbre noble ocasiona una concentración de dichos conjugados hasta una concentración de 700, 50 y 500  $\mu\text{M}$  respectivamente, a comparación de la concentración de estos en un fruto sano que es de hasta 50  $\mu\text{M}$ . (16)

En Francia, durante el año 2010, se llevó a cabo un estudio acerca del papel que tienen las enzimas lacasa (polifenol oxidasa) y glucosa oxidasa en la infección de *B. cinerea* a la uva, es de resaltar que mientras el papel de la lacasa se halla muy bien documentado (responsable de la oxidación de compuestos polifenólicos a estilbenos y otro compuestos antioxidantes), la acción de glucosa oxidasa no es claro y poco estudiado, Vivas, *et al*, logran demostrar que esta es capaz de oxidar compuestos (ácido tartárico, etanol y glicerol) a compuestos coloreados, es decir que la actividad de la glucosa oxidasa es quien confiere al vino botritizado un color más vivo, asociado a vinos de muy alta calidad.(17)

La causa del aroma distinto que poseen los vinos botritizados se estudió para el año 2011, esto evidenciado mediante técnicas de microextracción de fase sólida, en la cual se demuestra que el aroma más dulce de los vinos botritizados es debido a la oxidación de compuesto azufrados (uno de ellos el 3-(metiltio)-1-propanol) (18).

En 2011, se realiza en Alemania un estudio sobre el agrietamiento de las bayas de uva post-envero (después de su periodo de maduración) de *Vitis vinifera L*, el cual reduce el rendimiento, la calidad del mosto y del vino, esto relacionado con la infección por *B. cinerea*, ya que siempre se agrietaba en aquellas regiones de la baya donde los síntomas de la infección (color púrpura parduzco de la piel de la fruta) eran visibles. Se demuestra que las infecciones por *B. cinerea* aumentan la susceptibilidad al agrietamiento de las bayas de uva Riesling al debilitar el exocarpio de la uva. (19)

Para el mismo año Ildikó Magyar elaboró el libro *Advances in food and nutrition research* que contiene todo lo relacionado con vinos botritizados, como lo es el

desarrollo de podredumbre noble el cual necesita condiciones especiales y que se producen en sólo unas pocas áreas en el mundo. Los factores más importantes son las condiciones meso y micro-climáticas. (20)

La podredumbre noble rara vez o nunca se produce en las zonas vitícolas calientes y secas. La germinación de los conidios puede ocurrir entre 10 y 25 °C, aunque la óptima es 18 °C, alternando períodos de sequía y lluvias los cuales son necesarios, con días soleados, principalmente secos. Un período de lluvias corto (3-4 días) justo antes o en plena madurez de la uva es favorable. Un ciclo de alternancia de humedad durante la noche, el rocío y frecuentes nieblas matinales a favor del desarrollo del hongo, mientras que las tardes de sol y viento facilitan la evaporación del agua, para limitar el crecimiento fúngico excesivo. Estas condiciones climáticas ocurren más probablemente a finales de otoño, por lo que las variedades de uva de maduración tardía son más adecuadas para el desarrollo de la pudrición noble. (20)

Un estudio realizado durante el año 2012 compara la actividad de enzimas como estererasas y  $\beta$ -glucosidasa (enzimas producidas por el hongo) en frutos de vid sanos y en frutos afectados por la podredumbre noble, encontrándose una aumentada actividad de estas en los frutos afectados por la podredumbre, lo cual ocasiona una reducida presencia de productos fermentativos que den como resultado aromas desagradables en el producto final, causando también un mejor sabor en el vino. (21)

Durante el periodo de 2011-2012 Timperio, *et al* estudian acerca de la producción estilbenos como  $\epsilon$ -viniferina y trans-resveratrol por parte de la uva, como mecanismo de defensa ante la infección por *B. cinerea*. Se implementó un espray de conidias del hongo a una concentración de 106/ $\mu$ L para la infección. Para la cuantificación e identificación de los estilbenos se aplica la técnica de espectrometría de masas, tras la cual se comprueba una marcada presencia de los dos estilbenos, mientras que la producción de  $\Delta$ -viniferina fue casi nula en todas las muestras testeadas. (22)

En el año 2013, se realizó un estudio sobre la forma en la cual se afecta el perfil

aromático de un vino tipo passito en Italia al hacer uso de diferentes cepas de *B. cinerea* y *Saccharomyces cerevisiae*. Para este ensayo se realizó una caracterización del desarrollo las colonias de *B. cinerea*, lo cual fue realizado mediante siembra de un disco de agar con micelio de 10 días en agar Extracto de Malta (MEA) y en agares a base de jugo de uva blanca (WGJ) y uva roja (RGJ), una vez sembrado el disco, se midió el diámetro de la colonia diariamente. (23) (24). Se realizó una prueba de infección, para lo cual en primer lugar se tomaron 75 bayas Garganega y se sumergieron estas en una solución al 2% (V/V) de hipoclorito de sodio, de manera que la superficie de las bayas se depure de cualquier agente que pueda contaminar la prueba. La prueba fue realizada mediante inoculación por punción de un concentrado de conidias (ajustado a  $10^4/\mu\text{L}$ ) en agua destilada estéril, también se dejan dos bayas como control negativo, las cuales fueron inoculadas con agua destilada estéril. Las bayas fueron incubadas por 10 días a  $25^\circ\text{C}$  y se propone una escala de desarrollo de micelio en la cual 0 indicó un nulo desarrollo de micelio sobre el fruto y 5 que hasta  $2/3$  del fruto están cubiertos por micelio. (23) (24).

La prueba de actividad de lacasa, esterasa y  $\beta$ -glucosidasa, para lo cual se procedió a tomar un micelio de 10 días a partir de un medio MEA con una cuchilla estéril, tras dos lavados en agua estéril, se re-suspendió este en BPP ( $50 \mu\text{M}$  pH 7), para la extracción del contenido micelial se procedió a suspender el micelio lavado anteriormente en una solución estéril de fenilmetilsulfonil fluoruro en agitación a alta velocidad para desintegración completa del micelio. (23) (24).

La actividad lacasa fue medido espectrofotométricamente, se leyó absorbancia a 450 nm y cuantificada mediante curvas de calibración, usando como control una solución de lacasa pura de *Agaricus bisporus*, la cantidad de enzima necesaria para oxidar un  $\mu\text{mol}$  de sustrato en un minuto, es tomado como una unidad (U) de actividad, la actividad de esterasas y  $\beta$  – glucosidasas fue evaluada mediante la técnica de Tosi *et. al.* 2012 (23) (24).

Lorenzini *et. al.* 2013, realizan un ensayo comparativo entre las características del jugo de las bayas afectadas únicamente por *B. cinerea* y aquellos afectadas por combinaciones de *B. cinerea* junto a otros mohos, como *Fusarium verticillioides*,

*Alternaria alternata* o *Aspergillus niger*. El ensayo fue realizado mediante la punción directa de distintas bayas con una solución de conidios (extraídas de colonias de 10 días de cada cepa y ajustadas a una densidad de  $10^4$ /mL), tras esto las bayas son incubadas sin tapa durante 10 días, a una temperatura inicial de 25°C hasta ser disminuida está a 8°C y a una humedad relativa aproximada de 80%. (23,25)

La concentración de glucosa, fructosa y glicerol fueron medidos mediante kit comercial enzimático de Roche al igual que la actividad de glucosa oxidasa, polifenol oxidasa (lacasa) fue medida según técnica descrita por (Tosi *et. al.* 2012). El estudio concluye que la combinación *B. cinerea*, juntos a otros mohos durante la infección del fruto parece facilitar la aparición de la podredumbre noble, mientras se mejoran sus efectos, en especial al combinarse *B. cinerea* y *Fusarium verticillioides*. (23,25)

Se logra durante el curso del mismo año la secuenciación de una cepa de *B. cinerea* (cepa BcDW1), la cual fue recuperada a partir de bayas recolectadas en Napa (California) en el año 1992, esta cepa fue usada para realizar un inóculo para inducir la formación de la podredumbre noble en el fruto. El ADN fúngico fue extraído mediante técnica de bromuro de cetiltrimetilamonio. Tras la secuenciación del genoma, se obtiene que este consta de un largo de hasta 42.100.000 millones de pares de bases (este está conformado por una proporción de Guanina + Citosina del 42%). (26)

Un estudio de secuenciación de 164 uvas afectadas por la podredumbre gris y la podredumbre noble de la uva demuestra que ambas afecciones son producidas por *B. cinerea sensu stricto*, hecho por el cual dicho hongo es conocido como el hongo “Dr. Jekyll y Mr. Hyde”, al ocasionar una de las más graves afecciones a los cultivos de uva, en la cual se produce la pérdida de todo el cultivo, así como también de ser aquél usado en el vino botritizado y que puede mejorar la calidad del vino.(27)

En el año 2015, se caracterizaron las propiedades físico-químicas de los vinos botritizados donde se observaron cambios significativos de la composición fenólica hallándose compuestos como la miricetina, el cual no se ha informado antes en las uvas blancas, encontrado en bayas muy afectadas por la podredumbre noble (siendo

un compuesto característico de las uvas tintas). Se observó que la miricetina está presente en uvas con alto nivel de pudrición noble (nivel 2), esto sugiere que puede ser sintetizada por la planta como respuesta a una infección por pudrición noble, esto abre la posibilidad de que la miricetina se utilice como marcador de niveles altos de infección por la pudrición noble. (28)

Se realiza el primer estudio de proteómica en uvas afectadas por la podredumbre noble usadas en la producción del vino Amarone, esto acaecido durante el año de 2015, en el cual mediante electroforesis de dos dimensiones en gel de poliacrilamida se pretende la identificación de marcadores proteicos de la infección por el hongo en el fruto. Este estudio arrojó que los perfiles proteicos de frutos infectados y no infectados son considerablemente diferentes, póstumamente y mediante la técnica de Maldi-tof (espectrometría de masas), se identificaron las proteínas peroxiredoxina -5, malato-deshidrogenasa, ATP-sintasa subunidad alfa y ATP-sintasa cadena beta; se identificó además 3-alfa-hidroxiesteroide deshidrogenasa (también 20-beta-hidroxiesteroide deshidrogenasa) y una enzima de tipo oxidoreductasa (parte del proceso metabólico del hongo), las cuales pueden ser marcadores de infección potenciales. (29)

Durante el mes de agosto del año 2015, se realiza un ensayo acerca del rendimiento del desarrollo de *B. cinerea* sobre los frutos de la vid a diferentes condiciones de Humedad Relativa (RH) y temperatura, para este estudio se utilizaron diez distintas cepas del hongo. Se procedió a la extracción de conidios, lo cual fue realizado mediante siembra de las cepas en medio V8 (concentrado de tomate (70 g), 100 g de sopa de legumbres, 3 g de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 20 g de agar-agar y un litro de agua destilada). En el medio se inocularon trozos de micelio de 4 mm de diámetro (tomados de un medio PDA), los cuales se incubaron por 19 días bajo luz cercana a UVA (luz negra) y a una temperatura de 20°C. (30)

La suspensión de las conidias se realizó agregando 7 ml de una solución al 0.05% de Tween 20 y posteriormente frotando suavemente sobre todo el agar con un tubo de vidrio. Este extraído fue filtrado con doble capa de estopilla estéril para retirar cualquier sobrante de micelio. La concentración de conidios fue ajustada con una cámara de



Neubauer a 104 en 100  $\mu$ L. Se concluye que a mayor HR, mayor sería el desarrollo de la podredumbre sobre la uva, siendo 90% el valor óptimo y un valor menor de 65% no propicio para el desarrollo de este. (30)

Jean-Christophe Barbe, *et. al.* (2016) realizan un estudio que compara el proceso de vinificación y los productos volátiles aromatizantes resultantes, usando para ello frutos artificialmente botritizados y mostos botritizados, para este estudio se usan como control vinos blancos normales y vinos realizados con uvas secadas al aire; esto realizado con uvas de tipo *Vitis vinifera var. Ecolly* recogidas en la provincia de Shaanxi-China. Los vinos fueron realizados según el protocolo para la producción de vinos dulces.

Los muestreos fueron realizados durante el mes de abril del año 2016. La técnica de GC – MS (cromatografía de gases y espectrometría de masas) muestra una mayor concentración de alcoholes en los vinos realizados con las uvas botritizadas, pero si había una concentración considerablemente más alta de ésteres y ácidos grasos, en especial de ésteres de acetato, estos probablemente debidos a altos niveles de tioles volátiles inducidos por la infección del hongo; también se detecta una mayor concentración de terpenoles y norisoprenoides en comparación con los vinos suaves normales y los vinos realizados a partir de mostos botritizados.

Con lo anterior se muestra la razón por la cual, aunque con un costo razonablemente mayor los vinos realizados a partir de uvas botritizadas presentan un aroma frutal (parecido al mango) y sabor a caramelo; mientras que en comparación con los vinos que se realizaron a partir de mostos botritizados no poseían dichas características gustativas. (31)

En este mismo año se identifican 3 lactonas quirales, las cuales confieren el olor frutal característico del vino botritizado, estas lactonas (identificadas tras el estudio como 3-metil-octanolida, eugenol, 2-nonen-4-olida y  $\gamma$ -nonalactona). Este estudio fue realizado

usando HPLC y GC-MS y se usaron vinos botritizados producidos con uvas Sauternes, Jurançon, Loupiac y Barsac. (32)

Mediante la técnica de GC – MS, se determina en el año 2017 la presencia de ésteres, ácidos grasos, lactonas, tioles volátiles y 2-nonanona, estos dos últimos hallados marcadamente en vinos afectados por la podredumbre noble y se atribuyen a estos las características de tacto cremoso y olor a albaricoque seco, que en su mayoría poseen los vinos botritizados. En este mismo estudio se determina por regresión de mínimos cuadrados parciales (PLS regression) que el citado aroma a albaricoque era contribuido por tioles, C13-norisoprenoides, lactonas, terpenoles y derivados de ácidos fenólicos; mientras que el tacto cremoso es dado por derivados fermentativos y no fermentativos, en especial por los compuestos volátiles producidos por el hongo. (33)

Mediante SDS - PAGE y HPLC y durante este mismo año, se determina que la característica de mayor espumosis del vino botritizado se debe a la alteración de la proteína conocida como Seripauperina-5 presente en la uva por parte del hongo *B. cinerea*, para lo cual este usa la enzima lacasa usada durante el proceso oxidativo que causa en la uva. (34)

Durante el mes de junio de 2017, se llevó a cabo una investigación en Italia sobre los efectos en el metabolismo del fruto ocasionados por la inducción artificial postcosecha de la podredumbre noble sobre uvas de la variedad Garganega, para lo cual se usó también bayas deshidratadas artificialmente como control. Luego por cromatografía de gases – espectrometría de masas se determinó la presencia de compuesto volátiles que contribuyen al aroma característico de los vinos botritizados (estilbenoides, flavonoides y tioles volátiles). (36)

La técnica arroja como resultado, la presencia aumentada de los anteriores en el vino realizado con las uvas afectadas por el hongo, además, también, muestra la presencia de aminoácidos como la leucina, isoleucina, fenilalanina y triptófano, también muestra la presencia de metabolitos como ácido 13-oxo-9,11-Octadecadienoico (13-KODE) que de igual manera contribuyen al sabor del producto. (36)

También se determina en este estudio un valor de  $32.87 \pm 0.06$  de grados Brix de concentración de glucosa en los mostos de uvas afectadas por el hongo. (35) Durante el año de 2017 se lleva a cabo una investigación en la cual se analizó el efecto de los bajos niveles de osmolaridad en el crecimiento de *B. cinerea* en su proceso de infección al fruto de la vid, en este estudio se usó un medio de cultivo basado en extracto de malta con bajos niveles en NaCl (esto trayendo como consecuencia un bajo potencial osmótico en el medio). Se concluye que a niveles bajos de potencial osmótico el hongo disminuye su velocidad desarrollo *in vitro*; esto indica por tanto que el hongo requiere de una buena disponibilidad de sales para un correcto desarrollo. (36)

En Brasil 2017, estudiaron la influencia de la remoción temprana de hojas y el tamaño de la uva en la infección por *B. cinerea* donde demostraron que aquellos racimos que no se les había removido sus hojas eran más propensos a la infección, también se observa que aquellas bayas que tuvieran un tamaño más o menos igual al de un guisante eran más resistentes a la pudrición por el hongo. (37)

## 4. MARCO TEÓRICO

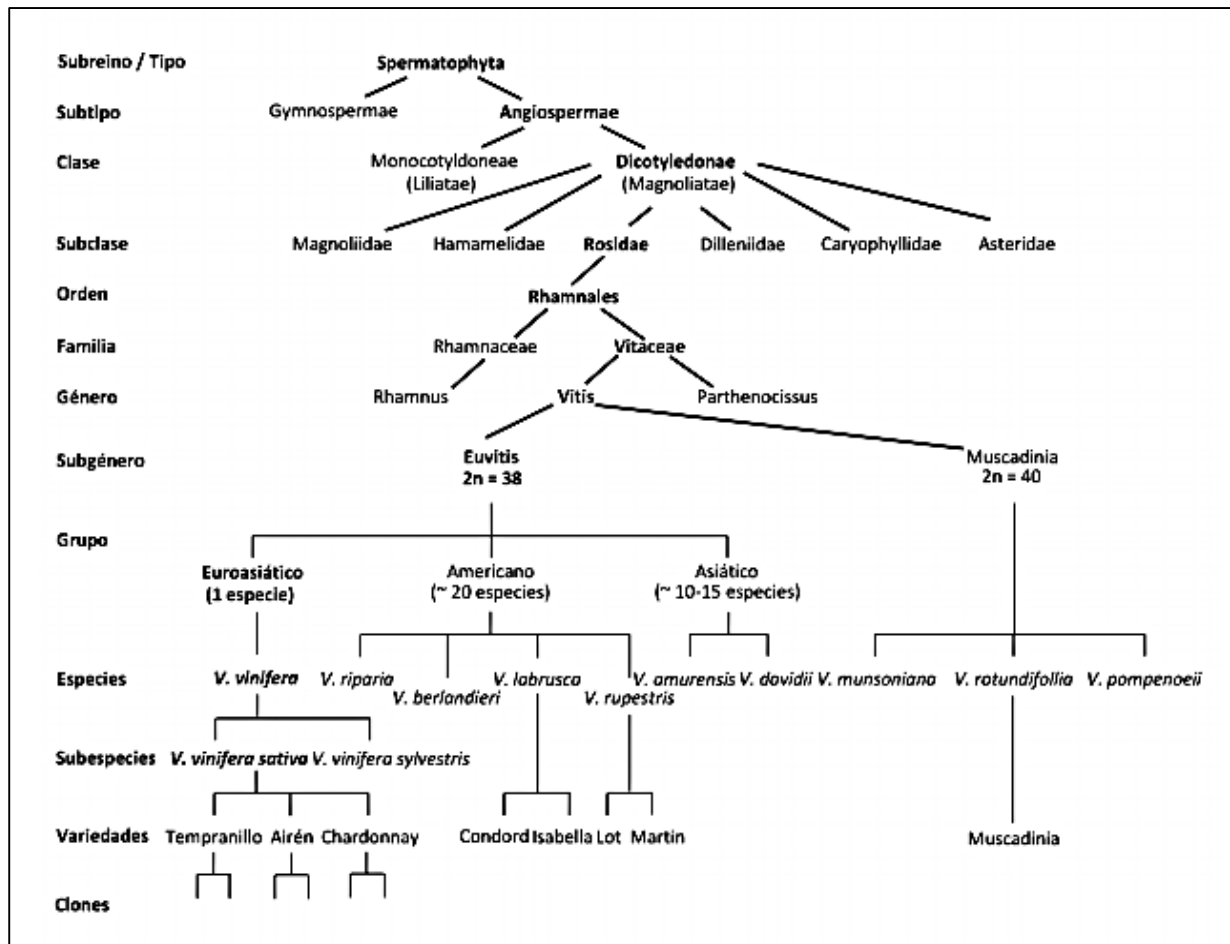
### 4.1 LA VID

La Vid es un arbusto trepador, perteneciente al género *Vitis*, familia *vitaceae*. La familia *vitaceae* está compuesta por casi mil especies, (figura 1) agrupadas en 17 géneros. La mayoría se encuentran ubicadas en regiones con climas templados, siendo muchas de sus plantas empleadas ornamentalmente. El único género de importancia agronómica lo constituye el género *Vitis*, formado por un gran número de especies aproximadamente 60, distribuidas en diversos ecosistemas terrestres, abarcando desde las de clima muy frío, como *V. amurensis*, a las de clima tropical como *V. caribea*. También incluye la especie *Vitis vinífera* a la que pertenecen las distintas variedades de vid cultivadas en el mundo, tanto de uva de vinificación como de uva de mesa (38).

La planta de vid cultivada en explotaciones comerciales está compuesta por dos partes principales, uno constituye el sistema radicular (*Vitis sp*). Del grupo americano, en su mayoría) y otro la parte aérea (*Vitis vinífera L.*). Esta última constituye el tronco, los brazos y los pámpanos que portan las hojas, los racimos y las yemas. La unión entre ambas zonas se realiza a través del punto de injerto (39).

La inflorescencia de la vid se conoce con el nombre de racimo compuesto. El racimo se sitúa opuesto a la hoja. La vid cultivada lleva de uno a tres racimos por pámpano fértil. Lo normal son dos racimos y rara vez salen cuatro. El racimo está formado por un tallo principal llamado pedúnculo hasta la primera ramificación. La primera ramificación genera los denominados hombros o alas, éstas y el eje principal o raquis, se siguen el extremo constituyendo el receptáculo floral que porta la flor. Dos ramificaciones consecutivas forman un ángulo 90°. Al conjunto de ramificaciones del racimo se le denomina raspón o escobajo (40). La base que sostiene el fruto se denomina pedicelo.

Figura 1. Árbol taxonómico del género *Vitis*.



Fuente: (38)

#### 4.1.1 Condiciones de crecimiento

La vid (figura 2), si bien es un cultivo rústico, es muy sensible a las enfermedades, de aquí que el viticultor ecológico debe poner cuidado en seleccionar el lugar que sembrará el viñedo. Los mejores lugares son aquellos soleados, de buen drenaje superficial e interno y con una buena circulación de aire. Se aconseja lugares soleados por la mañana y sombreados por la tarde. Los sitios soleados por la mañana, bien drenados y con buena circulación de aire, reducen la humedad en el viñedo y con ello las condiciones que favorecen la aparición de hongos patógenos. Además, la humedad excesiva puede interferir la polinización.

**Figura 2.Cultivo de planta de la vid.**



**Fuente:** (38)

Los vientos excesivos afectan a los viñedos, sobre todo si son irregulares y racheados, pues en primavera y verano pueden dañar los sarmientos. Donde se den estas condiciones, los viñedos deben protegerse con barreras de árboles cortavientos, sembrados al establecer los viñedos y con especies de crecimiento rápido. Estas barreras deben ser permeables al viento, evitando la proyección de sombras sobre el viñedo en las primeras horas de la mañana.

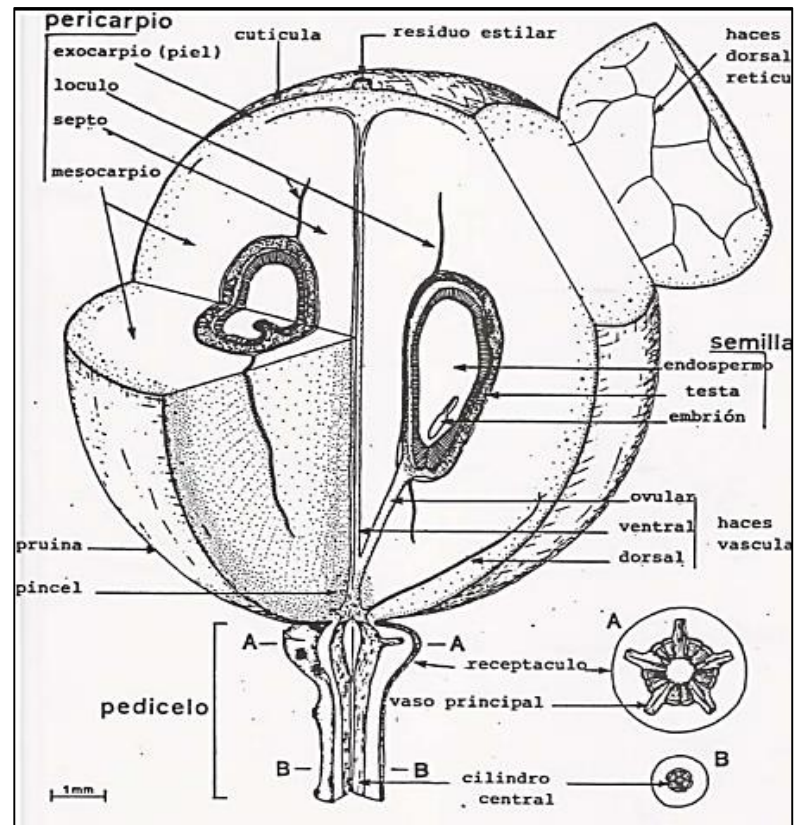
La vid es un cultivo flexible en cuanto a exigencias de suelos, adaptándose bien tanto a suelos profundos, así como suelos finos, arenosos o arcillosos, aunque son los limosos los más deseables, inclusive crecen bien en suelos rocosos, los cuales pueden favorecer en aquellos lugares fríos. No obstante, no son aconsejables los suelos o zonas con mal drenaje. Por último, mencionar que la vid gusta de suelos con pH entre 6,5-7,2. Cuando se siembra la vid en espaldera, las filas deben seguir la dirección de los vientos predominantes en primavera y verano, para así propiciar la reducción de la humedad en los viñedos por las mañanas (41).

#### 4.1.2 La uva: aspectos generales.

Es una baya de forma y tamaño variables. Más o menos esférica u ovalada, y por término medio de 12 a 18 mm de diámetro en uva para mesa y de 7 a 15 mm en uva para vino. Los frutos en variedades de mesa pesan entre 5 y 10 g y los de vino entre 1 y 2 g. Se distinguen tres partes generales en el fruto: (figura 3)

- **Epicarpio (piel):** conocido como hollejo en la viticultura, es la parte más externa de la uva y como tal, sirve de protección del fruto. Membranoso y con epidermis cutinizada, elástico. En su exterior se forma una capa cerosa llamada pruina. La pruina tiene función protectora y se encarga de fijar las levaduras que fermentan el mosto y también actúa como capa protectora. El color del hollejo varía según el estado fenológico en el que se encuentra. En la fase herbácea es de color verde y a partir del envero es de color amarillo en variedades blancas, y rosado o violáceo, en variedades tintas. Es el responsable del color y aroma, pues es donde residen los polifenoles que dan color al mosto (antocianos y flavonoides). En las variedades tintoreras (Garnacha tintorera) también se acumula materia colorante en la pulpa. El hollejo representa el 7% de la totalidad del fruto. (42)
- **Mesocarpio:** representa la mayor parte del fruto y es conocido como pulpa. La pulpa es translúcida a excepción de las variedades tintoreras (acumulan aquí sus materias colorantes) y muy rica en agua, azúcares, ácidos (málico y tartárico principalmente), aromas, etc. Se encuentra recorrida por una fina red de haces conductores, denominándose pincel a la prolongación de los haces del pedicelo, contribuye con el 84% del total del fruto. (42)
- **Semillas o pepitas:** las semillas están rodeadas por una fina capa (endocarpio) que las protege. Son ricas en aceites y taninos. Están presentes en número de 0 a 4 semillas por baya. A la baya sin semillas se la denomina baya apirena. Exteriormente se diferencian tres zonas: pico, vientre y dorso. En su interior se encuentra el albumen y embrión, que representan el 4% del fruto (42).

Figura 3. Anatomía de la uva o baya.



Fuente: (43)

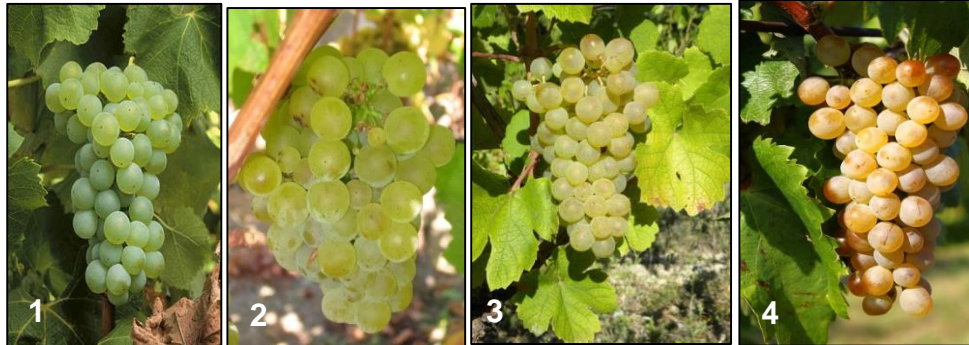
#### 4.1.3 Variedades de uvas

Para la elaboración de vinos botritizados se encuentran con más frecuencia las siguientes variedades que hacen parte de los vinos botritizados más conocidos (figura 4):

- **Semillón:** Uva base para los famosos vinos dulces botritizados de Sauternes (Francia) y proviene de Bordeaux, variedad de hollejo grueso.
- **Sauvignon blanc:** curioso vidueño (cultivar de la vid) blanco llamado también *fumè blanc*. Uva del Alto Loira y de Bordeaux (Francia) hoy extendida a todo el mundo, produce vinos muy variadas, austeris en el Loira y robustos en Bordeaux.
- **Muscadelle:** variedad de uva blanca origen francés (44).
- **Furmint:** variedad de uva blanca originaria de Hungría de maduración tardía y piel delgada muy susceptible de ser atacada por *Botrytis* (45).



**Figura 4. Variedades de uvas empleadas en vinos botritizados.**



1) Semillón 2) sauvignon blanc 3) Muscadelle 4) Furmint **Fuente:** (46)

#### **4.1.4 Maduración de la uva y la vendimia**

El primer signo de madurez es el envero. Esto simplemente es el cambio de color de la uva. El fenómeno es menos visible en variedades blancas, aunque es de idéntica naturaleza: la disminución del color verde está ligada a la rápida desaparición de los pigmentos clorofílicos y está tiende a ponerse de color amarillo verdoso (47).

La maduración consiste en el almacenamiento de azúcares en la uva y a la vez disminuyen los ácidos tartárico y málico, sobre todo este último. Es decir, la maduración del grano-uva no es lineal. Este periodo tiene una duración de 45 días. La vid no dota a la uva de azúcares, aromas y otros atractivos, hasta que la pepita es apta para la germinación. Desde el punto de vista enológico, se puede hablar de dos tipos de maduración:

- La que busca la composición óptima del conjunto de elementos de la uva (básicamente azúcares, acidez, aromas, pigmentos y taninos); y
- La que busca el máximo de azúcares en la uva (48).

La vendimia o recolección de las uvas se debe realizar cuando el fruto presenta una relación adecuada entre los azucares que debe ser de 21 a 23°BRIX y la acidez de 4-6 g/L de acidez total en ácido tartárico, decidido el momento de comenzar la vendimia, se concreta buscando la calidad, la mejor hora para realizarla, puesto que en las horas más frescas las uvas aportan todo su potencial aromático, después se establece como va a ser la recogida, selectiva o no, manual o mecánica de esta forma se transportará

a la bodega para no generar una fermentación anticipada puede hacerse en cestos o cajas (49). Por último, en algunas ocasiones se persigue una sobre-maduración o concentración adicional de los azúcares, con el fin de obtener vinos con características peculiares. Entre las técnicas utilizadas se encuentran:

**La podredumbre noble:** Consiste en una vendimia tardía, en algunos casos uva a uva, posterior al ataque de éstas por el hongo *B. cinerea*. Este hongo, que hace perder agua a la uva, concentra azúcares y diversas sustancias, aumenta la glicerina y el ácido cítrico, dando lugar a vinos dulces y untuosos. Mediante ella se obtienen los Sauternes, Tokaji y algunos vinos de Alsacia y Alemania. Es un fenómeno extremadamente delicado, se deben dar ciertas condiciones de humedad y calor para que prospere, y, aun así, no todos los años se pueden elaborar estos vinos. Si este hongo ataca antes de la maduración de la uva, da lugar a una enfermedad; se habla entonces de podredumbre gris en vez de noble (48). En el caso de las uvas usadas en la elaboración de vinos botritizados ya que estas alcanzan una sobre maduración pueden llegar a tener 32 °BX de azúcar en su contenido. (35)

**La vendimia tardía:** (Vendanges tardives o Late Harvest) En esta al sobremadurar las uvas se produce una pérdida de acidez considerable, por eso suele ser una técnica de climas frescos, en los que la maduración es lenta.

**El asoleamiento:** Consiste en someter la uva a un proceso de pasificación posterior a la vendimia mediante la exposición al sol esto concentra tanto los azúcares como la acidez de la uva. Esto redundará en beneficio de la calidad del vino, porque la acidez hace que un vino dulce no sea empalagoso.

**La crioextracción:** Consiste en una vendimia especialmente tardía, realizada cuando las uvas están heladas. Al prensar las uvas, el hielo sólido, se separa del mosto, líquido, lo que permite una concentración adicional. (48)

## 4.2 VINO

El vino (del latín *vinum*) es una bebida obtenida de la uva (especie *Vitis vinifera*) mediante la fermentación alcohólica de su mosto. La fermentación se produce por la acción metabólica de levaduras que transforman los azúcares del fruto en alcohol etílico y gas en forma de dióxido de carbono. El azúcar y los ácidos que posee la fruta *Vitis vinifera* hacen que sean suficientes para el desarrollo de la fermentación. No obstante, el vino es una suma de un conjunto de factores ambientales: clima, latitud, altitud, horas de luz, etc. (63).

### 4.2.1 Clasificación de los vinos.

La clasificación de los vinos nos permite hacer una aproximación del proceso productivo del vino, se clasifican principalmente en:

#### 4.2.1.1 Contenido de azúcar

- **Dulces:** contenido de azúcares superior a 45 g/L
- **Semidulces:** contenido de azúcares entre 12 y 45 g/L
- **Semisecos:** contenido de azúcares entre 4 y 12 g/L
- **Secos:** contenido en azúcares inferior a 4 g/L

#### 4.2.1.2 Envejecimiento

- **Crianza:** duración no inferior a dos años, mínimo 6 meses de bodega de roble.
- **Reserva tintos:** mínimo 36 meses, de los cuales mínimo 12 meses en roble y 2 años en botella
- **Reserva de blancos y rosados:** mínimo de 24 meses, de los cuales 6 al menos en bodega el resto en botella.
- **Gran reserva:** mínimo 24 meses en bodega y 36 en botella.
- **Gran reserva Blanco y Rosado:** total 48 meses, mínimo 6 en roble, el resto en botella (21).

#### 4.2.1.3 Color

- **Blanco:** es aquel que se elabora con variedades de uvas blancas

- **Tinto:** es aquel que se elabora con variedades de uvas tintas
- **Rosado:** Es aquel que se elabora con una mezcla del mosto de uvas blancas con el tinto. (21)

#### **4.2.2 Proceso de elaboración del vino blanco botritizado.**

La podredumbre noble del hongo *B. cinerea* causa una infección irregular en el racimo de uvas, la vendimia de estas se realiza de manera manual de acuerdo con el grado de infección de la uva se recogen las bayas que estén pasificadas completamente, también se realizan vendimias seguidas para las bayas que no estén tan pasificadas y así sucesivamente realizando varias vendimias al día de la combinación de estas uvas depende el tipo de vino a elaborar, su calidad y precio. Una vez terminada la vendimia son transportadas las uvas a la planta. (64)

*B. cinerea* induce la expresión de reguladores clave de las vías asociadas a la maduración, algunas de las cuales son características de la maduración normal de los cultivares de piel roja, dos alteraciones del racimo serán visibles: (1) cambio de color de la piel a rosa y posteriormente a marrón púrpura; y (2) deshidratación en la etapa final de infección causando grietas en la cutícula en forma de capas.(64)

Una vez en la planta las uvas son depositadas en una cinta o mesa de selección donde se retiran partículas como hojas, palos, piedras, etc., luego estas son sometidas a un proceso de despallado en la despalladora para la remoción de raspones, pedicelo que puede afectar el sabor del vino. (64)

Las uvas despalladas pasan por una estrujadora para extraer el mosto de las partes solidas de la uva debe controlarse siempre la temperatura de las uvas para evitar siempre fermentaciones previas para esto se les añade agua para enfriarlas; en la actualidad se usan maquinas que hacen este proceso reemplazando la “pisada” de las uvas, estos equipos se elaboran principalmente en acero inoxidable y permiten obtener mayor cantidad de mosto, este proceso es un punto crítico en la elaboración de vinos

ya que la ruptura del hollejo no debe ser excesiva ni deben triturarse las pepas, pues esto ocasionaría un fuerte sabor herbáceo. (64)

Le prosigue un escurrido que libera el zumo obtenido de la estrujadora a este mosto se le denomina mosto de yema a su vez la piel de la uva y el restante se somete a un proceso de prensado para así obtener el mosto de prensa y orujos que son retirados. (65)

El mosto de los dos procesos (prensado y escurrido) es transportado a unos contenedores en este proceso es importante la adición de 50 mg / L SO<sub>2</sub> anhídrido sulfuroso o dióxido de azufre para aproximadamente 24 horas a 10°C (65) este previene la formación de otros microorganismos que afecten la fermentación por parte de las levaduras seleccionadas y a su vez es un agente antioxidante y conservante. Posteriormente el mosto es desfangado en este se sedimentan los sólidos en suspensión y partículas como bacterias entre otras.

La fermentación es el siguiente paso, en este, el mosto es transportado hacia un contenedor con las condiciones adecuadas para que se de este proceso, algunos de los parámetros para tener en cuenta son la corrección de la acidez con ácido tartárico, la adición de azúcar al mosto, en los vinos botritizados no es necesaria, ya que las uvas contienen la cantidad de azúcar y acidez adecuada para una buena fermentación, temperatura ideal de menos de 17- 20° C y la cantidad de oxígeno. (65)

En este paso debe hacerse como primero el inóculo de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* del 3 al 5% del mosto esta es adaptada a las condiciones del fermentador y que permita su crecimiento, aunque se describe un aumento en la presencia de diversas levaduras no *Saccharomyces* en uvas con la podredumbre noble de  $6.8 \times 10^{-8}$  UCF a comparación de uvas sanas además de un consorcio único de levaduras presentes en estas uvas (66) lo que otorga un mayor rendimiento en la fermentación alcohólica, aquí no todas las moléculas son transformadas a etanol, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O sino que también puede producirse glicerol, ésteres, acetatos aromáticos, también es importante la adición nuevamente de SO<sub>2</sub> al 5% de la cantidad a fermentar, seguida a la fermentación alcohólica (figura 5) le prosigue la fermentación maloláctica donde

bacterias lácticas presentes en la vendimia transforman ácido málico a ácido láctico este proceso de fermentación puede tardar hasta 2-3 semanas, el fin de esta llega cuando la densidad está entre 0,992 y el grado alcohólico llega al 13%v/v y así obtener un vino dulce naturalmente. (65)

La fermentación es el principal proceso que concentra una gran cantidad de sustancias aromáticas debidas a la acción enzimática de las levaduras, en los vinos botritizados surgen diversos alcoholes como metanol, alcohol isoamilico entre otros y además un vasto contenido en lactonas que le otorgan un olor frutal a durazno. (65)

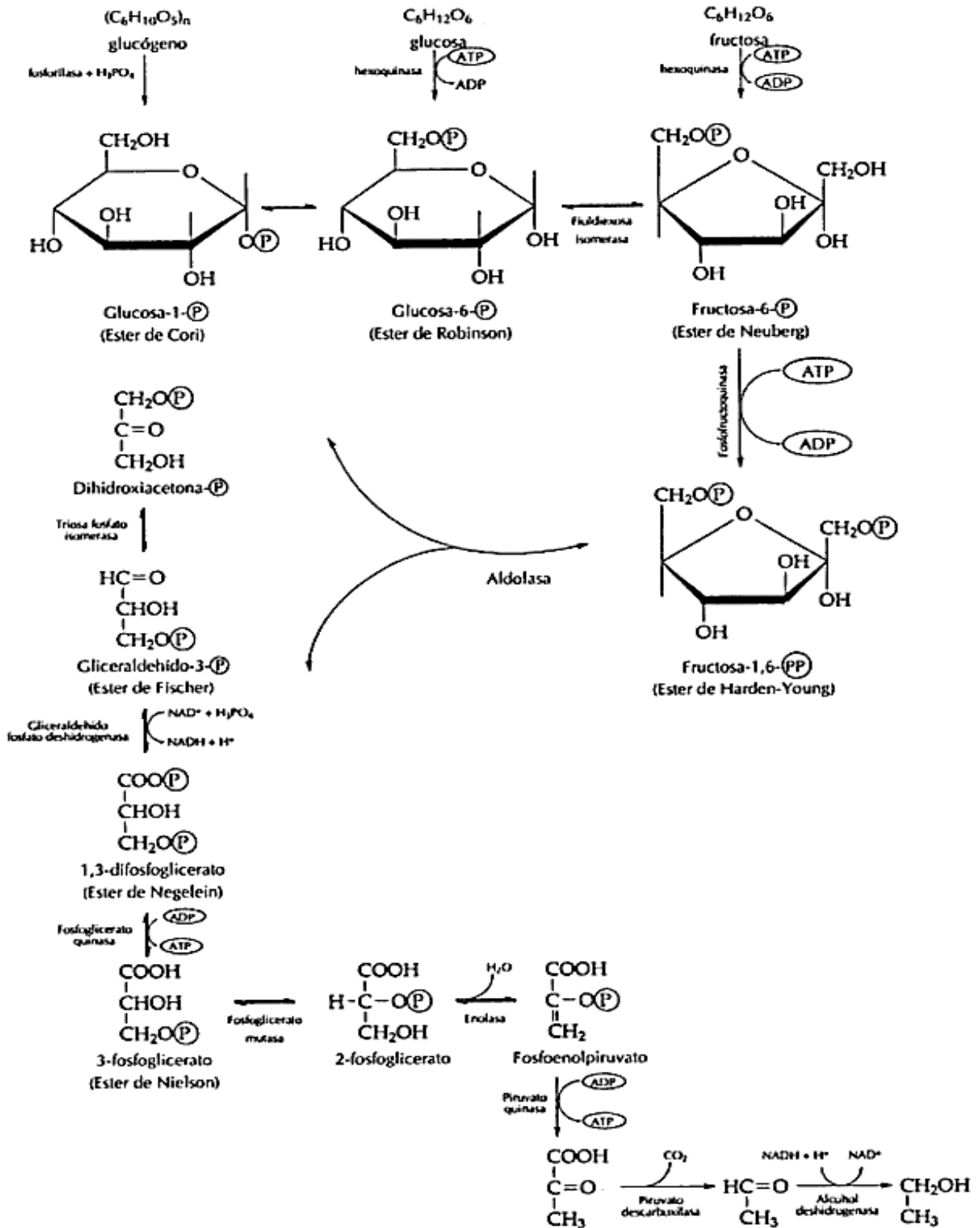
Adicionalmente la infección de la podredumbre noble es susceptible a la infección secundaria de bacterias acéticas que convierten el etanol en ácido acético y a su vez se ve reflejado en la acidez del vino la cual aumenta y también se relaciona con su sabor a mayor acidez menor sensación alcohólica y a si mismo sabor dulce oculta su acidez. (67)

Las diferencias más importantes en comparación con los vinos normales involucran el contenido de azúcar residual de la uva, alto contenido de glicerol y concentraciones de ácido glucónico (considerados indicadores de *Botrytis* en el jugo y el vino), patrón ácido orgánico modificado, alto nivel de compuestos de carbonilo (con alta capacidad de unión al sulfito) y bajo nivel de nitrógeno asimilable por las levaduras. (67)

El vino se somete a una clarificación cuyo fin es obtener un vino cristalino de aquí se realiza la estabilización la cual promete que no haya sedimentos en el vino ya que suelen estar sobresaturados de sales, estas a bajas temperaturas se precipitan para evitar eso se hace una filtración en frío - 5 a 0°C y son separados por decantación.

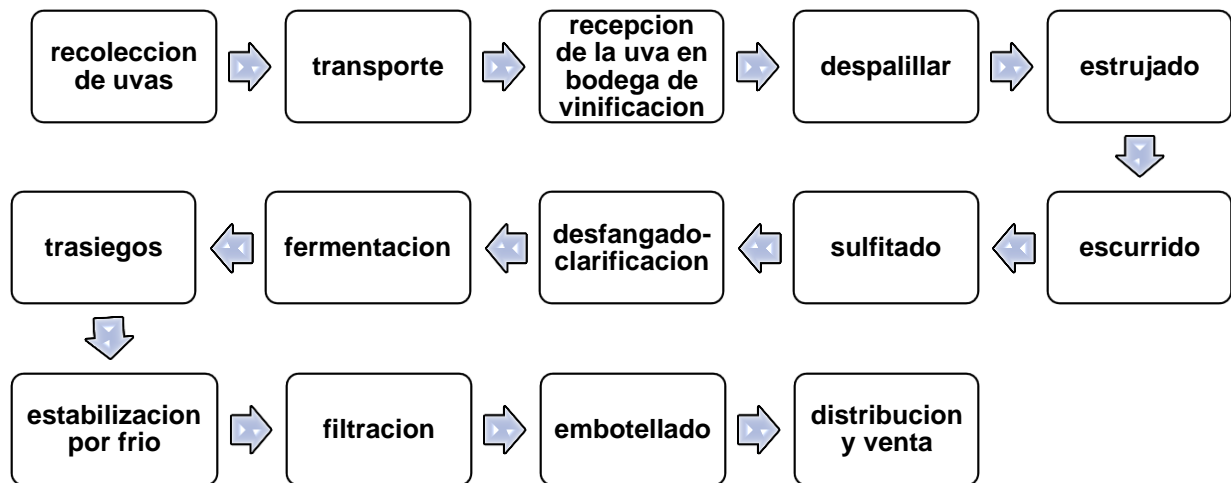
Como último se hace el embotellamiento, tapado, etiquetado; evitando el llenado de aire; de acuerdo al tipo de vino se realiza la crianza y envejecimiento del mismo.(Figura 6) (68).

Figura 5. Diagrama de la fermentación alcohólica.



Fuente: (45)

**Figura 6. Resumen del proceso de elaboración de vino blanco botritizado.**



**Fuente:** Los autores, 2018.

#### **4.2.2.1 Marcas más conocidas de vinos botritizados**

- **Château d'Yquem:** Procedente de la región de Sauternes, Francia, es un vino bivarietal elaborado con una proporción igual de Semillón y Sauvignon blanc, se caracterizan por su complejidad, concentración y dulzura. Una acidez relativamente alta permite equilibrar su dulzura. Otra característica por la que son conocidos los vinos Château d'Yquem es su longevidad. Se caracteriza por ser el vino más costoso del mundo.
- **Tokaji:** Vinos de Hungría, de la región vinícola Tokaj-Hegyalja se caracterizan por que la variedad Furmint ocupa el 70% de estos vinos están: Aszú, Eszencia.
- **Sauternes:** es un vino francés de la región de Sauternes, dentro de la región vinícola de Burdeos. (2)

#### **4.3 Botrytis cinerea**

El género *Botrytis* consta de un grupo de hongos filamentosos fitopatogénicos, por tanto, ampliamente conocidos, puesto que ocasionan una afección en las plantas conocidas globalmente como “podredumbre gris”, afección que puede producirse en una amplia gama de plantas, como kiwi, fresa, uva, tomate, lechuga y calabaza (50). La podredumbre afecta flor, semillas, raíz y tallo; no solo afectando plantas en



invernaderos, sino que además produce pérdidas a nivel de cosecha y transporte (51), esto teniéndose en cuenta que se propaga rápidamente si las condiciones de humedad (>90%) se cumplen (52).

*B. cinerea* es la especie más importante dentro del género, teniendo este un estilo de vida saprófito y polífago (53), el cual es frecuentemente relacionado con pérdidas en cultivos de uva (54). Este hongo presenta un micelio septado cuya coloración y número de núcleos es variable, todo esto dependiendo de qué tan desarrollado se encuentre el mismo, dicho micelio cumple con dos grandes funciones de suma importancia para el desarrollo del hongo y de su capacidad para causar la degradación de la planta, puesto que este sirve para la diseminación del hongo en la planta y también como estructura de resistencia pues se puede hallar micelio del hongo en bulbos, flores y semillas de la planta (55), de los cuales brotan conidios ovales (figura 7) en una conformación de racimo característica. (56)

**Figura 7. *B. cinerea* en microscopía. Conidióforo marrón.**



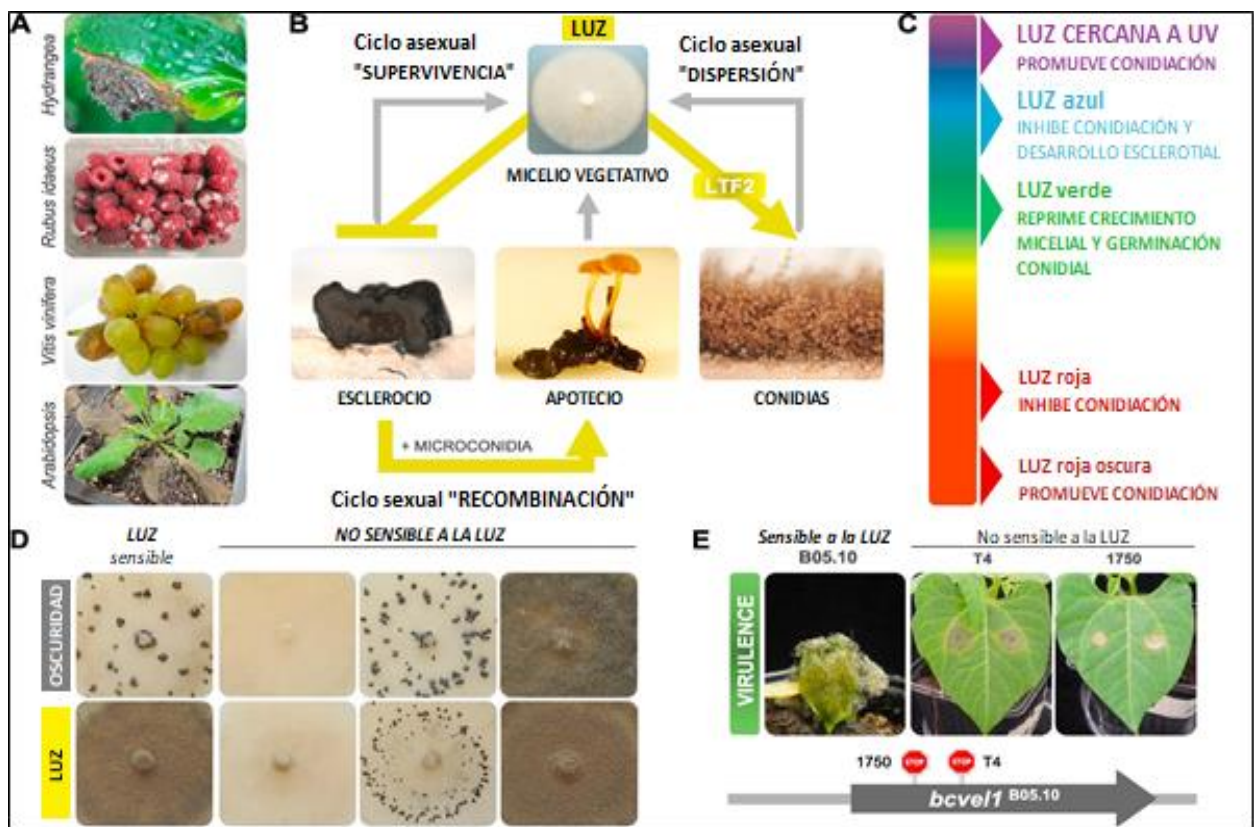
**Fuente:** (57)

*B. cinerea* es un hongo de tipo pleomórfico pues este según las condiciones ambientales en las que se desarrolle puede presentar un estadio perfecto (teleomórfico) o uno imperfecto (anamórfico), el anterior considerado el estadio más común, aunque estudios apuntan a que la forma sexual puede ser más común de lo que comúnmente se piensa (58). El ciclo biológico (**figura 8**) del hongo consta de una fase asexual dada por el desarrollo del micelio dentro del fruto o flor, y la generación de conidióforos, los cuales derivan a partir de las hifas que hacen parte del micelio, o a

partir de un esclerocio en colonias viejas, también a partir de las hifas y esclerocios pueden generarse los microconidioforos, los cuales producirán microconidias; la fase sexual consta de la fertilización del ascógeno (un tipo de estructura femenina característico de los *Ascomycetes*) a cargo de los microconidios que funcionan en el hongo como gametos masculinos, tras esto se origina un apotecio, el cual es un cuerpo fructífero sexual, el cual se encarga de la generación de ascas que contienen hasta 8 ascosporas, las cuales al germinar originan un nuevo micelio (59).

Para la identificación de este hongo no existen pruebas químicas específicas, siendo necesario para esto la aplicación de técnicas moleculares o inmunes, a pesar de esto, frecuentemente se usa la tinción con azul de lactofenol, bajo la cual se pueden observar las estructuras micóticas típicas del hongo, tales como su micelio septado hialino, su conidiación sincrónica en racimo y la morfología ovoide de sus conidios. (89)

**Figura 8. Ciclo biológico de *B. cinerea*.**



Fuente: (60)

En la taxonomía se clasifica como un hongo del filo *Ascomycota*, además siendo un miembro de la familia *Sclerotiniaceae*, por tanto, siendo capaz de desarrollar esclerocio en cultivos viejos como medida para almacenar nutrientes (Tabla 1).

**Tabla 1. Clasificación taxonómica de *B. cinerea*.**

<b>Reino</b>	Fungi
<b>Filo</b>	<i>Ascomycota</i>
<b>Subfilo</b>	<i>Pezizomycotina</i>
<b>Clase</b>	<i>Leotiomycetes</i>
<b>Orden</b>	<i>Helotiales</i>
<b>Familia</b>	<i>Sclerotiniaceae</i>
<b>Género</b>	<i>Botryotinia</i>
<b>Especie</b>	<i>Botryotinia fuckeliana</i>

**Fuente:** (61)

#### **4.3.1 Cultivo de *B. cinerea***

Como la mayoría de los hongos parásitos y saprófitos, puede desarrollarse en los agares básicos (ejemplo de estos el agar papa-dextrosa, PDA). El hongo en pocos días produce una cantidad copiosa de microconidias (spermatia), la formación del esclerocio comienza luego de que el desarrollo vegetativo cese, esto potenciado si el hongo crece en condiciones de oscuridad; por otro lado, la fase sexual rara vez se produce, a no ser de que se den condiciones de oscuridad y temperaturas frías. (62)

#### **4.4 PROPIEDADES ANTIOXIDANTES Y OTRAS PROPIEDADES DEL VINO BOTRITIZADO**

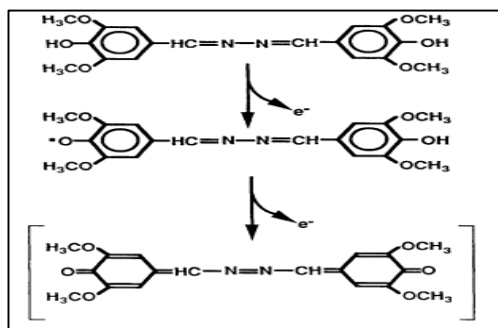
La infección causada en el fruto de la vid de manos del hongo *B. cinerea*, en condiciones de humedad controladas (<80%) brinda muchas cualidades al fruto, dentro de las cuales unas se deben al desecamiento que este produce en el fruto y otras debido a un proceso oxidativo de los compuestos polifenólicos y thiolicos que posee el fruto. Para nombrar una de las primeras cualidades físicas del vino botritizado, podemos iniciar por un muy suave aroma, este debido a que por vías metabólicas normales del fruto de la vid, este produce un compuesto (S-3-(hexan-1-ol)cisteina), el cual se encuentra por tanto en todos los vinos y es además el precursor (el cual será oxidado por la enzima lacasa producida por el hongo *B. cinerea*) del tiol

volátil conocido como 3-sulfanilhexanol, el cual es el causal del aroma suave de los vinos, con diferencia de que la presencia de la podredumbre noble (*B. cinerea*) durante del desarrollo del fruto, hace que éste concentre una mayor cantidad (unas 1000 veces más) del anterior tiol, esto debido a los metabolitos producidos por el hongo que dan como resultado que la fruta concentre mayor cantidad del precursor del tiol volátil, causal del tanpreciado y suave aroma de los vinos botritizados (73,74) , por otro lado también se ha encontrado que la infección del hongo sobre la planta, ocasiona que esta desencadene como medidas de defensa una aumento de ácidos grasos (como el ácido oct-3-ol-anoico) dentro del fruto y una menor cantidad de butirolactonas las cuales se relacionan con un aroma desagradable tras la fermentación del vino (23).

#### 4.4.1 Enzima lacasa

La enzima lacasa, es un tipo de polifenol-oxidasa que suele contener dentro de su estructura átomos de cobre (a excepción de las encontradas en *B. cinerea* y otros fitopatógenos), los sustratos que suelen ser catalizados por esta enzima, suelen ser polifenoles (como lo son los estilbenoides). Las moléculas que son digeridas por la enzima son desprotonadas, las cuales en el caso del vino al ser polifenoles sufren más de una desprotonación, dichos protones constan de moléculas de H<sup>+</sup>, las cuales son combinadas con oxígeno molecular (O<sub>2</sub>), para formar moléculas de agua. (Figura 9), para el caso de *B. cinerea* es una enzima extracelular de un peso molecular de unos 72 kDa, que el hongo produce en respuesta de las fitoalexinas (los estilbenoides) producidos por la vid en defensa del ataque del hongo (70).

**Figura 9. Esquema de la actividad de la lacasa sobre la quinona.**



**Fuente:** (70)

La enzima también es usada por el hongo como un reemplazo para la enzima catalasa, por tanto, la enzima también es capaz de romper las moléculas de peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) en una molécula de agua y una molécula de hidrógeno (71).

En *B. cinerea* la enzima se encuentra codificada en tres distintos genes, *Bclcc1*, *Bclcc2* y *Bclcc3*, lo cual a ha llevado que en 1994 se hayan comenzado a desarrollar anticuerpos que puedan ser usados en las plantas, para controlar la producción de lacasa por parte del hongo, causando con eso que la planta sea capaz de combatir la ‘podredumbre gris’ ocasionada por el hongo (72).

#### **4.4.2 Estilbenoides**

Los estilbenoides como lo son el trans-resveratrol, la  $\epsilon$ -viniferina y el p-teroesstilbeno, son un tipo de fitoalexinas producidas por la planta de la uva (*Vitis vinifera*) como forma de defensa ante el ataque de *B. cinerea* (así como de otras plagas) (69), durante la invasión por parte del hongo a la planta, este produce una enzima oxidativa conocida como lacasa, la cual oxida los anteriores estilbenoides, de tal forma que estos son inactivados y el hongo puede prosperar sobre la planta y sus frutos.

El vino botritizado también presenta como ventaja la mayor concentración de estilbenos (un tipo de carbohidratos antioxidantes), que son producidos en mayor concentración por la planta como respuesta ante la infección y el estrés causado por el hongo *B. cinerea*, entre los estilbenos que se hayan en las uvas botritizadas podemos contar con el trans-resveratrol y el  $\epsilon$ -viniferina (de los dos siendo el más eficaz el  $\epsilon$ -viniferina), los cuales se ha comprobado poseen potentes cualidades antioxidantes (por tanto útiles en la prevención del cáncer, efectos antihipertensivos y efectos anti-edad) (75,76).

La presencia de compuestos fenólicos en el vino es positiva en relación con sus características sensoriales, como sabor, astringencia y color. Además, los polifenoles son beneficiosos para la salud humana debido a sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, vasodilatadoras y antimicrobianas. Las reacciones oxidativas

coloreadas no controladas, catalizadas por *B. cinerea*, con la producción de lacasa tienen un impacto dramático en la calidad del vino, ya que reducen el contenido de polifenoles. Sin embargo, los mismos mecanismos enzimáticos se pueden usar biotecnológicamente para estabilización del vino, desintoxicación de los desechos relacionados con el vino o síntesis de nuevos compuestos. (77)

Los componentes fenólicos (PC) son bien conocidos por su impacto positivo en la salud humana. Además de su acción como eliminadores de radicales, actúan como activadores del sistema antioxidante celular intrínseco. Las enzimas polifenol oxidasas como la lacasa, catalizan la oxidación enzimática de las PC y, por lo tanto, pueden alterar su capacidad de absorción y antioxidante. Por esto esta enzima juega un papel importante en la calidad del vino y tiene un alto valor para la salud en especial en la producción de vinos de postres como lo es el Tokay.(78)

#### **4.5 MARCO LEGAL**

En Colombia existen normas sobre las cuales se debe regir la elaboración de bebidas alcohólicas como lo es el vino en ella se establecen parámetros ideales de fabricación de un vino y que son de estricto cumplimiento entre estas existen:

##### **4.5.1 Decreto número 1686 del 9 de agosto del 2012**

En el cual se establecen el reglamento técnico sobre los requisitos sanitarios que se deben cumplir para la fabricación, elaboración, hidratación, envase, almacenamiento, distribución, transporte, comercialización, expendio, exportación e importación de bebidas alcohólicas destinadas para consumo humano.

En este decreto en el Artículo 3º: Definiciones, se define como vino al producto obtenido por la fermentación alcohólica normal del mosto de uvas frescas y sanas o del mosto concentrado de uvas sanas, sin adición de otras sustancias ni prácticas de otras manipulaciones técnicas diferentes a las especificadas en el presente reglamento técnico. Su graduación alcohólica mínima es de 6 grados alcoholimétricos (79)

##### **4.5.2 NTC 293. Bebidas alcohólicas. Vino. Definiciones y clasificación**

Esta norma establece las definiciones y la clasificación del vino al igual que en el Decreto. 1686.(80)

#### **4.5.3 NTC 708. Bebidas alcohólicas. Vinos de frutas**

Esta norma establece los requisitos y los ensayos que deben cumplir los vinos de frutas, el vino de frutas se debe elaborar en condiciones sanitarias apropiadas, a partir de mostos constituidos por los jugos de frutas sanas y limpias deberán cumplir con los requisitos específicos establecidos en el (Anexo 1).(81)

#### **4.5.4 NTC 223. Bebidas alcohólicas. Vinos. Prácticas permitidas en la elaboración**

Esta norma establece las practicas permitidas en la elaboración de los vinos y vinos de frutas; como la adición de agua potable, antes de iniciar la fermentación, adición de azúcares de acuerdo al mosto, para la corrección del vino o mosto se puede adicionar alcohol 7 ° alcoholímetros, ácido cítrico u otros ácidos o tartrato neutro de potasio para la corrección de la acidez entre otras sustancias que se consideran normal en la fabricación de vinos. (82)

#### **4.5.5 NTC 2980. Bebidas alcohólicas. Mostos para la elaboración de vinos**

Esta norma establece los requisitos y los métodos de ensayo que deben cumplir los mostos usados para la elaboración de vinos, donde se define mosto como todo sustrato fermentable, obtenido a partir de frutas, cereales o de otros productos naturales; ricos en carbohidratos susceptibles de transformarse en etanol mediante procesos fisicoquímicos y bioquímicos.

El sabor y el aroma de los mostos deben ser los característicos de la variedad o las variedades de uvas, frutas o de otros productos naturales de los cuales proceden, en los mostos no se permite la adición de colorantes diferentes de los aportados por el producto natural del cual proviene.(83)

#### **4.5.6 NTC 1244. Bebidas alcohólicas. Vino de mesa**

En esta norma se establecen los requisitos y los ensayos que debe cumplir el vino de mesa, donde se define vino de mesa como un vino cuyo contenido alcohólico es inferior a 14 grados alcoholímetros y el cual debe ser elaborado bajo la NTC 223 del 2004, las características de un vino de mesa se establecen en el (Anexo 2).(84)

## 5. DISEÑO METODOLÓGICO

### 5.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN

Es una investigación de tipo mixto que incluye los enfoques cualitativos y cuantitativos que favorecen tener una perspectiva más amplia frente al estudio, realizada a partir de la revisión de diferentes fuentes bibliográficas y análisis estadístico.

### 5.2. UNIVERSO, POBLACIÓN Y MUESTRA.

**5.2.1 Universo:** Vinos.

**5.2.2 Población:** Vinos dulces.

**5.2.3 Muestra:** Vinos blancos botritizados.

### 5.3 HIPÓTESIS

El proceso de podredumbre noble causado por una plaga (*B. cinerea*) sobre las uvas es adecuado para producir vinos blancos botritizados.

### 5.4 VARIABLES

**5.4.1 Variables dependientes:** vino blanco botritizado producido, propiedades organolépticas, componentes químicos (antioxidantes, etc.).

**Indicadores:** tipo de uva cosechada e infectada, color blanco, olor frutal, gusto dulce, cuantificación por métodos cromatográficos, °BX de azúcar.

**5.4.2 Variables independientes:** cultivo *Vitis vinifera* L., condiciones climáticas del cultivo de *Vitis vinifera* L., cepa *B. cinerea*.

**Indicadores:** temperatura, porcentaje de humedad relativa, visualización de la infección del hongo en la uva, cepas, inóculo de  $10^4/\mu\text{L}$  (método Neubauer) y caracterización de cepa.

### 5.5 METODOLOGÍA DE TRABAJO

Para la obtención de la información se usaron diferentes fuentes bibliográficas, cuya selección fue dada teniendo en cuenta criterios exclusión e inclusión. Con el material



reunido se hizo un análisis estadístico donde se pretende observar mediante el uso de diagramas y tablas la frecuencia de fuentes bibliográficas clasificadas por los parámetros anteriormente descritos, además se efectuó una retroalimentación para cada fase con la cual se recopile la información obtenida a partir de las fuentes consultadas, adicionalmente se llevó a cabo una encuesta en Expovinos 2017.

#### **5.5.1 Bases de datos**

La búsqueda se llevó a cabo en bases de datos como lo son: Sciencedirect, Scielo, PubMed, Researchgate, NCBI, así como usar distintas bibliotecas de universidades como la biblioteca virtual de la Universidad del Valle, de las cuales se dio énfasis a las fuentes cuyos años de publicación hayan sido del periodo de 2007 a 2017.

#### **5.5.2 Búsqueda y revisión de información**

Se realizó la búsqueda de información en las bases de datos anteriormente citadas en el numeral anterior, teniendo en cuenta los descriptores, los cuales fueron: *B. cinerea* wine, Botrytized wine, Noble rot, *Botrytis* wine, Bunch Rot, Infection *Botrytis* wine.

#### **5.5.3 Criterios de selección de la bibliografía revisada**

Se procedió a realizar una lectura y revisión de las fuentes bibliográficas, las cuales describen el proceso de producción de vinos botritizados, el proceso bioquímico que sucede dentro de la uva durante el desarrollo de la podredumbre noble por parte del hongo y como este desarrollo aporta las cualidades fisicoquímicas descritos en estos (aroma, tacto, sabor y concentración de antioxidantes) de los últimos 10 años.

#### **5.5.4 Criterios de exclusión**

No se incluyeron aquellas fuentes donde no se encontrarán temas relacionados con la producción de vinos blancos botritizados, propiedades de *B. cinerea* en vinos.

#### **5.5.5 Fases de la investigación**

Para realizar la clasificación de la información se proponen 3 fases, las cuales corresponden con los objetivos específicos propuestos al inicio del documento, las cuales se describirán a continuación:

#### **5.5.5.1 Fase 1: Proceso microbiológico y desarrollo del hongo dentro del fruto.**

Se revisará la comprensión del proceso microbiológico que sucede en la vid y el desarrollo del hongo dentro del fruto, así como la deshidratación, proceso que se relaciona con la concentración de azúcares, este ocasionado por *B. cinerea* un hongo que es considerado como una plaga y que se presenta en dos formas, podredumbre noble y gris, para esta fase se tuvieron en cuenta aquellas fuentes que aportan acerca del proceso microbiológico ocasionado por parte del hongo sobre el fruto y también aquellas que describen las condiciones ideales para el desarrollo del hongo y así asegurar el desarrollo del hongo en su fase sexual (podredumbre noble).

#### **5.5.5.2 Fase 2: Proceso bioquímico causado por el hongo en el fruto.**

Se tomaron aquellas fuentes que mencionan las enzimas y compuestos químicos que el hongo produce durante su fase sexual (podredumbre noble) que se encargan de dar al vino botritizado sus características y también aquellas que hablan sobre las características generales del hongo.

#### **5.5.5.3 Fase 3: Beneficios del vino botritizado y su posible producción en Colombia.**

Se tomaron aquellas referencias que tratan sobre los beneficios que poseen los vinos botritizados, así como los agentes antioxidantes producidos por *B. cinerea* en la vid, en esta fase se enumeraron las características únicas del vino botritizado (como lo es su sabor único y gran cantidad de antioxidantes). También se planteó las razones que hacen posible la producción en Colombia de este tipo de vinos, también se conoció la opinión y conocimientos que se tengan sobre este tipo de producto en el país para lo cual se realizó una encuesta.

#### **5.5.6 Encuesta**

Se tuvo en cuenta aspectos generales en la producción de vinos botritizados y así tener una perspectiva sobre el conocimiento de la producción de este vino en el país. La encuesta se realizó en el evento de Expovinos 2017. (Ver Anexo 9.)

### 5.5.7 Organización sistemática documental

Teniendo en cuenta la información recolectada, se procede a una organización que toma en cuenta condiciones como el tipo de fuente bibliográfica (libro, artículo. Etc.), fase de investigación, año, país, idioma y el tipo de investigación (teórica o práctica).

### 5.5.8 Tratamiento estadístico

Se realizó un procesamiento estadístico, consistió en el recuento del número de artículos que ayudaron a desarrollar cada fase propuesta, posteriormente se realizó una tabla de frecuencia y la construcción de un diagrama de Gantt en el cuál se representó de forma comprensible el número de artículos que fueron de ayuda para el desarrollo de cada fase. Los resultados obtenidos en el presente estudio se validaron a través de la realización de las tablas de frecuencia para las cuales se tienen en cuenta los siguientes aspectos (tabla 2):

**Tabla 2. Variables de tablas de frecuencia**

<b>Xi:</b> Los ítems correspondientes a cada pregunta.
<b>ni:</b> Número de respuestas para cada pregunta (frecuencia absoluta).
<b>N:</b> Número de respuestas.
<b>Ni:</b> Frecuencia acumulada para cada pregunta.
<b>hi:</b> Se obtiene a través de la fórmula $ni/N$ , con el fin de obtener un dato expresado en porcentaje para cada ítem.
<b>Hi:</b> Porcentaje acumulado.

Posteriormente, se elaboraron los diagramas de barras de Gantt que tienen la particularidad de ser:

- Relativo, porque va en porcentaje.
- Simple, porque son barras separadas.
- Mono direccional, porque todas las barras van en la misma dirección.
- Vertical, por la característica de sus barras.

Para el análisis de resultados se obtiene una tabla de análisis de aceptación. Nivel superior para cada parámetro informando el ítem y el porcentaje obtenido.

## 6. RESULTADOS

### 6.1 REVISIÓN DOCUMENTAL.

En la búsqueda realizada se consultaron 96 documentos, la mayoría corresponden a artículos científicos (64,58%) del periodo comprendido entre el 2007 y 2017 (67,7%). Toda la literatura estaba relacionada con los temas propuestos en las 3 fases de investigación propuestas que permiten el desarrollo de la temática de vinos botritizados. A Continuación, se muestra la clasificación de la información por autor, título, año, fase correspondiente con los objetivos propuestos, idioma, país, tipo de investigación y formato en el cual se presenta el documento (**Tabla 3.**)

**Tabla 3. Clasificación de la información por autor, título, año, fases, idioma, país, tipo de investigación y formato.**

Autor y título	Año	Fase	Idioma	País	Tipo de investigación	Formato
1. Tokaji.com: Types of Tokaji.	2012	Fase 1	Inglés	Hungría	Teórica	Página web
2. Nelson. KE., Amerine. MA. The use of <i>B. cinerea</i> pers. In the production of sweet table wines	1957	Fase 1	Inglés	USA	Práctico	Artículo
3. Sotomayor. JP. Efecto de diferentes grados de ataques de <i>Botrytis</i> en frutos de vid cv. Sauvignonasse sobre las características del vino	1982	Fase 1	Español	Chile	Teórico	Libro
4. Ricker R, Marois J DJ <i>et. al.</i> Inmunodetection and quantification od <i>B. cinerea</i> on Harvested Wine Grapes.	1991	Fase 1	Inglés	USA	Práctico	Artículo
5. Fanizza G, Bisignano V <i>et. al.</i> Effects of polysaccharides from <i>Botryotinia fuckeliana</i> ( <i>B. cinerea</i> ) on in vitro culture of table and wine grapes ( <i>Vitis vinifera</i> ).	1995	Fase 2	Inglés	Italia	Práctico	Artículo
6. Bavaresco L, Petegolli D, <i>et. al.</i> Elicitation and accumulation of stilbene phytoalexins in grapevine berries infected by <i>B. cinerea</i>	1996	Fase 1	Inglés	Italia	Práctico	Artículo
7. Hajós. G., Sass-Kiss. A., Szerdahelyi. E., Bardocz. S. Changes in Biogenic Amine Content of Tokaj Grapes, Wines, and Aszu-wines	2000	Fase 2	Inglés	Hungría	Práctico	Artículo
8 Murányi Z, Z. K. Statistical evaluation of aroma and metal content in Tokaj wines.	2001	Fase 3	Inglés	Hungría	Práctico	Artículo
9. Kerényi Z., Miklósy E. Comparison of the volatile aroma components in noble rotted grape berries from two different locations of the Tokaj wine district in Hungary.	2003	Fase 1	Inglés	Hungría	Práctico	Artículo

10. Pour Nikfardjam. MS., László. GY., Dietrich. H. Resveratrol-derivatives and antioxidative capacity in wines made from <i>botrytized</i> grapes	2006	Fase 3	Inglés	Hungría	Práctico	Artículo
11. Takatoshi, Yvan N, Frérot E. Stereoisomeric Distribution of 3-Mercaptohexan-1-ol and 3-Mercaptohexyl Acetate in Dry and Sweet White Wines Made from <i>Vitis vinifera</i>	2006	Fase 3	Inglés	Francia	Práctico	Artículo
12. Elise S, Shinkaruk S. Odorous Impact of Volatile Thiols on the Aroma of Young Botrytized Sweet Wines: Identification and Quantification of New Sulfanyl Alcohols	2007	Fase 3	Inglés	Francia	Práctico	Artículo
13. Lavigne V, Pons A, Darriet P, Dubourdieu D. Changes in the sotolon content of dry white wines during barrel and bottle aging.	2008	Fase 3	Inglés	Francia	Práctico	Artículo
14. Dewey FM, Hill M, DeScenzo R. Quantification of Botrytis and Laccase in Winegrapes.	2008	Fase 3	Inglés	USA	Práctico	Artículo
15. B. F, Tosi E <i>et. al.</i> . Changes in Wine Aroma Composition According to Botrytized Berry Percentage: A Preliminary Study on Amarone Wine	2011	Fase 3	Inglés	Italia	Práctico	Artículo
16. Thibon C, Shinkaruk S, Jourdes M, Bennetau B, Dubourdieu D, Tominaga T. Aromatic potential of botrytized white wine grapes: Identification and quantification of new cysteine-S-conjugate flavor precursors.	2009	Fase 3	Inglés	Francia	Práctico	Artículo
17. Vivas. N, C. Vitry <i>et. al.</i> . Occurrence and specificity of glucose oxidase (E.C: 1.1.3.4) in botrytized sweet white wine. Comparison with laccase (E.C: 1.10.3.2), considered as the main responsible factor for oxidation in this type of wine.	2010	Fase 2	Inglés	Francia	Práctico	Artículo
18. Fedrizzi. B., Zapparoli. G., Finato. F., Tosi. E., Turri. A., Azzolini. A., <i>et. al.</i> Model aging and oxidation effects on varietal, fermentative, and sulfur compounds in a dry botrytized red wine	2011	Fase 3	Inglés	Italia	Práctico	Artículo
19. T. B, Walter R E al. Das Platzen von Weinbeeren ( <i>Vitis vinifera</i> ) bei Befall mit Grauschimmel ( <i>B. cinerea</i> )	2011	Fase 2	Alemán	Alemania	Práctico	Artículo
20. Magyar I. Botrytized wines. Vol. 63, Advances in Food and Nutrition Research.	2011	Fase 1	Inglés	Hungría	Teórico	Libro
21. Togores JH. tratado de enología i: segunda ed.	2011	Fase 1	Español	España	Teórico	Libro
22. Timperio A, Angelod' A, Fagionia A, Magro P ZB. Production of the phytoalexins trans-resveratrol and delta-viniferin in two economy-relevant grape cultivars upon infection with <i>B. cinerea</i> in field conditions.	2012	Fase 1	Inglés	Italia	Práctico	Artículo
23. Tosi E, Fedrizzi B, Azzolini M, Finato F, Simonato B, Zapparoli G. Effects of noble rot on must composition and aroma profile of Amarone wine produced by the traditional grape withering protocol.	2012	Fase 3	Inglés	Italia	Práctico	Artículo
24. Azzolini M, Tosi E, Faccio S, Lorenzini M, Torriani S, Zapparoli G. Selection of <i>B. cinerea</i> and <i>Saccharomyces cerevisiae</i> strains for the improvement and valorization of Italian passito style wines.	2013	Fase 3	Inglés	Italia	Práctico	Artículo

25. Lorenzini M, Azzolini M, Tosi E, Zapparoli G. Postharvest grape infection of <i>B. cinerea</i> and its interactions with other moulds under withering conditions to produce noble-rotten grapes	2013	Fase 2	Inglés	Italia	Práctico	Artículo
26. Barbara B , Allen G E al. Draft Genome Sequence of <i>B. cinerea</i> BcDW1, Inoculum for Noble Rot of Grape Berries	2013	Fase 2	Inglés	USA	Práctico	Artículo
27. Fournier E, Gladioux P, Giraud T. The “Dr Jekyll and Mr Hyde fungus”: noble rot versus gray mold symptoms of <i>B. cinerea</i> on grapes	2013	Fase 2	Inglés	Francia	Práctico	Artículo
28. Carbajal-Ida D, Maury C, Salas E, Siret R, Mehinagic E. Physico-chemical properties of botrytised Chenin blanc grapes to assess the extent of noble rot.	2016	Fase 3	Inglés	Francia	Práctico	Artículo
29. Lorenzini M, Million R, Franchin C, Zapparoli G, Arrigoni G, Simonato B. Identification of potential protein markers of noble rot infected grapes.	2015	Fase 3	Inglés	Italia	Práctico	Artículo
30. Ciliberti N, Fermaud M, Roudet J, Rossi V. Environmental Conditions Affect <i>B. cinerea</i> Infection of Mature Grape Berries More Than the Strain or Transposon Genotype.	2015	Fase 2	Inglés	Italia	Práctico	Artículo
31. Tao Y, Liu J, Lan Y, Chen C, Li A. Instrumental and sensory aroma analysis of noble-rot wine from artificial botrytized grapes.	2016	Fase 2	Chino	China	Práctico	Artículo
32. Stamatopoulos P, Brohan E, Prevost C, Siebert TE, Herderich M, Darriet P. Influence of Chirality of Lactones on the Perception of Some Typical Fruity Notes through Perceptual Interaction Phenomena in Bordeaux Dessert Wines.	2016	Fase 3	Inglés	Francia	Práctico	Artículo
33. Wang X-J, Tao Y-S, Wu Y, An R-Y, Yue Z-Y. Aroma compounds and characteristics of noble-rot wines of Chardonnay grapes artificially botrytized in the vineyard.	2017	Fase 3	Inglés	China	Práctico	Artículo
34. Kupfer VM, Vogt EI, Ziegler T, Vogel RF, Niessen L. Comparative protein profile analysis of wines made from <i>B. cinerea</i> infected and healthy grapes reveals a novel biomarker for gushing in sparkling wine.	2017	Fase 3	Inglés	Alemania	Práctico	Artículo
35. Negri S, Lovato A, Boscaini F, Salvetti E, Torriani S, Commisso M, <i>et. al.</i> The Induction of Noble Rot ( <i>B. cinerea</i> ) Infection during Postharvest Withering Changes the Metabolome of Grapevine Berries ( <i>Vitis vinifera</i> L., cv. Garganega).	2017	Fase 2	Inglés	Italia	Práctico	Artículo
36. Hill G, Henshall W, Beresford M. Manipulating rainfall to study symptom expression of <i>B. cinerea</i> infection in wine grapes	2017	Fase 2	Inglés	Nueva Zelanda	Práctico	Artículo
37. Wurz DA, Pereira de Bem, Betina, Allebrandt R, Filho JLM, Brighenti A, <i>et. al.</i> . Timing of leaf removal modifies chemical and phenolic composition of Sauvignon Blanc wine	2017	Fase 3	Inglés	Brasil	Práctico	Artículo
38. Mena. MA. Recuperación, caracterización y conservación de variedades de vid ( <i>Vitis vinifera</i> L.) minoritarias de Castilla-La Mancha	2013	Fase 1	Español	España	Práctico	Tesis doctoral

39. Arce. EM. Evaluacion de la producción y calidad de la uva en diferentes clones de la variedad shiraz ( <i>Vitis vinifera</i> L.)	2016	Fase 1	Español	México	Práctico	Tesis
40. López. MJ. Importancia de la uva de mesa apirena con estudio de viabilidad para una plantación en totana	2015	Fase 1	Español	España	Teórico	Tesis
41. Trujillo. RG., Prieto. IM. Buenas Prácticas en Producción Ecológica Cultivo de la Vid	2008	Fase 1	Español	España	Teórico	Libro
42. Almanza. PJ. Determinación del crecimiento y desarrollo del fruto de vid ( <i>Vitis vinifera</i> L.) bajo condiciones de clima frío tropical	2011	Fase 1	Español	Colombia	Teórico	Tesis
43. Garcia-Gutierrez JRL. Morfología de la vid. Grupo de investigación en Viticultura	2010	Fase 1	Español	España	Teórico	Libro
44. Mijares MI, Illobre JAS. El vino: De la cepa a la copa.	2007	Fase 1	Español	España	Teórico	Libro
45. Gallego JG. Maridaje, enología y cata de vinos. Innovación y Cualificación, S.L.	2008	Fase 1	Español	España	Teórico	Libro
46. Barber V. Tipos de uva usadas en vinos blancos.	2010	Fase 1	Español	España	Teórico	Página web
47. Blouin J. Maduración y madurez de la uva.	2012	Fase 1	Español	España	Teórico	Libro
48. Fundamentos de enología: Enología y Enotecnia	2013	Fase 1	Español	España	Teórico	Página Web
49. Ortiz FG, Muela MG. El vino y su servicio.	2009	Fase 1	Español	España	Teorico	Libro
50. Shtienberg D, Elad Y. Incorporation of Weather Forecasting in Integrated, Biological-Chemical Management of <i>B. cinerea</i> .	1997	Fase 2	Inglés	Israel	Práctico	Artículo
51. Coley-Smith JR, Jarvis WR, Verhoeff K. The Biology of Botrytis	1980	Fase 2	Inglés	EEUU	Teórico	Libro
52. Leroch M, Plesken C, Weber RWS, Kauff F, Scalliet G, Hahn M. Gray mold populations in german strawberry fields are resistant to multiple fungicides and dominated by a novel clade closely related to <i>B. cinerea</i>	2013	Fase 2	Inglés	Alemania	Práctico	Artículo
53. Poveda Parra DC (Pontificia UJFDC. Selección de extractos fúngicos extracelulares (efe) con potencial para el control de <i>B. cinerea</i> en tomate ( <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.)	2006	Fase 2	Español	Colombia	Práctico	Tesis pregrado
54. Elad Y, Shtienberg D. <i>B. cinerea</i> in greenhouse vegetables: chemical, cultural, physiological and biological controls and their integration	1995	Fase 2	Inglés	Israel	Práctico	Artículo
55. Gessler, C; Jermini H. Role of flower infections of grape by <i>B. cinerea</i> and consequences for the spraying schedule	1985	Fase 2	Inglés	Italia	Práctico	Artículo
56. Zitter SM. The Biology and Control of Botrytis Bunch Rot ( <i>B. cinerea</i> ) in Grapevines: Ontogenic, Physical, and Cultural Factors Affecting Initiation and Spread of the Disease	2005	Fase 2	Inglés	EEUU	Teórico	Libro
57. Alchimiaweb. Microfotografía de <i>B. cinerea</i> .	2007	Fase 2	Español	Colombia	Teórico	Página Web

58. Tronsmo A, Raa J. Life Cycle of the Dry Eye Rot Pathogen <i>B. cinerea</i> Pers. on Apple.	1977	Fase 2	Inglés	Noruega	Práctico	Artículo
59. Prins TW, Wagemakers L, Schouten A, van Kan JA. Cloning and characterization of a glutathione S-transferase homologue from the plant pathogenic fungus <i>B. cinerea</i> double dagger.	2000	Fase 2	Inglés	Países Bajos	Práctico	Artículo
60. Schumacher J. How light affects the life of Botrytis	2017	Fase 2	Inglés	Alemania	Práctico	Artículo
61. Monteros MCE. Estudio de la variabilidad genética y organización cromosómica en el hongo fitopatógeno <i>B. cinerea</i>	2006	Fase 2	Español	España	Práctico	Tesis doctoral
62. Jackson RS. Botrytis	2014	Fase 2	Inglés	Canadá	Teórico	Artículo
63. Salvalaggio ML. Análisis de las tendencias de ventas vitivinícolas de la década 2002-2012	2013	Fase 1	Español	Argentina	Teórico	Tesis
64. Blanco B, Amrine K, <i>Et. al.</i> . Developmental and Metabolic Plasticity of White-Skinned Grape Berries in Response to <i>B. cinerea</i> during Noble Rot	2015	Fase 1	Inglés	USA	Practico	Artículo
65. Lopez A, Rauhut D E <i>al.</i> Effects of Bunch Rot ( <i>B. cinerea</i> ) and Powdery Mildew ( <i>Erysiphe necator</i> ) Fungal Diseases on Wine Aroma	2017	Fase 3	Inglés	Alemania	Practico	Artículo
66. Nisiotou AA, Nychas G-JE. Yeast populations residing on healthy or botrytis-infected grapes from a vineyard in Attica, Greece.	2007	Fase 1	Inglés	Grecia	Practico	Artículo
67. López Pinar A, Rauhut D, Ruehl E, Buettner A. Quantification of the Changes in Potent Wine Odorants as Induced by Bunch Rot ( <i>B. cinerea</i> ) and Powdery Mildew ( <i>Erysiphe necator</i> )	2017	Fase 3	Inglés	Alemania	Practico	Artículo
68. Hernández, Alicia; Alfaro, Ileana; Arrieta R. Microbiología Industrial.	2003	Fase 1	Español	Costa Rica	Teórico	Libro
69. Caruso F, Mendoza L, Castro P, Cotoras M, Aguirre M, Matsuhira B, <i>et. al.</i> Antifungal activity of resveratrol against <i>B. cinerea</i> is improved using 2-furyl derivatives	2011	Fase 2	Inglés	Italia	Práctico	Artículo
70. Thurston C. The structure and function of fungal laccases.	1994	Fase 2	Inglés	Inglaterra	Práctico	Artículo
71. Gil-ad NL, Bar-Nun N, Noy T, Mayer AM. Enzymes of <i>B. cinerea</i> capable of breaking down hydrogen peroxide.	2000	Fase 2	Inglés	Israel	Práctico	Artículo
72. Viterbo A, Staples RC, Yagen B, Mayer AM. Selective mode of action of cucurbitacin in the inhibition of laccase formation in <i>B. cinerea</i> .	1994	Fase 2	Inglés	Israel	Práctico	Artículo
73. Thibon C, Dubourdiu D, Darriet P, Tominaga T. Impact of noble rot on the aroma precursor of 3-sulfanylhexanol content in <i>Vitis vinifera</i> L. cv Sauvignon blanc and Semillon grape juice.	2009	Fase 3	Inglés	Francia	Práctico	Artículo
74. Thibon C, Cluzet S, Mérillon JM, Darriet P, Dubourdiu D. 3-Sulfanylhexanol Precursor Biogenesis in Grapevine Cells: The Stimulating Effect of <i>B. cinerea</i> .	2011	Fase 2	Inglés	Francia	Práctico	Artículo



75. Landrault N, Larronde F, Delaunay JC, Castagnino C, Vercauteren J, Merillon JM, <i>et al.</i> Levels of stilbene oligomers and astilbin in French varietal wines and in grapes during noble rot development	2002	Fase 3	Inglés	Francia	Práctico	Artículo
76. Zghonda N, Yoshida S, Araki M, Kusunoki M, Mliki A, Ghorbel A, <i>et al.</i> Greater Effectiveness of $\epsilon$ -Viniferin in Red Wine Than Its Monomer Resveratrol for Inhibiting Vascular Smooth Muscle Cell Proliferation and Migration.	2011	Fase 3	Inglés	Japón	Práctico	Artículo
77. Claus H, Sabel A. Wine phenols and laccase: An ambivalent relationship	2014	Fase 3	Inglés	Alemania	Práctico	Artículo
78. Riebel M, Sabel A, Claus H E al. Antioxidant capacity of phenolic compounds on human cell lines as affected by grape-tyrosinase and Botrytis-laccase oxidation.	2017	Fase 3	Inglés	Alemania	Práctico	Artículo
79. SOCIAL MDSY. Protecc. Decreto Número 1686 De 2012.	2012	Fase 3	Español	Colombia	Teórico	Decreto
80. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. NTC 293. Bebidas alcohólicas. Vino. definiciones y clasificación	2010	Fase 3	Español	Colombia	Teórico	Norma Técnica
81. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. NTC 708. Bebidas alcohólicas. Vinos de frutas	2000	Fase3	Español	Colombia	Teórico	Norma Técnica
82. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC). NTC 223. Bebidas alcohólicas. Vinos. prácticas permitidas en la elaboración	2004	Fase 3	Español	Colombia	Teórico	Norma Técnica
83. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC). NTC 2980. Bebidas alcohólicas. Mostos para la elaboración de vinos	1997	Fase 3	Español	Colombia	Teórico	Norma Técnica
84. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC). NTC 1244. Bebidas alcohólicas. Vino de mesa	2001	Fase 3	Español	Colombia	Teórico	Norma Técnica
85. Gilchrists, L. Fuentes, C. Martinez, R. Guía práctica para la identificación de algunas enfermedades de trigo y cebada	2005	Fase 1	Español	México	Teórico	Libro
86. Dean R, Van Kan JAL, Pretorius Z, Hammond-Kosack K, Pietro A, Spanu P., <i>et al.</i> The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology.	2012	Fase 1	Inglés	USA	Teórico	Artículo
87. Cano M. Estrategias biológicas para el manejo de enfermedades en el cultivo de fresa ( <i>Fragaria spp</i> ).	2013	Fase 1	Español	Colombia	Teórico	Artículo
88. Chaves N, Wang A. COMBATE DEL MOHO GRIS ( <i>Botrytis cinerea</i> ) DE LA FRESA MEDIANTE <i>Gliocladium roseum</i>	2004	Fase 1	Español	Costa Rica	Práctico	Artículo
89. Pérez A, González M, González C, Van Kan J, Brito N. BcSUN1, a B. cinerea SUN-Family Protein, Is Involved in Virulence.	2017	Fase 1	Inglés	España	Práctico	Artículo
90. The Statistics Portal [Página principal en Internet ].New York: Statista Inc; 2015	2015	Fase 3	Inglés	USA	Teórico	Página web

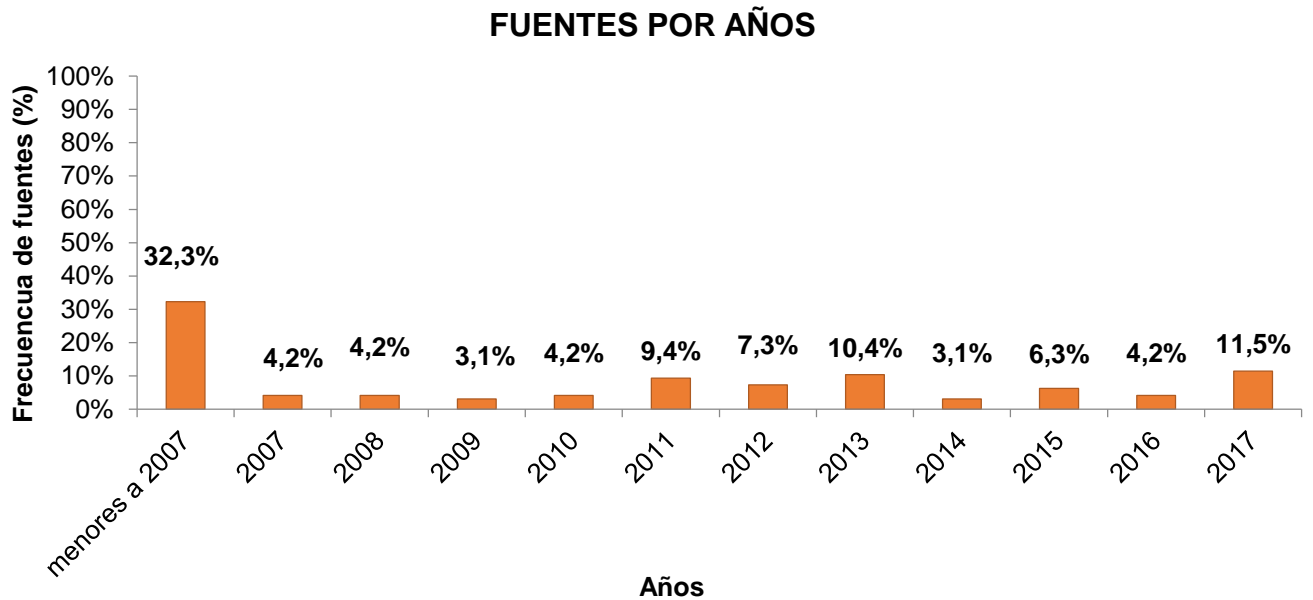
91. La organización internacional de la viña y el vino [Página principal en Internet]. Organización Intergubernamental, Francia: OIV; 2001	2001	Fase 3	Inglés	Francia	Teórico	Página web
92. Delgado P, Negocio de vino mueve 10 millones de litros anuales. La república. 2013; Sec: Empresas, col 1.	2013	Fase 3	Español	Colombia	Teórico	Página web
93. Guevara L, El consumo de vino en Colombia se ha duplicado y llegó a una botella al año. La república. 2017	2017	Fase 3	Español	Colombia	Teórico	Página web
94. Kántor A, Kačániová M. Pachlová V. Biogenic amines content in different wine samples.	2015	Fase 2	Inglés	Eslovenia	Práctico	Artículo
95. Gawlik R, Czecior E. Mold Sensitization in Chronic Rhinosinusitis Patients.	2012	Fase 3	Inglés	Polonia	Práctico	Artículo
96. Hashimoto S, Tanaka E, Ueyama E, Terada S., <i>et al.</i> A Case of Pulmonary Botrytis Species Infection in an Apparently Healthy Individual.	2017	Fase 3	Inglés	USA	Teórico	Artículo

**Fuente:** Los autores, 2018.

El año 2017 fue el año en el que más se publicó, con un porcentaje de 11,5%. Durante estos años los documentos trataron temas como los beneficios de los vinos botritizados y su composición química usando métodos para la cuantificación de estos; también se resalta que un 32,3% corresponde a fuentes publicadas en el periodo de 1957 - 2006 que también se encontraron útiles para el desarrollo del documento, ya que también se revisaron documentos que fueron de importancia para la comprensión del proceso de producción del vino botritizado. **(Anexo 3, Figura 10.)**

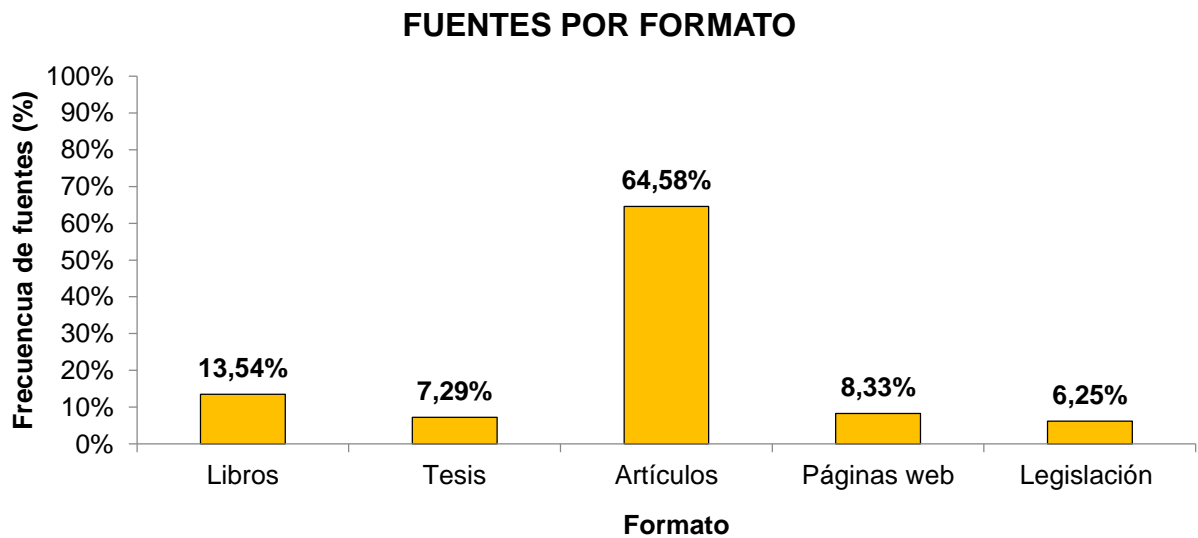
Del total de las fuentes, el 64,58% son artículos científicos enmarcados en las propiedades fisicoquímicas y beneficios del vino, seguido esto por libros los cuales son el 13,54%, páginas web el 8,33%, trabajos de grado el 7,29%, por último, las legislaciones corresponden al 6,25%. Ver **(Anexo 4, figura 11)**

Figura 10. Frecuencia por año de publicación, de las fuentes consultadas.



Fuente: Los autores, 2018.

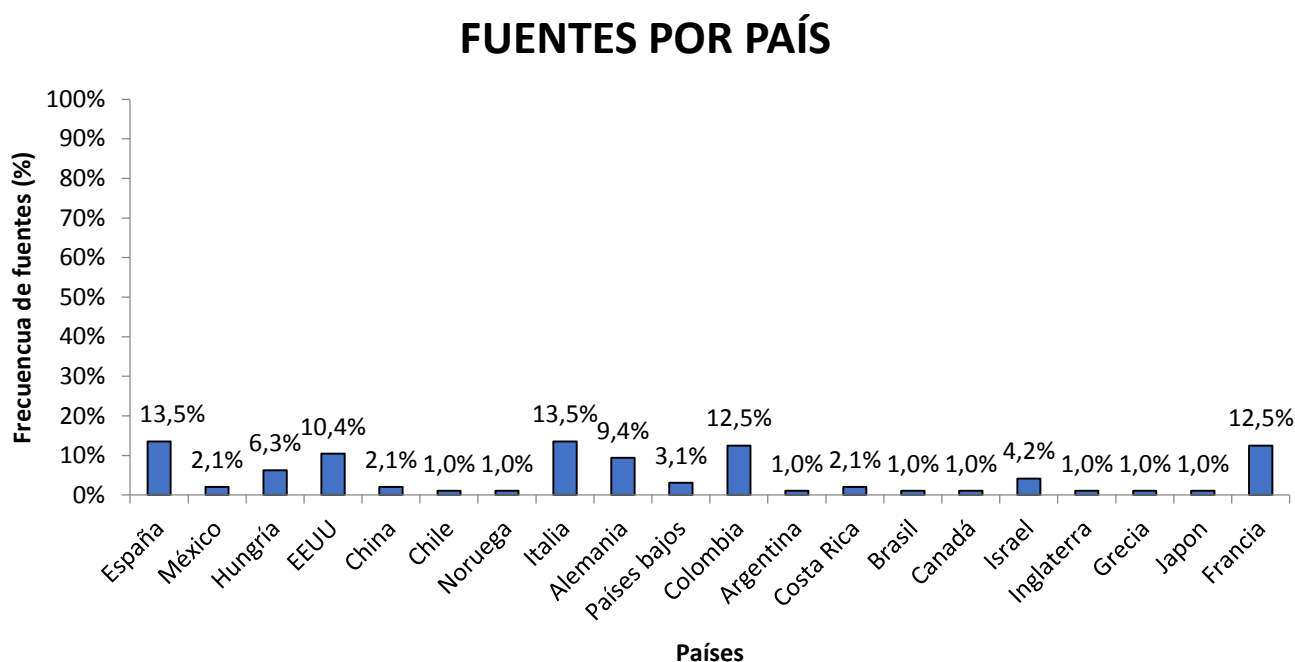
Figura 11. Frecuencia por tipo, de las fuentes consultadas.



Fuente: Los autores, 2018.

Se encuentra que los lugares donde se tuvo una mayor frecuencia de publicaciones fueron el país de Italia y España (13,5 %), seguido por Francia y Colombia (12.5%), EE.UU. (10,4%). Los países latinoamericanos presentaron un porcentaje de publicaciones así: Chile (1,0%), Argentina (1,0%), Brasil (1,0%), Costa Rica (2,1%) y México (2,1%). Es de resaltar que Colombia tuvo un porcentaje de fuentes bibliográficas del 12,5% las cuales corresponden en mayor proporción a normas referentes a calidad de vinos y producción de vinos. Ver **(Anexo 5, Figura 12.)**

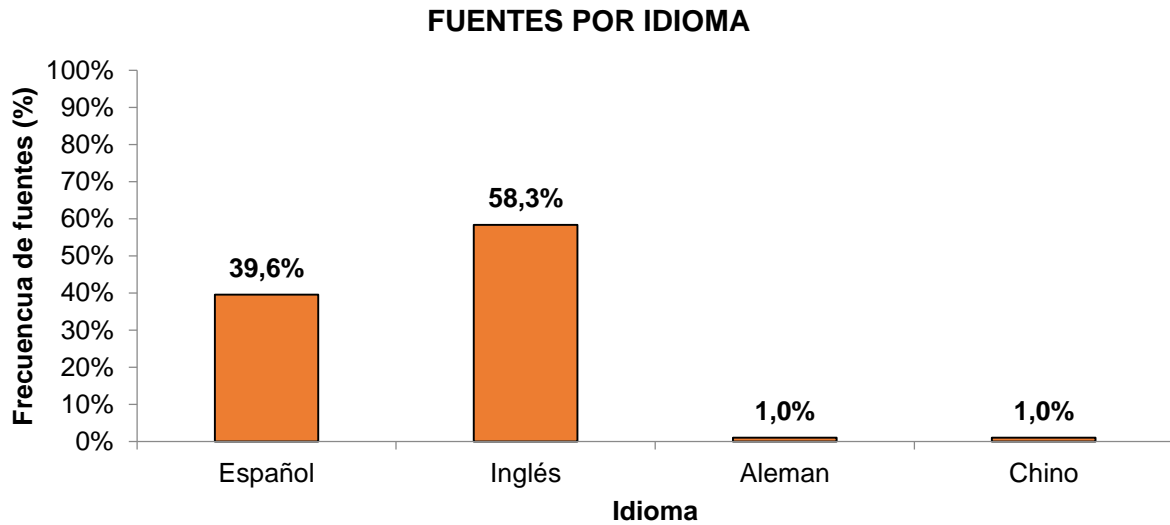
**Figura 12. Frecuencia por País investigador, de las fuentes consultadas.**



**Fuente:** Los autores, 2018.

Según el idioma de las publicaciones, el 58,3% de las publicaciones se encontraron en el idioma inglés y el 39,6% se encontró en español. También se encontraron fuentes bibliográficas en el idioma alemán (1,0%) debido a que el origen de este vino data en este país y chino (1,0%), que fue de ayuda para comprender los beneficios del vino. Ver **(Anexo 6, Figura 13).**

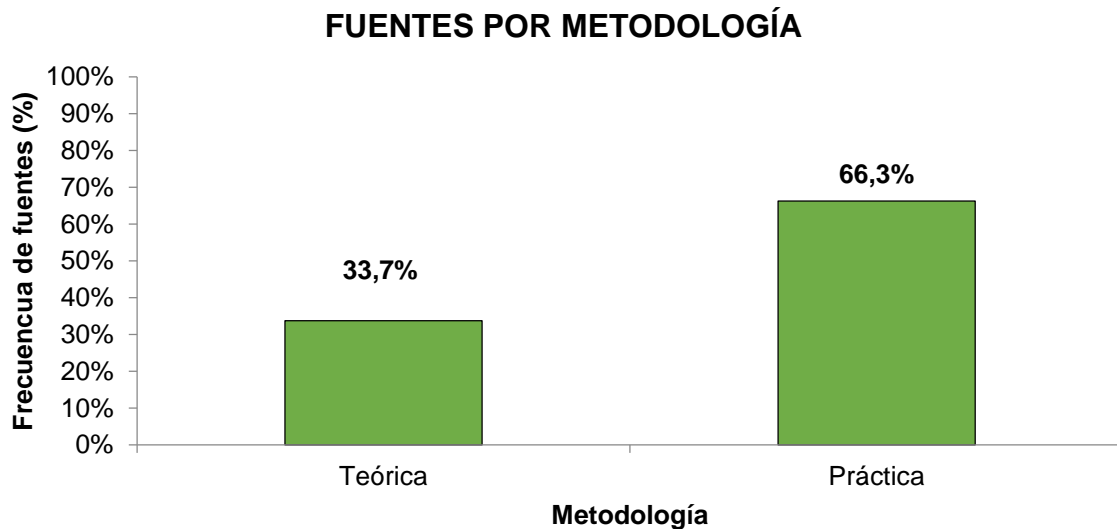
**Figura 13. Frecuencia por idioma, de las fuentes consultadas.**



**Fuente:** Los autores, 2018.

Según el tipo de investigación de las fuentes consultadas, el 66,3% de las fuentes correspondió a documentos donde se realizaron ensayos prácticos dentro del laboratorio o en cultivos de vid, mientras que el 33,7% corresponde a revisiones documentales y libros. Ver (**Anexo 7, Figura 14**).

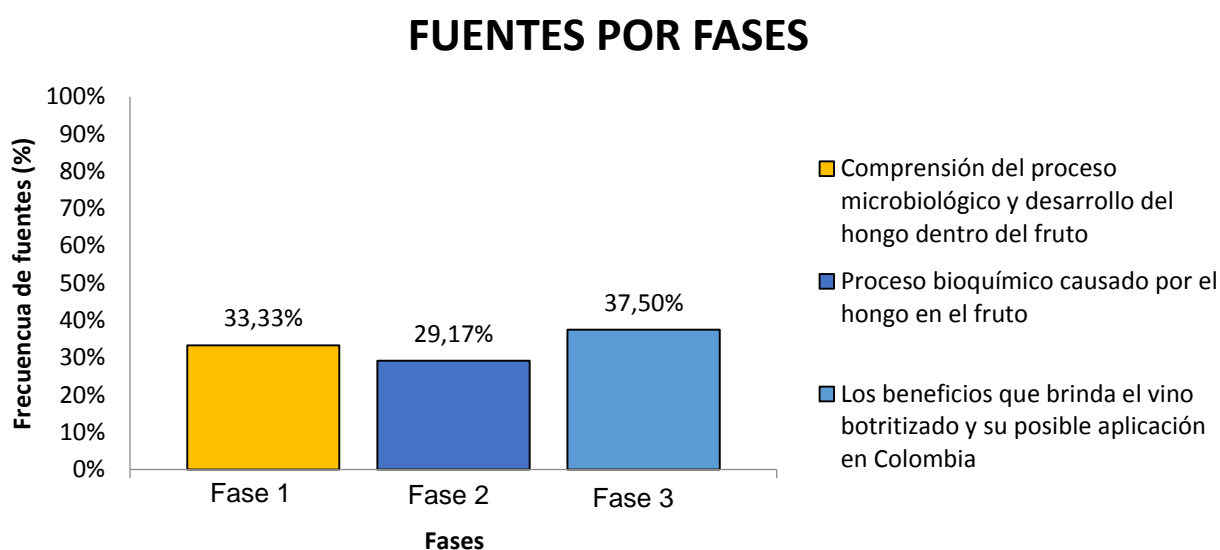
**Figura14.Frecuencia por tipo de investigación, de las fuentes consultadas.**



**Fuente:** Los autores, 2018.

De acuerdo con la utilidad en la resolución de las 3 fases propuestas para el desarrollo del trabajo, se obtuvo que el 37,50% fueron útiles para resolver la fase 3, correspondiente a los beneficios que brinda el vino botritizado y su posible producción en Colombia, mientras que la fase 1, corresponde al proceso microbiológico y desarrollo del hongo dentro del fruto, con un 33,33% y la fase 2, corresponde al proceso bioquímico causado por el hongo en el fruto con un 29,17%. Ver (**Anexo 8, Figura 15**).

**Figura 15. Frecuencia de aplicación por fase, de las fuentes consultadas.**



**Fuente:** Los autores, 2018.

En la **tabla 4** se muestra una recopilación de los porcentajes más relevantes obtenidos en el proceso de clasificación de la información.

**Tabla 4. Recopilación de temáticas más relevantes.**

TABLA RESUMEN		
Temáticas	Característica	Porcentaje
Año	2017	<b>11,5%</b>
Formato	Artículos	<b>64,58%</b>
País	España e Italia	<b>13,5%</b>
Idioma	Ingles	<b>58,3 %</b>
Metodología	Practica	<b>66,3%</b>
Fase	Beneficios	<b>37,50%</b>

**Fuente:** Los autores, 2018.

De la revisión realizada se obtuvo que los años con más publicaciones fueron el 2013 y 2017 (11,5%) donde gran parte de estas eran artículos (64,58%). Los países más investigadores en el tema fueron España e Italia (11,5%) en su gran mayoría con una metodología práctica donde se realizaban ensayos en el laboratorio y de campo (66,3%). Estos resultados se encuentran acordes a las fases de investigación establecidas en la metodología y orientadas a dar respuesta a los beneficios que posee el vino, que corresponde a la fase 3, junto con su posible aplicación en Colombia, con un número de fuentes, que corresponde al 37,50%.

### **Fase 1: Proceso microbiológico y su desarrollo en la uva.**

En la revisión realizada se encuentra que el tiempo de maduración de la vid para alcanzar la capacidad de producir frutos es en promedio unos 2-3 años. Una vez llegada la planta a este punto, es una planta resistente, durable en el tiempo y producirá frutos dentro de 6 meses a un año. (48)

Las condiciones de cultivo involucran factores como el tipo de suelo, la temperatura y el ambiente para el crecimiento óptimo de la vid. La vid es una planta cuyo desarrollo es en general rústico, es decir no requiere mayor cantidad de elementos para su sustento. Este tipo de plantas les convienen más los suelos ricos en sedimentos y minerales, bien drenados superficialmente e internamente, con pH neutro o ligeramente ácido (pH entre 6.5-7.2) (41), se debe cultivar en un terreno preferiblemente bien expuesto al sol durante la mañana y a la sombra durante el atardecer; se prefieren ambientes bien ventilados, a pesar de que se requiere de que el viento no sea fuerte ni irregular de esta forma se mantiene la esporulación del hongo por todo el cultivo de forma homogénea. (41)

Las variedades de uvas cultivadas para la producción de vinos botritizados se caracterizan porque presentan una epidermis gruesa y son capaces de soportar el ataque por el hongo durante su periodo de infección, entre estas encontramos Semillón, Sauvignon blanc, Muscadelle, Chardonnay.

La uva, aunque es una planta rústica, requiere de condiciones para su mantenibilidad como ser podada con frecuencia y es necesaria la fertilización constante del suelo (41), esto en especial durante su crecimiento, pues se requiere que la planta tenga buen sustento nutricional para que pueda resistir la infección por el hongo. También requiere ser fumigada contra plagas como otros hongos patógenos e insectos, en el caso de los vinos botritizados este punto es crítico, teniendo en cuenta que se requiere el desarrollo de un hongo sobre el fruto, por ende, podrían utilizarse agentes antifúngicos a los cuales resista *B. cinerea* como el pentacloronitrobenceno y etilenobisditiocarbamato de manganeso (23).

El rendimiento de producción vinícola de la uva es un aspecto muy dependiente de la variedad que se maneje y del tipo de vinos que se desean producir, aunque, la vid puede producir en el caso de los vinos botritizados, se halla en un promedio de 2500 litros por hectárea plantada (20) esto teniendo en cuenta el proceso de deshidratación que el hongo produce en el fruto.

### **Inoculación del hongo en la uva**

El hongo *B. cinerea* es un microorganismo polífago, saprófito facultativo, no obligado. Las características macroscópicas resaltan un moderado crecimiento de colonias blancas o grises, creciendo fácilmente en todos los medios de cultivo estándar, tales como el agar Papa Dextrosa (PDA), Sabouraud y Czapek-Dox los cuales son usados para el cultivo de hongos.

De acuerdo al medio utilizado se favorecerá el desarrollo de estructuras como el esclerocio, el cual generalmente, se forma cuando cesa el crecimiento vegetativo, especialmente cuando la colonia se cultiva en la oscuridad. En los estudios revisados, los medios de cultivo utilizados son el Agar papa dextrosa (PDA) (4, 5,71), el cual en su composición posee glucosa e infusión de papa como fuentes de carbono a un pH de  $5.6 \pm 0.2$  y además puede ser suplementado con ácido tartárico para la inhibición de bacterias. (Ver anexo 16)



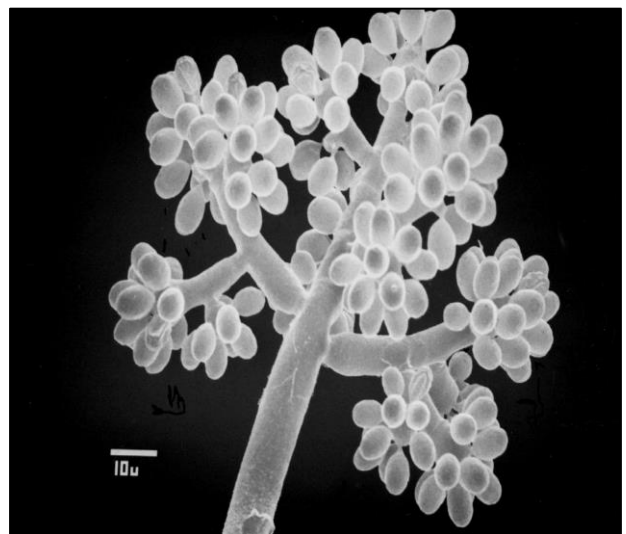
Otro tipo de medios utilizados fueron el Agar Czapek-Dox, usado para la recuperación de hongos a partir de diversas muestras, este medio contiene sacarosa como fuente de carbono y nitrato de sodio como fuente de nitrógeno, ajustado a un pH de  $7.3 \pm 0.2$  (6,78) agar Sabouraud el cual usa triptona y peptona de carne como fuente de nitrógeno y glucosa como fuente de carbono a un pH de  $5.7 \pm 0.2$  (71), Botrytis Agar selectivo contiene pentacloronitrobenzeno y etilenbisditiocarbamato de manganeso, dos agentes anti-fúngicos a los cuales resiste *B. cinerea* y cloranfenicol como agente antibacteriano (23).

El hongo puede crecer de una manera micelial, en la cual se producirá una colonia algodonosa parda, también encontrándose un crecimiento esporulante, en la cual, desarrollará una gran cantidad de conidióforos, de manera que se produzcan los conidios (Figura 16)(62), los cuales presentan una morfología en racimo característica, con un conidióforo ramificado hialino con hifas dematiáceas septadas, además la conidiación toma lugar en una ampolla (como célula conidiógena) localizada al final de una hifa especializada, de la cual se producen las conidias unicelulares características del hongo, cuya pared es fina y con un borde suave, con morfología piriforme o globosa y con un tamaño de unos  $2,5-3 \mu\text{m}$  (56,62).

**Figura 16. Morfología macroscópica y microscópica de *B. cinerea*.**



**Fuente:** Los autores, UCMC, 2018.



**Fuente:** (62)

Las cepas de *B. cinerea* más usadas en los estudios se presentan en la tabla 5.

**Tabla 5. Cepas usadas en los estudios.**

CEPA	AISLAMIENTO	FUENTE
SAR 2228	Universidad de Bari, Italia a partir de cruces entre aislados de recogido de vid, rosa y clave.	(5,6)
SAR 2116	Universidad de Bari, Italia a partir de cruces entre aislados de recogido de vid, rosa y clavel. Buena productora de polisacáridos.	(5,6)
B05.10	Cepa de referencia secuenciada, aislada de un cultivo de <i>Vitis vinifera</i>	(52)
T4	Cepa secuenciada aislada de un cultivo de tomate.	(52, 6)
P16.14	Nativa aislada en Alemania a partir de un mosto de uvas Riesling.	(78)
BcDW1	Cepa de <i>B. fuckeliana</i> aislada en 1992 en California.	(26)
M 2013661	Preservada en el Centro de China para la Colección de cultivos.	(33)

**Fuente:** Los autores, 2018.

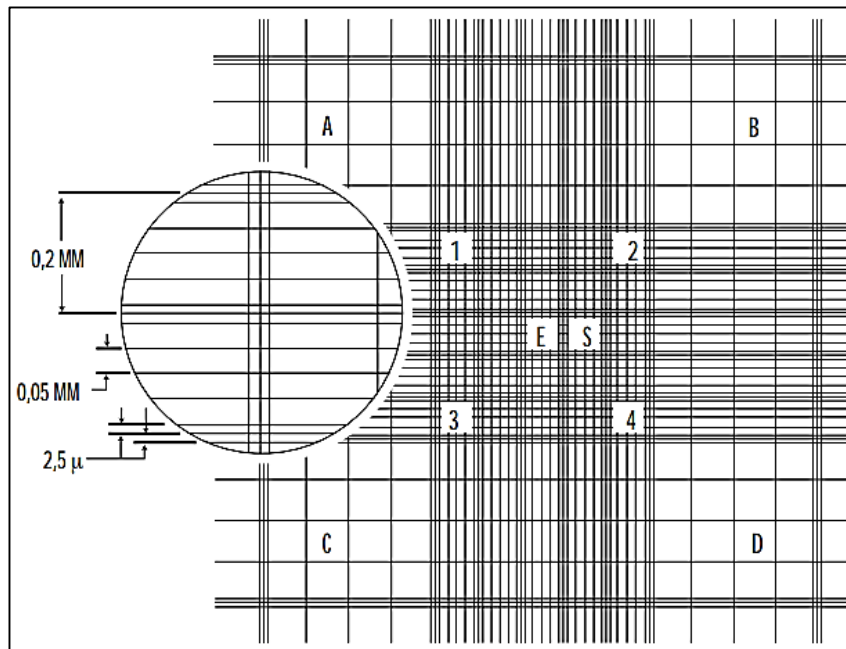
Se resaltan las cepas SAR 2228 y SAR 2116, las cuales fueron aisladas por la Universidad de Bari en cultivos de vid y rosas. Se encontró en las fuentes bibliográficas consultadas que no se brindaba información sobre la codificación y su significado de las cepas que utilizaban. Las cepas B05.10 y T4 se encuentran secuenciadas y su genoma se encuentra disponible en la base de datos de GenBank, lo cual permite tener un mejor conocimiento del arsenal enzimático del hongo. La cepa M 2013661 se describió como buena productora de lacasa (33) indicando gran producción de estilbenos y favoreciendo la producción de un mejor vino botritizado.

En el proceso de recuperación de conidias del hongo *B. cinerea*, es necesario preparar un inóculo de conidias con una concentración  $10^4$  conidias/uL establecida de acuerdo con la revisión realizada con la cual se garantiza el desarrollo adecuado del hongo en la uva (24,30). Es importante realizar un recuento de las conidias producidas por una

colonia del hongo, de al menos 10 días de crecimiento (24). Se realiza un lavado de la colonia con agua destilada, de tal forma que las conidias que estén en el cultivo se suspendan en la solución. Es recomendable también filtrar la solución con una malla o gasa, para retirar residuos de agar o micelio.

El recuento de conidias del hongo *B. cinerea* puede realizarse mediante técnica de recuento en cámara de Neubauer, para lo cual se debe tomar 50µL de la solución de conidias recuperadas como se describió previamente, dispensarla en la muestra que tiene la cámara, de tal forma que la solución se desplace por capilaridad y se distribuya por todo el campo rayado de la cámara (Figura 16), importante que no queden burbujas y que la solución no se salga del área, pues el excedente de solución arrastrará conidias en su paso, provocando así un error de recuento.

**Figura 17. Rayado en cámara de Neubauer.**



**Fuente:** (85)

Es importante tener en cuenta que el resultado depende del tipo de cámara que se esté usando, pues estas varían mucho en la profundidad de la zona de recuento, además cada cámara trae en el inserto una constante, la cual será usada para el

cálculo final de conidias por mL. Según el tamaño de las conidias que presenta el hongo *B. cinerea* son de un tamaño de 2,5-3  $\mu\text{m}$ , por lo cual se realizará el recuento en los campos 1, 2, 3, 4 y 5. (Figura 17).

La técnica indica que se debe sumar el número de colonias contadas en cada cuadrícula, además el recuento debe hacerse 6 veces, sacando un promedio total de colonias contadas y este multiplicado por la constante de la cámara, obteniéndose así el número de colonias por mL. Para saber qué dilución debe realizarse en la solución, para obtener una concentración deseada de conidias por  $\mu\text{L}$ , puede usarse la fórmula  $V_1C_1 \times V_2C_2$  (85).

La inoculación de conidias a una concentración conocida puede realizarse mediante punción del fruto con una aguja, inyectando el volumen de solución de agua destilada estéril previamente calculado, tras haber realizado el recuento de conidias. El inóculo puede aplicarse también directamente por aspersion de la solución con la concentración establecida anteriormente de conidias (85). Las uvas se incuban por 10 días a una temperatura de 25°C, tiempo tras el cual, se observará si la superficie de la uva fue cubierta por micelio del hongo, asumiendo una escala en donde 0 representa un nulo desarrollo de micelio en la superficie del fruto y 5 representando que más de las  $\frac{2}{3}$  partes del fruto están cubiertas por micelio (24).

### **Condiciones para el desarrollo del hongo**

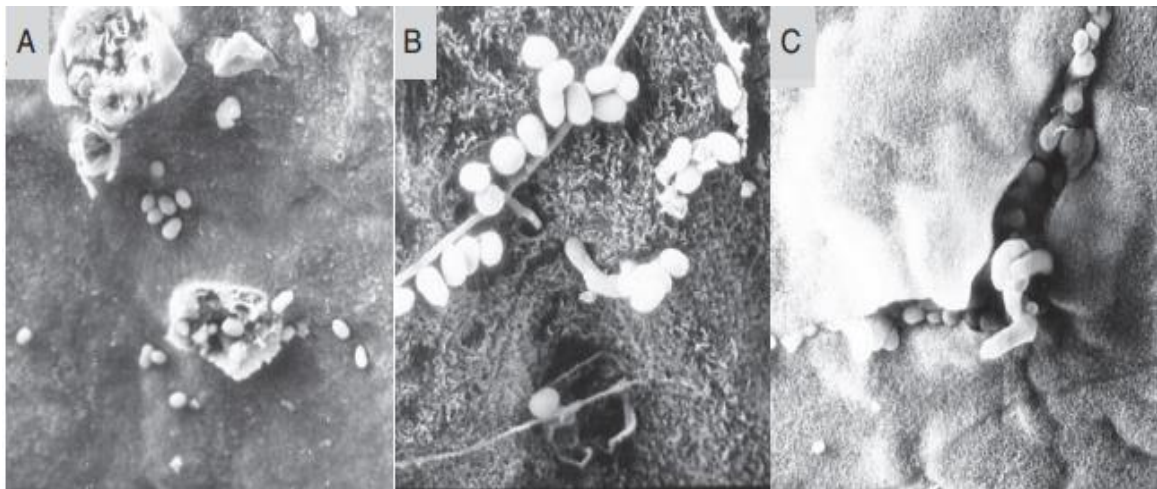
Para el desarrollo de la podredumbre noble se necesitan condiciones óptimas como un ambiente con alta humedad (>90%) una temperatura de 22°C durante un periodo de 1 a 2 días para favorecer la esporulación del hongo, además la uva debe estar sobremadurada para el periodo de infección, previamente a este debe haber un periodo de lluvia para reducir el contenido de azúcar (36) seguido por un periodo de deshidratación donde se usa un ambiente seco para reducir el contenido de agua en la uva con una humedad relativa del 40 al 84 % a una temperatura de 19°C durante 5 a 17 días (2). Si no se dan estas condiciones se produciría el desarrollo de la podredumbre gris el cual trae consecuencia la pudrición total del cultivo. (52)

En el proceso de la penetración por parte del hongo hacia el fruto de la vid se presentan microfisuras peristomales (Figura 18) las cuales se forman alrededor de las estomas a medida que la fruta se agranda, estos permiten que los exudados de la uva escapen a través de la epidermis, proporcionando nutrientes para la germinación conidial (periodo de maduración). (20)

Al madurar, la cutícula se vuelve cada vez más desorganizada y su grosor disminuye, lo que favorece la formación de microporos y heridas en la epidermis. Estas producen sitios adicionales para la penetración de hongos que por acción enzimática ayudan a la disrupción de la epidermis. Después de unas horas, los conidios germinan, produciendo tubos de germinación que pueden penetrar en la uva. La penetración no es profunda, y el crecimiento de la hifa posterior progresa en paralelo a la superficie de la uva, a través de los tejidos hipodérmicos cambiando su color. (20)

El micelio en crecimiento se rompe mecánicamente a través de la cutícula, sus filamentos emergen a través de la piel y se desarrollan en conidióforos en la superficie hasta que la uva se deseca por evaporación y el contenido del jugo se vuelve altamente concentrado. El crecimiento de micelios en la superficie y conidióforos cesa la absorción de oxígeno por el hongo disminuye, limitando y modificando aún más sus actividades enzimáticas lo cual favorece la composición aromática en la uva. (20).

**Figura 18. Microfisuras peristomales.**



**Fuente:** (20)

En esta fase es importante resaltar, que la actividad metabólica de *B. cinerea* en la fruta antes de ser triturada solo puede producirse como resultado de la integración de la caracterización adecuada de aislamientos para garantizar que correspondan con *B. cinerea*, así como el factor nutricional, la humedad relativa, la temperatura, el tiempo de infección y el tiempo de deshidratación. (2)

## **Fase 2: Proceso bioquímico causado por el hongo en el fruto.**

El proceso bioquímico que ocurre en el fruto y el mosto está dado por una fase oxidativa del hongo (figura 19) y otra fermentativa por acción de las levaduras (figura 20). En primer lugar, el proceso oxidativo es aquél que otorga altas concentraciones de compuestos que le dan cualidades especiales y algunas únicas al vino botritizado. Es una ruta influenciada por la enzima lacasa (90 U/mL) la cual se halla presente en la uva por la infección del hongo al igual que en el mosto y cuenta con un alto poder oxidativo, ya que desempeña un papel importante en la oxidación directa de polifenoles tanto en la uva como en las etapas tempranas del zumo; además se describen otras enzimas con carácter oxidativo como la glucosa oxidasa (130 U/mL) que oxida compuestos en mosto y vino, tales como ácido tartárico, etanol y glicerol, para producir, respectivamente: ácido glioxílico, acetaldehído y gliceraldehído. Otras enzimas que influyen en el proceso son la amina oxidasa, glicerol oxidasa, catalasa y peroxidasa que no se encuentran en vinos hechos con uvas que no estén infectadas por *B. cinerea*. (17)

En la fase fermentativa los azúcares libres del mosto se usan para obtener etanol como producto final, este proceso bioquímico se conoce como fermentación alcohólica el cual es un proceso presente en algunas levaduras como *Saccharomyces cerevisiae* (65) y que representa un gasto energético para el microorganismo al tener este que emplear 2 moléculas de ATP (45). Este proceso toma como base los azúcares de tipo hexosa y por medio de un proceso enzimático que da como resultado el clivaje de la molécula de glucosa y una secuencia de fosforilaciones que dan como resultado a dos moléculas de etanol, junto a 21 kcal/mol (45). Este proceso fermentativo consigue un grado alcohólico de más o menos 13% v/v en unas 2 o 3 semanas.

En el proceso de fermentación para la producción de vinos botritizados no es necesaria la adición de azúcar ya que el mosto contiene más del suficiente para iniciar el proceso, además también para este la corrección de acidez se realiza utilizando ácido tartárico, se requiere de una temperatura de entre 17-20°C, también es importante agregar que el pH óptimo para este proceso es de entre 3,5-5,5 (ácido) (65); debido a que las uvas afectadas por la podredumbre noble poseen en sí mismas una amplia variedad de levaduras, razón por la cual en el caso del vino botritizado no solo se producirá etanol como producto fermentativo, sino que además puede producirse moléculas de glicerol, lo que aumenta el gusto dulce del vino y otros compuestos aromáticos (ésteres y acetatos).

Se describe que los mostos de uvas con *B. cinerea* presentan valores bajos de nitrógeno menor de 50 mg/L el cual es útil para la fermentación lo ideal son valores mayores a 77 mg/L (3) para esto se recomienda la adición de tiamina (0.6 mg / l), fosfato diamónico (300 mg / l) y levadura seca activa (10-15 g/hl) , pH 3.5- 6.0 (3) para lograr una tasa de fermentación óptima, una propagación de levadura más rápida y reducir los requerimientos de SO<sub>2</sub> (20) ya que la actividad de la Lacasa se ve inhibida a concentraciones mayores de 50 mg/L de SO<sub>2</sub> libre y la glucosa oxidasa se ve inhibida en concentraciones superiores a 100 mg/L de SO<sub>2</sub> libre (17)

Después de la fermentación etanólica, se da la fermentación maloláctica, la cual ésta dada por la presencia de bacterias del ácido láctico como *Leuconostoc. spp*, las cuales convierten el ácido málico de las uvas a ácido láctico, hecho que aumenta la acidez del vino, la población de bacterias acéticas entre estas *Acetobacter. spp*, que puede encontrarse en conjunto con la podredumbre noble transformarán parte del etanol hasta ácido láctico reduciendo el efecto astringente (65, 67), ya que una característica especial de estos vinos es su alta acidez lo cual contrarresta muy bien el nivel de azúcar que poseen (20).

Entre los compuestos que se forman durante el proceso oxidativo se destacan ( ver Tabla 6 ) los alcoholes, los ésteres, los aldehídos, las cetonas, los terpenos, las lactonas, los benzenoides, los fenoles, algunos derivados del furano y lactonas que

ayudan a la composición aromática del vino botritizado. Estas sustancias tienen notas de olor muy características, como el coco, el chocolate, el melocotón y a fruta (9) y que le dan aroma y otorgan características especiales al vino botritizado, las cuales fueron determinadas por medio de Cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS).

**Tabla 6. Compuestos aromáticos presentes en el vino botritizado VS un vino no botritizado de denominación Amarone.**

Compuesto	Concentración en vino botritizado	Concentración en Amarone "sano"	Compuesto	Concentración en vino botritizado	Concentración en Amarone "sano"
Trans-3-hexenol	30 ug/L	23 ug/L	p-cimeno	39 ug/L	21 ug/L
Metionol	345 ug/L	176 ug/L	N-(3-metilbutil)-acetamida	1878 ug/L	65 ug/L
1-octano-3-ol	16 ug/L	9 ug/L	Ácido homovanílico	15.7 ug/L	11 ug/L
Acetato de isoamilo	36 ug/L	16 ug/L	Etil vainillato	127 ug/L	78 ug/L
2-feniletil acetato	50 ug/L	32 ug/L	Metil vainillato	13 ug/L	10 ug/L
Etil-2-hidroxi isovalerato	40 ug/L	23 ug/L	Sherry lactona (isómero 2)	386 ug/L	215 ug/L
Etil-2-hidroxi-4-metilpentanoato	179 ug/L	115 ug/L	4-Terpineol	18 ug/L	10 ug/L
Etilfenilacetato	20 ug/L	5.2 ug/L	cis-furan-linalol Óxido	6 ug/L	4.1 ug/L
Benzaldehído	21 ug/L	12 ug/L	Trans-furan-linalol óxido	7.2 ug/L	5 ug/L
Fenilacetaldehído	2.8 ug/L	0.2 ug/L	Norfuraneol	81 ug/L	56 ug/L
γ-Terpineno	33 ug/L	20 ug/L	Furfural	51 ug/L	21 ug/L

**Fuente:** (15)

En la tabla 6 se presentan en su mayoría los compuestos que se hallan en el vino botritizado, están presentes en más o menos una doble concentración con respecto al



vino no botritizado y en caso como el N-(3-metilbutil)-acetamida, este se halla hasta veintiocho veces más concentrado en el vino botritizado, razones por la cuales el aroma del vino botritizado es mucho más agradable que el de un vino común.

De la revisión realizada se destaca la presencia de tres alcoholes sulfónicos (Tioles) en vinos elaborados con uvas infectadas con *Botrytis cinerea* por medio de Cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS): 3-sulfanilpentano-1-ol (II) 209 ng /L, 3-sulfanilheptano-1-ol (III) 51 ng /L, y 2 -metil-3-sulfanilbutano-1-ol (IV) 103 ng /L. Los primeros dos tienen aromas cítricos, mientras que el tercero es una reminiscencia de cebolla cruda, los cuales tienen gran influencia en el aroma (12) y se formaron por el metabolismo de la levadura durante la fermentación alcohólica a partir de los correspondientes precursores de conjugado de cisteína-S no volátiles (16).

El vino botritizado presenta una concentración de glicerol 2,4 g/L, lo que lo diferencia de otros vinos blancos y que resulta ser un marcador de infección por *B. cinerea* bastante útil (29), también la presencia de ácido glucónico de 1.2 g/L y en otros vinos de 0,6 g/L otorgan tacto cremoso y una alta acidez en estos vinos (23). Por otro lado, se encuentra que la actividad oxidante de la enzima lacasa que hace efecto sobre la seripauperina-5 (proteína de la uva) la cual al ser oxidada brinda un aspecto espumoso al vino (34).

Se encuentran reportadas aminas biógenas como la cadaverina, histamina, feniletilamina, putrescina, espermidina y tiramina (figura 21), cuyas concentraciones fueron medidas por Cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) (tabla 7), cabe resaltar que estos valores aumentaban a medida que se maduraba el vino y en especial en vinos elaborados con *B. cinerea* (4), también se realizó una comparación con un vino no botritizado como el Chardonnay (tabla 8) (94)

Las aminas biógenas son compuestos naturales en vinos por la acción de microorganismos allí presentes las cuales no representan gran daño tóxico como la histamina, se recomienda un nivel de histamina de 2 a 10 mg/L en vinos, con respecto a las micotoxinas, se ha demostrado que la principal micotoxina (la ocratoxina-A 'OTA')

suele encontrarse presente en los vinos pero según la revisión realizada en el vino botritizado esta se encuentra en bajos niveles por ejemplo, los niveles de OTA en el vino Tokay-Aszú fueron menores de 0,53 mg/L después de la maceración hasta cerca del nivel de detección (0,02 mg/L). La Comisión Europea ha establecido 2 mg / kg como el nivel máximo permitido para la OTA en vinos y productos de uva (20,94).

**Tabla 7. Aminas biógenas en el vino botritizado.**

Amina biógena	Concentración	Amina biógena	Concentración
Cadaverina	0.22 mg/ L	Histamina	0.04 mg/ L
Feniletilamina	5.39 mg/ L	Putrescina	2.63 mg/ L
Espermidina	34 mg/ L	Tiramina	1.08 mg/ L

**Fuente:** (7).

**Tabla 8. Aminas biógenas en vino Chardonnay especial (sin botritizar).**

Amina biógena	Concentración	Amina biógena	Concentración
Cadaverina	0,2 mg/ L	Histamina	ND
Feniletilamina	ND	Putrescina	1,5 mg/ L
Espermidina	ND	Tiramina	6,6 mg/ L

ND: No detectado

**Fuente:** (94).

Otros compuestos encontrados son los polifenoles naturales entre ellos los estilbenos (hidrocarburos aromáticos) donde se encuentra el resveratrol en su forma más común en trans-resveratrol 3.80 ug/L; Trans-pterostilbeno 0.03 ug/ L y el dímero de resveratrol la  $\epsilon$ -viniferina 4.06 ug/L cuantificados por Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC). Las uvas en condiciones normales no producen estilbenos (6), los cuales, en el caso de infección, por *B. cinerea* son producidas por la uva y actúan como fitoalexinas (agentes antimicrobianos) en defensa contra hongo, como ejemplos de estos se tienen el trans-resveratrol, el trans-pterostilbeno y el dímero del trans-resveratrol: la  $\epsilon$ -viniferina (77). Estos vinos son ricos en polifenoles (10).

En la **Tabla 9** se presentan las características del vino francés Sauternes el cual se realiza con uvas de la variedad Semillón, Sauvignon blanc y Muscadelle, del cual resalta su color amarillo, sabor frutal y olor dulce, características que en su mayoría son debidas a la presencia de los compuestos que se mencionaron previamente. Este vino presenta una alta concentración azúcares libres por los cuales debe su gusto dulce, por todo esto es un vino que se suele utilizar como acompañamiento para platos como el foie gras francés y postres con quesos Roquefort.

**Tabla 9. Ficha técnica del vino con denominación Sauternes que proviene de la región de Burdeos - Francia.**

<b>Composición</b>	<b>Vino Sauternes</b>
Azúcar (g/L)	50- 150
Graduación alcohólica (% v/v)	13- 14
Envejecimiento (años)	1- 3 en barrica de roble
Color	Amarillo claro y al envejecer amarillo oscuro.
Sabor	Dulce equilibrado con notas de acidez leve y sabores a durazno, melocotón y miel, no empalagoso.
Olor	Frutal con notas cítricas y caramelo.
Maridaje	Aperitivo de foie gras o queso Roquefort para saborearlo en postres.
Variedad de uvas	Semillón, Sauvignon blanc y Muscadelle.

**Fuente:** (20).

En el proceso bioquímico no solo se tiene en cuenta el hongo y sus enzimas, sino también las levaduras que ayudan a realizar el proceso fermentativo y así obtener las características especiales de este vino y los compuestos que le otorgan los beneficios a la salud y al producto. Se pudo observar que la amplia cantidad de agentes químicos que posee el vino botritizado hacen de este un producto único ya que la podredumbre noble aumenta la calidad del vino y permite producir vinos altamente concentrados, aromáticos y dulces, esto teniendo en cuenta la gran cantidad de agentes químicos

aromáticos, los cuales propenden un aroma más sofisticado y característico, entre estos lactonas y terpenos.

### **Fase 3. Beneficios que brinda el vino botritizado y su posible aplicación en Colombia**

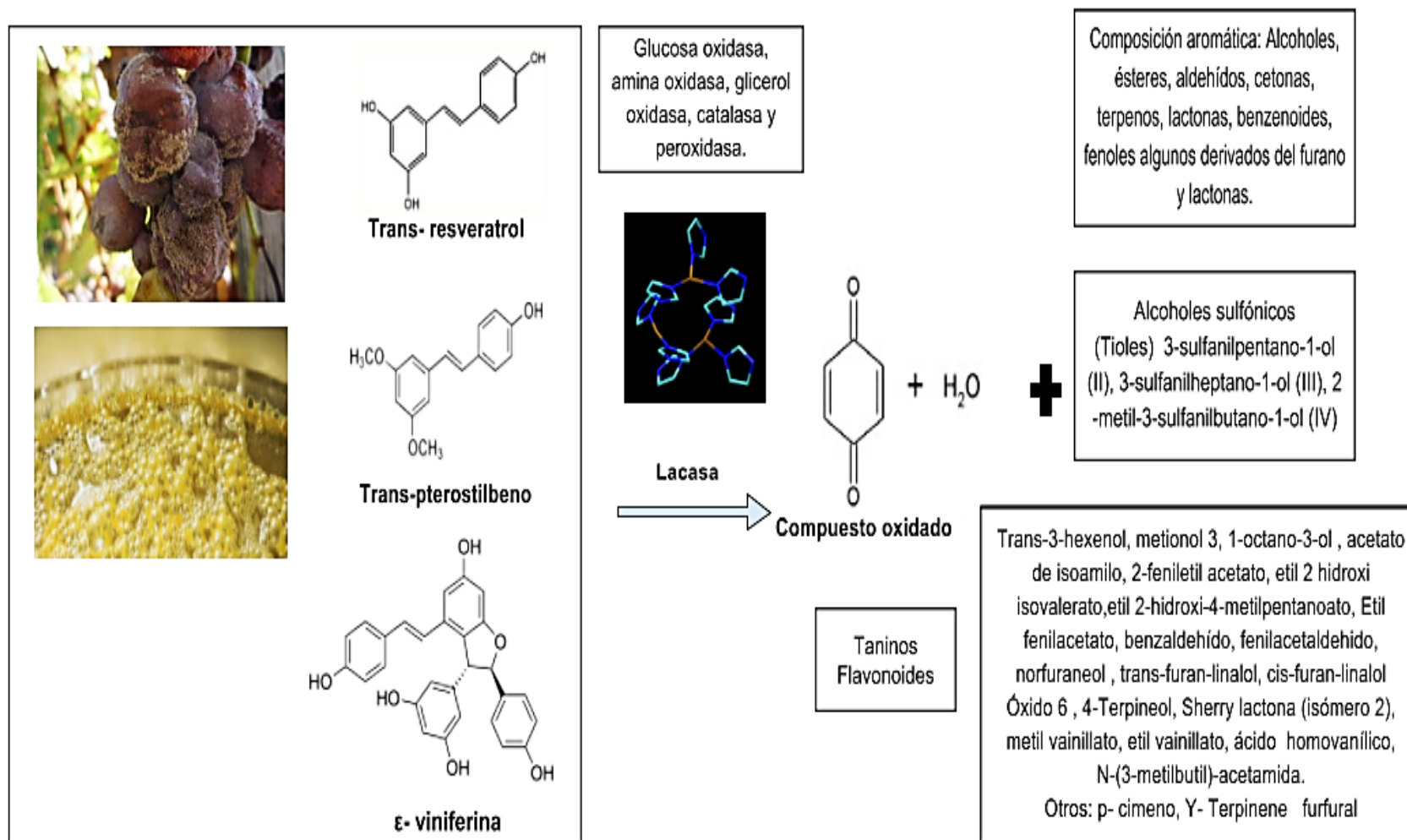
En esta fase se describen las características y beneficios del vino botritizado, proponiendo estrategias para producir este vino en el país.

En cuanto a las características del vino botritizado se resalta su aroma frutal (similar a la fruta de la pasión), con notas cítricas (12) y ligeramente almendrado, se caracteriza por un tacto cremoso y suave al paladar, esto debido a una mayor concentración de glicerol, debida a la acción deshidratante que ejerce el hongo sobre el fruto, también teniéndose la presencia de ácidos láctico y acético, los cuales confieren un gusto ácido que enmascara la astringencia del vino y evitando que este tenga un gusto empalagoso debida la presencia elevada de azúcares no fermentados. (65,67)

Los beneficios del vino botritizado son diversos (Tabla 10), entre estos se encuentra la cantidad elevada de antioxidantes que posee entre estos polifenoles y estilbenos que se dan como resultado de la oxidación por medio de la enzima lacasa (polifenol oxidasa) producida por el hongo frente a las fitoalexinas secretadas como defensa de la planta frente a la infección del hongo (69), los cuales son útiles en la prevención de enfermedades coronarias y otros problemas crónicos (75). La principal función de estos agentes antioxidantes radica en proteger al cuerpo de los radicales libres que se encargan del envejecimiento y daño de las células del organismo mediante la eliminación de especies reactivas de oxígeno. (20)

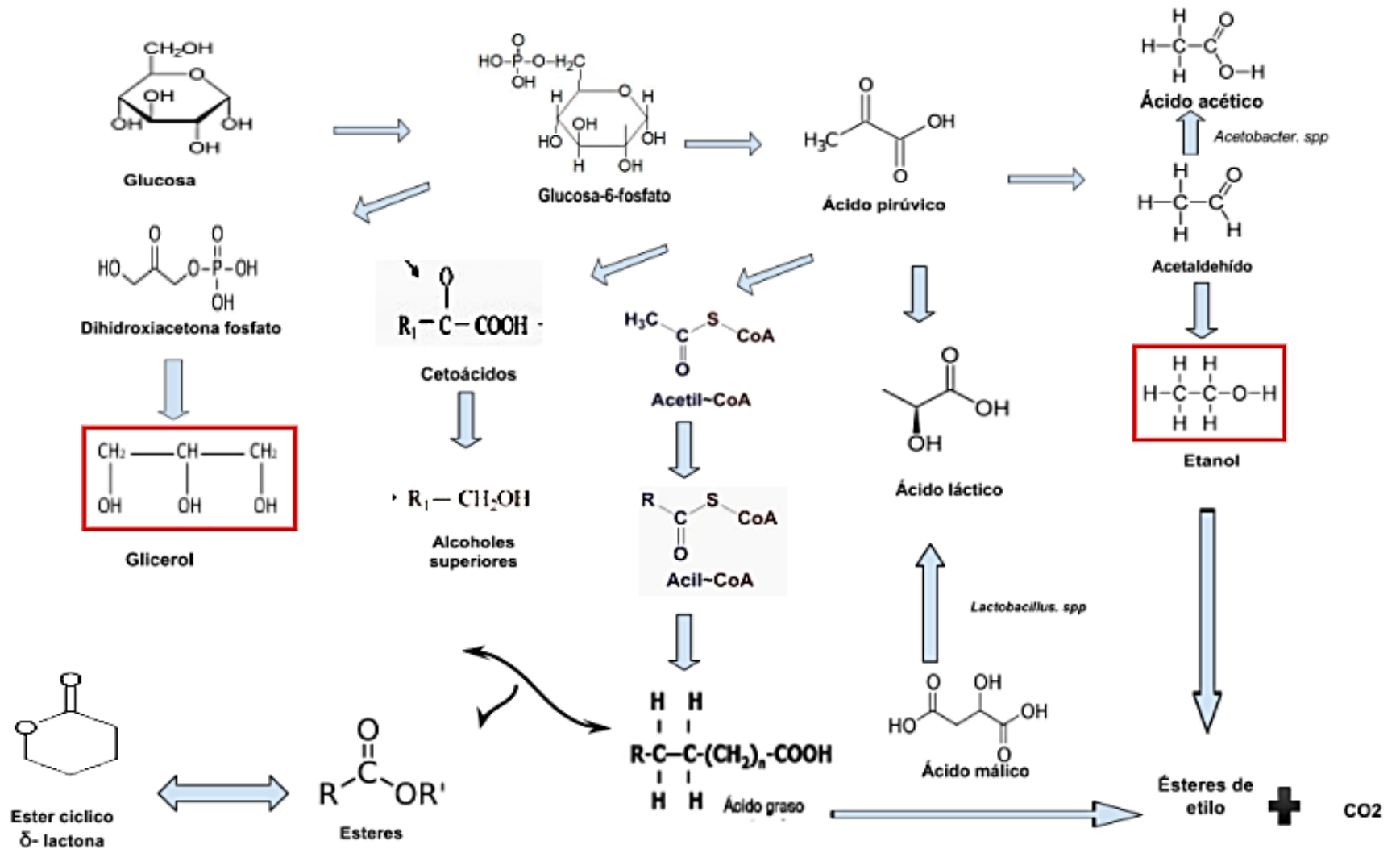
Todos los beneficios sobre el vino y los consumidores que produce el hongo sobre el cultivo de la uva y los procesos bioquímicos hacen que sea importante poder hacer su producción en Colombia, aislando cepas nativas de *B. cinerea* y que sean aplicadas en la producción del vino aprovechando las condiciones ambientales de Colombia y la biodiversidad que presenta.

Figura 19. Proceso oxidativo.



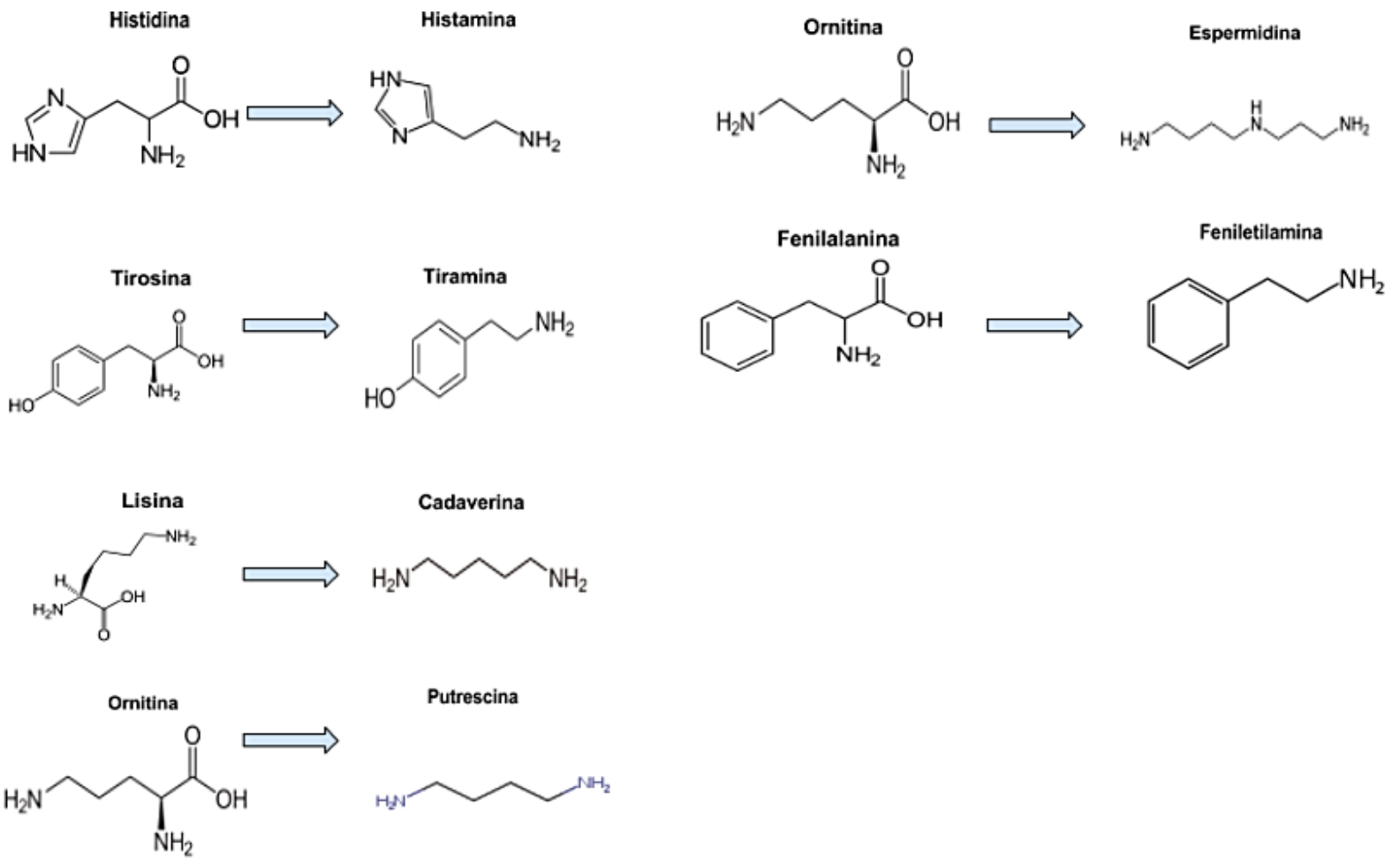
Fuente: Los autores, 2018.

Figura 20. Fermentación alcohólica, láctica, maloláctica.



Fuente: Los autores, 2018.

Figura 21. Aminas biógenas.



Fuente: Los autores, 2018

**Tabla 10. Beneficios del vino botritizado.**

<b>COMPUESTOS</b>	<b>EFEECTO EN EL VINO</b>	<b>EFEECTO EN EL CONSUMIDOR</b>
<b>Polifenoles como estilbenos ( trans-resveratrol, el trans-pterostilbeno y la <math>\epsilon</math>-viniferina)</b>	Actúan como antioxidantes.	Son potentes secuestrantes de radicales libres, de tal forma que ayudan en la prevención de cánceres y envejecimiento prematuro celular. (75)  Prevención de enfermedades cardíacas. (75)
<b>Ácidos láctico y acético</b>	Reducen astringencia y gusto empalagoso del vino. (65,67)	
<b>Glicerol</b>	Confiere tacto cremoso al vino. (67)	
<b>Compuestos aromáticos</b>	Brindan al vino aromas frutales agradables (12)	
<b>Oxidación de la seripauperina-5</b>	Brinda espumosidad al vino (34).	

**Fuente:** Los autores, 2018.

### **Producción en Colombia**

Las condiciones climáticas de Colombia son interesantes para la producción de vinos y por tanto puede ser propicio para el desarrollo de la podredumbre noble, ya que es necesario que no llueva durante el periodo de crecimiento y maduración de la uva que se da en verano porque se reduciría el contenido de azúcares y otros compuestos que alteran la calidad de este. Las condiciones propuestas según la revisión realizada resaltan un periodo de lluvia anterior al de infección de 15 días antes de la maduración de la uva para el correcto crecimiento de la podredumbre



noble se necesita que durante la infección haya una humedad relativa que supere el 90% a una temperatura de 22° C alrededor de 1 a 2 días y en el periodo de deshidratación una humedad relativa del 40 al 84 % s a una temperatura de 19 °C por un tiempo de 15 días. (2)

Otro factor clave es la velocidad del viento para la propagación homogénea de las conidias sobre la uva, es importante resaltar que estas condiciones pueden ser adecuadas en un invernadero, pues es una buena opción para la producción de este vino en Colombia ya que es posible controlar las condiciones de producción del cultivo. (41)

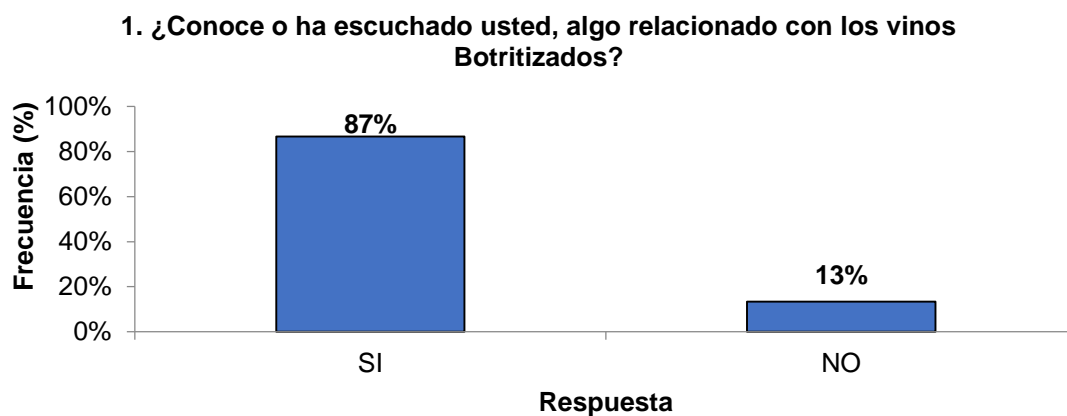
Además, dentro del país se cultivan las variedades de uvas Chardonnay y Sauvignon blanc específicamente en Villa de Leyva y Sutamarchán (Boyacá), los cuales podrían ser utilizadas para la inoculación del hongo y producir el vino. El viñedo de Villa de Leyva de acuerdo a la encuesta realizada mostró gran interés en la producción de este vino (42).

La encuesta se realizó con 15 personas en Expovinos 2017 donde se encontraban representantes de empresas encargadas de la importación de vinos, productoras y comercializadoras de sus propios productos y viñedos; entre estas encontramos a Zona K importados, Fincas de Chilagua, Dislicores, Viña San Pedro, Viñedos del Jardín, Casa Grajales, Casa de Pedro Domecq, Marpico.

Esta encuesta permitió establecer el interés de la industria vinícola nacional por este tipo de producto. (Ver Anexo 9)

Según los resultados obtenidos (figura 22) los encuestados conocen de los vinos botritizados en un 87% y las características de este vino como su sabor dulce, aroma frutal y costo. (Ver Anexo 10)

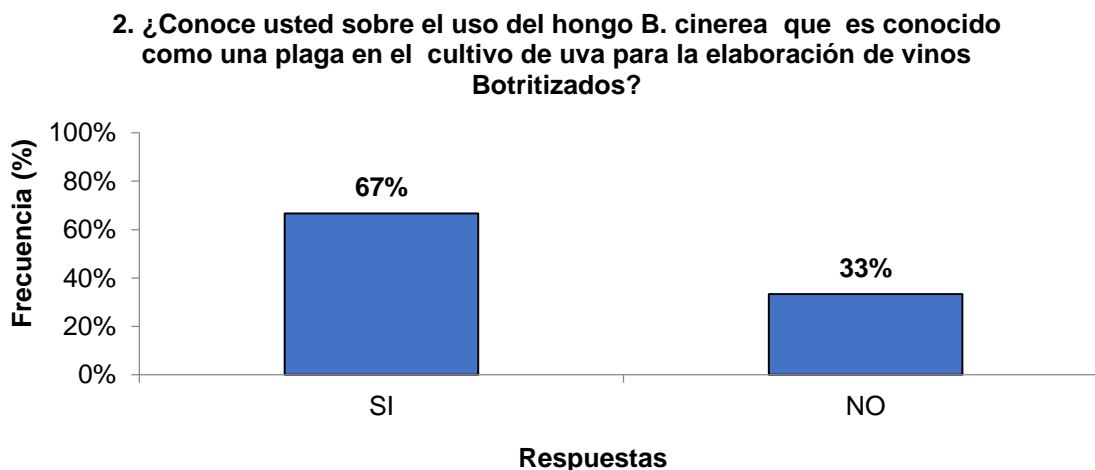
**Figura 22. Encuesta pregunta uno.**



**Fuente:** Los autores, 2018.

Se conoce también sobre el uso del hongo *B. cinerea* en un 67% (Figura 23) en la elaboración de vinos y adicionalmente es conocido por ser una plaga que afecta mundialmente los cultivos de diversas especies de plantas en la agricultura debido a las condiciones climáticas que favorecen la infección dada por el hongo, el cual también puede ser usado para la producción de un vino distinto. (Ver Anexo 11)

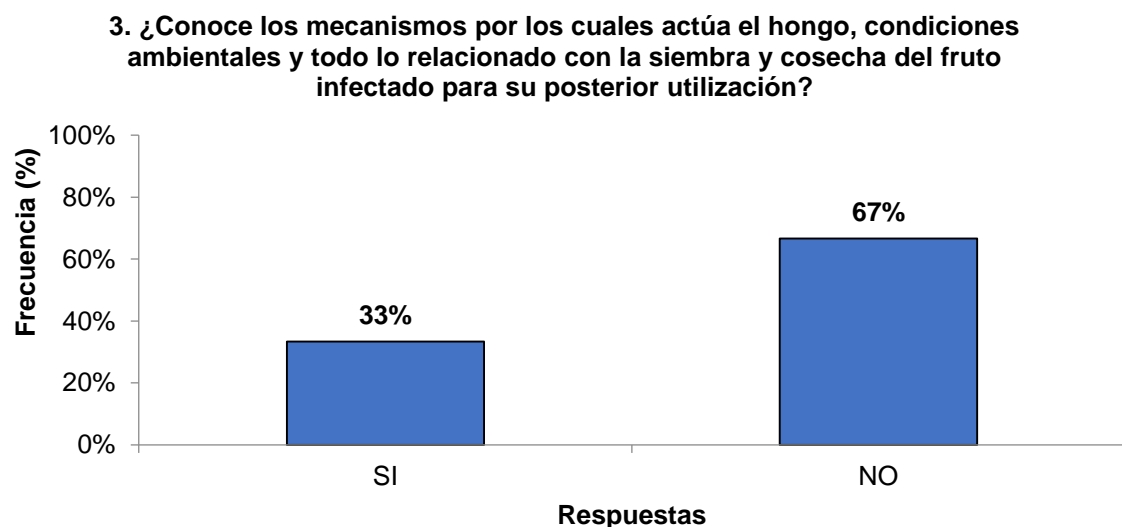
**Figura 23. Encuesta pregunta dos.**



**Fuente:** Los autores, 2018.

El 33 % de los encuestados conocían del vino (Figura 24), los mecanismos por los cuales actúa el hongo, condiciones ambientales y todo lo relacionado con la siembra y cosecha del fruto infectado para su posterior utilización en el proceso productivo (Ver Anexo 12). Se destaca que sólo el 33% de los encuestados conocían el proceso de producción del vino botritizado, lo cual resalta la importancia de este trabajo y es por esto que se realizó una cartilla que se pondrá a disposición de todos los interesados en este vino, en la cual se incluye el proceso de producción, las variedades de uvas usadas para su producción y las características de este tipo de vinos.

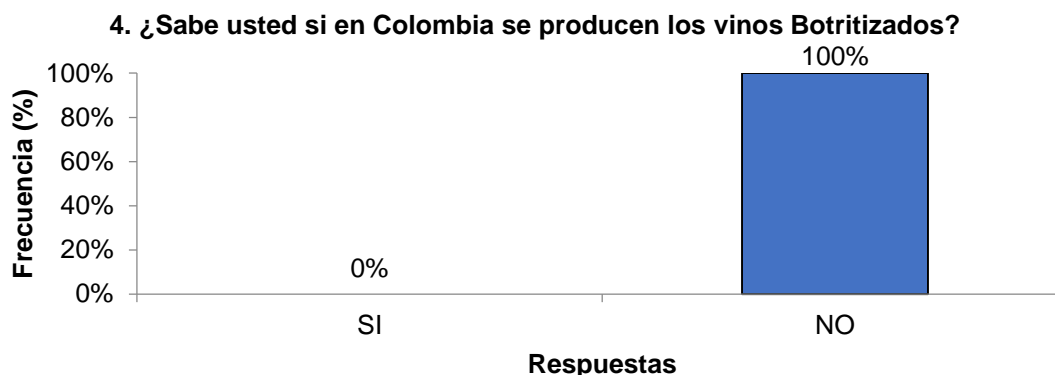
**Figura 24. Encuesta pregunta tres.**



**Fuente:** Los autores, 2018.

El 100% de encuestados (Figura 25) establecieron que en Colombia no se producen este tipo de vinos, pero fue evidente el interés en este tipo de productos para la industria nacional vinícola ya que son vinos finos con un alto costo, según los encuestados una botella de 375 mL cuesta unos \$200.000. (Ver Anexo 13).

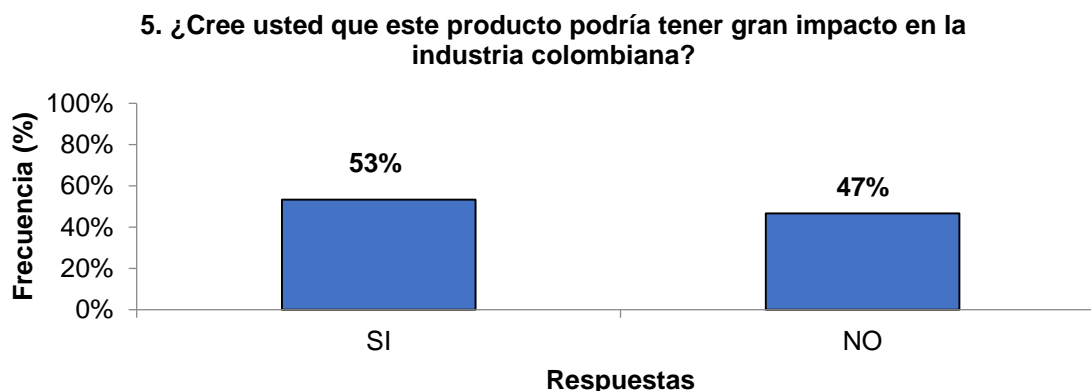
**Figura 25. Encuesta pregunta Cuatro.**



**Fuente:** Los autores, 2018.

El 53% del total de los entrevistados (Figura 26) considera que este producto tendría gran impacto en el nicho comercial colombiano ya que es un producto con características únicas que aporta beneficios a la salud lo cual sería atractivo para el consumidor y podría diversificar el mercado generando más ganancias a la industria vinícola que esté dispuesta a elaborarlos. (Ver Anexo 14)

**Figura 26. Encuesta pregunta Cinco.**

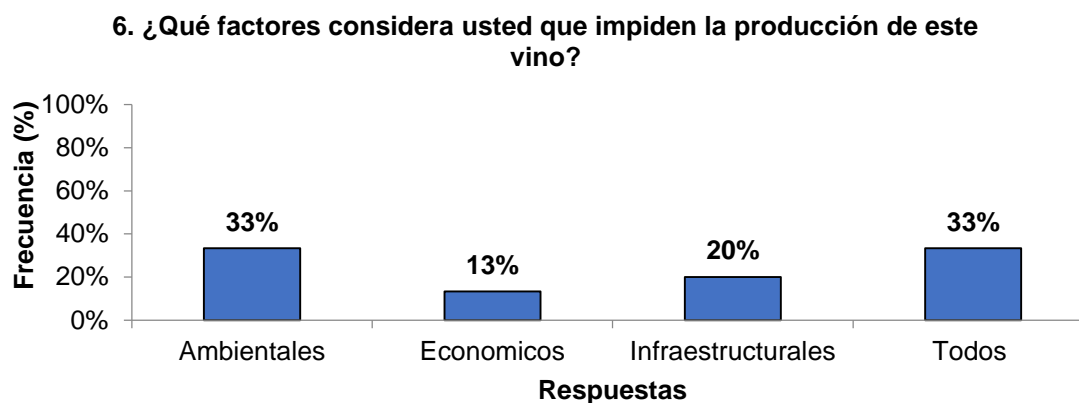


**Fuente:** Los autores, 2018.

Se establecieron los factores que han impedido la producción del vino botritizado en Colombia (Figura 27) dándole importancia en su orden a los factores ambientales (33%), factores infraestructurales (20%) factores económicos (13%) y todos los

factores mencionados (33%) como los causales de que la producción del mismo no haya podido aplicarse aún. Es muy importante reflejar que las condiciones ambientales son indispensables para la elaboración de este producto. (Ver Anexo 15)

**Figura 27. Encuesta pregunta seis.**



**Fuente:** Los autores, 2018.

La información suministrada por representantes de la industria nacional vinícola obtenida permite confirmar el conocimiento sobre este vino, el interés de producirlo en Colombia, además que pocos conocían las condiciones necesarias para producirlo, así como su proceso (33%), es por esto que con esta revisión documental se quiere brindar información necesaria que pueda ser utilizada por la industria vinícola colombiana para iniciar investigaciones con el fin de identificar cepas nativas de *B. cinerea*, así como adaptar en invernaderos las condiciones adecuadas para la producción de este tipo de vinos.

Para este se realizó una cartilla que contiene la información base o fundamental para entender el proceso que conlleva a la producción del vino botritizado esta incluye una descripción de: *Botrytis cinerea*, podredumbre noble, proceso de obtención del vino botritizado, proceso microbiológico y desarrollo en la uva, proceso bioquímico causado por el hongo en el fruto, beneficios del vino botritizado. **(Ver anexo 17)**

## 7. DISCUSIÓN

La revisión fue llevada a cabo en base a 96 fuentes bibliográficas, dentro de las cuales se incluyeron artículos, libros, tesis, páginas web y legislaciones (principalmente normas técnicas), que permitieron conocer el proceso de producción del vino botritizado que ha evolucionado con el paso de la historia desde los inicios del siglo XIII (2). Se pudo conocer las fases de producción, así como los procesos microbiológicos y bioquímicos que toman lugar tras la infección del fruto de la vid por parte de *B. cinerea*, un hongo considerado una plaga para distintos cultivos como la uva entre otros. En Europa y durante el año 2002 se dieron pérdidas de entre el 15-20% de la producción de rosas, esto significando un pérdida monetaria de hasta 1.3 millones de euros, por otro lado, reduciendo las ganancias por producción de uva hasta 52 millones/año en Australia, 22.4 millones/año y 25 millones/año en Sudáfrica (86), el desarrollo del moho gris puede llegar a ser devastador en condiciones favorables, como lo refleja Mario Cano en su estudio Estrategias biológicas para el manejo de enfermedades en el cultivo de fresa (*Fragaria* spp.) (87).

*B. cinerea* en condiciones específicas de temperatura y humedad puede llegar a ser beneficioso. Principalmente se le atribuye su rol fundamental en la elaboración de vinos botritizados ya que otorga propiedades únicas y exclusivas en este vino de igual forma se ha visto que genera beneficios en la salud humana debido a la gran cantidad de agentes antioxidantes que posee y pese a ser principalmente conocido como un patógeno en diferentes cultivos que genera grandes pérdidas (88) y poco deseado en la industria vinícola dándose una gran utilidad, siendo esta la única que tiene y que genera impacto positivo en la viticultura.

El vino botritizado ha causado una gran controversia debido al uso de un hongo patógeno para los cultivos por las micotoxinas que puede presentar, pero se ha demostrado que la principal micotoxina alimentaria (la ocratoxina-A 'OTA') que suele encontrarse en la producción de vino se ha encontrado en bajos niveles en el vino botritizado en el cual puede hallarse en una concentración de 0,02 mg/L (20), apoyando esto la inocuidad del vino para el consumidor, además, se ha descrito que

*B. cinerea* se encuentra relacionado como un alérgeno (95) y se relaciona indirectamente con enfermedades pulmonares (96) teniendo en cuenta que este se encuentra ampliamente distribuido en el ambiente, es sabido que solo llega a afectar a aquellas personas con algún problema de inmunodeficiencia u otras enfermedades de base que facilitan la colonización del hongo, motivos por los cuales la producción del vino no deja de ser interesante para ser aplicada en Colombia.

Se destaca en los estudios realizados algunas cepas de referencia del hongo, como por ejemplo las cepas T4 y B05.10 de las cuales se tiene secuenciado su genoma y se encuentran en GenBank, las cuales son descritas como un hongo filamentoso, cuyo micelio es hialino, septado y sus conidias son unicelulares, globosas, ovales o piriformes (en forma de pera) (52), se ha visto que para la identificación y diferenciación del hongo solo existen pruebas moleculares para la detección del gen *Bcsun1* (89), el cual codifica para un glicoproteína secretada por el hongo, además de la detección de inmunoglobulinas de tipo IgG contra el hongo usando para esto inmunoensayos. (4,14). Adicionalmente el Gold estándar para identificar el hongo es la visualización al microscopio con tinción de azul de lactofenol.

La revisión documental permitió determinar que los países que más publicaron fueron Italia y España (13,5%) seguido por Francia (12,5 %), EE. UU. (10,4%), Hungría (6,3%) los cuales son reconocidos por una producción vinícola alta, para el año 2017 se reportaron unos 39.3, 33.5, 36.7, 8.1 MHL (millones de hectolitros, respectivamente), finalmente Hungría con unos 2.9 MHL. (90)

En cuanto a los países latinoamericanos presentaron un porcentaje de publicaciones así: Chile (1,0%), Argentina (1,0%), Brasil (1,0%), Costa Rica (2.1%) y México (2.1%), siendo estos países los que producen gran parte de vino en Latinoamérica según un reporte del 2017 donde Chile registra 9.5 MHL, Argentina 11.8 MHL, Brasil 3.4 MHL (91), además se puede resaltar que Colombia tuvo un porcentaje de fuentes bibliográficas del 12,5 % las cuales corresponden en mayor proporción a normas

referentes a calidad de vinos cabe destacar que en Colombia se produce 0.1 MHL anualmente. (92)

De acuerdo los datos anteriores, es posible observar la diferencia que existe en cuanto a producción de vinos con los países europeos líderes (particularmente Francia, España e Italia), esto teniéndose en cuenta que la producción de vinos en Europa cuenta con un tiempo mayor de desarrollo y evolución respecto a los países latinoamericanos; por otro lado, el país de Argentina es quien lidera en producción, seguido este por Chile. Colombia por su parte, aunque con una producción menor, posee un alto potencial vinícola, debido a la producción actual de distintas variedades de uva y un interés creciente en el consumo de vinos dentro del país. (93)

El 67% de las fuentes consultadas son del periodo del 2007-2017. En estas se obtuvo en general, información acerca del proceso bioquímico que ocurre en la producción del vino botritizado, esto debido a que en este periodo ya se tenían procesos en equipos tecnológicos de alta eficiencia y técnicas cromatográficas como GC-MS (15,16,18) y HPLC (6,7,22), los cuales permitieron el reconocimiento, identificación y cuantificación de agentes antioxidantes presentes en estos vinos.

Los compuestos que confieren al vino botritizado sus cualidades son alcoholes, ésteres, aldehídos, cetonas, terpenos, lactonas, benzenoides, fenoles algunos derivados del furano y lactonas como  $\delta$ -lactonas y  $\gamma$ -lactonas que ayudan a la composición aromática del vino botritizado(9) al igual que tioles volátiles como el 3-sulfanilpentan-1-ol, 3-sulfanilheptan-1-ol y 2-metil-3-sulfanilbutan-1-ol que aportan aroma afrutado (12)(16), las características aromáticas de este vino incluyen cítricos, piel de naranja o pomelo, miel, caramelo, matices cristalizados de fruta, nuez y curry picante (33).

Del total de las 96 fuentes consultadas, el 37,5% fueron de importancia para comprender la tercera fase de análisis, es decir los beneficios tienen los vinos botritizados para la salud y adicionalmente por las características organolépticas del vino, esto debido al complejo proceso oxidativo y de deshidratación que sucede dentro de la uva tras la infección con *B. cinerea*, este vino concentra una gran



cantidad de agentes antioxidantes como estilbenos ( $\epsilon$ -viniferina y trans-pterostilbeno) y polifenólicos, los cuales presentan beneficios como la prevención de enfermedades coronarias y otros problemas crónicos (75).

Se ha descrito que la  $\epsilon$ -viniferina posee una actividad hepatoprotectora probada en hepatocitos de ratón, así como una potente actividad inhibitoria de la oxidación de LDL, mientras que trans-resveratrol mostró una potente actividad anti-proliferante y pro-apoptótica, evitándose así la aparición de cánceres y leucemias (69) (76). La principal función de estos agentes antioxidantes radica en proteger al cuerpo de los radicales libres que se encargan del envejecimiento y daño a las células del organismo primariamente eliminando especies reactivas de oxígeno (20), por otro lado, su aroma frutal se debe a la presencia de alcoholes sulfanílicos que le aportan notas olfativas cítricas, gusto dulce debido a la alta concentración de azúcares libres (12) y según otro estudio, el vino presentan además glicerol el cual potencia el gusto dulce (17), también además presenta un tacto suave y cremoso, lo cual se halla influenciado por el contenido de glicerol y por la alteración de la seripauperina-5 debido esto a la acción de la lacasa de *B. cinerea* (34) lo que hacen que este vino sea de gran interés popular.

Los procesos bioquímicos de gran relevancia durante la producción del vino ocurren en 2 fases, la fase oxidativa donde se obtienen todos los compuestos que se mencionaron anteriormente y la segunda fase siendo la fermentación alcohólica del mosto donde se obtiene el piruvato por medio de la glicólisis y por acción de la piruvato descarboxilasa se obtiene acetaldehído donde la alcohol deshidrogenasa facilita la conversión a etanol, la cual está dada por levaduras como *S. cerevisiae* la cual transforma la glucosa y fructosa libres del mosto en etanol, llegando esto hasta una graduación alcohólica de hasta un 13% v/v (66).

Se pudo observar que las fuentes bibliográficas revisadas de antes del 2007 las cuales son el 33% del total de fuentes, fueron útiles para lograr recopilar el proceso general para producir el vino, es decir desde la siembra de la planta, la cual se

caracteriza por ser rústica, siendo resistente y no requerir gran cantidad de nutrientes para su supervivencia y la necesidad suelos arcillosos, debidamente irrigados y con un pH de entre 6,5-7,2, además de un ambiente soleado lo más adecuado para que la planta se desarrolle óptimamente (41). Un punto crítico en los que se encontró es que aquellas variedades de uvas usadas para la producción de vino botritizados, tales como Semillón, Sauvignon blanc, Furmint y Muscadelle (20) en todos sus frutos poseen una epidermis gruesa, razón que causa que sean más resistentes a la infección por *B. cinerea* y evitándose así que se desarrolle la indeseada podredumbre gris (2).

Cabe resaltar que se encontró que en Colombia existen investigaciones del tema como lo muestran las referencias (en su mayoría legislaciones y normativas) y debido a la encuesta realizada en Expovinos 2017 se halló que el país cuenta con una industria vinícola y permitió tener la opinión de expertos en vinos, la cual ayudó a establecer que aunque en Colombia no sea tan común el consumo de vino (como en los países europeos), el país cuenta con zonas con condiciones climáticas adecuadas para producirlo. La producción de este vino en Colombia se recomienda bajo condiciones controladas en invernadero, además, la encuesta permitió determinar que se tiene conocimiento en el país de este tipo de vinos principalmente del Sauternes, el cual es producido en la región de Burdeos de Francia.

La encuesta permitió establecer que sólo el 33% de los encuestados conoce el proceso de producción del vino por esto se resalta la revisión realizada pueda ser útil para la elaboración del vino botritizado y de esta forma cultivarse más variedades de uvas o implementarse las que ya se encuentran en el país, que permita la investigación y aislamiento de cepas nativas del hongo, haciendo uso de invernaderos bajo condiciones controladas para la producción. Dejando como aporte de este trabajo una cartilla donde se incluyen las diferentes fases investigadas junto a la bibliografía utilizada.

Resaltar

## 8. CONCLUSIONES

- La revisión documental permitió conocer el proceso de producción del vino botritizado, su proceso microbiológico, el proceso bioquímico, las condiciones climáticas que requiere *B. cinerea* para desarrollar la podredumbre noble en la uva, así como los beneficios que este tipo de vino brinda a la salud, siendo un proceso que podría aplicarse en Colombia, debido a la variabilidad climática que presenta el país y al interés de la industria vinícola nacional.
- Las condiciones necesarias para el desarrollo de la podredumbre noble (hongo) sobre el fruto de la uva, son una humedad relativa mayor a 90% y una temperatura de 22°C durante 1 o 2 días. Se resalta la importancia de contar con cepas nativas de *B. cinerea* con buena producción de lacasa. Es importante recalcar el uso de variedades de uva que sean resistentes a la infección por el hongo, pues esto es vital para evitar que se produzca la podredumbre gris.
- La fase oxidativa, en la cual la enzima lacasa producida por *B. cinerea* oxida las fitoalexinas (estilbenos y polifenoles) que produce la uva en defensa al ataque del hongo en otros compuestos, como la  $\epsilon$ -viniferina con poder antioxidante, por otro lado, la fase fermentativa en la cual levaduras como *S. cerevisiae* fermentan los azúcares libres del mosto en etanol. También se presenta la fermentación maloláctica dada por bacterias como *Leuconostoc. spp*, las cuales convierten el ácido málico en ácido láctico el cual suaviza el efecto empalagoso del vino, mientras disminuyen la astringencia de este.
- El vino botritizado es un producto con un alto contenido de antioxidantes y es útil para prevenir la aparición de enfermedades como el cáncer y enfermedades cardiovasculares. En el país se tiene conocimiento e interés en estos vinos, además, la producción de vinos botritizados en Colombia es posible al invertir en invernaderos que brinden las condiciones climáticas adecuadas para el desarrollo de la podredumbre noble, esto teniendo en cuenta que el país cuenta con sitios donde puede cultivarse la uva y cuenta con algunas variedades de uva que se usan para la producción de estos vinos.

## RECOMENDACIONES

1. Realizar investigación para el aislamiento de cepas nativas de *B. cinerea* y su caracterización microscópica y genética.
2. Realizar trabajos prácticos donde se emplee el proceso de producción de los vinos botritizados en el país.
3. Implementar en los viñedos variedades de uvas resistentes al ataque de *B. cinerea* como Chardonnay

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tokaji. Types of Tokaji [Internet]. 2010. 2012 [citado el 1 de septiembre de 2017]. p. 1. Disponible en: <https://www.tokaji.com/about-tokaji/types-of-tokaji.html>
2. Nelson KE, Amerine MA. The use of *B. cinerea* Pers. in the production of sweet table wines. Hilgardia. 1957. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 26(12):521–63. Disponible en: <http://hilgardia.ucanr.edu/Abstract/?a=hilg.v26n12p521>
3. Sotomayor Soler JP. Efecto de diferentes grados de ataque de Botrytis en frutos de vid cv. Sauvignonasse sobre las características del vino [Libro]. Vol. 42, Agricultura técnica. 1982.
4. Ricker R, Marois DJ., *et.al.* Immunodetection and quantification of *Botrytis cinerea* on Harvested Wine Grapes. Phytopatology. 1991. 81:404-411. Disponible en: [https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1991Articles/Phyto81n04\\_404.PDF](https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1991Articles/Phyto81n04_404.PDF)
5. Fanizza G, Bisignano V.,*et.al.* Effects of polysaccharides from Botryotinia fuckeliana (*Botrytis cinerea*) on in vitro culture of table and wine grapes (*Vitis vinifera*). Vitis -Geilweilerhof. 1995. 34(1): 41-44. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/233734020\\_Effects\\_of\\_polysaccharides\\_from\\_Botryotinia\\_fuckeliana\\_Botrytis\\_cinerea\\_on\\_in\\_vitro\\_culture\\_of\\_table\\_and\\_wine\\_grapes\\_Vitis\\_vinifera](https://www.researchgate.net/publication/233734020_Effects_of_polysaccharides_from_Botryotinia_fuckeliana_Botrytis_cinerea_on_in_vitro_culture_of_table_and_wine_grapes_Vitis_vinifera)
6. Bavaresco L, Petegolli DI., *et.al.* Elicitation and accumulation of stilbene phytoalexins in grapevine berries infected by *Botrytis cinerea*. Vitis. 1996. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 36(2): 77-83. Disponible en: [https://www.researchgate.net/profile/Luigi\\_Bavaresco/publication/279550972\\_Elicitation\\_and\\_accumulation\\_of\\_stilbene\\_phytoalexins\\_in\\_grapevine\\_berries\\_infected\\_by\\_Botrytis\\_cinerea/links/59f6ce16aca272607e2bd976/Elicitation-and-accumulation-of-stilbene-phytoalexins-in-grapevine-berries-infected-by-Botrytis-cinerea.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Luigi_Bavaresco/publication/279550972_Elicitation_and_accumulation_of_stilbene_phytoalexins_in_grapevine_berries_infected_by_Botrytis_cinerea/links/59f6ce16aca272607e2bd976/Elicitation-and-accumulation-of-stilbene-phytoalexins-in-grapevine-berries-infected-by-Botrytis-cinerea.pdf)
7. Hajos G, Sass-kiss A, Szerdahelyi E, Bardocz S. Changes in Biogenic Amine Content of Tokaj Grapes, Wines, and Aszu-wines. J Food Sci. 2000. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 65(7):1142–4. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2621.2000.tb10254.x>
8. Murányi Z, Kovács ZS. Statistical evaluation of aroma and metal contents of Tokay wines. Microchemical Journal. 2000. [citado el 15 de noviembre de 2017] .67:91-96. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0026-265X\(00\)00103-X](https://doi.org/10.1016/S0026-265X(00)00103-X)
9. Kerényi Z., Miklósy E. Comparison of the volatile aroma components in noble rotted grape berries from two different locations of the Tokaj wine district in Hungary. Anal Chim Acta. 2004. [citado el 15 de noviembre de 2017]. 513(1):177–81. Disponible: [https://www.researchgate.net/publication/256653755\\_Comparison\\_of\\_the\\_volatile\\_aroma\\_components\\_in\\_noble\\_rotted\\_grape\\_berries\\_from\\_two\\_different\\_locations\\_of\\_the\\_Tokaj\\_wine\\_district\\_in\\_Hungary](https://www.researchgate.net/publication/256653755_Comparison_of_the_volatile_aroma_components_in_noble_rotted_grape_berries_from_two_different_locations_of_the_Tokaj_wine_district_in_Hungary)
10. Nikfardjam M, Laszlo G, Dietrich H. Resveratrol-derivatives and antioxidative capacity in wines made from grapes. Food Chem. 2006. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 96(1):74–9. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814605001597>
11. Tominaga T, Niclass T, Frérot E, Dubourdiou D. Stereoisomeric Distribution of 3-Mercaptohexan-1-ol and 3-Mercaptohexyl Acetate in Dry and Sweet White Wines Made from *Vitis vinifera* (Var.

- Sauvignon Blanc and Semillon). *J Agric Food Chem.* 2006. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 54(19):7251-5. Disponible: DOI:10.1021/jf061566v
12. Sarrazin E, Shinkaruk S, Tominaga T, Bennetau B, Frérot E, Dubourdiou D. Odorous Impact of Volatile Thiols on the Aroma of Young Botrytized Sweet Wines: Identification and Quantification of New Sulfanyl Alcohols. *J Agric Food Chem.* 2007. [citado el 1 de septiembre de 2017]. Disponible: DOI:10.1021/jf062582v
13. Lavigne V, Pons A, Darriet P, Dubourdiou D. Changes in the sotolon content of dry white wines during barrel and bottle aging. *J Agric Food Chem.* 2008. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 56(8):2688–93. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18373351>
14. Dewey FM, Hill M, DeScenzo R. Quantification of Botrytis and Laccase in Winegrapes. *Am J Enol Vitic.* 2008. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 59(1):47–54. Disponible en: <http://www.ajevonline.org/content/59/1/47.abstract>
15. Fedrizzi B, Tosi E,. *et.al.* Changes in Wine Aroma Composition According to Botrytized Berry Percentage: A Preliminary Study on Amarone Wine. *Food Technol. Biotechnol.* 2011. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 49(4):529–535. Disponible en: <http://www.ftb.com.hr/index.php/archives/57-volume-49-issue-no-4/102>
16. Thibon C, Shinkaruk S, Jourdes M, Bennetau B, Dubourdiou D, Tominaga T. Aromatic potential of botrytized white wine grapes: Identification and quantification of new cysteine-S-conjugate flavor precursors. *Anal Chim Acta.* 2010. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 660(1–2):190–6. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003267009013956>
17. Vivas N, Vitry C,. *et.al.* Occurrence and specificity of glucose oxidase (E.C: 1.1.3.4) in botrytized sweet white wine. Comparison with laccase (E.C: 1.10.3.2), considered as the main responsible factor for oxidation in this type of wine. *Vitis.* 2010. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 49(3):113-120. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/286573605\\_Occurrence\\_and\\_specificity\\_of\\_glucose\\_oxidase\\_EC\\_1134\\_in\\_botrytized\\_sweet\\_white\\_wine\\_Comparison\\_with\\_laccase\\_EC\\_11032\\_considered\\_as\\_the\\_main\\_responsible\\_factor\\_for\\_oxidation\\_in\\_this\\_type\\_of\\_wine](https://www.researchgate.net/publication/286573605_Occurrence_and_specificity_of_glucose_oxidase_EC_1134_in_botrytized_sweet_white_wine_Comparison_with_laccase_EC_11032_considered_as_the_main_responsible_factor_for_oxidation_in_this_type_of_wine)
18. Fedrizzi B, Zapparoli G,. *et.al.* Model Aging and Oxidation Effects on Varietal, Fermentative, and Sulfur Compounds in a Dry Botrytized Red Wine. *J Agric Food Chem.* 2011. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 59(5):1804–13. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1021/jf104160m>
19. Becker T, Walter R, Kortekamp A. Das Platzen von Weinbeeren (*Vitis vinifera*) bei Befall mit Grauschimmel (*Botrytis cinerea*). *Erwerbs-Obstbau.* 2011. [citado el 15 de noviembre de 2017]. 53: 85. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s10341-011-0136-5>
20. Magyar I. Botrytized wines. Vol. 63, *Advances in Food and Nutrition Research.* 2011. 147-206 p.
21. Togoeres JH. tratado de enología I. Segunda ed. Mundi-Prensa; 2011. 1823 p. (Tratado de enología). Disponible en: <https://books.google.com.co/books?id=CxtfAwwAAQBAJ>
22. Timperio AM, D'Alessandro A, Fagioni M, Magro P, Zolla L. Production of the phytoalexins trans-resveratrol and delta-viniferin in two economy-relevant grape cultivars upon infection with *Botrytis cinerea* in field conditions. *Plant Physiol Biochem.* 2012. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 50:65–71. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0981942811002117>
23. Tosi E, Fedrizzi B, Azzolini M, Finato F, Simonato B, Zapparoli G. Effects of noble rot on must composition and aroma profile of Amarone wine produced by the traditional grape withering protocol.

Food Chem. 2012. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 130(2):370–5. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814611010144>

24. Azzolini M, Tosi E, Faccio S, Lorenzini M, Torriani S, Zapparoli G. Selection of *Botrytis cinerea* and *Saccharomyces cerevisiae* strains for the improvement and valorization of Italian passito style wines. *fems Yeast Res.* 2013. [citado el 1 de septiembre de 2017].13(6):540–52. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23710966>

25. Lorenzini M, Azzolini M, Tosi E, Zapparoli G. Postharvest grape infection of *Botrytis cinerea* and its interactions with other moulds under withering conditions to produce noble-rotten grapes. *J Appl Microbiol.* 2013. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 114(3):762–70. Disponible en: DOI:10.1111/jam.12075

26. Barbara B, Allen GE. Draft Genome Sequence of *Botrytis cinerea* BcDW1, Inoculum for Noble Rot of Grape Berries. *Genome Announc.* 2013. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 1(3): e00252-13. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3662820/pdf/e00252-13.pdf>

27. Fournier E, Gladioux P, Giraud T. The “Dr Jekyll and Mr Hyde fungus”: noble rot versus gray mold symptoms of *Botrytis cinerea* on grapes. *Evol Appl.* 2013. [citado el 1 de septiembre de 2017] . 6(6):960–9. Disponible en: DOI:10.1111/eva.12079

28. Carbajal-Ida D, Maury C, Salas E, Siret R, Mehinagic E. Physico-chemical properties of botrytised Chenin blanc grapes to assess the extent of noble rot. *Eur Food Res Technol.* 2016. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 242(1):117–26. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00217-015-2523-x>

29. Lorenzini M, Million R, Franchin C, Zapparoli G, Arrigoni G, Simonato B. Identification of potential protein markers of noble rot infected grapes. *Food Chem.* 2015. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 179:170–4. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814615001272>

30. Ciliberti N, Fermaud M, Roudet J, Rossi V. Environmental Conditions Affect *Botrytis cinerea* Infection of Mature Grape Berries More Than the Strain or Transposon Genotype. *Phytopathology.* 2015. [citado el 15 de noviembre de 2017]. 105(8):1090–6. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26218433>

31. Tao Y, Liu J, Lan Y, Chen C, Li A. Instrumental and sensory aroma analysis of noble-rot wine from artificial botrytized grapes. *Chinese Soc Agric Mach.* 2016. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 47(2):270–9. Disponible en: [http://www.j-csam.org/jcsam/ch/common\\_item.aspx?parent\\_id=20101122113818001&menu\\_id=20160321033937953&three\\_menu\\_id=20160405085932374&flag=1&is\\_three\\_menu=1](http://www.j-csam.org/jcsam/ch/common_item.aspx?parent_id=20101122113818001&menu_id=20160321033937953&three_menu_id=20160405085932374&flag=1&is_three_menu=1)

32. Tamatopoulos P, Brohan E, Prevost C, Siebert TE, Herderich M, Darriet P. Influence of Chirality of Lactones on the Perception of Some Typical Fruity Notes through Perceptual Interaction Phenomena in Bordeaux Dessert Wines. *J Agric Food Chem.* 2016. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 64(43):8160–7. Disponible en: DOI: 10.1021/acs.jafc.6b03117

33. Wang X-J, Tao Y-S, Wu Y, An R-Y, Yue Z-Y. Aroma compounds and characteristics of noble-rot wines of Chardonnay grapes artificially botrytized in the vineyard. *Food Chem.* 2017. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 226:41–50. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28254017>

34. Kupfer VM, Vogt EI, Ziegler T, Vogel RF, Niessen L. Comparative protein profile analysis of wines made from *Botrytis cinerea* infected and healthy grapes reveals a novel biomarker for gushing in sparkling wine. *Food Res Int.* 2017. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 99(1):501–9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28784511>

35. Negri S, Lovato A, Boscaini F, Salvetti E, Torriani S, Commisso M, *et. al.* The Induction of Noble Rot (*Botrytis cinerea*) Infection during Postharvest Withering Changes the Metabolome of Grapevine Berries (*Vitis vinifera* L., cv. Garganega). *Front Plant Sci.* 2017. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 8:1002. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28680428>
36. Hill G, Henshall W, Beresford M. Manipulating rainfall to study symptom expression of *Botrytis cinerea* infection in wine grapes. *New Zealand Plant Protection.* 2017. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 70, 301-309. Disponible en: <https://journal.nzpps.org/index.php/nzpp/article/view/64>
37. Wurz DA, Pereira de Bem B, *et.al.* Timing of leaf removal modifies chemical and phenolic composition of Sauvignon Blanc wine. *40th World Congr Vine Wine.* 2017. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 9(7):4. Diponible en: <https://doi.org/10.1051/bioconf/20170902027>
38. Morales A. Tesis Doctoral recuperación, caracterización y conservación de variedades de vid ( *vitis vinifera* l.) minoritarias de Castilla-La Mancha. Universidad de Castilla-La Mancha; 2013. Disponible en: <https://ruidera.uclm.es/xmlui/handle/10578/3347>
39. Narro AA. Evaluación de la producción y calidad de la uva en diferentes clones de la variedad shiraz (*vitis vinifera* L.). [Internet]. Universidad Autónoma Agraria Antonio Navarro; 2009. Disponible en: [http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/7987/emanuel\\_arce\\_muñoz.pdf?sequence=1](http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/7987/emanuel_arce_muñoz.pdf?sequence=1)
40. López J. Importancia de la uva de mesa apirena con estudio de viabilidad para una plantación en totana. Universitat Politècnica de Valencia; 2015. Disponible en: <https://riunet.upv.es/handle/10251/54202>
41. Trujillo, Roberto; Mudarra I. Buenas Prácticas en Producción Ecológica Cultivo de la Vid [Internet]. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. 2008. 36 p. Disponible en: [http://www.mapama.gob.es/es/ministerio/servicios/publicaciones/Cultivo\\_de\\_la\\_Vid\\_tcm7-187417.pdf](http://www.mapama.gob.es/es/ministerio/servicios/publicaciones/Cultivo_de_la_Vid_tcm7-187417.pdf)
42. Almanza P. Determinación del crecimiento y desarrollo del fruto de vid (*Vitis vinifera* L.) bajo condiciones de clima frío tropical. Escuela de Posgrados. Universidad Nacional de Colombia; 2011.
43. Garcia-Gutierrez JRL. Morfología de la vid. *Viticultura G de investigación en*, editor. Upm. Madrid: Universidad Politécnica de Madrid; 2012. 1-13 p.
44. Mijares MI, Illobre JAS. El vino: De la cepa a la copa [Internet]. Mundi-Prensa; 2007. 208 p. Disponible en: <https://books.google.com.co/books?id=Oq-nysmbsD0C>
45. Gallego JG. Maridaje, enología y cata de vinos [Internet]. Innovación y Cualificación, S.L.; 2008. 410 p. (Certificado de profesionalidad). Disponible en: <https://books.google.com.co/books?id=x1pVoCIFrEYC>
46. Barber V. Tipos de uva usadas en vinos blancos [Internet]. 2010. 2010 [citado el 29 de octubre de 2016]. p. 3. Disponible en: <http://www.vitivinicultura.net/seccion/tipos-uvras-de-vino-blancas>
47. Blouin J. Maduración y madurez de la uva [Internet]. Mundi-Prensa Libros; 2012. 151 p. Disponible en: <https://books.google.com.co/books?id=tbioMRil5h4C>
48. Fundamentosdeenologia. La maduración de la uva y la vendimia [Internet]. 20-2-2013. 2013 [citado el 1 de noviembre de 2016]. p. 1. Disponible en: <https://fundamentosdeenologia.wordpress.com/2013/02/20/la-maduracion-de-la-uva-y-la-vendimia/>



49. Ortiz FG, Muela MG. El vino y su servicio [Internet]. Madrid: Ediciones Paraninfo. S.A.; 2009. 352 p. Disponible en: <https://books.google.com.co/books?id=uttXxQg3828C>
50. Shtienberg D, Elad Y. Incorporation of Weather Forecasting in Integrated, Biological-Chemical Management of *Botrytis cinerea*. *Phytopathology*. 1997. [citado el 1 de noviembre de 2016]. 87(3):332–40. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18945177>
51. Coley-Smith JR, Jarvis WR, Verhoeff K. The Biology of Botrytis. University C. Academic Press; 1980. 318 p. Disponible en: <https://books.google.com.co/books?id=ae1jaaaayaaj>
52. Leroch M, Plesken C, Weber RWS, Kauff F, Scalliet G, Hahn M. Gray mold populations in german strawberry fields are resistant to multiple fungicides and dominated by a novel clade closely related to *Botrytis cinerea*. *Appl Environ Microbiol*. 2013. [citado el 1 de noviembre de 2016]. 79(1):159–67. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23087030>
53. Poveda Parra DC (Pontificia UJFDC. Selección de extractos fúngicos extracelulares (efe) con potencial para el control de *Botrytis cinerea* en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) [Internet]. Pontificia Universidad Javeriana; 2006. Disponible en: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis270.pdf>
54. Elad Y, Shtienberg D. *Botrytis cinerea* in greenhouse vegetables: chemical, cultural, physiological and biological controls and their integration. *Integr Pest Manag Rev*. 1995. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 1:15–29. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/227054549\\_Botrytis\\_cinerea\\_in\\_greenhouse\\_vegetables\\_chemical\\_cultural\\_physiological\\_and\\_biological\\_controls\\_and\\_their\\_integration](https://www.researchgate.net/publication/227054549_Botrytis_cinerea_in_greenhouse_vegetables_chemical_cultural_physiological_and_biological_controls_and_their_integration)
55. Gessler C, Jermini H. Role of flower infections of grape by *Botrytis cinerea* and consequences for the spraying schedule. *Quaderni della Scuola di Specializzazione in Viticoltura ed Enologia*; 1985. [citado el 1 de septiembre de 2017] :253. Disponible en: <https://eurekamag.com/research/001/452/001452844.php>
56. Zitter SM. The Biology and Control of Botrytis Bunch Rot (*Botrytis cinerea*) in Grapevines: Ontogenic, Physical, and Cultural Factors Affecting Initiation and Spread of the Disease. 2005. 404 p. Disponible en: <https://books.google.com.co/books?id=Y-rghaaacaaj>
57. Alchimiaweb. Microfotografía de *Botrytis cinerea* [Internet]. 2001. 2017 [citado el 12 de octubre de 2016]. p. 1. Disponible en: <https://www.alchimiaweb.com/blog/wp-content/uploads/2012/10/Botrytis-Cinerea.jpg>
58. Tronsmo A, Raa J. Life Cycle of the Dry Eye Rot Pathogen *Botrytis cinerea* Pers. on Apple. *J Phytopathol*. 1977. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 89(3):203–7. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1439-0434.1977.tb02859.x>
59. Prins TW, Wagemakers L, Schouten A, van Kan JA. Cloning and characterization of a glutathione S-transferase homologue from the plant pathogenic fungus *Botrytis cinerea* double dagger. *Mol Plant Pathol*. 2000. 1(3):169–78. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20572963>
60. Schumacher J. How light affects the life of Botrytis. *Fungal Genet Biol*. 2017. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 106(3):26–41. Disponible en: doi: 10.1016/j.fgb.2017.06.002
61. Monteros MCE de los. Estudio de la variabilidad genética y organización cromosómica en el hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea* [Internet]. Universidad de Cádiz; 2006. Disponible en: <papers3://publication/uuid/68E62FC1-B82D-4ABD-858A-8B1EFF27CAB6>

62. Jackson RS. Botrytis. En: Encyclopedia of Food Microbiology. Elsevier; 2014. p. 288–96.
63. Salvalaggio ML. Análisis de las tendencias de ventas vitivinícolas de la década 2002-2012 de Mendoza [Internet]. Universidad Nacional de Cuyo; 2013. Disponible en: [http://bdigital.uncu.edu.ar/objetos\\_digitales/5723/tesis-cs-ec-salvalaggio.pdf](http://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/5723/tesis-cs-ec-salvalaggio.pdf)
64. Blanco-Ulate B, Amrine KC, Collins TS, Rivero RM, Vicente AR, Morales-Cruz A, *et al.* Developmental and metabolic plasticity of white-skinned grape berries in response to *Botrytis cinerea* during noble rot. Plant Physiol. 2015. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 00852.2015. Disponible en: <http://www.plantphysiol.org/lookup/doi/10.1104/pp.15.00852>
65. Lopez A, Rauhut DE. Effects of Bunch Rot (*Botrytis cinerea*) and Powdery Mildew (Erysiphe necator) Fungal Diseases on Wine Aroma. Frontiers in Plant Science. 2017. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 5: 20. Disponible en: doi:10.3389/fchem.2017.00020
66. Nisiotou AA, Nychas G-JE. Yeast populations residing on healthy or botrytis-infected grapes from a vineyard in Attica, Greece. Appl Environ Microbiol. 2007. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 73(8):2765–8. Disponible en: DOI:10.1128/AEM.01864-06
67. Lopez A, Rauhut D, Ruehl E, Buettner A. Quantification of the Changes in Potent Wine Odorants as Induced by Bunch Rot (*Botrytis cinerea*) and Powdery Mildew (Erysiphe necator). Front Chem. 2017. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 5:57. Disponible en: doi:10.3389/fchem.2017.00057
68. Hernández, Alicia; Alfaro, Ileana; Arrieta R. Microbiología Industrial [Internet]. EUNED, editor. Euned; 2003. 270 p. Disponible en: <https://books.google.com.co/books?id=KFq4oEQQjdEC>
69. Caruso F, Mendoza L, Castro P, Cotoras M, Aguirre M, Matsuhira B., *et al.* Antifungal activity of resveratrol against *Botrytis cinerea* is improved using 2-furyl derivatives. PLoS One. 2011. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 6(10): e25421. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22022392>
70. Thurston C. The structure and function of fungal laccases. Microbiology. 1994. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 16–7. Disponible en: <http://www.microbiologyresearch.org/docserver/fulltext/micro/140/1/mic-140-1-19.pdf?expires=1504255178&id=id&accname=guest&checksum=1b062b3b41236d09202364b13d1c52e1>
71. Gil-ad NL, Bar-Nun N, Noy T, Mayer AM. Enzymes of *Botrytis cinerea* capable of breaking down hydrogen peroxide. FEMS Microbiol Lett. 2000. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 190(1):121–6. Disponible en: <https://academic.oup.com/femsle/article-lookup/doi/10.1111/j.1574-6968.2000.tb09273.x>
72. Viterbo A, Staples RC, Yagen B, Mayer AM. Selective mode of action of cucurbitacin in the inhibition of laccase formation in *Botrytis cinerea*. Phytochemistry. 1994. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 35(5):1137–42. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031942200948106>
73. Thibon C, Dubourdieu D, Darriet P, Tominaga T. Impact of noble rot on the aroma precursor of 3-sulfanylhexanol content in Vitis vinifera L. cv Sauvignon blanc and Semillon grape juice. Food Chem. 2009. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 114(4):1359–64. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814608013551>
74. Thibon C, Cluzet S, Méillon JM, Darriet P, Dubourdieu D. 3-Sulfanylhexanol Precursor Biogenesis in Grapevine Cells: The Stimulating Effect of *Botrytis cinerea*. J Agric Food Chem. 2011. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 59(4):1344–51. Disponible en: doi: 10.1021/jf103915y

75. Landrault N, Larronde F, Delaunay JC, Castagnino C, Vercauteren J, Merillon JM, *et al.* Levels of stilbene oligomers and astilbin in French varietal wines and in grapes during noble rot development. *J Agric Food Chem.* 2002. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 50(7):2046–52. Disponible en: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf010794g>
76. Zghonda N, Yoshida S, Araki M, Kusunoki M, Mliki A, Ghorbel A, *et al.* Greater Effectiveness of  $\epsilon$ -Viniferin in Red Wine Than Its Monomer Resveratrol for Inhibiting Vascular Smooth Muscle Cell Proliferation and Migration. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2011. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 75(7):1259–67. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1271/bbb.110022>
77. Claus H, Sabel A. Wine phenols and laccase: An ambivalent relationship. Institute of Microbiology and Wine Research. 2014. [citado el 1 de septiembre de 2017]. pp.155-185. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/297363559\\_Wine\\_phenols\\_and\\_laccase\\_An\\_ambivalent\\_relationship](https://www.researchgate.net/publication/297363559_Wine_phenols_and_laccase_An_ambivalent_relationship)
78. Riebel M, Sabel A, Claus HE. Antioxidant capacity of phenolic compounds on human cell lines as affected by grape-tyrosinase and Botrytis-laccase oxidation. *Food Chem.* 2017. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 229:779–89. Disponible en: doi: 10.1016/j.foodchem.2017.03.003
79. INVIMA. Decreto 1686 de 2012. 2012. [citado el 1 de septiembre de 2017]. 1-40. Disponible en: <https://www.invima.gov.co/decretos-alimentos/decreto-no-1686-9-ago-de-2012-pdf/download.html>
80. ICONTEC. NTC 293. Bebidas alcohólicas y vino: Definiciones y clasificación. 2010. [citado el 1 de septiembre de 2017]. p. 3. Disponible en: <https://tienda.icontec.org/wp-content/uploads/pdfs/NTC293.pdf>
81. ICONTEC. NTC 708. Bebidas alcohólicas - vinos de frutas. 2000. [citado el 1 de septiembre de 2017]. p. 3. Disponible en: <https://tienda.icontec.org/wp-content/uploads/pdfs/NTC708.pdf>
82. ICONTEC. NTC 223. Bebidas alcohólicas - vinos. Prácticas permitidas en la elaboración. 2004. [citado el 1 de septiembre de 2017]. p. 4. Disponible en: <https://tienda.icontec.org/wp-content/uploads/pdfs/NTC223.pdf>
83. ICONTEC. NTC 2980. Bebidas alcohólicas - mostos para la elaboración de vinos. 1997. [citado el 1 de septiembre de 2017]. p. 3. <https://tienda.icontec.org/wp-content/uploads/pdfs/NTC2980.pdf>
84. ICONTEC. NTC 1244. Bebidas alcohólicas - vino de mesa. 2001. [citado el 1 de septiembre de 2017]. p. 3. Disponible en: <https://tienda.icontec.org/wp-content/uploads/pdfs/NTC1244.pdf>
85. Gilchris L, Fuentes C, Martínez R, López E, Duvellier P, Singh M, *et al.* Guía práctica para la identificación de algunas enfermedades de trigo y cebada. 2005. [citado el 1 de septiembre de 2017] 75p. Disponible en: <http://repository.cimmyt.org/xmlui/bitstream/handle/10883/1272/94221.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
86. Dean R, Van Kan JAL, Pretorius Z, Hammond-Kosack K, Pietro A, Spanu P., *et al.* The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Mol Plant Path.* 2012. [citado el 29 de abril de 2018]. 13(4): 414–430. Disponible en: DOI: 10.1111/J.1364-3703.2011.00783.X
87. Cano M. Estrategias biológicas para el manejo de enfermedades en el cultivo de fresa (*Fragaria spp.*). *Rev Col Cienc Hortic.* 2013. [citado el 29 de abril de 2018]. 7(7): 1-14. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2011-21732013000200011](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2011-21732013000200011)

88. Chaves N, Wang A. COMBATE DEL MOHO GRIS (*Botrytis cinerea*) DE LA FRESA MEDIANTE *Gliocladium roseum*. Agron Costarr. 2004. [citado el 29 de abril de 2018]. 28(2): 73-85. Disponible en: <http://www.redalyc.org/html/436/43628207/>
89. Pérez A, González M, González C, Van Kan J, Brito N. BcSUN1, a B. cinerea SUN-Family Protein, Is Involved in Virulence. Front. Microbiol. 2017. [citado el 29 de abril de 2018]. 8(1): 1-35. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00035>
90. The Statistics Portal [Página principal en Internet]. EE. UU: Statista Inc; 2015 [actualizada en enero de 2018; acceso 26 de abril de 2018]. <https://www.statista.com/statistics/445651/leading-countries-wine-production-europe/>
91. La organización internacional de la viña y el vino [Página principal en Internet]. Organización Intergubernamental, Francia: OIV; 2001 [actualizada en abril de 2018; acceso 26 de abril de 2018]. <http://www.oiv.int/public/medias/5681/en-communicu-depresse-octobre-2017.pdf>
92. Delgado P, Negocio de vino mueve 10 millones de litros anuales. La república. 2013; Sec: Empresas, col 1. [actualizada en abril de 2018; acceso 26 de abril de 2018]. <https://www.larepublica.co/empresas/negocio-de-vino-mueve-10-millones-de-litros-anuales-2077401>
93. Guevara L, El consumo de vino en Colombia se ha duplicado y llegó a una botella al año. La república. 2017; Sec: Comercio, col 1. [actualizada en abril de 2018; acceso 26 de abril de 2018] <https://www.larepublica.co/empresas/el-consumo-de-vino-en-colombia-se-ha-duplicado-y-llego-a-una-botella-al-ano-2523613>
94. Kántor A, Kačániová M, Pachlová V. Biogenic amines content in different wine samples. JMBF. 2015. [citado el 29 de abril de 2018]. 4(1): 37-40. Disponible en: DOI: 10.15414/jmbfs.2015.4.special1.37-40
95. Gawlik R, Czecior E. Mold Sensitization in Chronic Rhinosinusitis Patients. World Allergy Organ J. 2012. [citado el 30 de abril de 2018]. 5(2): S96. Disponible en: doi: 10.1097/01.WOX.0000411997.23243.6e.
96. Hashimoto S, Tanaka E, Ueyama E, Terada S., et al. A Case of Pulmonary Botrytis Species Infection in an Apparently Healthy Individual. ATS Journals. 2017. [citado el 30 de abril de 2018]. 195: A7155. Disponible en: [https://www.atsjournals.org/doi/pdf/10.1164/ajrccm-conference.2017.195.1\\_MeetingAbstracts.A7155](https://www.atsjournals.org/doi/pdf/10.1164/ajrccm-conference.2017.195.1_MeetingAbstracts.A7155)

## ANEXOS

### Anexo 1. Requisitos específicos de los vinos de frutas

Requisitos	Valores	
	Mínimo	Máximo
Contenido del alcohol en grados alcoholimétricos a 20 °C	6	-
Acidez total expresada como ácido tartárico en g/dm <sup>3</sup> (libre de SO <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub> y ácido sórbico).	3,5	10
Acidez volátil expresada como ácido acético en g/dm <sup>3</sup> (libre de SO <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub> y ácido sórbico).	-	1,2
Metanol en mg/dm <sup>3</sup> de alcohol anhidro	-	1 000
Azúcares totales previa inversión expresados como glucosa, en g/dm <sup>3</sup>		
- Seco	0	15
- Semiseco	15,1	50
- Dulce	50,1	-
Extracto seco reducido en g/dm <sup>3</sup>	10,0	
Sulfatos expresados como sulfato de sodio, en g/dm <sup>3</sup>		2,0
Cloruros expresados como cloruro de sodio, en g/dm <sup>3</sup>		1,0
Anhidrido sulforoso total en mg/dm <sup>3</sup>		350
Ácido sórbico o sus sales de sodio o potasio en mg/dm <sup>3</sup> , expresado como ácido sórbico.		150
Hierro expresado como Fe en mg/dm <sup>3</sup>		8,0
Cobre expresado como Cu en mg/dm <sup>3</sup>		1,0
pH	2,8	4,0
Colorantes artificiales		negativo

Fuente: (81)

### Anexo 2. Requisitos específicos de los vinos de frutas

Requisitos	Valores	
	Mínimo	Máximo
Contenido del alcohol etílico expresado en grados alcoholimétricos a 20 °C	6	menor de 14 <sup>(1)</sup>
Acidez total expresada como ácido tartárico en g/l (libre de SO <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub> y ácido sórbico).	3,8	8
Acidez volátil expresada como ácido acético en g/l (libre de SO <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub> y ácido sórbico).	-	1,2
Metanol en mg/l de alcohol anhidro <sup>(2)</sup>	-	3 000
Azúcares totales previa inversión expresados como glucosa, en g/l.		
- Seco	0	5
- Semiseco	5,1	15
- Abocado	15,1	50
- Dulce	> 50,1	
Extracto seco reducido en g/l	10,0	
Sulfatos expresados como sulfato de potasio, en g/l	-	2,0
Cloruros expresados como cloruro de sodio, en g/l		1,0
Anhidrido sulforoso total en mg/l		350
Anhidrido sulforoso libre en mg/l		100
Ácido sórbico o sus sales de sodio o potasio en mg/l, expresado como ácido sórbico.		150
Hierro expresado como Fe en mg/l		8,0
Cobre expresado como Cu en mg/l		1,0
pH	2,8	3,8
Colorantes artificiales		negativo

Fuente: (84)

**Anexo 3. Tabla de frecuencia por año de publicación, de las fuentes consultadas**

<b>Año de publicación de las fuentes</b>				
<b>Año (Xi)</b>	<b>Frecuencia (ni)</b>	<b>Frecuencia relativa (hi=ni/N)</b>	<b>Frecuencia acumulada (Ni)</b>	<b>Frecuencia relativa acumulada (Hi=Ni/N)</b>
menores a 2007	31	32,3%	31	32%
2007	4	4,2%	35	36%
2008	4	4,2%	39	41%
2009	3	3,1%	42	44%
2010	4	4,2%	46	48%
2011	9	9,4%	55	57%
2012	7	7,3%	62	65%
2013	10	10,4%	72	75%
2014	3	3,1%	75	78%
2015	6	6,3%	81	84%
2016	4	4,2%	85	89%
2017	11	11,5%	96	100%

**Fuente:** Los autores, 2018.

**Anexo 4. Tabla de Frecuencia por tipo, de las fuentes consultadas.**

<b>Tipo de publicación de las fuentes</b>				
<b>Formato (Xi)</b>	<b>Frecuencia (ni)</b>	<b>Frecuencia relativa (hi=ni/N)</b>	<b>Frecuencia acumulada (Ni)</b>	<b>Frecuencia relativa acumulada (Hi=Ni/N)</b>
Libros	13	13,54%	12	13,54%
Tesis	7	7,29%	19	20,83%
Artículos	62	64,58%	81	85,42%
Páginas web	8	8,33%	89	93,75%
Legislación	6	6,25%	96	100%

**Fuente:** Los autores, 2018.

**Anexo 5. Tabla de Frecuencia por País investigador, de las fuentes consultadas.**

<b>País de origen de las fuentes</b>				
<b>País (Xi)</b>	<b>Frecuencia (ni)</b>	<b>Frecuencia relativa (hi=ni/N)</b>	<b>Frecuencia acumulada (Ni)</b>	<b>Frecuencia relativa acumulada (Hi=Ni/N)</b>
España	13	13,5%	13	13,5%
México	2	2,1%	15	15,6%
Hungría	6	6,3%	21	21,9%
EEUU	10	10,4%	31	32,3%
China	2	2,1%	33	34,4%
Chile	1	1,0%	34	35,4%
Noruega	1	1,0%	35	36,5%
Italia	13	13,5%	48	50,0%
Alemania	9	9,4%	57	59,4%
Países	3	3,1%	60	62,5%

bajos				
Colombia	12	12,5%	72	75,0%
Argentina	1	1,0%	73	76,0%
Costa Rica	2	2,1%	75	78,1%
Brasil	1	1,0%	76	79,2%
Canadá	1	1,0%	77	80,2%
Israel	4	4,2%	81	84,4%
Inglaterra	1	1,0%	82	85,4%
Grecia	1	1,0%	83	86,5%
Japon	1	1,0%	84	87,5%
Francia	12	12,5%	96	100,0%

**Fuente:** Los autores, 2018.

**Anexo 6. Tabla de Frecuencia por idioma, de las fuentes consultadas.**

Idioma de las fuentes				
Idioma (Xi)	Frecuencia (ni)	Frecuencia relativa (hi=ni/N)	Frecuencia acumulada (Ni)	Frecuencia relativa acumulada (Hi=Ni/N)
Español	38	39,6%	38	40%
Inglés	56	58,3%	94	98%
Aleman	1	1,0%	95	99%
Chino	1	1,0%	96	100%

**Fuente:** Los autores, 2018.

**Anexo 7. Tabla de Frecuencia por metodología investigativa, de las fuentes consultadas.**

Metodología de las fuentes				
Tipo de investigación (Xi)	Frecuencia (ni)	Frecuencia relativa (hi=ni/N)	Frecuencia acumulada (Ni)	Frecuencia relativa acumulada (Hi=Ni/N)
Teórica	29	33,7%	29	34%
Práctica	57	66,3%	86	100%

**Fuente:** Los autores, 2018.

**Anexo 8. Tabla de Frecuencia de aplicación por fase, de las fuentes consultadas.**

Fuentes por fase				
Fase (Xi)	Cantidad de fuentes (ni)	Cantidad relativa de fuentes (hi=ni/N)	Cantidad acumulada de fuentes (Ni)	Cantidad relativa acumulada (Hi=Ni/N)
Procesos	32	33,33%	32	33,33%
Bioquímica	28	29,17%	64	62,50%
Beneficios	36	37,50%	96	100%

**Fuente:** Los autores, 2018.

**Anexo 9. Encuesta vinos botritizados**

**REVISIÓN DOCUMENTAL SOBRE EL USO DE *B. cinerea* EN LA ELABORACIÓN DE VINOS BLANCOS**

**ENCUESTA**

**OBJETIVO:** Examinar si la población Colombiana conoce sobre la producción y todo lo relacionado con los vinos Botritizados.

**VIÑEDO O EMPRESA:** \_\_\_\_\_

**UBICACIÓN:** \_\_\_\_\_

1. ¿Conoce o ha escuchado usted, algo relacionado con los vinos Botritizados?

Sí \_\_\_ No \_\_\_

2. ¿Conoce usted sobre el uso del hongo *B. cinerea* que es conocido como una plaga en el Cultivo de uva para la elaboración de vinos Botritizados?

Sí\_\_\_ No\_\_\_

3. ¿Conoce los mecanismos por los cuales actúa el hongo, condiciones ambientales y todo lo Relacionado con la siembra y cosecha del fruto infectado para su posterior utilización?

Sí\_\_\_ No\_\_\_

4. ¿Sabe usted si en Colombia se producen los vinos Botritizados? Sí\_\_\_ No\_\_\_

5. ¿Cree usted que este producto podría tener gran impacto en la industria colombiana?

Sí\_\_\_ No\_\_\_

6. ¿Qué factores considera usted que impiden la producción de este vino?

Ambientales\_\_\_ Económicos \_\_\_ Infraestructurales\_\_\_ Todos\_\_\_\_\_

**ELABORADA POR:** Andrea Viviana Fonseca Enciso, Cristian David Morales Castaño.



**Anexo 10. Tabla encuesta pregunta uno.**

1. ¿Conoce o ha escuchado usted, algo relacionado con los vinos Botritizados?				
Respuesta (Xi)	Frecuencia absoluta(ni)	Frecuencia relativa (hi=ni/N)	Frecuencia acumulada (Ni)	Frecuencia relativa acumulada (HI=Ni/N)
SI	13	87%	13	87%
NO	2	13%	15	100%
<b>Numero de respuestas (N)=</b>	15			

**Fuente:** Los autores, 2018.

**Anexo 11. Tabla encuesta pregunta dos.**

2. ¿Conoce usted sobre el uso del hongo <i>B. cinerea</i> que es conocido como una plaga en el Cultivo de uva para la elaboración de vinos Botritizados?				
Respuesta (Xi)	Frecuencia absoluta(ni)	Frecuencia relativa (hi=ni/N)	Frecuencia acumulada (Ni)	Frecuencia relativa acumulada (HI=Ni/N)
SI	10	67%	10	67%
NO	5	33%	15	100%
<b>Numero de respuestas (N)=</b>	15			

**Fuente:** Los autores, 2018.

**Anexo 12. Tabla encuesta pregunta tres.**

3. ¿Conoce los mecanismos por los cuales actúa el hongo, condiciones ambientales y todo lo Relacionado con la siembra y cosecha del fruto infectado para su posterior utilización?				
Respuesta (Xi)	Frecuencia absoluta(ni)	Frecuencia relativa (hi=ni/N)	Frecuencia acumulada (Ni)	Frecuencia relativa acumulada (HI=Ni/N)
SI	5	33%	5	33%
NO	10	67%	15	100%
<b>Numero de respuestas (N)=</b>	15			

**Fuente:** Los autores, 2018.

### Anexo 13. Tabla encuesta pregunta cuatro

4. ¿Sabe usted si en Colombia se comercializan los vinos Botritizados?				
Respuesta (Xi)	Frecuencia absoluta (ni)	Frecuencia relativa (hi=ni/N)	Frecuencia acumulada (Ni)	Frecuencia relativa acumulada (HI=Ni/N)
SI	0	0%	0	0%
NO	15	100%	15	100%
<b>Numero de respuestas (N)=</b>	15			

**Fuente:** Los autores, 2018.

### Anexo 14. Tabla encuesta pregunta cinco

5. ¿Cree usted que este producto podría tener gran impacto en la industria colombiana?				
Respuesta (Xi)	Frecuencia absoluta (ni)	Frecuencia relativa (hi=ni/N)	Frecuencia acumulada (Ni)	Frecuencia relativa acumulada (HI=Ni/N)
SI	8	53%	8	53%
NO	7	47%	15	100%
<b>Numero de respuestas (N)=</b>	15			

**Fuente:** Los autores, 2018.

### Anexo 15. Tabla encuesta pregunta seis

6. ¿Qué factores considera usted que impiden la producción de este vino?				
Respuesta (Xi)	Frecuencia absoluta (ni)	Frecuencia relativa (hi=ni/N)	Frecuencia acumulada (Ni)	Frecuencia relativa acumulada (HI=Ni/N)
Ambientales	5	33%	5	33%
Económicos	2	13%	7	47%
Infraestructurales	3	20%	10	67%
Todos	5	33%	15	100%
<b>Numero de respuestas (N)=</b>	15			

**Fuente:** Los autores, 2018.

## **Anexo 16. Composición de los agares**

### **Agar papa dextrosa (PDA)**

- Extracto de papa 4 g/L
- D-glucosa 20 g/L
- agar-agar 15 g/L
- ácido tartárico 10% 14 mL/L
- pH final  $5.6 \pm 0.2$  (25 °C)

### **Agar Czapek-Dox**

- Sacarosa 30 g/L
- Nitrato de sodio 2 g/L
- Fosfato dipotásico 1 g/L
- Sulfato de magnesio 0.5 g/L
- Cloruro de potasio 0.5 g/L
- Sulfato ferroso 0.01
- Agar-agar 15
- pH final  $7.3 \pm 0.2$  (25°C)

### **Caldo Sabouraud**

- Tripteina 5 g/L
- Peptona de carne 5 g/L
- Glucosa 20 g/L
- pH final:  $5.7 \pm 0.2$

### ***Botrytis* agar selectivo**

- Glucosa 2 g/L
- Nitrato de sodio 0.1 g/L
- Fosfato dipotásico 0.1 g/L
- Sulfato de magnesio heptahidratado 0.2 g/L
- Cloruro de potasio 0.1 g/L
- Cloranfenicol 0.2 g/L
- Pentacloronitrobenzeno 0.02 g/L
- Etilenbisditiocarbamato de manganeso 80% 0.02 g/L
- Rosa de bengala 0.05 g/L
- Ácido tánico 5 g/L
- Agar-agar 20 g/L.
- pH final 4-5.

**Fuente:** (4, 5,71).

# Anexo 17. Cartilla vinos botritizados

## EL USO DE *Botrytis cinerea* EN LA ELABORACIÓN DE VINOS BLANCOS BOTRITIZADOS.



Fonseca Andrea · Morales David

### CONTENIDO

INTRODUCCION.....4

OBJETIVOS.....6

ANTECEDENTES.....7

*Botrytis cinerea*.....8

PODREDUMBRE NOBLE.....9

PROCESO DE OBTENCIÓN DEL VINO BOTRITIZADO .....10

PROCESO MICROBIOLÓGICO Y DESARROLLO EN LA UVA.....11

PROCESO BIOQUÍMICO CAUSADO POR EL HONGO EN EL FRUTO.....12

BENEFICIOS DEL VINO BOTRITIZADO .....14

    Características del vino botritizado

    Marcas más conocidas de vinos botritizados

CONCLUSIONES.....16

REFERENCIAS.....17

3

### INTRODUCCIÓN

La producción de vinos lleva acompañando al humano desde tiempos prehistóricos. En Colombia la producción de vinos, así como la cosecha de la uva, tuvo un inicio lento, esto debido a la ausencia de estaciones a las cuales la planta solía estar adaptada, por esto se han propuesto nuevas estrategias para la producción nacional, impulsando la utilización de un microorganismo que en el campo de la agricultura solía ser considerado como una plaga, debido a que es causal de la podredumbre gris, la cual es una afección en los cultivos de uva que puede traer consigo la pérdida total del cultivo.

*B. cinerea* al desarrollarse en ambientes relativamente secos trae beneficios para el cultivo y para la producción del vino pues es en estas condiciones su fase sexual (podredumbre noble) se produce. El hongo brinda al vino cualidades como mejor aroma (haciéndolo más dulce) y un tacto cremoso, así como le aporta agentes antioxidantes.

El aprovechamiento de este hongo es una técnica usada en países europeos como Alemania, Hungría y Francia. La técnica se basa en la producción de vino utilizando uvas afectadas por *B. cinerea*, razón por la cual estos vinos fueron denominados como "vinos botritizados".

Esta técnica actualmente es aplicada en países que cuentan con una temperatura ambiental de unos 22°C y una humedad relativa

4

de 40-48%, razón por la cual puede ser aplicada en Colombia, pues el país se encuentra en una zona geográfica con gran variedad climática debido a que cuenta con distintos pisos térmicos, siendo factible su producción en el país, además se pueden usar invernaderos que ayuden a adecuar las condiciones para la producción de estos vinos, que de ser aprovechada por el sector vinícola de Colombia promete ser una estrategia para diversificar la producción de vinos en el país.

En esta revisión se destacan los factores esenciales para el desarrollo de la podredumbre noble, incluyendo los tipos de cepas y uvas utilizadas en este proceso, las rutas metabólicas y la bioquímica ocurrida durante la producción, las condiciones ambientales, siendo éstas un factor crítico ya que si no se presentan de forma adecuada se promoverá el desarrollo de la podredumbre gris la cual dañará el cultivo; es por esto que la implementación adecuada de este hongo conlleva a la producción de uno de los mejores vinos en todo el mundo.

El desarrollo de este trabajo pretende promover en la industria colombiana este producto de interés biotecnológico en viñedos que sean capaces de adecuar sus condiciones de infraestructura para la producción de vino botritizado, para incentivar la investigación y apoyo por parte del sector empresarial vinícola colombiano en cuanto a variedad de cultivos, cepas nativas, así como el ajuste de condiciones del cultivo adecuadas en invernaderos, para lo cual se deja como producto de esta revisión una cartilla donde se incluye la información recopilada en esta investigación.

5

### OBJETIVOS

#### OBJETIVO GENERAL

Realizar una revisión documental que nos permita conocer el proceso de elaboración del vino botritizado y su posible aplicación en Colombia.

#### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comprender el proceso microbiológico en la producción del vino.
- Describir el proceso oxidativo que ocurre durante la producción del vino, causado por enzimas producidas por el hongo.
- Establecer los beneficios que poseen los vinos botritizados mediante el uso de una plaga como una alternativa innovadora de producción vinícola en Colombia.

6

### ANTECEDENTES

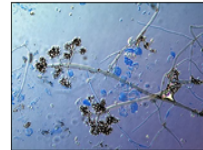
- Se conocían las cualidades desecantes que *B. cinerea* ejercía sobre el fruto de la vid, con esto se ocasiona un aumento de la concentración de azúcares lo cual es medido con técnicas de densimetría y de acidez (1982)(2).
- Considerable concentración de Resveratrol y derivados como metabolitos antioxidantes. (2006)(3).
- Aumentos en la síntesis de Tioles volátiles precursores en la producción de aroma por presencia de *Botrytis cinerea* en la células de la vid, lo cual mejora el aroma del producto final. (2011)(4).
- Se determina la presencia de ésteres, ácidos grasos, lactonas, tioles volátiles y 2-nonanol, estos dos últimos hallados marcadamente en vinos afectados por la podredumbre noble y se atribuyen a estas las características de tacto cremoso y olor a albarcoque seco. (2017)(5).

7

### *Botrytis cinerea*

El género *Botrytis* consta de un grupo de hongos filamentosos fitopatógenos, por tanto, ampliamente conocidos, puesto que ocasionan una afección en las plantas conocida globalmente como "podredumbre gris", puede producirse en una amplia gama de plantas, como kiwi, fresa, etc (6) *B. cinerea* es la especie más importante dentro del género, el cual es frecuentemente relacionado con pérdidas en cultivos de uva (7)

Figura 1. *B. cinerea* en microscopía. Conidióforo marrón.



Fuente: (8)

Tabla 1. Clasificación taxonómica de *B. cinerea*.

Reino	Fungi
Filo	Ascomycota
Subfilo	Pezizomycotina
Clase	Lecanomyces
Orden	Helotiales
Familia	Sclerotiniaceae
Género	Botrytis
Especie	<i>Botrytis fuckeliana</i>

Fuente: (9)

8

### PODREDUMBRE NOBLE

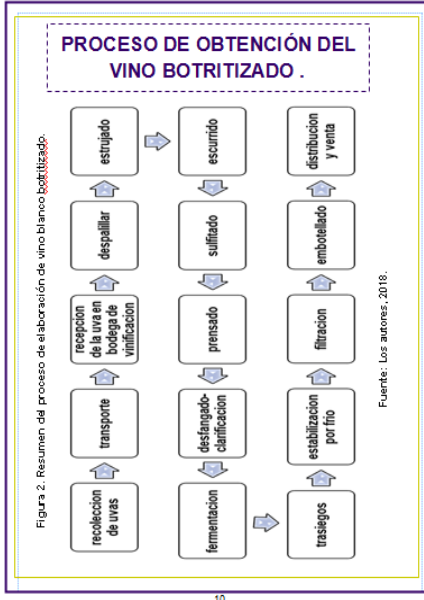
Es un tipo de faceta del hongo *B. cinerea* la cual da lugar a una vendimia tardía, en algunos casos uva a uva, posterior al ataque de éstas por el hongo (10). Para que se produzca la podredumbre noble que es un fenómeno delicado necesita de los siguientes factores:

- Variedades de uva con un **exocarpio** grueso como: Semillon, Sauvignon blanc, Muscadelle, Furmit.(11)
- Inoculación del hongo en la etapa de maduración de la uva a una concentración 10<sup>4</sup> conidios/L, (método cámara de Neubauger). (12)
- Condiciones ambientales del cultivo en etapa de infección: un ambiente con alta humedad relativa (>90%) a una temperatura de 22°C durante un periodo de 1 a 2 días para favorecer la esporulación del hongo, seguido por un periodo de deshidratación donde se usa un ambiente seco para reducir el contenido de agua en la uva con una humedad relativa del 40 al 84 % a una temperatura de 19°C durante 5 a 17 días. (13,14)

Si este hongo ataca antes de la maduración de la uva y no tiene las condiciones anteriormente descritas se habla entonces de podredumbre gris en vez de noble.

9

# Anexo 19. Cartilla vinos botritizados



10

### PROCESO MICROBIOLÓGICO Y DESARROLLO EN LA UVA.

En el proceso de penetración del hongo hacia la uva se presentan **micofisuras peristomales** a medida que la fruta se agranda, estas permiten que los exudados de la uva escapen proporcionando nutrientes para la germinación **conidial**.

Al madurar, la cutícula se vuelve cada vez más desorganizada y su grosor disminuye, lo que favorece la formación de **microporos** y heridas en la epidermis produciendo sitios adicionales para la penetración del hongo que por acción enzimática ayuda a la disrupción de la epidermis, los conidios germinan, produciendo tubos de germinación que pueden penetrar en la uva, a través de los tejidos hipodérmicos cambiando su color.

Fuente: (15) uva y progresa en paralelo a la superficie de la uva, a través de los tejidos hipodérmicos cambiando su color.

Sus filamentos emergen a través de la piel y se desarrollan en conidióforos en la superficie hasta que la uva se seca por evaporación y el contenido del jugo se vuelve altamente concentrado. El crecimiento de micelios en la superficie y conidióforos cesa, la absorción de oxígeno por el hongo disminuye, limitando y modificando aún más sus actividades enzimáticas lo cual favorece la composición aromática en la uva.

Fuente: (15).

11

### PROCESO BIOQUÍMICO CAUSADO POR EL HONGO EN EL FRUTO.

**Figura 4. Fase oxidativa**

Fuente: Los autores, 2018.

12

### Figura 5. Fase fermentativa (fermentación alcohólica, láctica, maloláctica).

Fuente: Los autores, 2018.

13

### BENEFICIOS DEL VINO BOTRITIZADO.

La principal función de los agentes antioxidantes radica en proteger al cuerpo de los radicales libres que se encargan del envejecimiento y daño de las células del organismo mediante la eliminación de especies reactivas de oxígeno (15). Se dan como resultado de la oxidación por medio de la enzima **laçaga** (polifenol oxidasa) producida por el hongo frente a las **fitoalexinas** secretadas como defensa de la planta frente a la infección del hongo. (16)

COMPUESTOS	EFEECTO EN EL VINO	EFEECTO EN EL CONSUMIDOR
Polifenoles como estilbenos (trans-resveratrol), el trans-pterostilbeno y la <b>resveratrolona</b>	Actúan como antioxidantes.	Son potentes sequestrantes de radicales libres, de tal forma que ayudan en la prevención de cánceres y envejecimiento prematuro celular. (17)
Acidos láctico y acético	Reducen astringencia y gusto empalagoso del vino. (18, 19)	Prevención de enfermedades cardíacas. (17)
Glicerol	Confiere tacto cremoso al vino. (19)	
Compuestos aromáticos	Brindan al vino aromas frutales agradables	
Oxidación de la seripaperina-5	Brinda espumabilidad al vino (21).	

Fuente: Los autores, 2018.

14

### CARACTERÍSTICAS DEL VINO BOTRITIZADO

- Aroma frutal con notas cítricas y ligeramente almendrado.
- Tacto cremoso y suave al paladar, esto debido a una mayor concentración de glicerol
- Presencia de ácidos láctico y acético, los cuales confieren un gusto ácido que enmascara la astringencia del vino y evitando que este tenga un gusto empalagoso debida la presencia elevada de azúcares. (18, 19)

**MARCA MÁS CONOCIDA DE VINO BOTRITIZADO**

Sauternes, Chateau d'Yquem, Tokaji

COMPOSICIÓN	VINO SAUTERNES
Ácido (g/L)	50- 150
Graduación alcohólica (% v/v)	13- 14
Envejecimiento (años)	1- 3 en barrica de roble
Color	Amarillo claro y al envejecer amarillo oscuro.
Sabor	Dulce equilibrado con notas de acidez leve y sabores a durazno, melocotón y miel, no empalagoso.
Olor	Frutal con notas cítricas y caramelo.
Maridaje	Apertivo de foie gras o queso Roquefort para saborearlo en postres.
Variedad de uvas	Sémillon, Sauvignon blanc y Muscadelle.

Fuente: (15)

15

### CONCLUSIONES

- La revisión documental permitió conocer el proceso de producción del vino botritizado, su proceso microbiológico, el proceso bioquímico, las condiciones climáticas que requiere **B. cinerea** para desarrollar la podredumbre noble en la uva, así como los beneficios que este tipo de vino brinda a la salud, siendo un proceso que podría aplicarse en Colombia, debido a la variabilidad climática que presenta el país y al interés de la industria vinícola nacional.
- Las condiciones necesarias para el desarrollo de la podredumbre noble (hongo) sobre el fruto de la uva, son una humedad relativa mayor a 90% y una temperatura de 22°C durante 1 o 2 días. Se resalta la importancia de contar con cepas nativas de **B. cinerea** con buena producción de **laçaga**. Es importante recalcar el uso de variedades de uva que sean resistentes a la infección por el hongo, pues esto es vital para evitar que se produzca la podredumbre gris.
- La fase oxidativa, en la cual la enzima **laçaga** producida por **B. cinerea** oxida las **fitoalexinas** (estilbenos y polifenoles) que produce la uva en defensa al ataque del hongo en otros compuestos, como la **viniferina** con poder antioxidante, por otro lado, la fase fermentativa en la cual levaduras como **S. cerevisiae** fermentan los azúcares libres del mosto en etanol. También se presenta la fermentación maloláctica dada por bacterias como **Lactobacillus** spp, las cuales convierten el ácido málico en ácido láctico el cual suaviza el efecto empalagoso del vino, mientras disminuyen la astringencia del mismo.
- El vino botritizado es un producto con un alto contenido de antioxidantes y es útil para prevenir la aparición de enfermedades como el cáncer y enfermedades cardiovasculares. En el país se tiene conocimiento e interés en estos vinos, además, la producción de vinos botritizados en Colombia es posible al invertir en invernaderos que brinden las condiciones climáticas adecuadas para el desarrollo de la podredumbre noble, esto teniendo en cuenta que el país cuenta con sitios donde puede cultivarse la uva y cuenta con algunas variedades de uva que se usan para la producción de estos vinos.

16

### REFERENCIAS

1. Sauerbrunn A. *Journal of Applied Microbiology*. 2013; 115(4): 1035-1045. doi:10.1111/jam.12111
2. Sauerbrunn A. *Journal of Applied Microbiology*. 2013; 115(4): 1035-1045. doi:10.1111/jam.12111
3. Sauerbrunn A. *Journal of Applied Microbiology*. 2013; 115(4): 1035-1045. doi:10.1111/jam.12111
4. Sauerbrunn A. *Journal of Applied Microbiology*. 2013; 115(4): 1035-1045. doi:10.1111/jam.12111
5. Sauerbrunn A. *Journal of Applied Microbiology*. 2013; 115(4): 1035-1045. doi:10.1111/jam.12111
6. Sauerbrunn A. *Journal of Applied Microbiology*. 2013; 115(4): 1035-1045. doi:10.1111/jam.12111
7. Sauerbrunn A. *Journal of Applied Microbiology*. 2013; 115(4): 1035-1045. doi:10.1111/jam.12111
8. Sauerbrunn A. *Journal of Applied Microbiology*. 2013; 115(4): 1035-1045. doi:10.1111/jam.12111
9. Sauerbrunn A. *Journal of Applied Microbiology*. 2013; 115(4): 1035-1045. doi:10.1111/jam.12111
10. Sauerbrunn A. *Journal of Applied Microbiology*. 2013; 115(4): 1035-1045. doi:10.1111/jam.12111
11. Sauerbrunn A. *Journal of Applied Microbiology*. 2013; 115(4): 1035-1045. doi:10.1111/jam.12111
12. Sauerbrunn A. *Journal of Applied Microbiology*. 2013; 115(4): 1035-1045. doi:10.1111/jam.12111
13. Sauerbrunn A. *Journal of Applied Microbiology*. 2013; 115(4): 1035-1045. doi:10.1111/jam.12111
14. Sauerbrunn A. *Journal of Applied Microbiology*. 2013; 115(4): 1035-1045. doi:10.1111/jam.12111
15. Sauerbrunn A. *Journal of Applied Microbiology*. 2013; 115(4): 1035-1045. doi:10.1111/jam.12111
16. Sauerbrunn A. *Journal of Applied Microbiology*. 2013; 115(4): 1035-1045. doi:10.1111/jam.12111
17. Sauerbrunn A. *Journal of Applied Microbiology*. 2013; 115(4): 1035-1045. doi:10.1111/jam.12111
18. Sauerbrunn A. *Journal of Applied Microbiology*. 2013; 115(4): 1035-1045. doi:10.1111/jam.12111
19. Sauerbrunn A. *Journal of Applied Microbiology*. 2013; 115(4): 1035-1045. doi:10.1111/jam.12111
20. Sauerbrunn A. *Journal of Applied Microbiology*. 2013; 115(4): 1035-1045. doi:10.1111/jam.12111
21. Sauerbrunn A. *Journal of Applied Microbiology*. 2013; 115(4): 1035-1045. doi:10.1111/jam.12111

17

Fuente: Los autores, 2018.