

*Màster Universitari Ciència i Tecnologia Químiques
Iniciació a la Recerca i treball fi de màster*

Departamento de Química, Facultad de Ciencias



Estudio quimiométrico de parámetros vinícolas

Eva Fernández Fernández

1 de Septiembre de 2010

Directores: Jordi Coello y Santiago Maspoch

*Memòria presentada per superar el mòdul d'Iniciació a la Recerca
i treball fi de màster corresponent al Màster Universitari Ciència i
Tecnologia Químiques*

Eva Fernández Fernández

Vist i plau

Jordi Coello Bonilla

Santiago MasPOCH Andrés

Bellaterra, a 1 de Septiembre de 2010

Índice

Resumen.....	1
Introducción	2
Objetivos	10
Obtención de los datos.....	11
Resultados y discusión.....	13
Conclusiones.....	29
Bibliografía	31
Anexo	32

Resumen

En los últimos años, los cambios que ha sufrido el clima han producido cambios en los cultivos de vid, de manera que han aparecido nuevos problemas para este campo industrial y por lo tanto la necesidad de hacer cambios en la industria vitícola. Los principales problemas que han surgido son: la disminución de la productividad, la aparición de nuevas enfermedades y plagas y la pérdida del punto óptimo de madurez de la cosecha debido a un desfase entre la madurez sacarimétrica y la madurez de aromas y polifenoles de la uva. Como resultado de este desfase entre los distintos tipos de madurez de la uva, los vinos producidos ahora son diferentes a los producidos hace pocos años, con una tendencia a un mayor grado alcohólico.

Para poder hacer frente a estos cambios, se está realizando un amplio estudio para relacionar el efecto del estrés hídrico en la uva con las características del vino que de ella se obtiene. El estudio se lleva a cabo en dos variedades características, tempranillo y albariño, cultivadas cada una en dos zonas climáticas distintas. Se estudian los aspectos relacionados con el clima, el crecimiento de la vid, el contenido de aminoácidos, polifenoles, polisacáridos y proteínas de las uvas y el contenido en polifenoles y precursores de aromas de los vinos. Las diferencias físicas y químicas encontradas, se quieren correlacionar con cambios en la genómica de la uva, para saber qué genes se activan o desactivan en unas determinadas condiciones.

El presente trabajo recoge una pequeña parte de los datos obtenidos en la cosecha del 2008, referida a los compuestos fenólicos en uva de la variedad tempranillo y en el vino producido a partir de la misma.

Introducción

El sector vitivinícola es de gran importancia en España tanto por factores culturales como económicos y medioambientales. Así, España tiene 1,16 millones de hectáreas dedicadas al cultivo de la vid, lo que la convierte en el tercer cultivo más extenso de España, con un 8% del terreno cultivado total, y en el país con más extensión del mundo en cultivo de vid, con un 14,8 % del total mundial. Por contra, aunque el 97,4 % de la uva cultivada en España se destina a la elaboración de vino, (del resto, un 2% a uva de mesa, un 0,3 % a la elaboración de pasas y otro 0,3% a viveros) se sitúa por detrás de Italia y Francia en su producción mundial con un 13,0% del total (Francia el 17,0% e Italia el 17,2%). Respecto a las exportaciones, España ocupa el segundo lugar con un 17%, detrás de Italia con un 21% y seguida de Francia con otro 17%. Lo que le supuso en 2007 1.833 millones de euros en exportaciones¹.

En los últimos años, los cambios que ha sufrido el clima han generado nuevos problemas para la industria vitícola. Los principales problemas que han surgido son:

- Disminución de la productividad.
- Pasificación de la vendimia.
- Cambios en enfermedades y plagas.
- Aceleración del proceso de maduración del fruto.
- Desfase entre la madurez sacarimétrica y la madurez de aromas y polifenoles.

Esto lleva a que los vinos y mostos que se obtienen actualmente sean diferentes a los de hace unos años y a que resulte difícil determinar cuál es el punto óptimo de la cosecha, ya que si fermentamos mostos en su punto óptimo de azúcar, se obtienen vinos frescos y ligeros, pero verdes y de poca complejidad aromática. Por el contrario, si queremos conseguir aromas y polifenoles maduros, se deben fermentar mostos con demasiada concentración de azúcar, obteniendo vinos excesivamente alcohólicos y de baja acidez, que resultan pesados y más vulnerables a fenómenos de oxidación.

Para poder hacer frente a estos cambios, se deben conocer tanto las condiciones climáticas que los han provocado como las condiciones futuras. Para éstas últimas se seguirá un estudio sobre el cambio climático en España realizado por el Ministerio de Medio Ambiente junto con la Universidad de Castilla la Mancha². En este estudio, se utilizan los modelos climáticos globales del IPCC (*Intergovernmental Panel on Climate Change*) A2 y B2 que se definen como sigue³.

- **A2:** Supone un mundo heterogéneo, la preservación de las identidades locales, una alta tasa de crecimiento poblacional, un desarrollo económico regional, menor que en otras líneas narrativas.
- **B2:** Supone un mundo con énfasis en las soluciones locales, un aumento continuo de la población (menor que en A2) y niveles intermedios de desarrollo económico.

La elección de estos escenarios de emisiones se hizo por cuanto los mismos no son extremos, sino intermedios entre otros escenarios propuestos, como se muestra en la figura 1. Donde los escenarios A2 y B2 tienen una emisión creciente de CO₂ intermedia entre los escenarios de emisiones A1F1 (el más extremo) y el B1 (la menor evolución).

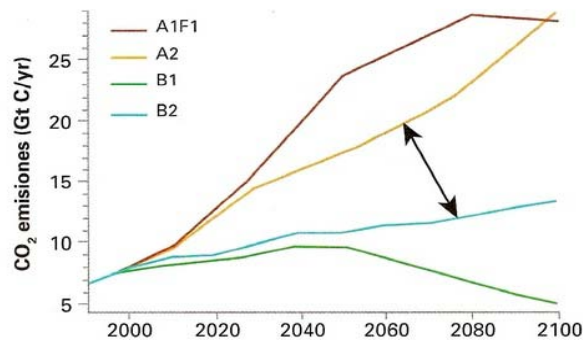


Figura 1. Evolución de los escenarios del IPCC

El estudio concluye que en España se producirá un aumento uniforme de temperatura, que será, para el modelo climático A2, de 0.4°C/década en invierno y 0.7°C/década en verano; el modelo B2 predice aumentos de temperatura algo menores. Según ambos modelos, la diferencia de temperaturas entre el interior de la península y la periferia e islas es de 2 °C, siendo mayor para el interior. También habrá una disminución de la precipitación, menos acusada para el modelo B2, excepto en invierno que, para ambos modelos, aumentará en el NO de la península.

Las consecuencias previstas son que en el clima atlántico aumentará la productividad, ya que en este caso, la producción está limitada por la temperatura y los inviernos serán más suaves. Por el contrario, se producirá una disminución de la producción en el clima mediterráneo, ya que aquí la producción está limitada por la cantidad de agua y habrá menos precipitaciones y más demanda, debido al aumento de la evapotranspiración.

Por lo tanto, uno de los objetivos del proyecto es relacionar los factores climáticos con las variables vitícolas para comprender su efecto. En el diseño general se estudian dos variedades de uva, tempranillo (tinta) y albariño (blanca), con muestras recogidas en vivero y muestras recogidas en viñedos de referencia. La estrategia general a seguir es la que se muestra en la Tabla 1. Para cada tipo de uva, hay una que proviene de un clima mediterráneo (cálido) y otra que procede de un clima continental/atlántico (frío). Asimismo, una parte habrá sido regada y la otra no.

Vivero y viñedo		
	Albariño	Tempranillo
Clima mediterráneo	Riego	Riego
	No riego	No riego
Clima continental/atlántico	Riego	Riego
	No riego	No riego

Tabla 1. Diseño experimental general del proyecto

Este estudio forma parte de un proyecto a largo plazo que se realizará durante cuatro años para poder obtener suficiente información. No está previsto tener uva en el vivero hasta el tercer año. Se proporciona más información del tipo de datos

tratados en el Anexo. Así pues, en este trabajo se recogen tan sólo unos pocos datos referidos al primer año del estudio que no siguen el diseño general, ya que aún no hay instalaciones de riego en las parcelas y se acaban de plantar los viveros. Pero sirven como estudio base para los años posteriores.

Compuestos fenólicos

Los fenoles se caracterizan por presentar el núcleo aromático de benceno, sustituido, como mínimo, con una función hidroxilo, aunque los fenoles vegetales presentan estructuras más complejas. Se clasifican en función del número de átomos de carbono de la cadena alifática que se encuentra sustituyendo el núcleo bencénico y se subdividen según muestra la figura 2.

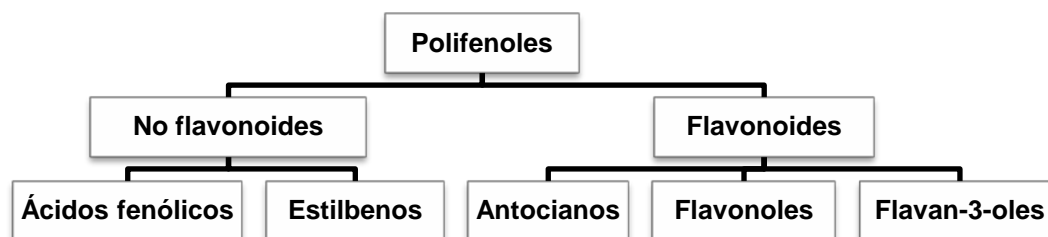


Figura 2. Clasificación de los polifenoles.

Como se muestra en la figura 3, la formación de los polifenoles del vino se da a través de la ruta del ácido siquímico, que empieza con la eritrosa 4-P y el fosfoenolpiruvato (PEP), obteniéndose, por diversas modificaciones, el ácido siquímico, del cual derivan directamente algunos fenoles. La incorporación de una segunda molécula de PEP conduce a la formación de fenilalanina que, por acción de la enzima fenilalanina amonioliase (PAL), se transforma en el ácido transcinámico. Posteriormente, el ácido cinámico es transformado en ácido *p*-cumárico por incorporación de un grupo hidroxilo a nivel de anillo aromático y la acción de una CoA ligasa lo transforma en *p*-cumaroilCoA, que es el precursor de la mayoría de los fenoles.

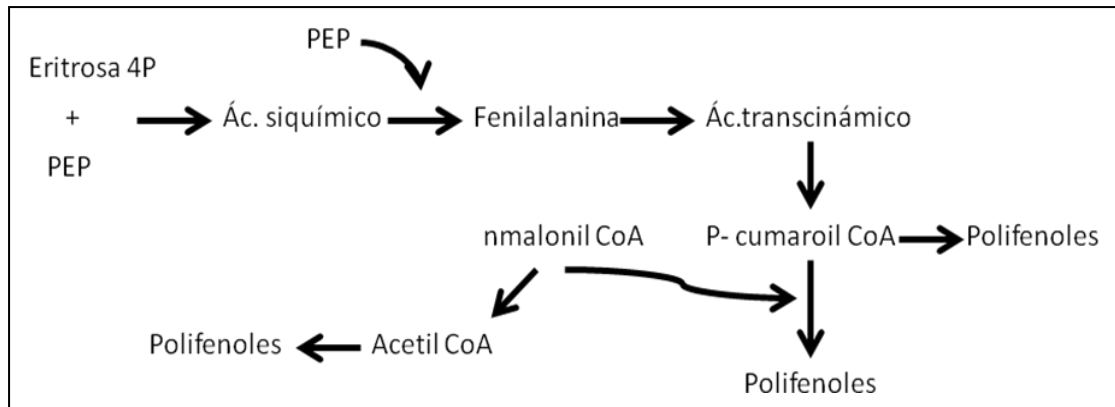


Figura 3. Ruta del ácido siquímico

Los polifenoles son metabolitos secundarios de las plantas, es decir no son necesarios para el crecimiento ni la reproducción, pero desempeñan importantes funciones fisiológicas. Son unos potentes antioxidantes, pudiendo tener efectos beneficiosos sobre enfermedades en que la oxidación representa un papel importante (enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas como el Alzheimer o el Parkinson, el proceso de envejecimiento o el cáncer).

Mayoritariamente se encuentran en las semillas y en la piel de la uva. En las cubiertas de las semillas actúan como un filtro evitando que el oxígeno llegue al embrión, inhibiendo su germinación. En el hollejo captan hasta el 90% de las radiaciones UV impidiendo los efectos nocivos de estas radiaciones en los tejidos internos de la planta.

Los compuestos más relevantes en la calidad de los vinos tintos son los flavonoides que son los responsables de su coloración.

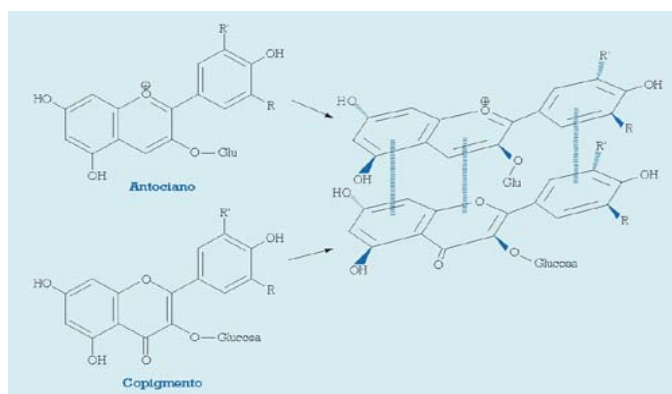


Figura 4. Formación de un complejo de copigmentación produce típicamente es la copigmentación (figura 4), que consiste en la formación de un complejo de estequiometría 1:1, en el que un pigmento con estructura plana (antociano monómero en su forma de catión flavilio) se apila con un copigmento plano (normalmente no pigmentado), como si de un sándwich se tratara, estableciéndose

Los antocianos, la estructura de los cuales corresponde a un heterósido formado por la combinación de un aglicón (antocianidina) y de un azúcar (normalmente glucosa), son los pigmentos rojos. Un fenómeno que se

unas débiles interacciones entre las nubes electrónicas de los anillos aromáticos de ambos⁴. Los flavonoles son los mejores copigmentos que hay en la uva, pero se encuentran en muy pequeñas cantidades; los taninos o flavan-3-oles, los compuestos fenólicos más abundantes de los vinos tintos, son unos copigmentos poco efectivos.

La formación del complejo de copigmentación provoca dos efectos:

a) Un *efecto hipercrómico*, es decir, un incremento de la intensidad del color rojo mostrado por el vino tinto con copigmentación.

b) Un *efecto batocrómico*, es decir, un viraje hacia tonalidades más azuladas del color rojo del vino tinto.

Ambos efectos se manifiestan en los vinos simultáneamente y dependen de la composición fenólica y las relaciones molares de copigmento/pigmento. Para la industria es interesante incrementar la copigmentación en los vinos tintos, para ello, es necesario que en los vinos haya una mayor concentración de copigmentos, sobre todo de flavonoles, así como que la relación molar copigmento/pigmento pueda ser aumentada. Por lo tanto, en el ámbito de la viticultura, el objetivo es conseguir unas uvas tintas que tengan simultáneamente el mayor contenido posible en pigmentos (antocianos monómeros) y en los mejores copigmentos (flavonoles).

Tratamiento de los datos

Todos los datos disponibles se han tratado mediante pruebas estadísticas bien conocidas, basadas en el análisis univariable (t de Student)⁵. En la prueba t el objetivo es determinar si existe una diferencia estadísticamente significativa entre los valores medios de dos muestras de datos con las mismas variables medidas. Se deben cumplir ciertos requisitos:

- Las muestras han de ser independientes
- Las poblaciones han de tener una distribución normal
- Los intervalos de las mediciones han de ser de igual magnitud
- Las varianzas de las muestras deben ser homogéneas.

Según se cumplan estas condiciones o nos alejemos de ellas, existen diversas maneras del cálculo del valor de t a partir de los datos experimentales⁶. La hipótesis nula (por ejemplo, no haber diferencias entre los valores medios de ambas muestras) se rechaza si la probabilidad calculada es menor que nuestro nivel de significación α .

Además, se han estudiado conjuntamente las variables que describen cada una de nuestras muestras utilizando el análisis multivariable. Se han utilizado métodos no supervisados de análisis de pautas, como el análisis de conglomerados

(cluster analysis) y el análisis de las componentes principales (principal component analysis, PCA).

Los datos se ordenan en forma de matriz \mathbf{X} , de manera que cada una de las n filas (u objetos) corresponde a una muestra y cada una de las k columnas (o variables) contiene los valores de una de las variables determinadas para cada muestra. Aunque el tipo de variables utilizado es muy distinto, con diferentes unidades, escalas de trabajo, etc., se pueden analizar simultáneamente realizando previamente un cambio de escala, de forma que las variables se autoescalan a varianza unidad (el proceso también se conoce como “transformación Z”).

$$x'_{i,m} = \frac{x_{i,m} - \bar{x}_m}{s_m} \quad (1)$$

donde $x'_{i,m}$ es el dato autoescalado, $x_{i,m}$ es el dato antes del autoescalado, \bar{x}_m la media de la columna m y s_m la desviación estándar de la columna m . De esta forma, la media y la varianza de las nuevas variables autoescaladas es de 0 y 1 respectivamente⁷.

Análisis de conglomerados

El análisis de conglomerados es una técnica cuya idea básica es agrupar un conjunto de objetos o variables en clusters o grupos^{8,9}. Este agrupamiento se basa en la idea de que cuando dos elementos se parecen, éstos están cerca en un espacio definido por las variables que describen cada elemento. La medida de similitud entre dos objetos, se puede definir

$$S_{i,j} = 1 - \frac{d_{ij}}{d_{\max}} \quad (2)$$

donde $S_{i,j}$ es la similitud entre los objetos i y j , d_{ij} es la distancia entre ellos y d_{\max} es la distancia máxima entre los objetos de la matriz de datos. Si dos objetos son idénticos, la distancia entre ellos es cero, y su similitud vale 1.

Se pueden utilizar diversas medidas de distancia; aquí se ha utilizado la distancia euclídea. Para más de dos dimensiones, la distancia euclídea al cuadrado vale

$$D_{AB}^2 = (X_A - X_B)^T (X_A - X_B) \quad (3)$$

donde X_i son las coordenadas del punto i que definen a un objeto o a una variable.

Se ha utilizado un método de cluster jerarquizado, que empieza con los distintos objetos por separado y los va agrupando en clusters según su similitud. Como método de unión de los clusters se ha utilizado el método de Ward, que utiliza

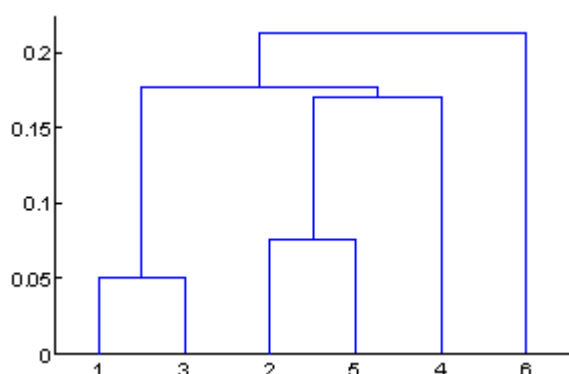


Figura 5. Dendrograma.

el cuadrado de la distancia euclídea. Se ha elegido por ser el método menos sensible a puntos anómalos y por formar clusters más compactos.

Los resultados se expresan en forma de dendrograma (figura 4), en el que se representan los distintos clusters hallados en función a su distancia.

Análisis de las componentes principales (PCA)

El análisis de las componentes principales (PCA)^{9,10} transforma el conjunto original de variables, que contiene información correlacionada y ruido, en otro conjunto de nuevas variables no correlacionadas entre sí, es decir, que no tenga repetición o redundancia en la información, llamado conjunto de componentes principales. Las nuevas variables son combinaciones lineales de las anteriores y se van construyendo según el orden de importancia en cuanto a la variabilidad total que recogen de la muestra, ya que cuanta más variabilidad recojan, más información proporcionan.

El objetivo del PCA es eliminar la información redundante y las variabilidades debidas al ruido; además es capaz de resaltar muestras anómalas y tendencias en los datos. Si las variables originales no están correlacionadas, no tiene sentido realizar un análisis de componentes principales.

El número de PC's máximo que podemos tener para describir el sistema es el número de variables menos uno (o el número de muestras menos uno si éste es menor que el anterior). La hipótesis de trabajo es que toda la información está contenida en las primeras *a* componentes principales, siendo el resto ruido. Para un determinado conjunto de datos, se construye un modelo seleccionando las *a* primeras componentes principales¹¹.

La interpretación geométrica del PCA es que se puede construir un espacio de *k* dimensiones de forma que cada una de ellas es una variable medida y las muestras se pueden presentar como puntos en este nuevo espacio. Cuando las muestras no tengan nada en común las unas con las otras, estarán dispersas en este espacio, pero si están relacionadas aparecerán agrupadas. Por lo tanto,

geométricamente es un cambio de ejes, representando las muestras en un nuevo sistema de coordenadas compuesto por un número menor de ejes que inicialmente. (Figura 6)

Matemáticamente (ecuación 4), el resultado del PCA es la descomposición de la matriz de datos original en el producto de dos matrices, la de scores, **T**, (proporciona información sobre las muestras) y la de loadings, **P**, (proporciona información sobre las variables). Los loadings definen los nuevos ejes de coordenadas respecto a los antiguos mediante el coseno del ángulo que forman entre ellos, y los scores son las coordenadas de las muestras en los nuevos ejes.

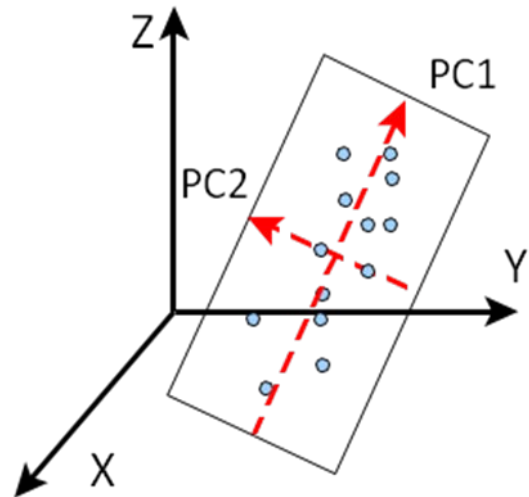


Figura 6. Interpretación geométrica del PCA
Además, nos queda una matriz de los residuales de **X** (lo que no se explica en el modelo), que es **E**.

Existen diferentes algoritmos de cálculo para realizar la descomposición¹², el software utilizado utiliza el algoritmo de NIPALS (Nonlinear Iterative Partial Least Squares)

$$\mathbf{X} = \mathbf{T} \mathbf{P}^T + \mathbf{E} \quad (4)$$

Objetivos

No hay que confundir el objetivo general del proyecto de investigación, con el objetivo, mucho más modesto, del “Treball de Recerca”, que consiste en la descripción de algunos de los datos obtenidos en la cosecha del 2008, en concreto los referentes a los polifenoles en uva y vino tempranillo, buscando las diferencias entre los resultados de distintas zonas climáticas.

Con esta descripción se busca adquirir los conocimientos generales del funcionamiento y peculiaridades del sistema vitícola utilizado en el estudio. También sirve como modelo base a seguir para ver las variaciones a lo largo de los años.

Obtención de los datos

Muestras

Zona continental (Bodegas Roda): 6 muestras de uvas. 3 de ellas recogidas antes del momento óptimo de madurez (26/09/08) y 3 más recogidas en el momento óptimo de madurez (08/10/08). Además, 3 muestras de vinos obtenidas al final de la fermentación alcohólica, correspondientes a la vinificación de las uvas recogidas en el momento de madurez. La muestra se tomó el 20 de Noviembre de 2008.

Zona mediterránea (Bodegas Torres): 6 muestras de uvas. 3 de ellas correspondientes con el momento óptimo de madurez (30/09/2008) y otras 3 muestras de uvas sobremaduras (27/10/2008). Además, 3 muestras de vinos obtenidas al final de la fermentación alcohólica correspondientes a la vinificación de las uvas recogidas en el momento de madurez. La muestra se tomó el 5 de Diciembre de 2008.

11

Datos analíticos

- Análisis de la composición cualitativa y cuantitativa de pigmentos antociánicos por HPLC-DAD-MS de vinos y hollejos.
- Separación de la fracción flavanólica (flavan-3-oles) y análisis cuantitativo y cualitativo de la misma por HPLC-DAD-MS de vinos, semillas y hollejos.
- Análisis cuantitativo y cualitativo de ácidos fenólicos (hidroxicinámicos e hidroxibenzoicos) por HPLC-DAD-MS de vinos, semillas y hollejos.
- Análisis cuantitativo y cualitativo de flavonoles por HPLC-DAD-MS de vinos, y hollejos.

Estos análisis han sido realizados por el Grupo de Investigación en Polifenoles (Área de Tecnología de los Alimentos) de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Salamanca

- Los datos climáticos han sido obtenidos de las estaciones meteorológicas instaladas en las parcelas correspondientes.
- Los análisis de la evolución de las bayas de uva han sido realizados en los laboratorios de las respectivas bodegas.

Software

Los datos estaban inicialmente en formato Excel. Para el análisis estadístico univariable y el análisis de cluster se ha utilizado el programa SPSS v.18 (SPSS Inc., IBM, USA).

Para el análisis multivariable se ha utilizado el programa The Unscrambler v. 9.8 (CAMO, Noruega).

Los gráficos se han utilizado con el programa SigmaPlot v.11 (Systat Software Inc., USA)

Resultados y discusión

1. Clima

En la figura 1.1 se muestra la precipitación total y la humedad relativa en las fincas donde se ha cultivado la variedad Tempranillo.

Se aprecia las diferencias de precipitación, casi siempre mayor en Roda que en Torres. Hay dos períodos de lluvia, en primavera (el máximo) y otoño, que en el caso de Roda se prolonga hasta Diciembre. En Torres se observan meses con una precipitación muy baja (Marzo, Agosto y Diciembre).

En la figura 1.2 vemos que la diferencia entre el clima mediterráneo y el continental hace que las temperaturas sean bastante distintas, aumentando progresivamente a lo largo del año hasta llegar a un máximo en julio – agosto. Sin embargo, la zona mediterránea presenta una radiación global media mucho más baja que la continental y casi constante.

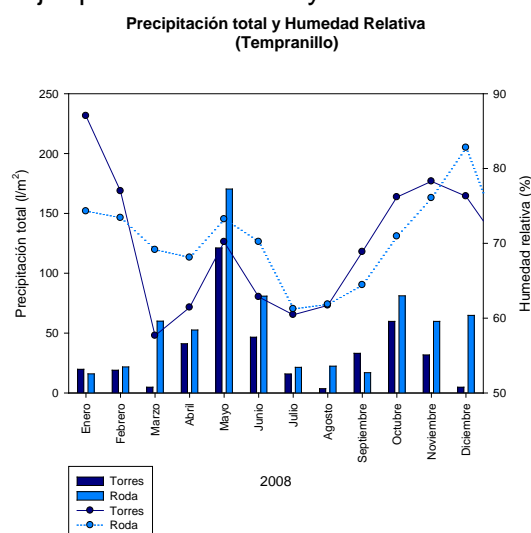


Figura 1.1. El diagrama de barras se refiere a la precipitación total, mientras que los puntos indican la humedad relativa.

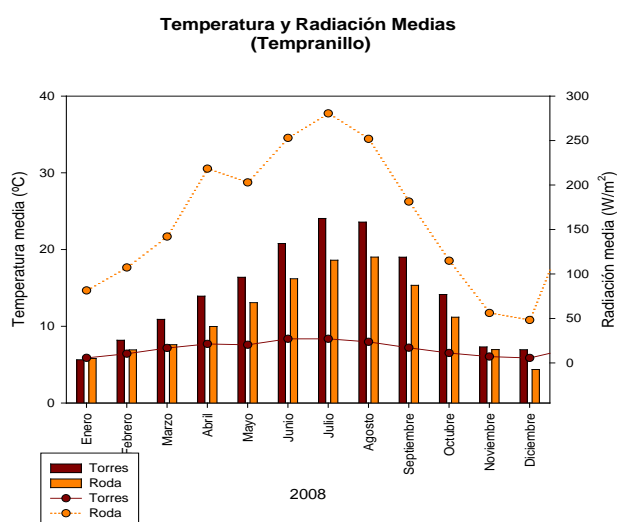


Figura 1.2. El diagrama de barras se refiere a la temperatura media, mientras que los puntos indican la radiación media.

La diferencia de clima entre las zonas mediterránea y continental, influye de manera clara en el crecimiento de la vid. Ya que las fases de desarrollo en las plantas dependen de la acumulación de una cierta cantidad de calor. Es útil la medida de los *growing degree days* (GDD) que son los grados de crecimiento que va acumulando la planta. Se considera que una planta sólo crece cuando la temperatura media se encuentra entre un intervalo de temperaturas, en el caso de la vid, entre $10^{\circ}C$ (T_{base}) y $30^{\circ}C$. Si es así, se calculan los grados de crecimiento según la ecuación 1.1, donde (T_{max}) es la temperatura máxima del aire, (T_{min}) la

temperatura mínima del aire y (T_{base}) es la temperatura mínima que necesita la planta para crecer¹³.

$$GDD = \frac{T_{max} + T_{min}}{2} - T_{base} \quad (1.1)$$

En la figura 1.3 se ha representado este efecto de la temperatura en el crecimiento de la variedad tempranillo. El clima mediterráneo proporciona una mayor acumulación de GDD, con la máxima pendiente entre julio y agosto. Por ello, la planta madura antes en este clima.

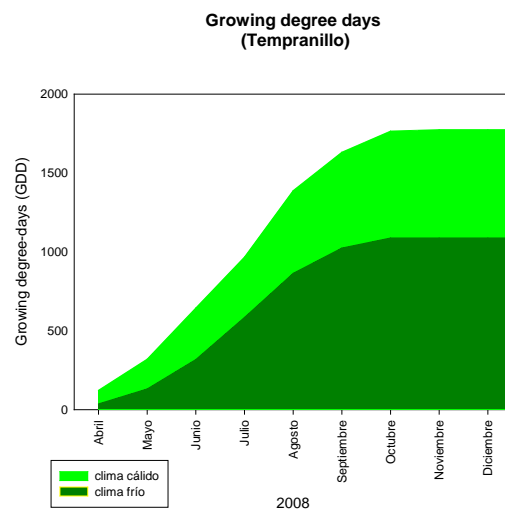


Figura 1.3. Días acumulados en los que la temperatura supera los 10°C

2. Maduración de la baya

Se ha estudiado la evolución de la maduración de la baya siguiendo unos pocos parámetros analíticos clásicos en viticultura, como son el contenido en azúcar de la baya (expresado en °Brix), la acidez total, la acidez maloláctica, y el peso de 100 bayas. Realizando un estudio de los datos mediante análisis en las componentes principales, en ambos tipos de uva, las muestras se ordenan a lo largo del primer componente principal según el estado de maduración. De manera que las uvas más verdes son las que tienen mayor concentración de ácidos y, a medida que van madurando, la acidez disminuye y va aumentando la concentración de azúcar y el peso de la baya. Como ejemplo, se muestran los gráficos de scores y loadings de la uva tempranillo de clima mediterráneo en la figura 2.1.

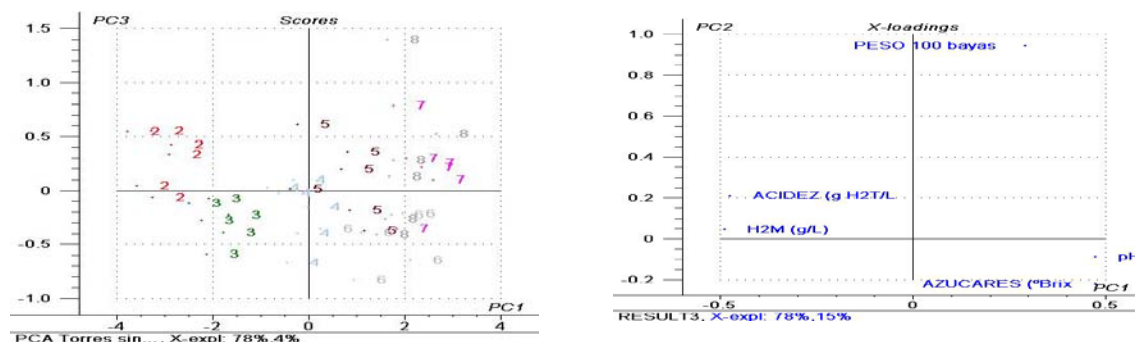


Figura 2.1. Gráfico de scores de la uva tempranillo en clima mediterráneo. distribuidas según el tiempo. Siendo el 2 las más verdes y el 8 las más maduras. Gráfico de Loadings de las muestras de uva tempranillo de clima mediterráneo.

3. Estudio de los compuestos fenólicos de uva tempranillo.

Se ha realizado el análisis en componentes principales de los distintos tipos de compuestos químicos que aparecen en los análisis del hollejo y las pepitas de la uva. Se han utilizado los datos autoescalados para eliminar la influencia de la concentración o unidades de la medida de los diferentes compuestos químicos. En todos los casos, dos componentes principales han explicado un porcentaje de varianza muy elevado, por lo que es posible extraer conclusiones de las representaciones de los scores y loadings de las dos primeras componentes principales.

También se ha llevado a cabo un estudio univariable, comparando los valores medios de:

- 1 Roda antes de la maduración / maduras.
- 2 Torres Maduras / Sobremaduras.
- 3 Maduras Torres / Maduras Roda.

Se ha realizado un análisis de la igualdad de varianzas con el método de Levene. Posteriormente se ha estudiado, para cada variable, si existían diferencias significativas entre las medias de los grupos, teniendo en cuenta el resultado de la prueba anterior. En todos los casos se ha utilizado $\alpha=0.05$.

3.1 Pigmentos en hollejo de uva tempranillo:

Se han utilizado todas las muestras y 10 variables (figura 3.1.1) :

Dos componentes principales explican el 99% de la varianza (PC1 95% y PC2 4%). Aparecen claramente agrupados los replicados. Las tres primeras muestras de Roda aparecen fuera de la frontera del modelo. A la derecha del primer PC están las muestras de uvas recogidas antes del punto de maduración en Roda

(P azul) con la máxima concentración de pigmentos. Le siguen las uvas vendimiadas maduras en Roda (M azul), que se mezclan con las vendimiadas maduras en Torres (M rojo). Hay poca diferencia entre Roda y Torres para las muestras maduras. En el gráfico de loadings se observa que, para el primer componente principal, todos los pigmentos tienen el mismo peso, se observa la distribución de su importancia en el segundo componente principal, pero éste sólo cuenta para un 4% de la variabilidad total.

En la figura 3.1.2 vemos que aunque se haya hallado tantos antocianos monoglucósidos como acilados, la concentración de los primeros es mucho mayor, dominada sobre todo por Delfinidina-3-O-glucósido y Petunidina-3-O-glucósido.

Todos los compuestos presentan diferencias significativas en el análisis univariable excepto el cumarato de cianidina, entre maduras y sobremaduras de Torres, y el cumarato de malvidina (trans), entre maduras de Torres y Roda.

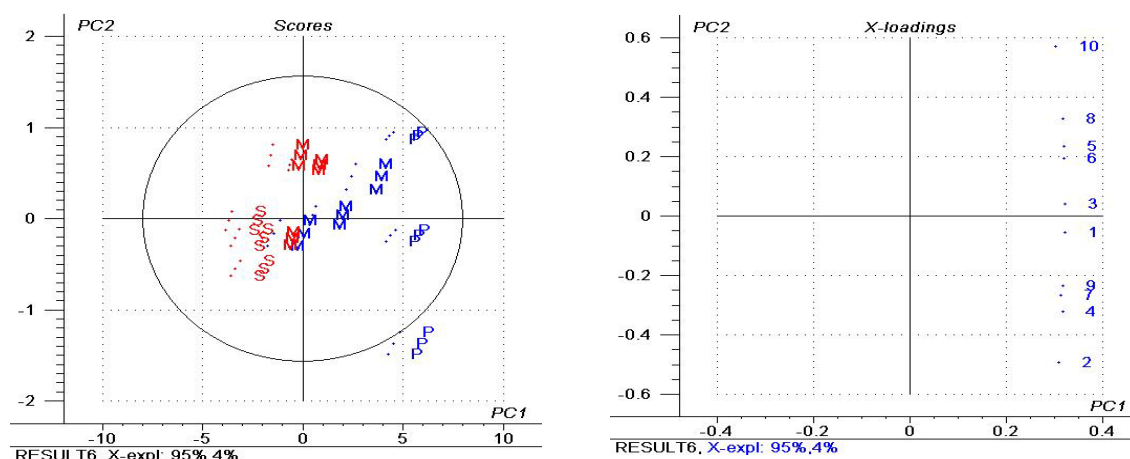


Figura 3.1.1: Gráfico de scores. Pigmentos hollejo. Datos autoescalados. Azul: Roda, Rojo: Torres; P: premaduro, M: maduro, S: sobremaduro. Gráfico de loadings. Pigmentos hollejo. Datos autoescalados. 1: Delfinidina-3-O-glucósido; 2: Cianidina-3-O-glucósido; 3: Petunidina-3-O-glucósido; 4: Peonidina-3-O-glucósido; 5: Malvidina-3-O-glucósido; 6: Acetato de Malvidina; 7: Cumarato de Cianidina; 8: Cumarato de Petunidina(trans); 9: Cumarato de Peonidina(trans); 10: Cumarato de Malvidina(trans).

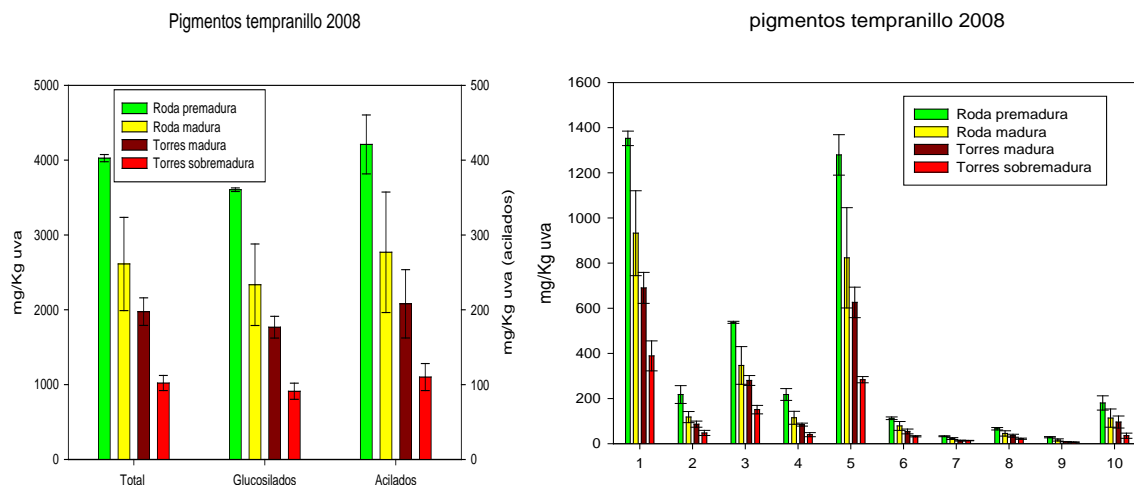


Figura 3.1.2. Composición antociánica (mg/kg de uva) de las muestras de uva estudiadas. Antocianos totales, monoglucósidos de antocianidinas y derivados acilados. Contenido (mg/kg de uva) en antocianos mayoritarios individualizados. 1 :Delfinidina-3-O-glucósido; 2:Cianidina-3-O-glucósido; 3:Petunidina-3-O-glucósido; 4:Peonidina-3-O-glucósido; 5:Malvidina-3-O-glucósido; 6:Acetato de Malvidina; 7:Cumarato de Cianidina; 8:Cumarato de Petunidina(trans); 9:Cumarato de Peonidina(trans); 10:Cumarato de Malvidina(trans).

3.2 Flavonoles en hollejo de uva tempranillo

Se han utilizado todas las muestras y 9 variables. (figura 3.2.1).

Dos componentes principales explican el 92% de la varianza (PC1 81% y PC2 11%). Las uvas maduras de Roda y las maduras de Torres aparecen en zonas distintas del primer componente principal. Si se considera el tiempo de maduración, tanto para las muestras de Torres (de maduras a sobremaduras) como para las de Roda (de previas a la maduración a maduras), al pasar más tiempo los datos caen hacia la derecha del primer componente principal. Las uvas maduras de Torres son las que menos concentración tienen; las sobremaduras de Torres tienen una concentración similar a las premaduras de Roda y las maduras de Roda son las que más concentración tienen.

Uno de los replicados aparece separado de las otras muestras de Torres maduras (muestras 22, 23 y 24) y sobremaduras (31, 32 y 33). Un replicado de Roda de las muestras maduras (muestras 13, 14 y 15) es distinto al resto y aparece lejos del modelo debido a valores muy elevados de miricetina aglucón.

En el gráfico de loadings se observa que los compuestos más importantes para el primer componente principal son Quercetina aglucón y Kaempferol aglucón. Para el segundo componente principal son Quercetina-3-O-glucósido y Miricetina aglucón, que están inversamente correlacionados.

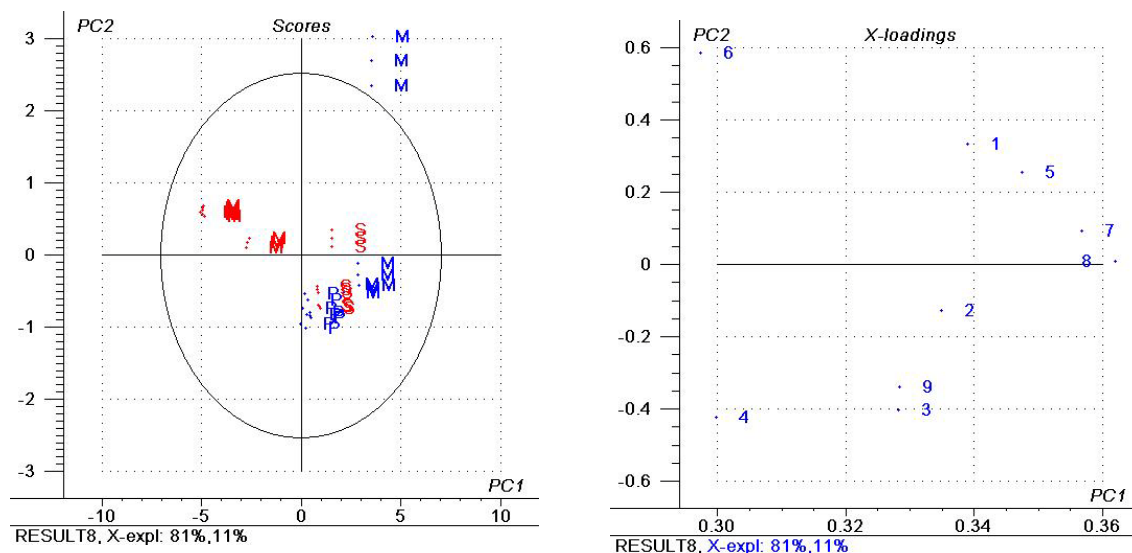


Figura 3.2.1: Gráfico de scores. Flavonoles hollejo. Datos autoescalados. Azul: Roda, Rojo: Torres; P: premaduro, M: maduro, S: sobremaduro. Gráfico de loadings. Flavonoles hollejo. Datos autoescalados. 1: Miricetina-3-O-galactósido; 2: Miricetina-3-O-glucósido, 3: Quercetina-3-O-galactósido; 4: Quercetina-3-O-glucósido; 5: Glucurónido de Quercetina; 6: Miricetina aglucón, 7: Quercetina aglucón; 8: Kaempferol aglucón, 9: I-aglucón.

En la figura 3.2.2 se observan diferencias importantes de concentración entre estados de maduración para el clima cálido, siendo las uvas sobremaduras las de mayor concentración de flavonoles, mientras que estas diferencias son menos acusadas para el clima frío. También hay diferencias importantes entre las uvas maduras de los diferentes climas, donde la mayor concentración es para el clima frío.

En el estudio univariable, todos los compuestos presentan diferencias significativas excepto miricetina-3-O-galactósido y miricetina-3-O-glucósido de Roda antes de la maduración y maduras.

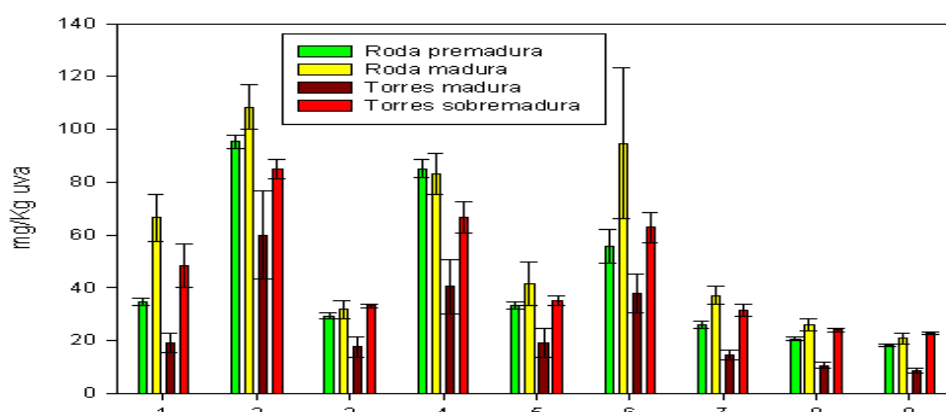


Figura 3.2.2. Contenido (mg/kg de uva) de los flavonoles analizados. 1:Miricetina-3-O-galactósido; 2:Miricetina-3-O-glucósido; 3:Quercetina-3-O-galactósido; 4:Quercetina-3-O-glucósido; 5:Glucurónido de quercetina; 6:Miricetina de aglucón; 7:Quercetina aglucón; 8:Kaempferol aglucón; 9:Isorhamnetina-aglucón

3.3 Flavan-3-oles en hollejo de uva tempranillo

Se han utilizado todas las muestras y 16 variables. (Figura 3.3.1)

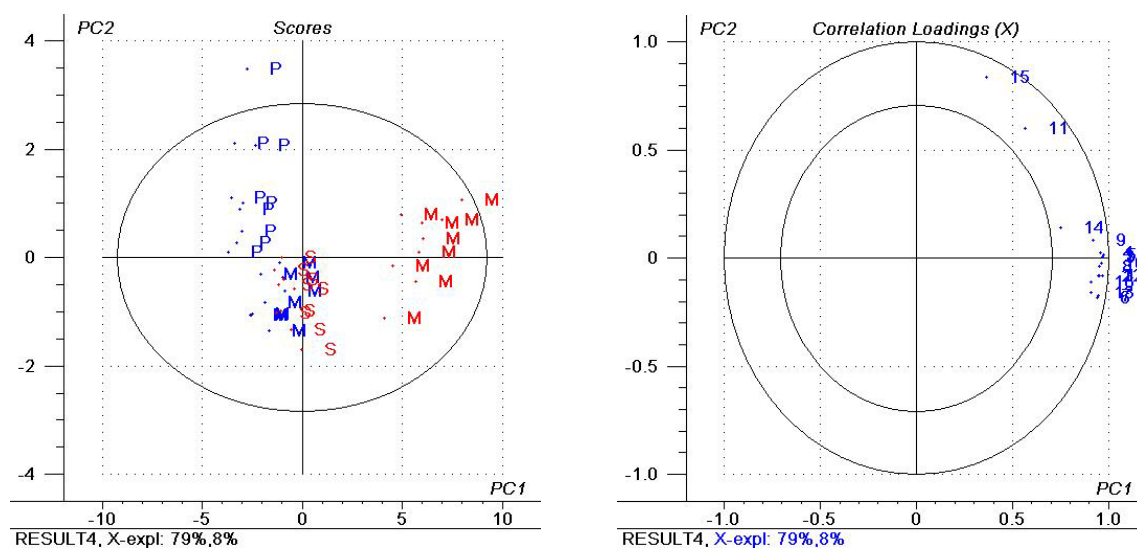


Figura 3.3.1.Gráfico de scores. Flavan-3-oles hollejo. Datos autoescalados. Azul: Roda, Rojo: Torres; P: premaduro, M: maduro, S: sobremaduro. Gráfico de loadings. Flavan-3-oles hollejo. Datos autoescalados. 1:Trímero C2; 2: Procianidina Tetrámero; 3: Prodelfinidina Dímera; 4: GC; 5: Prodelfinidina Dímera; 6: Prodelfinidina Trímera; 7: Prodelf Trímera; 8: Prodelf Tetrámero; 9: Prodelf Trímera; 10: Dímero B1; 11: Procianidina Trímera; 12: Catequina; 13: Procianidina Tetrámero; 14: Proc Trímera; 15: Dímero B2; 16: Epicatequina.

Los dos primeros componentes principales explican el 87% de la varianza de los datos (PC1 79% y PC2 8%). Se aprecia una mayor dispersión de las uvas de Roda recogidas antes de la maduración (código P azul) y una de ellas, la muestra 4,

aparece fuera de la frontera del modelo. Las muestras maduras de Roda se confunden con las sobremaduras de Torres.

En el gráfico de loadings con los datos autoescalados, todas las variables tienen importancia en la explicación del modelo. Se observa que PC2 viene marcado por los valores de las variables 15 y 11. La muestra 4 que aparece fuera de la frontera es la que tiene valores mayores de estas variables, especialmente de la 11. Todas las variables que definen el primer componente principal están muy correlacionadas, pero destacan: 6 y 7, 2 y 12; 3 y 5.

En la figura 3.3.2 se aprecia que las mayores diferencias de concentración se encuentran entre los estados de maduración maduro y sobremaduro del clima cálido. Además la concentración de flavan-3-oles en las uvas maduras del clima cálido es mucho mayor que en cualquier otro caso.

Los únicos compuestos que no presentan diferencias significativas en el análisis univariable son los compuestos nº 1, 2, 6 y 7 en el caso de las uvas de Roda, cuando se compara entre las muestras premaduras y maduras.

Flavan-3-oles tempranillo 2008

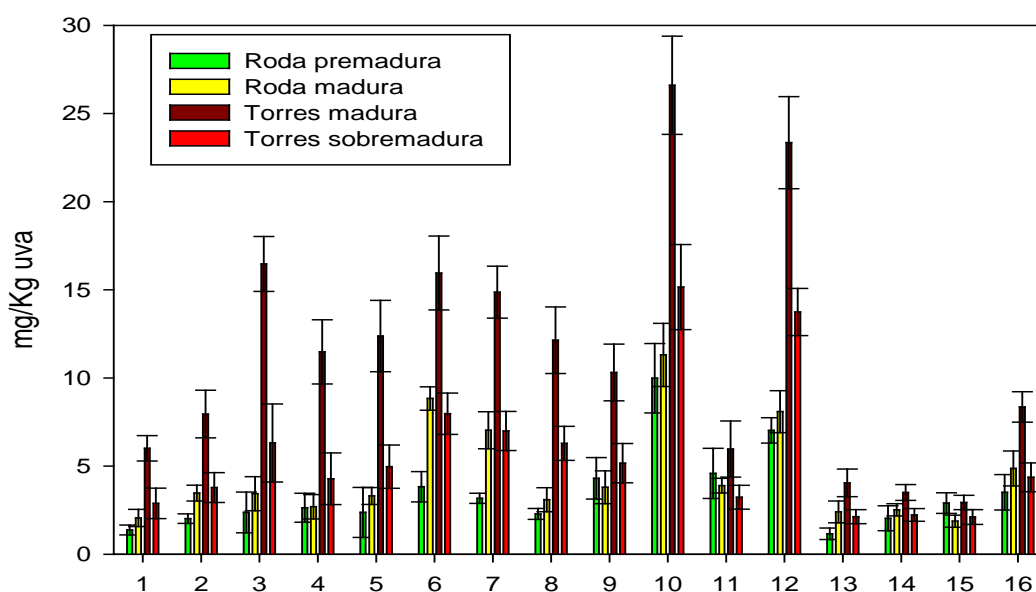


Figura 3.3.2. Contenido (mg/kg de uva) de los flavan-3-oles analizados. 1:Trímero C2; 2:Proc Tetrámero; 3:Prodlf Dímera; 4:GC; 5:Prodlf Dímera; 6:Prodlf Trímera; 7:Prodlf Trímera; 8:Prodlf Tetrámera; 9:Prodlf trímera; 10:Dímero B1; 11:Proc Trímera; 12:Catequina; 13:Proc Tetámero; 14:Proc Trímera; 15:Dímero B2; 16:Epicatequina

3.4 Ácidos fenólicos en hollejo de uva tempranillo

Se han utilizado todas las muestras y 8 variables. (figura 3.4.1)

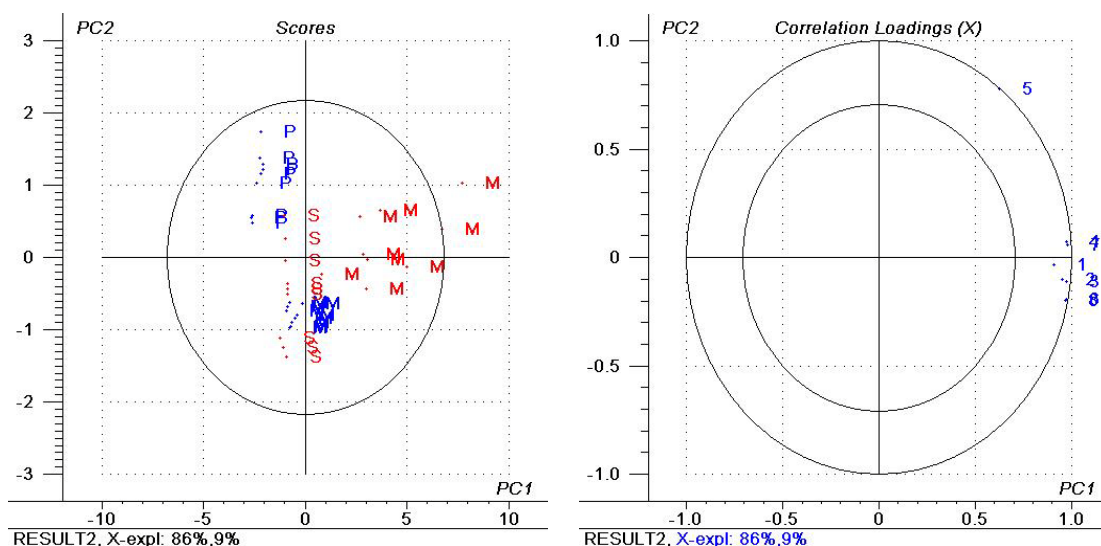


Figura 3.4.1. Gráfico de scores. Ácidos fenólicos hollejo. Datos autoescalados. Azul: Roda, Rojo: Torres; P: premaduro, M: maduro, S: sobremaduro. Gráfico de loadings. Ácidos fenólicos hollejo. Datos autoescalados. 1: Ácido Gálico; 2:Galato de metilo; 3: Ácido trans-Caftárico; 4: Ácido Ferúlico; 5: Ácido trans-Fertárico; 6: Hexosa ester de ácido cis-p-Cumárico; 7: Ácido Cafeico; 8: Hexosa ester de ácido trans-p-Cumárico

Dos componentes principales explican el 95% de la varianza (PC1 86% y PC2 9%). Para Roda, las muestras maduras aparecen a la derecha de las premaduras, mientras que para Torres las maduras aparecen a la derecha de las sobremaduras. En este caso, las muestras sobremaduras de Torres aparecen junto con las maduras de Roda. Las muestras maduras de Torres tienen una dispersión elevada, con la muestra 23 de Torres a una elevada distancia del modelo.

Observando los loadings, el ácido trans-fertárico tiene importancia en el segundo PC. Se observa la alta correlación entre pares de variables: los ácidos ferúlico y cafeico; la hexosa éster de ácido cis-p-cumárico y la hexosa éster de ácido trans-p-cumárico; y el galato de metilo con el ácido trans-caftárico. Todos ellos con una influencia mayor en las muestras de Torres que en las de Roda.

Como se observa en la figura 3.4.2 la concentración de ácidos benzoicos y cinámicos es similar. La mayor diferencia de concentración se encuentra entre los estados maduro y sobremaduro de las uvas de clima cálido.

Además de que las uvas maduras de clima cálido presentan una concentración mucho mayor que el resto. Los ácidos Hexosa ester de ácido cis-p-cumárico y Hexosa ester de á. trans-p-cumárico y el Galato de metilo son los ácidos fenólicos más abundantes.

Todos los ácidos fenólicos tienen diferencias significativas en el análisis univariable.

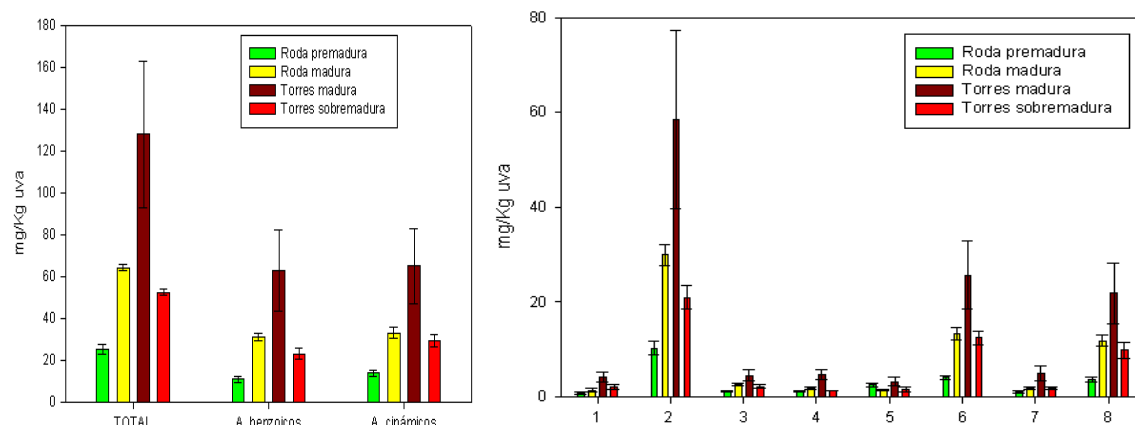


Figura 3.4.2. Contenido (mg/kg de uva) de los ácidos fenólicos. 1:Á. gálico; 2:Galato de metilo; 3:Á. trans- caftárico; 4:Á ferúlico; 5:Á trans-fertárico; 6:Hexosa ester de ácido cis-p-cumárico; 7:ácido cafeico; 8:Hexosa ester de á. trans-p-cumárico.

3.5 Visión conjunta para el hollejo de uva tempranillo

Para tener una visión conjunta de la influencia de los distintos tipos de variables, se han analizado todas las muestras utilizando como variables los valores acumulados de los distintos compuestos. 9 variables.(figura 3.5.1)

Dos componentes principales explican el 87% de la variabilidad (PC1 66% y PC2 21%). El segundo componente principal es el que separa por el tiempo de maduración, premaduras en un extremo y sobremaduras en otro, en medio las vendimiadas maduras.Los datos de Torres de uvas maduras y subremaduras y los de Roda premaduras, presentan poca dispersión, mientras que los de Roda maduras están muy separados. El primer componente principal separa según el origen de zona cálida y zona fría.

En el gráfico de loadings se observa que todas las variables elegidas tienen gran importancia en el modelo. Los pigmentos glucosilados y acilados están muy correlacionados entre sí y son importantes en el segundo componente principal. El paso de muestras premaduras a sobremaduras implica una disminución de los valores de ambas variables. Los ácidos fenólicos (Hben y Hcin), junto con los flavan-3-oles (procianidinas y prodelfinidinas), son mayores en las muestras maduras de Torres que en las maduras de Roda. Los flavonoles (miricetina, quercetina e isorhamnetina total) tienen mayor concentración en las muestras maduras de Roda que en las de Torres.

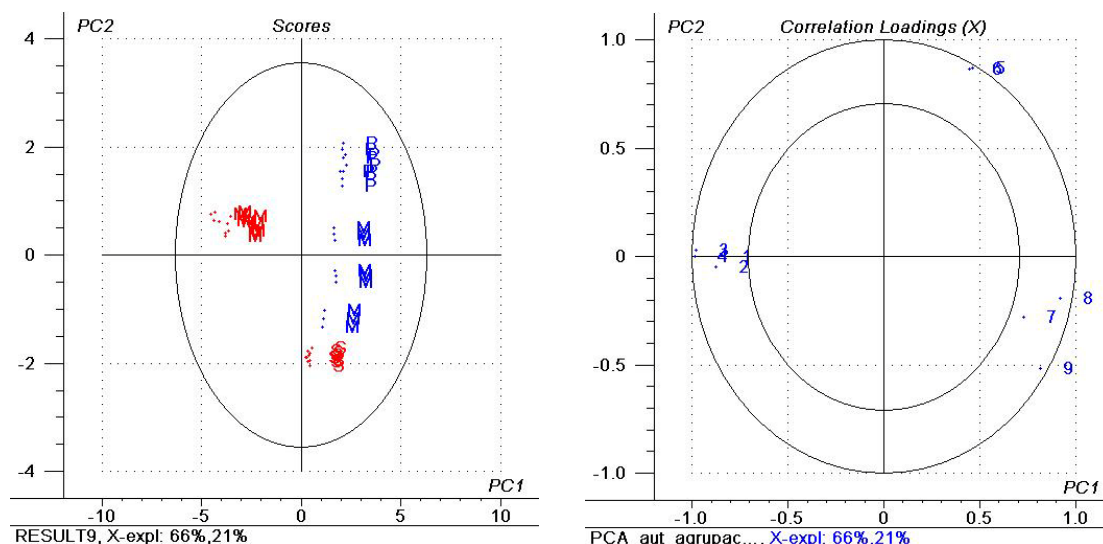


Figura 3.5.1 Gráfico de scores. Todos los tipos de datos hollejo. Datos autoescalados. Azul: Roda, Rojo: Torres; P: premaduro, M: maduro, S: sobremaduro. Gráfico de loadings. Todos los tipos de datos de hollejo. Datos autoescalados. 1: Ácidos Hidroxiben; 2: Ácidos Hidroxicinnámicos; 3: Procianidinas; 4: Prodelphinidinas; 5: Pigmentos glucosilados; 6: Pigmentos acilados; 7: Total miricetina; 8: Total quercetina; 9: Total Isorhamnetina.

3.6 Flavan-3-oles semillas uva tempranillo

Se han analizado 36 muestras y 14 variables. (Figura 3.6.1)

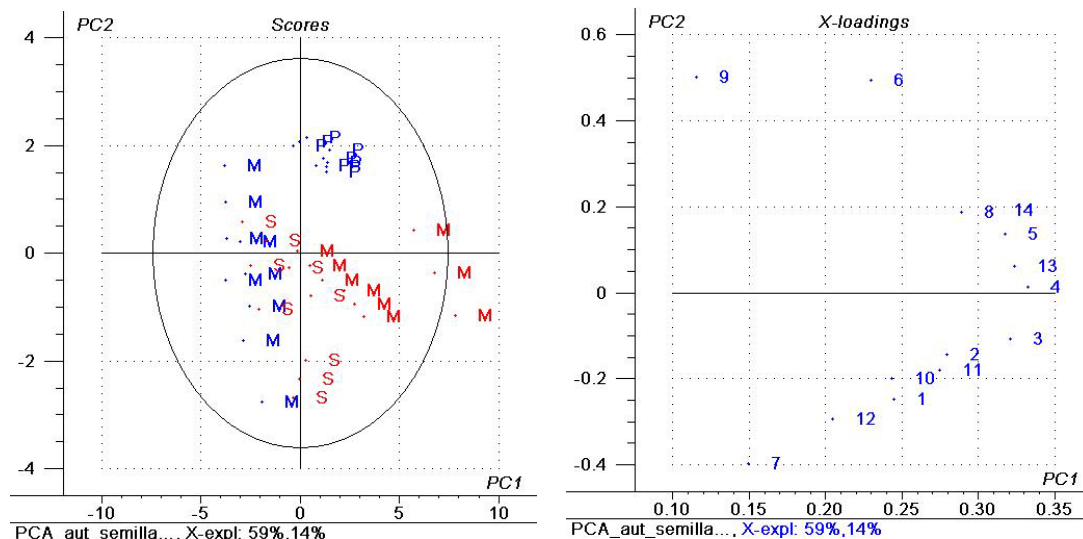


Figura 3.6.1. Gráfico de scores. Azul: Roda, Rojo: Torres; P: premaduro, M: maduro, S: sobremaduro. Gráfico de loadings. 1: Trímero C2; 2: Dímero B1; 3: Dímero B3; 4: Trímero EEC; 5: Catequina; 6: Dímero B4; 7: Dímero B6; 8: Dímero B2; 9: Epicatequina; 10: Dímero B2-3-O-galato; 11: Dímero B2-3'-O-galato; 12: Dímero B7; 13: Trímero C1; 14: Epicatequina Galato.

Dos componentes principales explican el 73% de la variabilidad (PC1 59% y PC2 14%). Los replicados aunque alejados unos de otros, se siguen distinguiendo algunos de ellos. Las muestras maduras de Roda se extienden a lo largo del

segundo componente principal, mientras que las premaduras quedan muy agrupadas. Las muestras de Torres también tienen una alta dispersión. Al estudiar los loadings, todas las variables contribuyen a explicar una gran parte de la varianza. En la figura se han representado los loadings, no la correlación de los loadings, para ver mejor cada variable. El primer componente principal viene influido, principalmente por las variables Dímero B3, Trímero EEC, Catequina y Trímero C1. El segundo componente principal por las variables Dímero B4, Dímero B6 y Epicatequina.

En la Figura 3.6.2 vemos que los flavon-3-oles más abundantes en las semillas son: Catequina, Dímero B2 y Epicatequina.

Realizando un análisis univariable, se encuentra que al comparar los valores de Roda antes de la maduración y maduras, existen diferencias significativas para los compuestos Trímero C2, Dímero B6, Dímero B2-3-O-galato, Dímero B2-3'-O-galato y Dímero B7. Al comparar los valores de Torres, entre muestras maduras y sobremaduras, hay diferencias significativas para los compuestos Trímero C2, Dímero B1, Dímero B6, Dímero B2 y Epicatequina.

Al comparar los valores de las muestras maduras de Torres y Roda, hay diferencias significativas para los compuestos Trímero C2, Dímero B6, Dímero B2 y Epicatequina.

Flavan-3-oles semillas tempranillo 2008

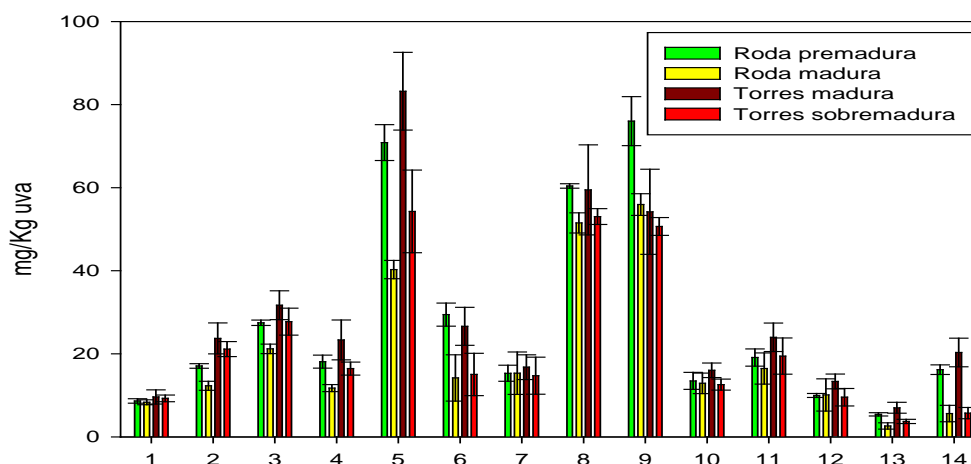


Figura 3.6.2. Contenido (mg/kg de uva) de flavan-3-oles en las semillas. 1:Trímero C2; 2:Dímero B1; 3:Dímero B3; 4:Trímero EEC; 5:Catequina; 6:Dímero B4; 7:Dímero B6, 8:Dímero B2; 9:Epicatequina; 10:Dímero B2-3-O-galato; 11:Dímero B2-3'-O-galato; 12:Dímero B7; 13:Trímero C1; 14:Epicatequina Galato.

3.7 Ácidos fenólicos semillas uva tempranillo

Se han utilizado 36 muestras y 2 variables. (figura 3.7.1)

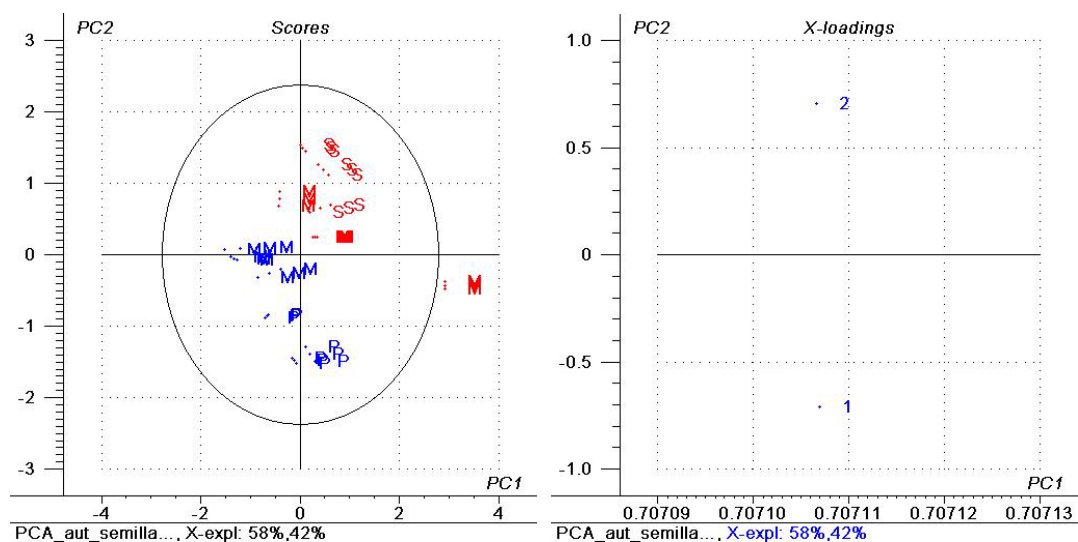


Figura 3.7.1 Gráfico de scores. Azul: Roda, Rojo: Torres; P: premaduro, M: maduro, S: sobremaduro. Gráfico de loadings. 1: Ácido Gálico; 2: Ácido Protocatéutico.

El PC1 explica el 58% de la varianza y PC2 el 42%. La distribución de las muestras en el gráfico de scores no presenta una separación clara entre las muestras maduras y sobremaduras de Torres.

En el gráfico de loadings se ve que ambas variables tienen la misma importancia en el primer componente principal, pero están inversamente correlacionadas en el segundo componente principal.

En la figura 3.7.2 vemos que la concentración de ácidos fenólicos en las semillas es principalmente debida al ácido gálico.

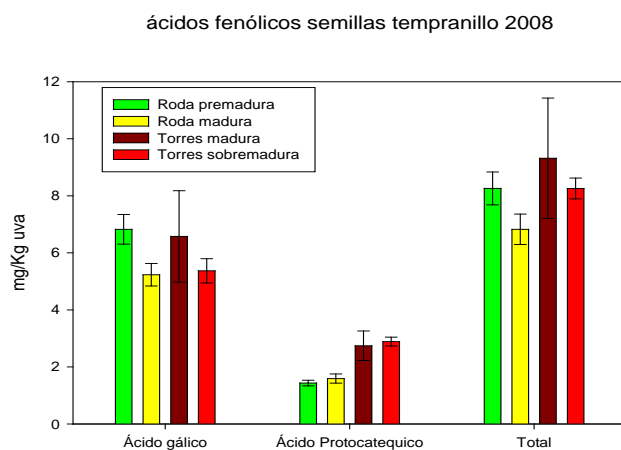


Figura 3.7.2 Contenido (mg/kg de uva) de ácidos fenólicos en pepitas

Los dos compuestos muestran diferencias significativas cuando se realiza el análisis univariable, tanto entre muestras maduras y sobremaduras de Torres como entre premaduras y maduras de Roda. También hay diferencias significativas entre Torres y Roda.

3.8 Visión conjunta para las semillas de uva tempranillo

Se ha realizado un PCA utilizando todas las muestras y las 10 variables que resumen los datos individuales estudiados anteriormente.

En el análisis, las muestras de Torres maduras (22, 23 y 24) salen fuera de la frontera del modelo, por lo que se repitió el análisis eliminándolas (figura 3.8.1). Dos componentes principales explican el 83% de la variabilidad (PC1 67% y PC2 16%). Los datos de las semillas presentan una mayor dispersión que los de hollejo. Los que aparecen más agrupados son los premaduros de Roda, que se separan claramente de los maduros de Roda. En Torres la dispersión es aún mayor y no se aprecia una separación clara entre muestras maduras y sobremaduras. Todas las variables utilizadas contribuyen de forma importante a explicar la variabilidad de los datos. Los Pentámeros y los Hexámeros son las variables que influyen más en el segundo componente principal. A partir del gráfico de loadings, las muestras maduras de Roda tienen un mayor contenido en hexámeros. Hay una alta correlación entre galoilados y tetrámeros, así como entre dímeros y trímeros. Dímeros, trímeros y no galoilados son los que contribuyen más al primer componente principal.

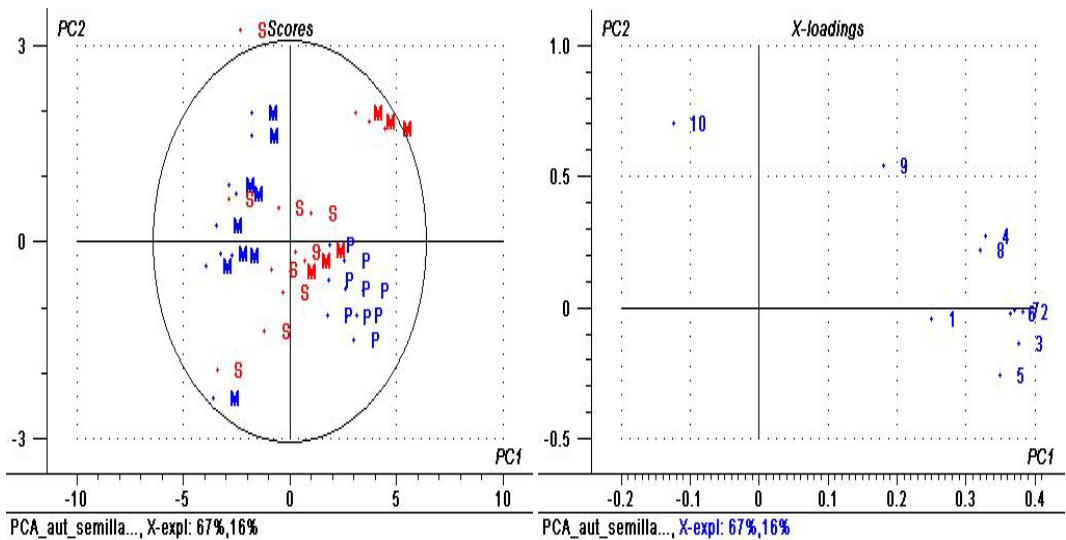


Figura 3.8.1. Gráfico de scores. Eliminadas las muestras 22, 23 y 24 que corresponden a maduras de Torres. Azul: Roda, Rojo: Torres; P: premaduro, M: maduro, S: sobremaduro. Gráfico de loadings. 1: Ácidos fenólicos totales; 2: Flavan-3-oles totales; 3: No Galoílados; 4: Galoílados; 5: Monómeros; 6: Dímeros; 7: Trímeros; 8: Tetrámeros; 9: Pentámeros; 10: Hexámeros.

4. Estudio de los compuestos fenólicos de vino tempranillo.

Para todos los compuestos fenólicos estudiados en el vino (tabla 5 del anexo) hay una separación clara entre climas (figura 4.1), aunque esta separación, en el caso de los pigmentos, no se pueda proyectar en un eje individual. Todas las variables son significativas.

En el caso de los pigmentos, el compuesto Cianidina-3-O-glucósido es el único con más concentración en clima cálido que frío, todos los demás presentan mayor concentración en clima frío. Al contrario que los flavonoles donde todos excepto Miricetina aglucón presentan mayor concentración en clima cálido que en frío. Los flavan-3-oles que presentan mayor concentración en clima frío son: Prodelphinidina Trímera, Procianidina Trímera, Procianidina Trímera (C1) y Procianidina Dímero galoilado (B2-G). Los demás presentan mayor concentración en clima cálido. Y los ácidos fenólicos que presentan mayor concentración en clima frío son: Ácido cis-Cutárico, Ácido trans-Cutárico, Ácido trans-Fertárico, Ácido Cafeico, Ácido trans-p-Cumárico.

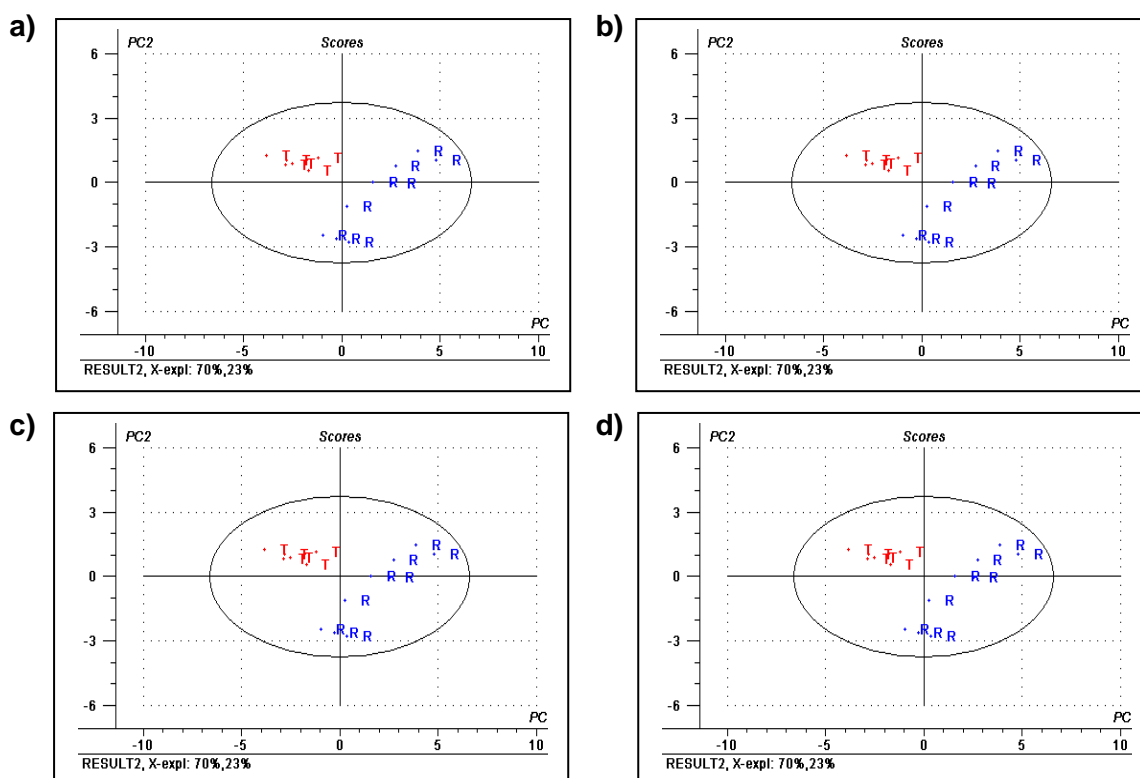


Figura 4.1. a) Pigmentos, b) Flavonoles, c) Flavan-3-oles y d) Ácidos fenólicos en vino tempranillo. Gráficos de scores para cada uno. Datos autoescalados. Sin muestras anómalas excepto . menos muestras 13, 14 y 15 en los ácidos fenólicos. R: Muestras de Roda (zona fría). T: Muestras de Torres (zona cálida).

Si hacemos el análisis conjunto para todos los compuestos fenólicos, las conclusiones son las mismas que en el análisis por grupos. Y si se realiza un

análisis de clúster de las variables, los dos grandes grupos en que estas se dividen coincide con los encontrados al realizar los PCA. (Figura 4.2).

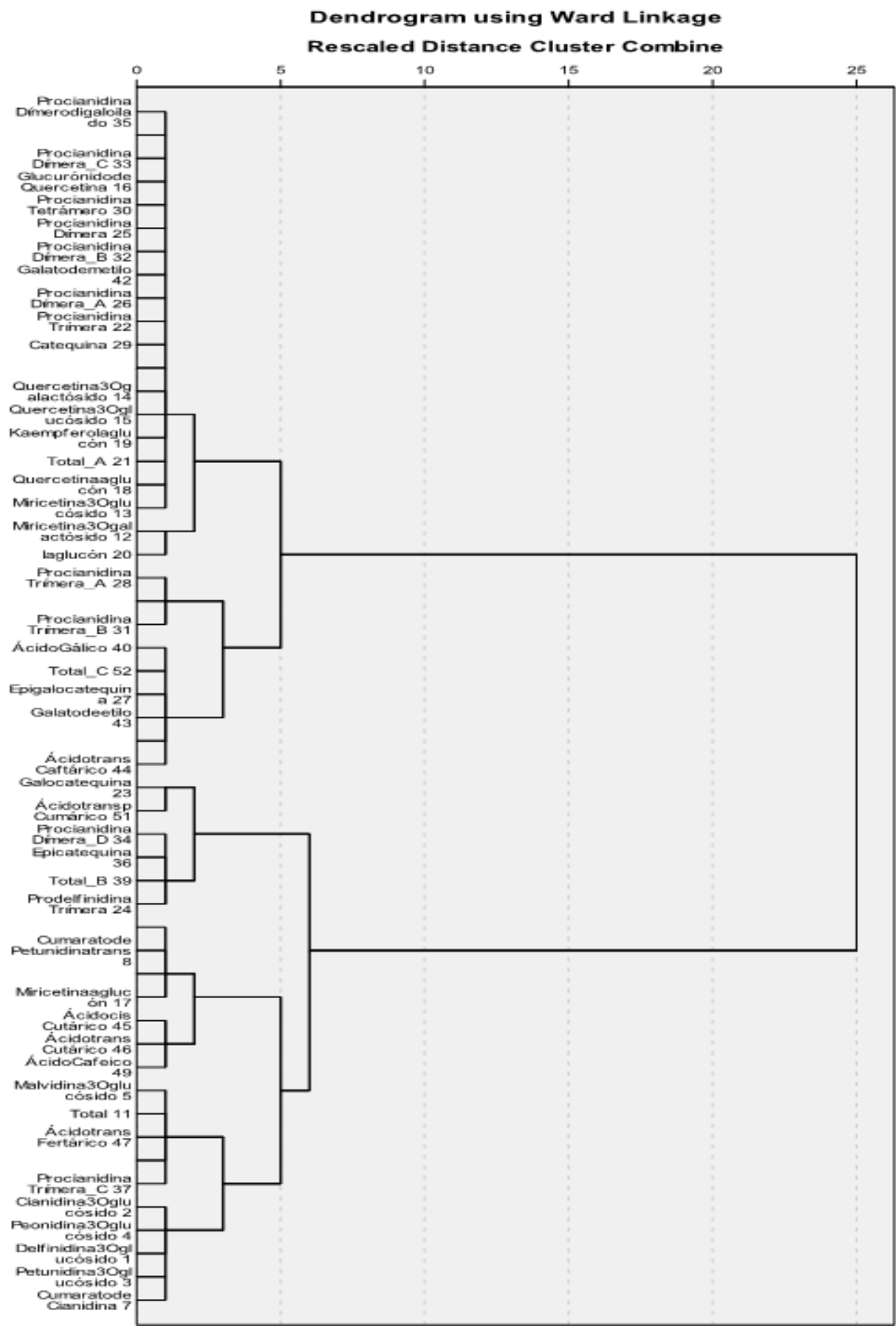


Figura 4.2. Análisis de clúster de las variables.

Conclusiones

Los climas son efectivamente diferentes, estas diferencias se deben principalmente a las diferencias de precipitación y temperatura. De manera que el clima frío se caracteriza por lluvias abundantes y continuas, menor temperatura pero mayor radiación solar y el cálido por lluvias escasas y mayor temperatura con una radiación solar menor pero continua. Por lo tanto, al estudiar las diferencias entre las uvas, vides o vinos de diferentes climas, podemos saber el efecto que la precipitación y la temperatura tienen sobre ellos. En resumen, los efectos observados son:

- Crecimiento de la planta más rápido para el clima cálido.
- Mayor velocidad de maduración para el clima cálido.
- Contra más verde es la uva, más concentración de los pigmentos libres en el hollejo.
- No hay mucha diferencia de concentración entre los pigmentos del hollejo de las uvas maduras según el clima, pero es ligeramente superior para el clima frío.
- La mayoría de los antocianos se encuentran de forma glucosilada.
- Tienen mayor concentración de flavonoles en hollejo las uvas de clima frío.
- Contra más madura sea la uva, mayor concentración de flavonoles en hollejo.
- Hay mayor concentración de flavan-3-oles en hollejo para el clima cálido
- Las muestras sobremaduras de clima cálido y maduras de clima frío son similares respecto a la concentración de flavan-3-oles y ácidos fenólicos en hollejo.
- Presentan mayor concentración de ácidos fenólicos en hollejo las muestras de clima cálido.
- La concentración de pigmentos en hollejo varía mucho según el estado de maduración.
- La composición de flavan-3-oles es muy parecida en todas las semillas premaduras mientras que las maduras presentan composiciones muy diferentes.
- Las semillas de clima cálido tienen más concentración de flavan-3-oles.
- La concentración de ácidos fenólicos en las semillas es mayoritariamente debida al ácido gálico.
- El estudio de compuestos fenólicos en vino separa perfectamente entre climas.

Por lo tanto en el clima cálido la planta crece y madura antes y las uvas presentan mayor concentración de flavan-3-oles y ácidos fenólicos en hollejo, y flavan-3-oles en semillas. En cambio las uvas de clima frío presentan mayor concentración de flavonoles en hollejo. Entonces si usamos como criterio de calidad la pigmentación es mejor cultivar las uvas en el clima frío, ya que los flavonoles son los mejores copigmentos mientras que los flavan-3-oles son unos copigmentos poco eficientes y la concentración de antocianos (pigmentos) no se ve afectada por el clima.

Aunque los pigmentos en hollejo no sean indicadores de diferencias entre climas, es un buen indicador (el mejor entre las variables polifenólicas estudiadas) del cambio en el estado de maduración de las uvas.

Bibliografía

- ¹ Organización internacional de la viña y el vino. (2010, Julio) Disponible en: <http://www.oiv.int/es/accueil/index.php>
- ² J. M. Moreno Rodríguez. *Cambio Climático: Principales Conclusiones de la Evaluación Preliminar de los Impactos en España por Efecto del Cambio Climático*. Madrid: Centro de Publicaciones. Secretaría General Técnica. Ministerio de Medio Ambiente. 2005.
- ³ D. Harvey, J. Gregory, M. Hoffert, A. Jain, M. Lal, R. Leemans, S. Raper, T. Wigley, J. de Wolde. *Introducción a los modelos climáticos simples utilizados en el Segundo Informe de Evaluación del IPCC*. 1997. Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático ISBN: 92-9169-301-4
- ⁴ I. Hermosín Gutiérrez, L. Sánchez-Palomo, A. Vicario Espinosa. *Food Chem.* **92** (2005) 269-283.
- ⁵ G. A. Morgan et al. *SPSS for introductory Statistics*. 2nd Edition. Lawrence Erlbaum Associates. New Jersey, USA (2004).
- ⁶ B.G.M. Vandegiste, D.L. Massard, L.C. Buydens, S. De Jong, P.J. Lewi, J. Smeyers-Verbeke. *Handbook of Chemometrics and Qualimetrics. Part A*. Elsevier. Amsterdam (1998).
- ⁷ D. Cozzolino et. al. *International Journal of Wine Research* **1** (2009). 123.
- ⁸ N. Bratchell. *Chemom. Int. Lab. Syst.*, **6** (1989) 105-125.
- ⁹ B.G.M. Vandegiste, D.L. Massard, L.C. Buydens, S. De Jong, P.J. Lewi, J. Smeyers-Verbeke. *Handbook of Chemometrics and Qualimetrics. Part B*. Elsevier. Amsterdam (1998).
- ¹⁰ S. Wold, K. Esbensen, P. Geladi. *Chemom. Int. Lab. Syst.*, **2** (1987) 37-52.
- ¹¹ E.R. Malinowsky. *Factor Analysis in Chemistry*, 3rd edition Wiley, New York (2002).
- ¹² J.E. Jackson, *A User's Guide to Principal Components*. Wiley, New York (1991).
- ¹³ M. Kadioglu, L. Saylan. *Water Air Soil Poll.*, **126** (2001) 83-96.

1. DATOS A ESTUDIO:

Los datos que se van a tratar durante los 4 años que dura el proyecto son los de la tabla 1.

Tipo de datos	
viticultura	uva
Clima	Aminoácidos
Biomasa	Prec.aromas
Rendimiento	Polifenoles
Peso Madera Poda	Polisacáridos
Crecimiento Vegetativo	Prótidos
Fenología	Cata
Desarrollo de la Baya	vino
potencial hídrico	Prec.aromas
	Polifenoles
Riego	Cata

Tabla 1. Tipo de datos a tratar, agrupados por categorías.

1.1 DATOS DE VITICULTURA

El objetivo es establecer las características climáticas de cada finca. No sólo se estudian variables climáticas como la temperatura, la precipitación total, la humedad relativa etc., sino también otros factores directamente relacionados con el clima, como por ejemplo la fenología, que estudia los fenómenos naturales que se manifiestan periódicamente en las plantas y animales (la brotación, la floración...) y la relación entre éstos con el clima y los cambios de estación. Para facilitar el manejo de esta información, se han descrito los estados fenológicos que hacen referencia a momentos concretos del crecimiento y desarrollo de órganos vegetativos y reproductores. La manifestación y sucesión de los estados fenológicos es consecuencia de la interacción del genotipo con el medio ambiente. Así pues, puede ser importante la comparación de los estados fenológicos de las vides en diferentes situaciones climáticas. Para este estudio se ha utilizado la escala de Eichhorn y Lorenz modificada por Coombe¹ que asigna un número a cada uno de los estados fenológicos de la vid. Éstos se determinan por observación directa y por mediciones de largo de brotes, número de hojas, diámetro de bayas y madurez.

^{1.} ¹ B.G. Coombe. *Aust. J. Grape and Wine Res.*, 1995. **1**, 100

Los datos de biomasa constan del peso de la biomasa vegetativa, que es la parte que la vid utiliza para aprovechar los recursos de luz y agua, es decir, las hojas y las raíces, y del peso de la biomasa reproductiva que es la parte de la vid que se encarga de descendencia futura, es decir, las semillas.

El rendimiento en la vid se mide de varias maneras como por ejemplo el número de racimos de uva por cepa, el número de bayas por cada racimo o los Kg de uva por cepa.

El peso de la madera de la poda es un factor a tener en cuenta ya que la poda es una operación que busca entre otras cosas regular la producción, es importante la medida del índice ravaz, que es el cociente entre la producción de uva y el peso de la madera de la poda.

El crecimiento vegetativo no es más que el control diario de longitud de las plantas y se mide en cm.

En el desarrollo de la baya vemos la evolución de unos cuantos parámetros como el peso, la acidez, el pH y los azúcares de las bayas a lo largo del tiempo.

También se va a controlar el potencial hídrico y el riego para estudiar su efecto.

1.2 DATOS DE UVA

Además de los polifenoles, para las muestras de uva se ha estudiado el contenido de aminoácidos (tabla 2) y de precursores de aromas (tabla 3).

En la uva albariño, también se ha estudiado el contenido de polisacáridos y proteínas en hollejo, pulpa y semillas.

Aminoácidos en uva		
Acido aspártico	Arginina	Metionina
Asparagina	Treonina	Ornintina
Serina	Alanina	Lisina
Acido glutámico	Prolina	Isoleucina
Histidina	acido γ -aminobutírico	Leucina
Glutamina	Tirosina	Fenilalanina
Glicina	Valina	

Tabla 2. Aminoácidos estudiados

Precursores de aromas en uva				
α -terpinoleno	Ácido 3-metilbutírico	β -feniletanol	4-vinilguaiacol	Vainillina
(Z)-3-Hexen-1-ol	Ácido 2-metilbutírico	β -ionona	2,6-dimetoxifenol	Vanillato de metilo
(Z)-oxido de linalol	α -Terpineol	Ácido 2-etilhexanóico	(E)-isoeugenol	Vanillato de etilo
(E)-oxido de linalol	β -damascenona	Pantolactona	4-vinilfenol	Acetovanillona
Benzaldehido	Geraniol	2-fenoxietanol	Ácido benzoico	Zingerona
Linalol	Guaiacol	Eugenol	4-alil-2,6-dimetoxifenol	Siringaldehido
Fenilacetaldehido	Alcohol bencílico	4-etilfenol	Ácido fenilacético	Acetosiringona
Vitispirano A	Vitispirano B	Acetato de linalol	Riesling acetal	δ -terpineol
TDN	TPB	3-Oxo- β -ionona	Actinidoles	Norisoprenoide 1
Ácido nérico	Dihidrometil-eugenol			

Tabla 3. Precursores de aromas en uva.

1.3 DATOS DE VINO

Tanto en vino tempranillo como albariño, se ha estudiado el contenido de precursores de aromas (tabla 4) y el de compuestos fenólicos (tabla 5).

También se han estudiado las puntuaciones correspondientes a su cata.

Precusores de aromas en vino				
5-hidroxi-metilfurfural	Furfural	Butirato de etilo	Vanillato de etilo	Ácido butírico
Acetoína	3-Hidroxibutirato de etilo	Decanoato de etilo	α -Terpineol	Ácido decanoico
Acetovanillona	Acetato de butilo	Hexanoato de etilo	β -citronelol	Ácido Fenilacético
α -ionona	Acetato de feniletilo	Isovalerato de etilo	Geraniol	Ácido hexanoico
β -Damascenona	Acetato de hexilo	Lactato de etilo	Linalool	Ácido isobutírico
β -Ionona	Acetato de isoamilo	Octanoato de etilo	Ácido 2-Metilbutírico	Ácido octanoico
Diacetilo	Acetato de isobutilo	Succinato de dietilo	Ácido benzoico	δ -octalactona
γ -Butirolactona	4-Etilguaiacol	Guaiacol	1-Butanol	Alcohol isoamílico
γ -Decalactona	4-vinilfenol	o-Cresol	1-Hexanol	β -feniletanol
γ -Nanolactona	Eugenol	Trans-isoeugenol	Alcohol bencílico	Cis-3-hexenol
Isobutanol	Metionol			

Tabla 4. Precusores de aromas en vino.

Compuestos fenólicos en vino		
Antocianos (pigmentos)	Flavonoles	Ácidos Fenólicos
Delfinidina-3-O-glucósido	Miricetina-3-O-galactósido	Ácido Gálico
Cianidina-3-O-glucósido	Miricetina-3-O-glucósido	Ácido Protocatequico
Petunidina-3-O-glucósido	Quercetina-3-O-galactósido	Galato de metilo
Peonidina-3-O-glucósido	Quercetina-3-O-glucósido	Galato de etilo
Malvidina-3-O-glucósido	Glucurónido de Quercetina	Ácido trans-Caftárico
Acetato de Malvidina	Miricetina aglucón	Ácido cis-Cutárico
Cumarato de Cianidina	Quercetina aglucón	Ácido trans-Cutárico
Cumarato de Petunidina(trans)	Kaempferol aglucón	Ácido trans-Fertárico
Cumarato de Peonidina(trans)	I-aglucón	Hexosa ester de ácido cis-p-Cumárico
Cumarato de Malvidina(trans)		Ácido Cafeico
		Hexosa ester de ácido trans-p-Cumárico
		Ácido trans-p-Cumárico
Flavan-3-oles		
Procianidina Trímera	Procianidina Dímera (B2)	Procianidina Tetrámero
Galocatequina	Epigalocatequina	Procianidina Trímera (EEC)
Prodelfinidina Trímera	Procianidina Trímera (CCE)	Procianidina Dímera (B4)
Procianidina Dímera (B6)	Catequina	Procianidina Dímera (B3)
Procianidina Dímero digaloilado (B2-DG)	Procianidina Trímera (C1)	Procianidina Dímero galoilado (B2)
Epicatequina	Procianidina dímera(B1)	

Tabla 5. Compuestos fenólicos estudiados en el vino.