



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



INSTITUTO DE INGENIERÍA DE
ALIMENTOS PARA EL DESARROLLO

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA AGRONÓMICA Y DEL MEDIO NATURAL

MÁSTER EN CIENCIA E INGENIERÍA DE LOS ALIMENTOS

ESTUDIO DEL EFECTO DE DISTINTAS ESTRATEGIAS DE RIEGO EN LA FRACCIÓN VOLÁTIL DE UVA CABERNET SAUVIGNON



Trabajo fin de Máster

Realizado por:

PATRICIA LÓPEZ LINARES

Directores:

ISABEL ESCRICHE ROBERTO

M^a JOSÉ GARCÍA ESPARZA

Centro: IU-IAD

Valencia, Febrero de 2013

ESTUDIO DEL EFECTO DE DISTINTAS ESTRATEGIAS DE RIEGO EN LA FRACCIÓN VOLÁTIL DE UVA CABERNET SAUVIGNON

Patricia López Linares, M^a José García Esparza, Isabel Escriche Roberto

RESUMEN

El aporte de agua a la viña influye decisivamente en los atributos sensoriales de los vinos. En este sentido, el objetivo de este estudio ha sido determinar la influencia de las estrategias de riego en el perfil volátil de uvas de la variedad Cabernet Sauvignon de la zona de Moixent (D.O. Valencia, campañas 2010 y 2011). Se han ensayado cuatro estrategias de riego: secano, estrés fuerte, estrés medio y estrés débil. Los compuestos volátiles, analizados por purga y trampa y GC-MS, han permitido diferenciar las uvas según el año de cultivo y según la estrategia de riego. La mayor pluviometría en 2010 ha influido decisivamente en la escasa diferenciación entre las estrategias de riego aplicadas en este año. Sin embargo, en el año 2011 (con baja pluviometría) se observó una clara diferenciación entre tratamientos de riego, especialmente entre aquellos que implican condiciones extremas. Compuestos como el ethyl acetate, asociado al aroma de fresa, se desarrollan más en las estrategias de secano. Por el contrario, el estrés débil provoca el aumento de algunos compuestos como hexanal y (E) 2-hexenal, más relacionados con ciertos aromas herbáceos.

Palabras clave: uva, compuestos volátiles, riego.

RESUM

L'aportació d'aigua a la vinya influeix decisivament en els atributs sensorials dels vins. En aquest sentit, l'objectiu d'aquest estudi ha sigut determinar la influència de les estratègies de reg en el perfil volàtil de raïms de la varietat Cabernet Sauvignon de la zona de Moixent (DO València, campanyes 2010 i 2011). S'han assajat quatre estratègies de reg: secà, estrès fort, estrès mitjà i estrès débil. Els compostos volàtils, analitzats per purga i trampa i GC-MS, han permès diferenciar el raïm segons l'any de cultiu i segons l'estratègia de reg. La major pluviometria en 2010 ha influït decisivament en l'escassa diferenciació entre les estratègies de reg aplicades en aquest any. No obstant això, l'any 2011 (amb baixa pluviometria) es va observar una clara diferenciació entre tractaments de reg, especialment entre aquells que impliquen condicions extremes. La presència de compostos com el ethyl acetate, associat a l'aroma de maduixa, es desenvolupa més en les estratègies de secà. Per contra, l'estrès débil provoca l'augment d'alguns compostos com hexanal i (E) 2-hexenal, més relacionats amb certs aromes herbacis.

Paraules clau: raïm, compostos volàtils, reg.

ABSTRACT

The water supply to the vineyard strongly influences the sensory attributes of wines. In this sense, the aim of this study was to determine the influence of irrigation strategies in the volatile profile of grapes Cabernet Sauvignon in Moixent area (D.O. Valencia, campaigns 2010 and 2011). Four irrigation strategies were tested: rainfed, strong stress, medium stress and weak stress. Volatile compounds, analyzed by purge and trap and GC-MS, allowed to differentiate the grapes by crop year and irrigation strategy. The higher rainfall in 2010 has decisively influenced the low differentiation between irrigation strategies applied in this year. However, in 2011 (low rainfall) there was a clear differentiation between irrigation treatments, especially those that involve extreme conditions. Compounds such as ethyl acetate, associated with strawberry flavor, are to be found in larger quantities in rainfed strategies. On the contrary, weak stress leads to an increase of some compounds as hexanal and (E) 2-hexenal, more related to some herbaceous aromas.

Key words: grape, volatile compounds, irrigation.

1. INTRODUCCIÓN

Los compuestos aromáticos procedentes de las uvas juegan un papel decisivo en la calidad y el carácter de los vinos (Valentina Canuti et al., 2009) y constituyen lo que se denomina “aroma varietal de los vinos”. Éste se refiere al aroma característico que resulta de la acción conjunta de un determinado número de compuestos presentes en una combinación de concentraciones específicas de cada variedad (Purificación Hernández-Orte et al., 2010).

El aroma varietal está formado por compuestos que podemos clasificar en tres grandes grupos. El primero es el aroma varietal libre formado por las sustancias volátiles y odorantes presentes en la uva. El segundo lo constituye los precursores de origen varietal que a su vez se divide en dos subgrupos: los precursores no volátiles ni odorantes (aromas ligados a azúcares o cisteína) y los compuestos volátiles odorantes o no, que dada su inestabilidad química son capaces de transformarse en otros compuestos odorantes (dioles terpénicos, norisoprenoides). El tercer grupo lo constituye la fracción de aromas pre-fermentativos que puede en algunos casos contribuir con el aroma varietal (Andrea Belancic y Eduardo Agosin, 2009).

El aroma del vino es el resultado final de una larga secuencia biológica, bioquímica y tecnológica. El vino está constituido por cerca de 800 sustancias volátiles presentes en concentraciones de algunos nanogramos a centenas de miligramos por litro (Andrea Belancic y Eduardo Agosin, 2009). Gran parte se debe al aroma de las uvas, que se compone de una larga lista

de compuestos volátiles incluyendo alcoholes, aldehídos, ésteres, ácidos, terpenos, norisoprenoides, tioles y compuestos carbonilo. Los hollejos son los que contienen más de la mitad del total de sustancias aromáticas y sus precursores (Valentina Canuti et al., 2009) y la pulpa es una fuente importante de compuestos nitrogenados, no tan rica en sustancias aromáticas aunque también acumula alcoholes, aldehídos y ésteres (Purificación Hernandez-Orte et al., 2010).

Distintos factores como el suelo, el clima y las prácticas culturales son el conjunto que determina la variedad (Chunxiang Yang et al., 2011). También los factores ambientales pueden alterar la composición de las uvas probablemente a través de cambios genéticos, actividad enzimática y reacciones químicas en las mismas (Ciarán G. Forde et al., 2011). Entre las distintas prácticas culturales que afectan a la variedad se encuentra el riego deficitario que puede alterar la composición de la uva y la calidad del vino elaborado a partir de la misma. Algunos estudios muestran que el déficit de agua mejora los atributos sensoriales de los vinos, debido al incremento de aromas afrutados y al descenso de aromas vegetales (Chapman et al., 2005); en general se observa que desde el punto de vista organoléptico, disminuye la concentración de compuestos negativos y aumenta la concentración de compuestos positivos (Jianqiang Song et al., 2012).

La uva Cabernet Sauvignon utilizada en este estudio, es una variedad tradicional bordelesa de expansión mundial, considerada de la máxima calidad. Está bien adaptada por su rusticidad a las condiciones climatológicas de la D.O. Valencia, de desborre tardío y maduración media/tardía, se caracteriza por poseer un racimo pequeño de bayas esféricas, pequeñas y duras, así como una buena relación pulpa/hollejo desde el punto de vista enológico.

El estudio del potencial aromático de la variedad Cabernet Sauvignon presenta un gran reto debido a que sus compuestos aromáticos están presentes en bajas concentraciones. La mayoría de los volátiles de las uvas contienen: ésteres, alcoholes y aldehídos. Este hecho ha sido observado tanto en uvas de la variedad Cabernet Sauvignon (Valentina Canuti et al., 2009; Ciarán G Forde et al., 2011) como en otras variedades (Rosa Perestrelo et al., 2012; Chunxiang Yang et al., 2011; Eva Sánchez Palomo et al, 2005; Wenlai Fan et al, 2010; Chunxiang Yang et al, 2009).

El objetivo de este estudio ha sido determinar la influencia de las estrategias de riego en el perfil volátil de uvas de la variedad Cabernet Sauvignon.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Materia prima

El estudio se ha realizado a partir de uvas de la variedad tinta Cabernet Sauvignon procedente de la bodega Celler del Roure emplazada en la D.O. Valencia. La finca de la parcela se encuentra en la ladera norte de la Serra Grosa, a 12 kilómetros de Moixent con una altitud de 600 metros sobre el

nivel del mar. Con una extensión de 40 hectáreas presenta un suelo de textura franco-arcillosa con una cantidad importante de cal activa en el suelo.

La materia prima utilizada en este estudio ha sido expuesta a distintas estrategias de riego durante su cultivo, aplicadas en la época posterior al envero. La parcela se dividió en doce unidades experimentales que corresponden a tres repeticiones de los cuatro tratamientos de riego, clasificados como T1 (secano), T3 (estrés fuerte), T2 (estrés medio) y T4 (estrés débil). La distribución de las mismas en la parcela se realizó al azar.

Para los muestreos se despreciaron las cinco primeras y últimas cepas de cada fila y las dos primeras y últimas filas para evitar lo denominado como "efecto borde".

Se realizó una toma de muestra de cada unidad experimental, lo que corresponde con 12 muestras en el año 2010 y otras 12 en el 2011 y se conservaron congeladas hasta el momento de la realización de los análisis.

2.1.1 ESTRATEGIAS DE RIEGO DURANTE EL CULTIVO

Debido a las escasas precipitaciones en el periodo estival, esta técnica puede mejorar los vinos elaborados con esta variedad y tener gran influencia sobre la composición de las uvas, el estado de maduración y el rendimiento por cepa. El clima en la zona de estudio es del tipo Mesomediterráneo, con un bioclima pluviestacional-oceánico seco. Los valores históricos, indican que la temperatura media anual es de 15 °C, la evapotranspiración potencial anual de 785 mm (700 - 800) y la precipitación media anual de 697 mm. Las lluvias son estacionales con veranos secos de escasas precipitaciones (solo alguna tormenta aislada) y una concentración de lluvias en otoño y primavera.

La estrategia por la que se ha optado para la obtención de un vino de calidad, es el riego deficitario, obtenido por distintos porcentajes del coeficiente de evapotranspiración (Kc) de cultivo. Éste se estima con el marco de plantación, el sombreado, vigor y variedad, y se ha aceptado como 0,6 calculando las necesidades hídricas totales mediante el método propuesto por la FAO:

$$ETc = ET0 \cdot Kc \quad (1)$$

Dónde ETc = evapotranspiración de cultivo; ET0 = Evapotranspiración de referencia; Kc = coeficiente del cultivo.

Con esta ETc calculada se obtendría un riego a demanda donde todas las necesidades hídricas de la planta quedarían cubiertas, por tanto no obtendríamos un riego deficitario. La estrategia se basa en utilizar para los tratamientos dosis de riego que representen distintos porcentajes respecto de esta ETc. La Tabla 1 muestra los distintos tratamientos de riego que se han planteado.

TABLA 1. Nomenclatura y características de los tratamientos aplicados.

Tratamiento	Riego	%ETc	Coefficiente Kc
T1	Secano (S)	0.0	0.0
T3	Estrés fuerte (EF)	15.0	0.1
T2	Estrés medio (EM)	41.2	0.25
T4	Estrés débil (ED)	66.6	0.4

La parcela del ensayo dispone de un sistema de riego sectorizado para poder regar independientemente cada una de las unidades experimentales según las diferentes estrategias de riego.

2.2. Análisis de los compuestos volátiles

2.2.1. EXTRACCIÓN

La fracción volátil de las muestras de uva se extrajo según el método de “purga y trampa” (Overton y Manura, 1994; Escriche et al., 2008). Las uvas se descongelaban en nevera en el momento de la realización del análisis. Tras la extracción de las pepitas de las uvas, la pulpa se trituraba junto con los hollejos con un ultraturrax. Se pesaban 20 g del triturado y se depositaban en un tubo de vidrio con cuello esmerilado adicionando 10 μ L de patrón interno (4-methyl, 2-pentanol de 1 ppm). En el interior del tubo (situado en un baño a 60°C) se hacía circular nitrógeno durante 15 min con un caudal constante de 100 mL/min. El burbujeo del gas sobre la muestra facilitaba la liberación de los compuestos volátiles. En el extremo del montaje se colocaba un tubo (repleto con 100 mg del material de adsorción, Tenax TA 20-35 mesh) en el que se atrapaba la fracción volátil liberada.

La desorción de los compuestos volátiles se realizaba en un desorbedor térmico Turbomatrix TD (Perkin Elmer, Wellesley, USA) a 220°C durante 10 minutos. Los compuestos volátiles retenidos en la trampa fría a -30°C se transferían directamente a la cabeza de la columna por calentamiento de la trampa fría hasta los 250°C (rampa de temperatura 99°C/s).

2.2.2. ANÁLISIS GS-MS

La separación de los compuestos volátiles se llevó a cabo en un GC-MS (Trace GC 2000), equipado con una columna capilar DBWax (SGE) de 60 m longitud (0.35 mm x 1 μ m), utilizando Helio como gas portador (50 mL/min). El programa de temperaturas fue: de 40° a 50° a 2 °C/min, de 50° a 130° a 4 °C/min y de 130° a 180° a 8 °C/min, con una temperatura final de 220°, 5 minutos. Una vez separados los compuestos volátiles, éstos pasaban al espectrómetro de masas (Finnigan TRACE MS, software Xcalibur). El impacto electrónico se realizó a 70 eV con un rango de masas de m/z 41-457. Todos los análisis se realizaron por duplicado.

La identificación de los compuestos se realizó considerando: 1. El espectro de MS de cada compuesto y su comparación con la base de datos del equipo (librería NIST, National Institute of Standards and Technology,

2002), 2. El cálculo del Índice de Kovats de cada compuesto y su comparación con los valores de la bibliografía, 3. Datos bibliográficos y 4. Comparando los tiempos de retención de los compuestos volátiles obtenidos de las muestras con los de patrones puros cuando se disponía de ellos (2-butanol, 1-propanol, 2-methyl-1-propanol, 1-pentanol, 1-hexanol, (Z) 3-hexen-1-ol, 2-octanol, 1-heptanol, 3-methyl-butanol, hexanal, heptanal, (E) 2-hexenal, ethyl acetate, d-limonene y 3,7-dimethyl- 1,6-octadien-3-ol).

Los resultados se expresaron en μg de compuesto por g de uva, considerando los factores de respuesta de cada compuesto como 1. Para el cálculo se consideró el área relativa de cada compuesto en relación al área del patrón interno.

Los compuestos se muestran en inglés tal y como aparecen en la librería NIST.

2.3. Análisis estadístico

El análisis de la varianza (ANOVA) ($\alpha=0.05$) realizado para cada compuesto se llevó a cabo con el programa Statgraphics Centurión XVI versión 16.1.15, considerando los factores "Tratamiento de riego" "Año". El análisis de Componentes Principales (PCA) se realizó con el programa Unscrambler versión 10 (CAMO 2011).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Parámetros fisicoquímicos de las muestras

Con la finalidad de caracterizar las uvas objeto del estudio, se determinaron los parámetros fisicoquímicos más habituales relacionados con la madurez tecnológica. La Tabla 2 muestra los valores medios de estos parámetros obtenidos el día de la vendimia para los cuatro tratamientos y los dos años de estudio, así como el resultado del ANOVA. Se puede observar diferencias significativas entre tratamientos y entre años para todos los parámetros analizados con la única excepción de la acidez total.

Como era de esperar, el grado alcohólico probable de las uvas es menor cuanto mayor es el aporte de agua, ya que el riego retrasa la maduración. También es importante señalar que el grado de maduración de la cosecha del 2011 es menor que las del 2010, hecho que puede tener influencia en los precursores aromáticos de las uvas. En cuanto al peso de la baya, se observa que cuanto menor es el estrés hídrico de la planta, el tamaño de la baya aumenta como se aprecia claramente en la cosecha de 2011. Esto se debe a que los regímenes hídricos deficitarios en la temporada de crecimiento de la vid, mantenidos en el tiempo hasta la etapa del envero, reducen el peso de las bayas en el momento de la cosecha, como muestran los resultados obtenidos por Coombe y McCarthy (2000). En la cosecha del 2010 no se observa este efecto, probablemente debido al mayor aporte de agua procedente de la lluvia que ha minimizado los efectos del riego deficitario.

TABLA 2. Valores medios de los parámetros determinados para la madurez tecnológica de las uvas el día de la vendimia.

Parámetros	Año	Tratamientos				ANOVA F ratio		
		S	EF	EM	ED	T	A	T*A
° Alcohol probable	2010	16.67c	16.27c	15.73b	15.47a	23.94***	259.53***	1.57ns
	2011	14.90c	14.80c	14.50b	14.10a			
pH	2010	3.46bc	3.42c	3.40ab	3.36a	4.98*	7.04*	1.98ns
	2011	3.47bc	3.58c	3.43ab	3.41a			
Acidez total (g/L tartárico)	2010	6.63a	6.47a	6.72a	7.08a	0.40ns	0.06ns	1.26ns
	2011	6.80a	7.00a	6.30a	6.60a			
Peso por baya (g)	2010	1.19a	1.29b	1.18c	1.22bc	14.10***	26.73***	7.71***
	2011	0.95a	1.15b	1.17c	1.21bc			

T: tratamiento; A: año; S: secano; EF: estrés fuerte; EM: estrés medio; ED: estrés débil; ns: no hay diferencias significativas; * p < 0.05; ** p < 0.01; *** p < 0.001

3.2. Identificación de los compuestos de la fracción volátil

La Tabla 3 muestra los 28 compuestos identificados en las muestras de uva, agrupados en las diferentes familias químicas a las que pertenecen: alcoholes (12), aldehídos (6), ésteres (8) y terpenos (2). Además, la tabla muestra el número de pico correspondiente al de los cromatogramas (Figura 1), el rango de tiempos de retención (TR) (en los que los compuestos aparecen en los diferentes cromatogramas), el rango de los índices de Kovats (IK) (calculados para cada compuesto), así como el procedimiento utilizado para la identificación de todos los compuestos.

TABLA 3. Identificación de compuestos volátiles de las muestras.

Compuestos volátiles	Nº pico	TR	IK cal	Identificación
Alcohols				
2-Butanol	8	9.33-10.24	1039-1067	L;IK;B;P
1-Propanol	10	9.84-10.81	1055-1085	L;IK;P
2-Methyl-1-propanol	13	11.85-12.99	925-1127	L;IK;B;P
1-Butanol	14	13.87-15.17	950-1182	L;IK;B
3-Methyl-1-butanol	17	16.14-17.54	1045-1120	L;IK;B
1-Pentanol	19	17.78-19.25	1061-1240	L;IK;B;P
1-Hexanol	21	21.60-23.14	1087-1286	L;IK;B;P
(Z) 3-Hexen-1-ol	22	22.9-24.44	1107-1358	L;IK;B;P
(E) 2-Hexen-1-ol	23	23.17-25.21	1121-1425	L;IK;B
2-Octanol	24	23.88-25.42	1413-1458	L;IK;P
1-Heptanol	26	25.29-26.84	1453-1498	L;IK;B;P
2-Ethyl-1-hexanol	27	26.48-28.04	1487-1534	L;IK;B
Aldehydes				
2-Methyl-propanal	1	4.04-4.26	814-829	L
2-Methyl-butanal	4	5.97-6.39	826-922	L;IK
3-Methyl-butanal	5	6.07-6.50	833-927	L;IK;B;P
Hexanal	12	11.32-12.40	921-1112	L;IK;B;P
Heptanal	16	15.22-16.54	1201-1217	L;IK;B;P
(E) 2-Hexenal	18	16.97-18.32	1052-1229	L;IK;B;P

Ésters

Acetic acid, methyl ester	2	4.30-4.55	831-846	L
Ethyl acetate	3	5.35-5.70	818-896	L;IK;B;P
Propanoic acid, ethyl ester	6	7.10-7.70	961-986	L;IK;B
Propanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester	7	7.25-7.89	968-993	L;IK;B
Butanoic acid, ethyl ester	9	9.56-10.48	1046-1075	L;IK;B
Butanoic acid, 3-methyl-, ethyl ester	11	10.66-11.68	1080-110	L;IK
Acetic acid, hexyl ester	20	18.45-19.91	1240-1258	L;IK;B
Octanoic acid, ethyl ester	25	24.37-25.89	1427-1472	L;IK;B

Terpenes

D-limonene	15	15.19-16.49	1201-1217	L;IK;B;P
3,7-Dimethyl- 1,6-octadien-3-ol	28	29.06-30.65	1565-1615	L;IK;B;P

TR: tiempo de retención; IK cal: índices de Kovats calculados; L: Comparación de espectros con los de la librería NIST; IK: Comparación con índices de Kovats; B: Comparación con bibliografía de otros autores; P: Comparación con patrones puros.

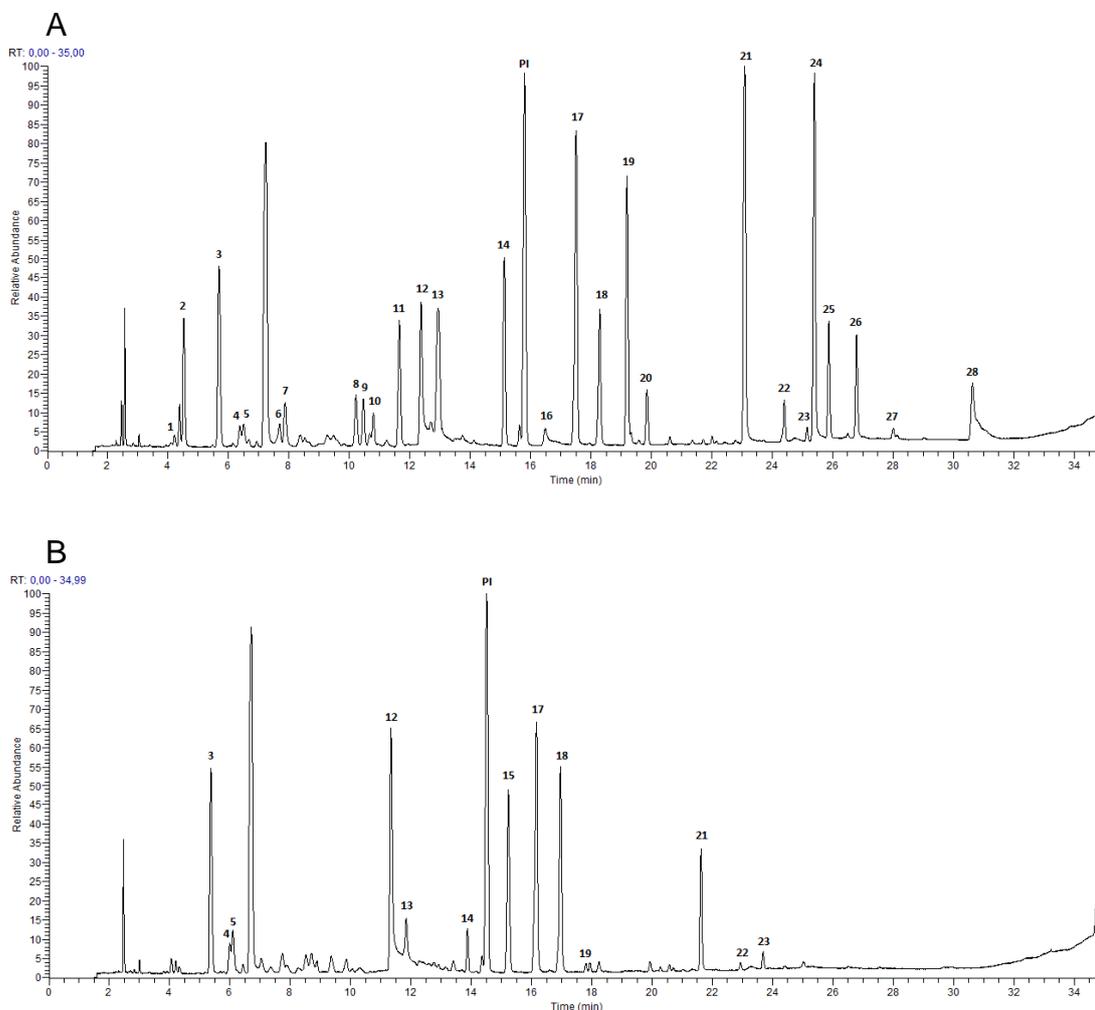


FIGURA 1. Ejemplo de cromatogramas (GC-MS) de los perfiles de compuestos volátiles de uvas obtenidas tras tratamiento de estrés fuerte en dos años distintos: A) 2010 y B) 2011. Los números que aparecen en los picos se corresponden con los compuestos mostrados en la Tabla 3.

3.3. Influencia de las estrategias de riego en la fracción volátil

Con la finalidad de evaluar el comportamiento de cada compuesto individualmente en relación al año y a los tratamientos de riego aplicados, se ha realizado un ANOVA multifactor considerando los factores: "Tratamiento" y "Año". La Tabla 4 muestra los valores medios obtenidos para cada compuesto, así como los grupos homogéneos y la significación del análisis resultado del ANOVA.

Los resultados indican que las uvas de 2010 muestran mayor número de compuestos volátiles que las del 2011. Además, con relación a los compuestos que aparecen en los dos años, en general, se observan concentraciones mayores en 2010. Concretamente, de los 28 compuestos identificados en total, con la única excepción del d-limonene, todos los demás se han encontrado en las muestras de 2010. Por el contrario, en 2011 se identificaron únicamente 13 de los 28 compuestos. Es de destacar que las uvas de 2011 prácticamente no tenían ésteres ya que solo se encontró el ethyl acetate, sin embargo, la cantidad de éste fue mayor a la encontrada en 2010.

Para evaluar la significación estadística del efecto del tratamiento y del año, se ha realizado un ANOVA multifactor considerando los factores "Tratamiento" y "Año". Para aquellos compuestos no detectados en un año de estudio, no se ha considerado el factor "año" y por lo tanto se ha realizado un ANOVA simple únicamente con el factor "Tratamiento". Las interacciones "Tratamiento" por "Año", solo se han contemplado en aquellos detectados en ambos años.

TABLA 4. Áreas relativas de los compuestos volátiles ($\mu\text{g/g}$ uva; considerando factores de respuesta=1) y resultado del ANOVA estadístico (grupos homogéneos: letras; Fratio y significación estadística) según tratamiento de riego y año.

Compuestos volátiles	Tratamientos de 2010				Tratamientos de 2011				ANOVA F ratio		
	S	EF	EM	ED	S	EF	EM	ED	T	A	T*A
Alcohols											
2-Butanol	0.20a	0.17a	0.18a	0.12a	nd	nd	nd	nd	1.19ns	-	-
1-Propanol	0.11a	0.13a	0.13a	0.08a	nd	nd	nd	nd	1.01ns	-	-
2-Methyl-1-propanol	0.52ab	0.54ab	0.60b	0.39a	0.11ab	0.09ab	0.10b	0.07a	2.23ns	145.90***	1.25ns
1-Butanol	0.51a	0.43a	0.50a	0.48a	0.08a	0.08a	0.07a	0.06a	1.63ns	774.25***	1.72ns
3-Methyl-1-butanol	0.78b	0.81b	0.82b	0.72a	0.78b	0.68b	0.63b	0.49a	6.56***	20.84***	2.67ns
1-Pentanol	0.88ab	0.80a	1.09b	0.98ab	0.02ab	0.01a	0.02b	0.01ab	1.58ns	349.46***	1.62ns
1-Hexanol	0.94b	0.91ab	0.97b	0.80a	0.24b	0.20ab	0.24b	0.18a	3.93*	750.89***	0.94ns
(Z) 3-Hexen-1-ol	0.13ab	0.10a	0.14b	0.14ab	0.01ab	0.01a	0.01b	0.01ab	1.79ns	412.67***	2.10ns
(E) 2-Hexen-1-ol	0.03a	0.03a	0.03a	0.02a	0.03a	0.03a	0.03a	0.02a	1.19ns	0.87ns	0.10ns
2-Octanol	1.20ab	1.05a	1.19ab	1.35b	nd	nd	nd	nd	2.26ns	-	-
1-Heptanol	0.38ab	0.31a	0.38ab	0.49b	nd	nd	nd	nd	2.64ns	-	-
2-Ethyl-1-hexanol	0.04ab	0.03a	0.03ab	0.05b	nd	nd	nd	nd	2.11ns	-	-
Aldehydes											
2-Methyl-propanal	0.03a	0.02a	0.02a	0.02a	nd	nd	nd	nd	0.85ns	-	-
2-Methyl-butanal	0.06a	0.06b	0.05a	0.06a	0.03a	0.07b	0.03a	0.02a	4.97**	13.67***	2.92*
3-Methyl-butanal	0.09a	0.08a	0.07a	0.07a	0.13a	0.10a	0.10a	0.11a	1.04ns	11.76**	0.34ns
Hexanal	0.43ab	0.35ab	0.33a	0.41b	0.43ab	0.52ab	0.43a	0.57b	2.97*	16.96***	2.28ns
Heptanal	0.06ab	0.05a	0.07ab	0.08b	nd	nd	nd	nd	1.98ns	-	-
(E) 2-Hexenal	0.52ab	0.37a	0.37a	0.50b	0.42ab	0.51a	0.47a	0.60b	2.92*	3.34ns	2.47ns
Esters											
Acetic acid, methyl ester	0.35a	0.34a	0.40a	0.36a	nd	nd	nd	nd	0.62ns	-	-
Ethyl acetate	0.37bc	0.51c	0.44ab	0.49a	0.57bc	0.45c	0.35ab	0.17a	5.77**	4.64*	13.20***
Propanoic acid, ethyl ester	0.06a	0.06a	0.07a	0.07a	nd	nd	nd	nd	0.32ns	-	-
Propanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester	0.10a	0.10a	0.11a	0.11a	nd	nd	nd	nd	0.58ns	-	-
Butanoic acid, ethyl ester	0.11a	0.13a	0.12a	0.13a	nd	nd	nd	nd	0.94ns	-	-
Butanoic acid, 3-methyl-, ethyl ester	0.27a	0.30a	0.30a	0.32a	nd	nd	nd	nd	0.77ns	-	-
Acetic acid, hexyl ester	0.13a	0.13a	0.14a	0.17a	nd	nd	nd	nd	1.45ns	-	-
Octanoic acid, ethyl ester	0.44ab	0.37ab	0.33a	0.49b	nd	nd	nd	nd	1.76ns	-	-
Terpenes											
D-limonene	nd	nd	nd	nd	0.38a	0.46a	0.39a	0.41a	0.34ns	-	-
3,7-Dimethyl- 1,6-octadien-3-ol	0.38a	0.26a	0.33a	0.42a	nd	nd	nd	nd	1.61ns	-	-

T: tratamiento; A: año; S: secano; EF: estrés fuerte; EM: estrés medio; ED: estrés débil; nd: no detectado; ns: no hay diferencias significativas; * $p < 0.05$;

** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$

Después de la observación individual de cada compuesto, se ha realizado un análisis PCA con la finalidad de evaluar el efecto que, sobre la fracción volátil total, tiene la estrategia de riego en los dos años de estudio. La Figura 2 muestra los gráficos del PCA obtenido: gráfico de las puntuaciones (scores) y el gráfico de cargas (loading).

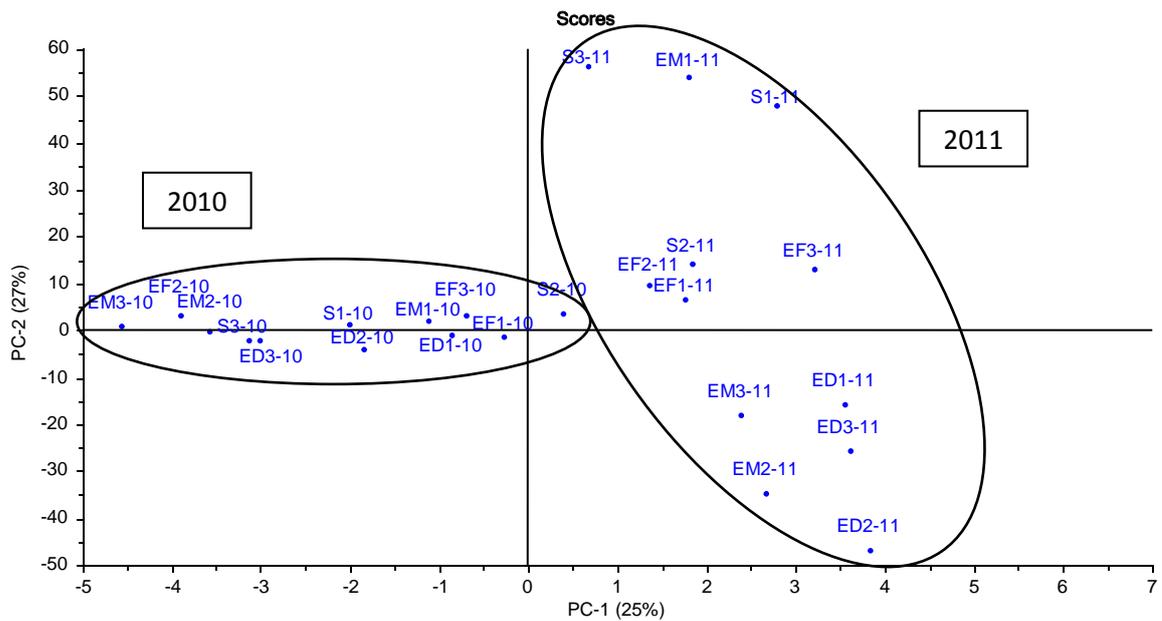
En el gráfico de puntuaciones el PC1 influye decisivamente en la separación de los dos años, localizándose en la parte izquierda las muestras de 2010 y en la parte derecha las de 2011. El PC2 separa las muestras según los tratamientos aplicados únicamente en el caso de las muestras de 2011. Sin embargo, en las de 2010 no se observa esta diferenciación por tratamientos.

Este distinto comportamiento, en cuanto a la diferenciación por años y dentro de cada año por tratamientos, se puede atribuir al diferente aporte de agua debido a la pluviometría en la zona. Por este motivo se consultaron los datos pluviométricos de los meses del ciclo de la vida de la estación meteorológica de Ontinyent (limita con el término municipal de Moixent) (<http://www.ontimet.es>, 2013). Durante los meses en los que se aplicó la estrategia de riego (Agosto y Septiembre) y hasta el momento de la vendimia se produjeron 47.7 mm de lluvia en 2010, con una clara diferencia en el año 2011 en el que hubo 6.3 mm. El hecho del mayor aporte hídrico en 2010 parece que ha influido decisivamente en que en este año las estrategias de riego no se diferencian, al minimizarse las condiciones de los distintos tratamientos. En un principio cabría pensar que en las muestras de 2010 al haber recibido más agua el contenido en volátiles sería menor, sin embargo se observa lo contrario. Esto se puede deber a que las muestras de este año estaban algo más maduras como se refleja en la Tabla 2, en la que se observa que hay una diferencia de aprox. 1.5 grado alcohólico probable entre años. Esto podría demostrar que en el desarrollo de los compuestos volátiles ha influido más la maduración que el aporte hídrico.

Observando el gráfico de loading se aprecia que los aldehídos y alcoholes, al estar situados en los dos extremos del PC1, son los que más han influido en la diferenciación entre años. En general, el contenido en alcoholes es mayor en 2010, especialmente: 2-methyl 1-propanol, 1-butanol, 1-pentanol, 1-hexanol y (Z) 3-hexen-1-ol. Por el contrario, en 2011 hay un ligero aumento en el contenido de algunos aldehídos como: hexanal, 3-methyl-butanal y (E) 2-hexenal.

Es importante destacar que algunos compuestos como los aldehídos (Valentina Canuti et al., 2009; Wenlai Fan et al, 2010) y alcoholes en C6 son responsables de los aromas herbáceos de las uvas (Andrea Belancic y Eduardo Agosin, 2009; Chunxiang Yang et al., 2009). Al triturar la uva, las enzimas lipoxigenasas liberadas se ponen en contacto con ácidos grasos en presencia de oxígeno conduciendo a la formación de C6 alcoholes y aldehídos en el mosto de uvas maduras (Miguel Franco et al., 2004).

(a) Gráfico de puntuaciones



(b) Gráfico de cargas

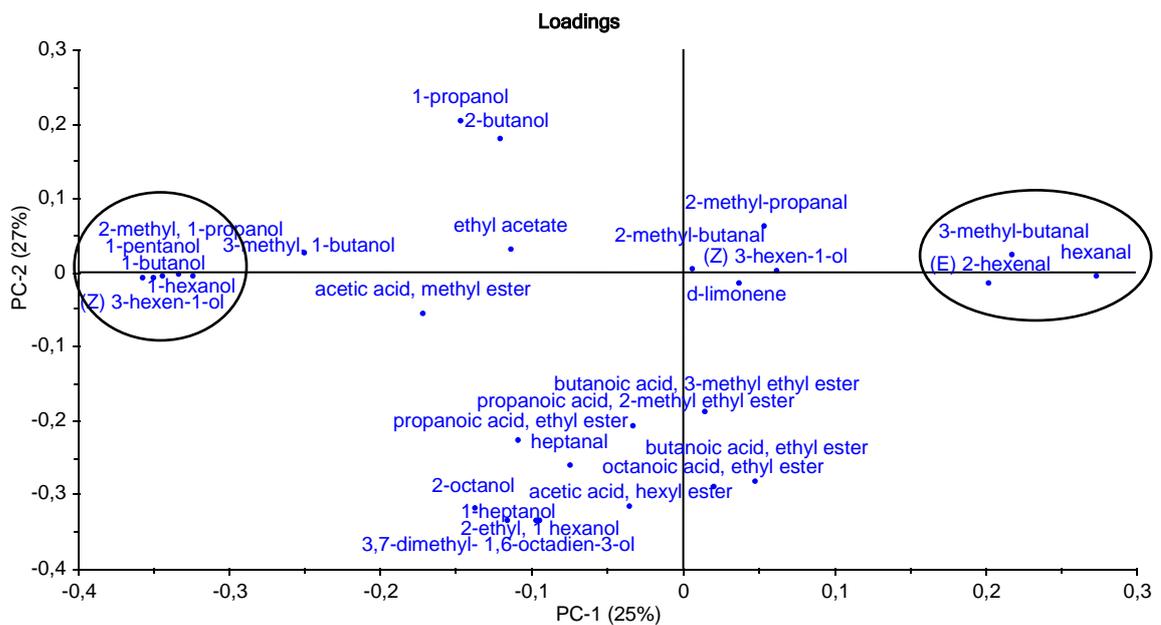
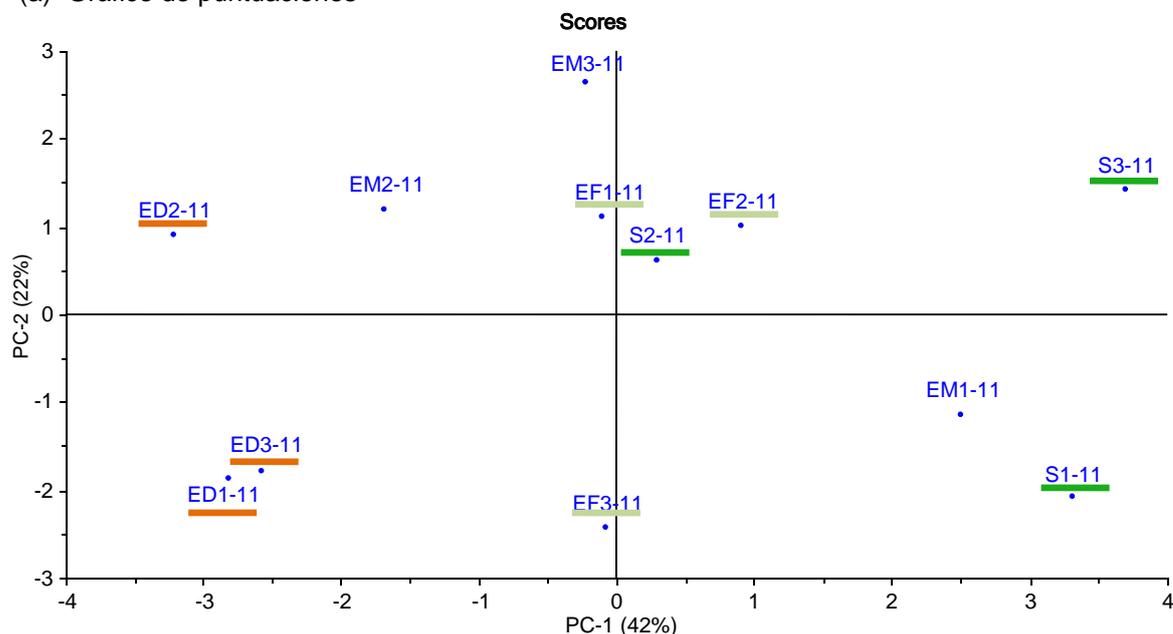


FIGURA 2. Análisis de Componentes Principales realizado sobre los compuestos volátiles identificados. (a) gráfico de puntuaciones para los tratamientos en los años 2010 y 2011 (scores); (b) gráfico de cargas (loadings).

Con la finalidad de estudiar el efecto debido a las estrategias de riego se ha realizado un PCA centrado únicamente en el año 2011 (Figura 3). En el gráfico de puntuaciones se ve una clara diferenciación entre los tratamientos más extremos (secano “S” y estrés débil “ED”). Se observa que el tratamiento ED se sitúa en el extremo del eje izquierdo, por el contrario los tratamientos S y EF se

distribuyen en la parte derecha del plano, especialmente más a la derecha dos de las muestras de secano.

(a) Gráfico de puntuaciones



(b) Gráfico de cargas

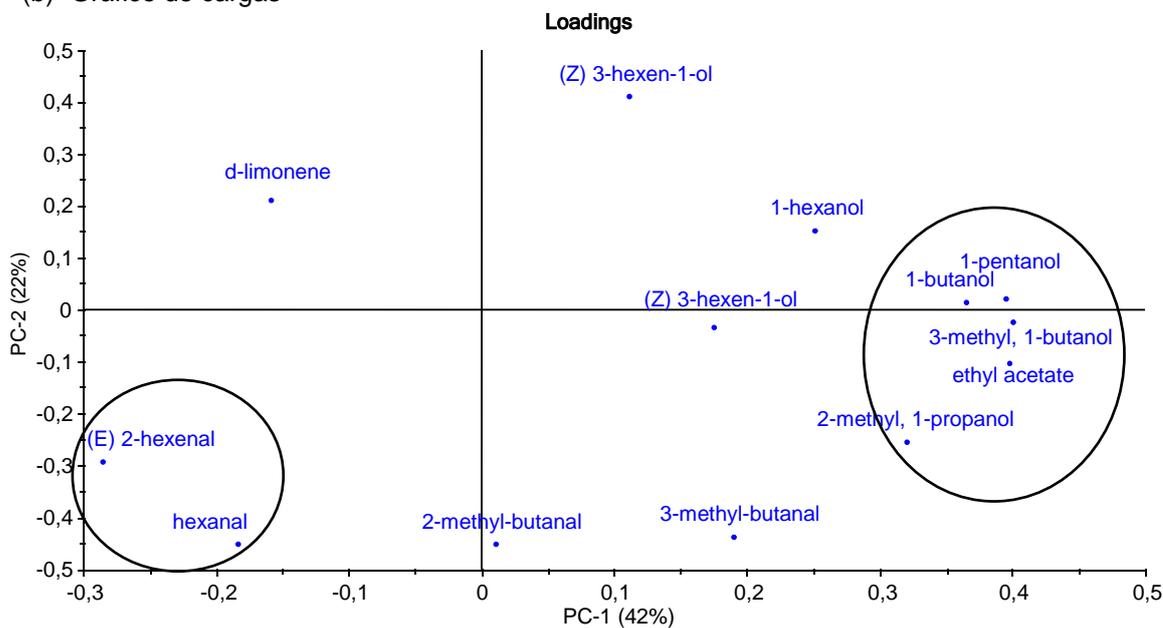


FIGURA 3. Resultado del Análisis de Componentes Principales realizado sobre la relación de áreas de los compuestos volátiles identificados en el año 2011. (a) gráfico de puntuaciones para los tratamientos en el año 2011 (scores); (b) gráfico de cargas (loadings).

Los tratamientos de secano reflejan un contenido mayor de los alcoholes: 2-methyl 1-propanol, 1-butanol, 3-methyl 1-butanol, 1-pentanol; y el ester ethyl acetate. El estrés débil está relacionado con los aldehídos: hexanal y (E) 2-hexenal. Los aromas herbáceos no son agradables en los vinos ya que la

presencia de cantidades elevadas de aldehídos como hexanal se puede considerar un defecto. Estos aromas se presentan sobre todo en el tratamiento de estrés débil, por lo que sería la estrategia menos adecuada. En cambio la estrategia de secano implica el desarrollo de aromas agradables. Algunos estudios muestran que el ethyl acetate es uno de los compuestos más importantes asociados al aroma a fresa (Chunxiang Yang et al., 2009).

4. CONCLUSIONES

El perfil de compuestos volátiles identificados por purga y trampa GC-MS ha permitido diferenciar las muestras según el año de cultivo y según la estrategia de riego.

La mayor pluviometría en 2010 ha influido decisivamente en la escasa diferenciación entre las estrategias de riego aplicadas. Sin embargo, en el año 2011 (con baja pluviometría) se ha observado una clara diferenciación entre tratamientos de riego, especialmente entre aquellos que implican condiciones extremas: secano y estrés fuerte frente a estrés débil.

Como cabría esperar, las estrategias de secano podrían resultar más adecuadas debido a que motivan el desarrollo de compuestos que se asocian a aromas afrutados como el ethyl acetate, a diferencia del estrés débil que parece provocar el aumento de compuestos más relacionados con ciertos aromas herbáceos como hexanal y (E) 2-hexenal.

5. REFERENCIAS

- Belancic, A and Agosin, E. 2009. Aromas varietales: Influencia de ciertas prácticas vitícolas y enológicas. [en línea]. Dirección URL: <<http://www.centroaromas.cl>>. [Consulta: 17 Oct. 2012].
- Canuti, V.; Conversano, M.; Li Calzi, M.; Heymann, H.; Matthews, M.; Ebeler, S. 2009. Headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry for profiling free volatile compounds in Cabernet Sauvignon grapes and wines. *Journal of Chromatography A*. 1216, 3012-3022
- Chapman, D.M; Roby, G; Ebeler, S.E; Guinard, J.X; Matthews, M.A. 2005. Sensory attributes of Cabernet Sauvignon wines made from vines with different water status. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 11, 339-347.
- Coombe, B. G. and M. G. McCarthy. 2000. Dynamics of grape berry growth and physiology of ripening. *Aust. J. Grape Wine Res.* 6:131-135.
- Escrive, I.; Visquert, M.; Juan-Borrás, M.; Fito, P. 2008. Influence of simulated industrial thermal treatments on the volatile fractions of different varieties of honey. *Food Chemistry* 112, 329-338.
- Fan, W; Xu, Y; Jiang, W; Li, J. 2010. Identification and Quantification of Impact Aroma Compounds in 4 Nonfloral Vitis vinifera Varieties Grapes. *Journal of Food Science*. Vol. 75, Nr.1.
- Forde, C.G; Cox, A; Williams, E.R; Boss, P.K. 2011. Associations between the Sensory Attributes and Volatile Composition of Cabernet Sauvignon Wines and the Volatile Composition of the Grapes Used for Their Production. *J. Agric. Food Chem.* 59, 2573-2583.

- Franco, M; Peinado, R.A; Medina, M; Moreno, J. 2004. Off-Vine Grape Drying Effect on Volatile Compounds and Aromatic Series in Must from Pedro Ximénez Grape Variety. *J. Agric. Food Chem.* 52, 3905-3910.
- Hernandez-Orte, P; Loscos, N; Peña, A; Cacho, J; Ferreira,V; Moro, L.C; Guadarrama, A; Gallo, R. 2010. Estudio comparativo de la evolución del potencial aromático de uvas de la variedad Verdejo en secano y en regadío durante su maduración. ISBN 978-84-8125-336-8, pág. 109.
- Información meteorológica de Ontinyent [en línea] Dirección URL: <<http://www.ontimet.es>>. [Consulta: 10 de Enero 2013]
- Overton, S.; Manura, J. 1994. Flavour and aroma in commercial bee honey. A purge-and-trap thermal desorption technique for the identification and quantification of volatiles and semivolatiles in honey. *American laboratory.* 45, 45-53.
- Perestrelo, R; Caldeira, M; Camara, J.S. 2012. Solid phase microextraction as a reliable alternative to conventional extraction techniques to evaluate the pattern of hydrolytically released components in *Vitis vinífera* L. grapes. *Talanta.* 95, 1-11.
- Sánchez-Palomo, E; Díaz-Maroto, M.C; Pérez-Coello, M.S. 2005. Rapid determination of volatile compounds in grapes by HS-SPME coupled with GC-MS. 2005. *Talanta.* 66, 1152-1157.
- Song, J; Shellie, K.C; Wang, H; Qian M.C. 2012. Influence of deficit irrigation and kaolin particle film on grape composition and volatile compounds in Merlot grape (*Vitis vinifera* L.). *Food Chemistry.* 134, 841-850.
- Yang, C; Wang, Y; Liang, Z; Fan, P; Wu, B; Yang, L; Wang, Y; Li, S. 2009. Volatiles of grape berries evaluated at the germplasm level by headspace-SPME with GC-MS. *Food Chemistry.* 114, 1106-1114.
- Yang, C; Wang, Y; Wu, B; Fang, J; Li, S. 2011. Volatile compounds evolution of three table grapes with different flavour during and after maturation. *Food Chemistry.* 128, 823-830.