

# **Efecto genotipo sobre la evolución de los fenoles y azúcares en cinco clones de variedades de *Vitis vinifera* para diferentes estadios fenológicos**

## RESUMEN

Este trabajo estudia la composición de algunos polifenoles y azúcares, en diferentes estadios fenológicos y en diferentes clones de *Vitis vinifera*, con objeto de caracterizar a los clones individualmente y también de compararlos entre sí. Las condiciones de cultivo son homogéneas para todos los clones: arena (condiciones sanitarias conocidas), ausencia de déficit hídrico (goteo y capa freática a 1 m) y selección clonal. Se utilizan cinco clones de variedades tintas: Syrah 174, Cabernet Sauvignon 341, Merlot 181, Cot 46 y Garnacha 136, de los cuales se estudian las diferentes variables en tres estadios fenológicos: estadio I (cierre de racimo), estadio II (20–50% de envero, donde se distingue estadio II bayas verdes y II bayas rojas), y estadio III (madurez de vendimia). Los análisis de polifenoles se efectúan sobre el hollejo, determinándose los flavonoles, taninos catequínicos totales, proantocianidoles y antocianos utilizando técnicas de espectrofotometría. La determinación de los azúcares se efectúa sobre el mosto obtenido a partir de las bayas y también utilizando técnicas espectrofotométricas. Los resultados obtenidos y el tratamiento estadístico de los datos ponen de manifiesto que el fenotipo se debe al genotipo, ya que, todas los clones se han cultivado en las mismas condiciones y en la misma zona, con lo que las diferencias entre los parámetros estudiados en todos ellos, se deben únicamente a las características propias de cada clon.

**Palabras clave:** Genotipo, Fenotipo, Polifenoles, Azúcares, Clones *Vitis vinifera*.

## ABSTRACT

This paper studies the composition of some polyphenols and sugars in different phenological stages and in different clones of *Vitis vinifera* in order to characterize the individual clones and also compare them. The culture conditions are homogeneous for all clones: sand (known health conditions), lack of water deficit (drip and water table at 1 m) and clonal selection. Was used five clones varieties: Syrah 174, Cabernet Sauvignon 341, Merlot 181, Cot 46 and Grenache 136, which examines different variables in three phenological stages: stage I

J.L. ALEIXANDRE–TUDÓ, R. FARRÉ,  
J.L. ALEIXANDRE.

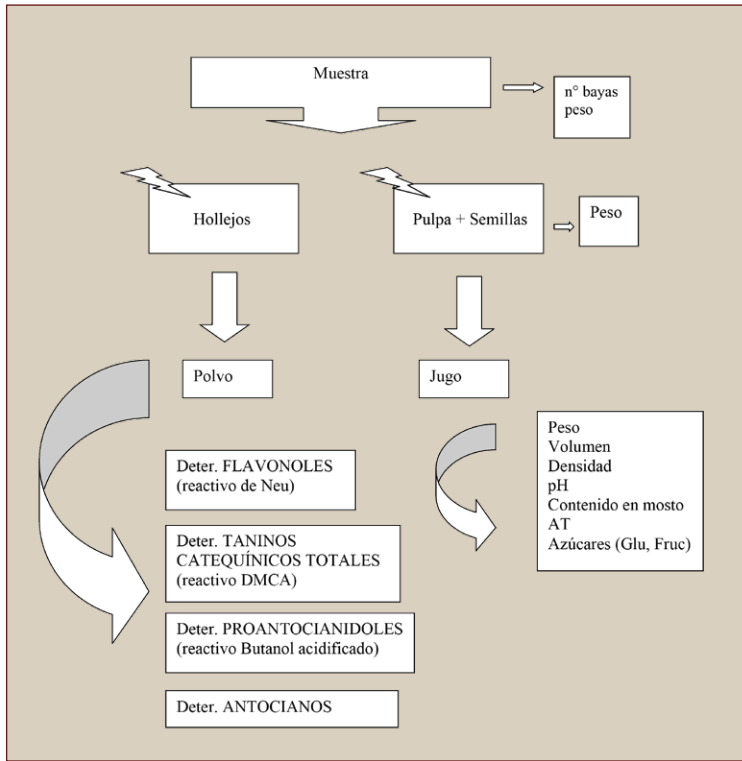
Universidad Politécnica de Valencia.  
Departamento de Tecnología de Alimentos.  
Valencia.

Los compuestos fenólicos se encuentran entre los constituyentes fundamentales de los vinos y tienen funciones diversas, desde la coloración de flores y frutos hasta funciones estructurales en las paredes celulósicas (CHAMPAGNOL, 1984). Pero su importancia se debe sobre todo a que confieren al vino la gran mayoría de sus propiedades organolépticas específicas. Los ácidos fenólicos se encuentran en forma de éster tartárico en las vacuolas de las células de la pulpa y del hollejo de las bayas (SOUQUET *et al.*, 1996). En el caso de los estilbenos y flavonoles aparecen únicamente en el hollejo (CHEYNIER *et al.*, 1998).

A nivel celular, los antocianos son moléculas hidrosolubles y se localizan normalmente en solución dentro de las vacuolas, donde a veces se acumulan en unas vesículas esféricas, conocidas como antocianoplastos o inclusiones vacuolares antociánicas (AVI), aunque en ocasiones estas estructuras se pueden localizar también en el citoplasma (MARKHAM *et al.*, 2000). Los antocianos se encuentran en los hollejos y en las 3 ó 4 primeras capas del hipodermo, aunque pueden aparecer en la pulpa como es el caso de variedades tintoreras (SOUQUET, *et al.*, 1996).

Los flavanoles y taninos abundan en las pepitas (capas superficiales) y aparecen en menor grado en los hollejos, donde se localizan libres en el líquido vacuolar de las células, ligados a la membrana interna de las vacuolas o ligados a los polisacáridos de la pared celular (GLORIES *et al.*, 1995).

Con respecto a las propiedades espectrales, los ácidos fenólicos no tienen color en el espectro visible, pero pueden sufrir procesos de oxidación que conducen a la turbidez del mosto y del vino (SINGLETON, 1987). Además, pueden participar indi-



**FIGURA 1.** Diagrama de flujo del proceso de preparación de muestras.

rectamente en el color rojo debido a los conocidos fenómenos de copigmentación. Los flavonoides, y principalmente los antocianos, absorben la luz, con lo que tienen un papel predominante en la coloración de las bayas, hojas y vino. El color está influido por el pH, ya que éste varía la resonancia electrónica de la molécula. En un medio fuertemente ácido producen un color rojo-violáceo y en medio básico resulta una coloración azul-verdosa (GLORIES, 1984).

El que las funciones fenoles se oxidan fácilmente a quinonas, confiere a los compuestos fenólicos determinadas propiedades oxidoreductoras. Entre los compuestos fenólicos que se oxidan más fácilmente se encuentran tres ácidos fenoles (protocatéquico, gálico y cafeico), tres antocianidos (cianidol, delfinidol, petunidol) y los flavanoles que forman los taninos (CHAMPAGNOL, 1984). La oxidación controlada participa en la maduración del vino, pero una oxidación muy rápida o demasiado completa compromete la calidad del producto visualmente, por la turbidez, y de forma gustativa y olfativa, por la aparición de gustos y olores indeseables.

Las propiedades gustativas se atribuyen sobre todo a los taninos, según su naturaleza y su grado de polimerización, que proporcionan un equilibrio óptimo que evoluciona en el tiempo entre diferentes formas y diferentes grados de condensación. El conjunto de compuestos fenólicos participa en este equilibrio (GLORIES, 1999).

En el ciclo biológico de la *Vitis vinifera* pueden distinguirse dos fases fisiológicamente bien diferenciadas, una en la que se producen los procesos de crecimiento y desarrollo de órganos vegetativos, y otra donde predominan los procesos de acumulación de almidón en el agostamiento y de azúcares en la maduración de la uva.

Las bayas se desarrollan en tres fases con dos períodos de crecimiento sigmoidal: el crecimiento de la baya verde, el envero o latencia (donde se inicia la síntesis de polifenoles con el consecuente cambio de color del hollejo) y la fase de maduración de la uva, donde las bayas incrementan su volumen debido principalmente a la acumulación de agua y azúcares en sus células (KENNEDY, 2002).

El primer período de crecimiento de la baya verde abarca desde la floración hasta alrededor de 60 días después. En este período se forma la baya y los embriones de las semillas. Durante las primeras semanas se produce una rápida división celular y se sintetizan mayoritariamente los ácidos málico y tartárico hasta el envero, en el que alcanzan sus valores máximos. También se acumulan los ácidos hidroxicinámicos y los taninos de las semillas y hollejos (KENNEDY *et al.*, 2001). Además, se acumulan compuestos de mucha importancia en la calidad del vino, como son minerales, aminoácidos y precursores del aroma como las metoxipirazinazinas, que aportan caracteres vegetales a ciertos vinos (HASHIZUME *et al.*, 1999).

En el envero, el crecimiento se detiene, los cambios físicos comportan un aumento de la pruina en la epidermis del fruto, una disminución de la transpiración, la rotura de los vasos del xilema y un flujo más importante del potasio respecto de otros iones. Ahora los vasos funcionales serán los del floema, que transportarán la sacarosa a partir de las hojas adultas hacia las bayas. Pero además, el almidón de reserva del parénquima cortical se metaboliza para suplir las elevadas necesidades fisiológicas de esta fase como son la finalización del proceso de formación de las semillas, la síntesis de polifenoles y la migración de los azúcares hacia la baya.

La segunda fase de crecimiento o de maduración de la uva se caracteriza por la coloración y ablandamiento de la baya. El volumen de la baya acabará por duplicarse, de manera que muchos de los solutos presentes verán reducida su concentración aunque no sean metabolizados (COOMBE, 1992). El ácido tartárico permanece estable y el málico disminuye. Los taninos de los hollejos disminuyen o permanecen constantes y se ven modificados al aumentar su tamaño. Pero, en esta fase, el proceso más destacado es la acumulación de azúcares (principalmente glucosa y fructosa) procedentes de la hidrólisis de la sacarosa obtenida en la biosíntesis. La sacarosa de la baya se desdobra en glucosa y fructosa, y llegan a encontrarse en partes iguales en la vendimia aunque al principio predomine la glucosa (KLEWER, 1967). La acumulación de azúcares en la baya está directamente relacionada con la relación superficie foliar/peso fruto.

Por otra parte, en esta etapa también empiezan a

acumularse metabolitos secundarios que determinan la calidad del vino, como son los antocianos en los hollejos de las bayas de variedades tintas. También se acumulan la mayor parte de los componentes responsables del aroma, ya sea directamente o vía precursores que no llegan a ser volátiles hasta que el vino envejece. Aunque los compuestos aromáticos aumenten a lo largo de la maduración, en general de las bayas más maduras se obtienen vinos menos aromáticos debido a su conversión en moléculas no volátiles. Otros aromas producidos en la fermentación, como los alcoholes superiores y ésteres, pueden depender del contenido en azúcares y de los precursores en la uva.

La producción de fenoles aumenta significativamente en el envero, ya que, durante el desarrollo de la baya verde, se sintetizan en muy poca cantidad, obteniéndose durante la vendimia máximo contenido, cambiando ligeramente su nivel en función de las condiciones climáticas que tienen lugar al aproximarse la vendimia. Las catequinas y los ésteres del ácido hidroxicinámico disminuyen en la segunda fase de la maduración debido al crecimiento de la baya. También lo hacen los taninos de las semillas, lo que se atribuye a procesos de oxidación (KENNEDY *et al.*, 2000) y contribuyen a suavizar la astringencia global. Entre los factores que influyen en la síntesis y que determinan el contenido final de los fenoles en la vendimia cabe destacar las características genéticas, la traslocación y acumulación de azúcares en las bayas, la disponibilidad de agua y la temperatura.

El objetivo de este trabajo es estudiar el efecto que el genotipo tiene sobre la evolución de los azúcares y fenoles desde el estadio baya verde hasta la madurez de vendimia en diferentes clones de *Vitis vinifera* cultivados en condiciones controladas.

## Materiales y métodos

Para la realización del presente trabajo se utilizó uva procedente de cinco clones de diferentes variedades de *Vitis vinifera* de la colección del ENTAV (Grau du Roi-Gard, Francia) cultivadas en las mismas condiciones: suelo arenoso para evitar la *Phylloxera* y proporcionar unas condiciones sanitarias conocidas, ausencia de déficit hídrico (riego por goteo y capa freática a 1 metro), y selección clonal.

El material vegetal elegido para realizar el estudio

**CUADRO 1.** Influencia de los diferentes estadios fenológicos sobre los valores medios en mg/g PF de los compuestos fenólicos analizados para el clon Syrah 174.

Compuestos fenólicos	Estadios fenológicos			
	EI	EIV	EIC	EIII
Flavonoles	0,93 ± 0,03 a	0,58 ± 0,01 b	0,85 ± 0,013 c	1,49 ± 0,06 d
Taninos Cat. Tot.	5,25 ± 0,27 a	3,97 ± 0,18 b	3,81 ± 0,13 b	2,52 ± 0,09 c
Proantocianidoles	14,65 ± 0,71 a	15,62 ± 0,49 b	16,26 ± 0,87 b	15,61 ± 0,71 b
Antocianos	–	–	0,75 ± 0,03 a	6,27 ± 0,14 b

**CUADRO 2.** Influencia de los diferentes estadios fenológicos sobre los valores medios en mg/g PF de los polifenoles analizados para el clon Cabernet Sauvignon 341.

Polifenoles	Estadios fenológicos			
	EI	EIV	EIC	EIII
Flavonoles	1,04 ± 0,02 a	0,47 ± 0,01 b	0,69 ± 0,03 c	1,06 ± 0,04 a
Taninos Cat. Tot.	5,61 ± 0,25 a	4,46 ± 0,20 b	3,73 ± 0,12 c	2,33 ± 0,09 d
Proantocianidoles	23,10 ± 1,03 a	19,51 ± 0,51 b	16,14 ± 0,51 c	13,84 ± 0,63 d
Antocianos	–	–	0,92 ± 0,04 a	5,07 ± 0,22 b

**CUADRO 3.** Influencia de los diferentes estadios fenológicos sobre los valores medios en mg/g PF de los polifenoles analizados para el clon Merlot 181.

Polifenoles	Estadios fenológicos			
	EI	EIV	EIC	EIII
Flavonoles	1,00 ± 0,02 a	0,73 ± 0,02 b	0,93 ± 0,03 c	1,32 ± 0,03 d
Taninos Cat. Tot.	4,79 ± 0,26 a	3,61 ± 0,10 b	3,22 ± 0,08 c	1,83 ± 0,05 d
Proantocianidoles	14,68 ± 0,33 a	10,40 ± 0,31 b	8,92 ± 0,51 c	11,37 ± 0,38 d
Antocianos	–	–	0,42 ± 0,01 a	5,61 ± 0,01 b

**CUADRO 4.** Influencia de los diferentes estadios fenológicos sobre los valores medios en mg/g PF de los polifenoles analizados para el clon Cot 46.

Polifenoles	Estadios fenológicos			
	EI	EIV	EIC	EIII
Flavonoles	1,09 ± 0,03 a	0,79 ± 0,02 b	0,93 ± 0,03 c	2,22 ± 0,03 d
Taninos Cat. Tot.	11,60 ± 0,49 a	8,16 ± 0,60 b	7,34 ± 0,12 c	5,22 ± 0,12 d
Proantocianidoles	23,77 ± 0,44 a	19,16 ± 1,26 b	20,08 ± 0,65 c	29,96 ± 1,01 d
Antocianos	–	–	0,93 ± 0,04 a	13,43 ± 0,40 b

**CUADRO 5.** Influencia de los diferentes estadios fenológicos sobre los valores medios en mg/g PF de los polifenoles analizados para el clon Grenache 136.

Polifenoles	Estadios fenológicos			
	EI	EIV	EIC	EIII
Flavonoles	1,47 ± 0,04 a	1,26 ± 0,09 b	2,12 ± 0,03 c	1,27 ± 0,03 b
Taninos Cat. Tot.	4,63 ± 0,22 ab	4,74 ± 0,13 a	4,50 ± 0,22 b	2,49 ± 0,11 c
Proantocianidoles	15,83 ± 0,23 a	15,89 ± 0,26 a	16,35 ± 1,04 b	15,89 ± 0,12 a
Antocianos	–	–	0,31 ± 0,01 a	1,76 ± 0,03 b

fueron cinco clones de distintas variedades: Syrah 174 (S174), Garnacha 136 (G136), Cot (Malbec) 46 (C46), Cabernet Sauvignon 341 (CS341), y Merlot 181 (M181). Se tomaron al azar 3 racimos de cada clon con diferente orientación y de cada uno de los estadios fenológicos:

**Estadio I (EI):** cierre del racimo. Se produce cuando las bayas empiezan a tocarse. Corresponde al estadio número 32 en el sistema modificado de Eichhorn y Lorenz por B.G. COMBE (1995).

**Estadio II:** 20–50% envero (existencia “suficiente” de bayas verdes y blandas). En este estadio se diferenciaron dos subestadios: bayas verdes (EIIV) y bayas coloreadas (EIIC). Corresponde al estadio número 35 en el sistema modificado de Eichhorn y Lorenz por B.G. COMBE (1995).

**Estadio III (EIII):** maduración vendimia. Corresponde al estadio número 38 en el sistema modificado de Eichhorn y Lorenz por B.G. COMBE (1995).

Las muestras se tomaron alrededor de las 8 h de la mañana, se transportaron en nevera y fueron congeladas inmediatamente en nitrógeno líquido a la llegada al laboratorio. Seguidamente se introdujeron en un congelador a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de su análisis. Las bayas se clasificaron en el laboratorio por tamaño en función de su diámetro (mediante un juego de tamices) para obtener una muestra representativa de la población total y sobre ésta realizar el análisis de los diferentes parámetros analíticos.

Se tomó una muestra de cada clon para cada estadio separando el hollejo por una parte y la pulpa con las semillas por otra. Los hollejos completamente congelados, de cada clon y estadio, se pasaron por un molino de bolas con el objetivo de obtener un polvo o harina sobre el cual se realizó la correspondiente extracción y análisis de los polifenoles utilizando técnicas de espectrofotometría. El proceso de extracción fue el mismo para el análisis de taninos, flavonoles y proantocianidoles, manteniéndose congeladas las muestras (polvo disuelto en el medio de extracción) a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Para el análisis de los antocianos la extracción fue la misma pero las determinaciones analíticas se hicieron sin congelación previa.

La extracción se realizó a partir de 0,25 g de polvo de hollejos 10 mL del medio de extracción. Se realizaron 3 extracciones para cada estadio y clon, y de cada extracción se hicieron 3 medidas, es decir, que

se obtuvieron 9 valores en total para cada estadio de cada clon.

Las determinaciones analíticas realizadas en la pulpa y las semillas, tales como volumen, densidad, acidez total y pH del mosto, se realizaron sobre las muestras descongeladas. Para ello se exprimieron manualmente utilizando como tamiz un tejido de rejilla para que deje pasar el mosto y retenga las fibras y semillas sin romperlas, evitando así resultados poco fiables. La medida del pH y de la acidez total (AT) del mosto se realizó según el método de la O.I.V. (1990).

En la *Figura 1* viene el diagrama de flujo del proceso utilizado para la preparación y tratamiento de las muestras.

Los flavonoles se determinaron por espectrofotometría (OJEDA *et al.* 2002). Los taninos catequínicos totales por el método del p–dimetilaminocinnamaldehído (DMCA), desarrollado por MC MURROU y DOWELL (1978), los proantocianidoles por el método clásico (RIBÉREAU–GAYON y STONESTREET, 1966), y los antocianos por la técnica utilizada por OJEDA (1999).

La determinación de la glucosa y fructosa se realizó por el método de la OIV (BOEHRINGER, 1973; BERGMAYER *et al.* 1970).

El porcentaje de materia seca se calculó mediante la fórmula:

$$\%MS = (P_2 - P_0 / P_1 - P_0) \times 100$$

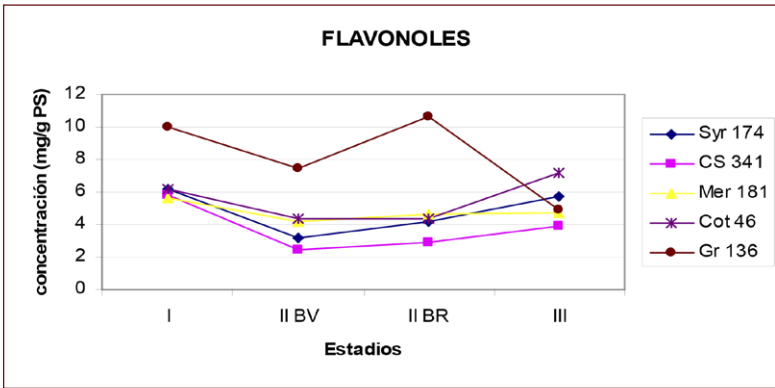
Donde:

$P_0$ : peso de un eppendorf vacío.

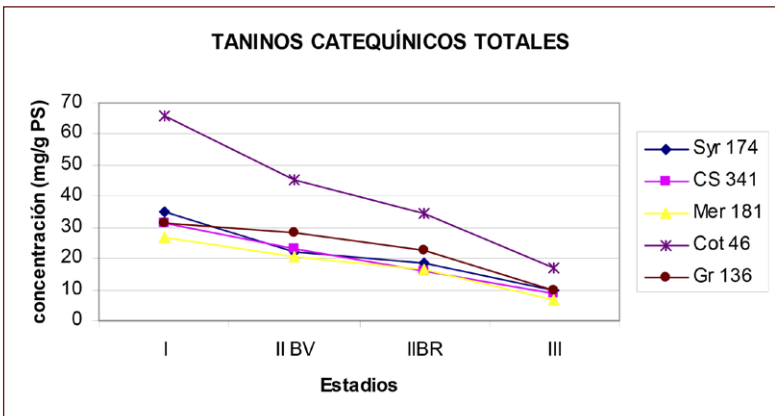
$P_1$ : eppendorf + 0,2 g de polvo de hollejo pesado con precisión.

$P_2$ : peso eppendorf + muestra después de pasar por la estufa a  $60^{\circ}\text{C}$  durante 48–72 h. Se realizaron al menos dos pesadas por muestra.

Para el tratamiento estadístico de los resultados obtenidos se utilizó el programa estadístico Statgraphics 4.1, realizando un Análisis de la varianza ANOVA (one–way) para ver si existen diferencias significativas entre los parámetros analizados de los diferentes clones. Para un mismo efecto los valores de las filas con la misma letra indican que no existen diferencias significativas, y con distinta letra que existen diferencias significativas al 95% según el test



**GRÁFICO 1.** Evolución de la concentración de flavonoles para cada clon y estadio fenológico.



**GRÁFICO 2.** Evolución de la concentración de taninos catequínicos totales para cada clon y estadio fenológico.

de Rango Múltiple de Tukey.

## Resultados y discusión

### *Influencia de los diferentes estadios fenológicos en el contenido polifenólico de los diferentes clones*

El contenido en la uva de compuestos fenólicos guarda relación con su concentración en los vinos, aunque no forma absoluta, ya que, tanto el tipo de vinificación realizado como los fenómenos bioquímicos que se producen entre los mismos polifenoles (oxidación, degradación, condensación) hacen variar el contenido inicial de la uva (ZAMORA, 2003).

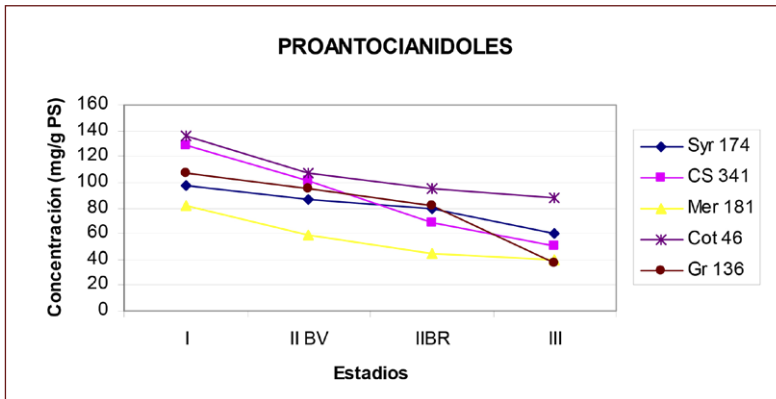
En el *Cuadro 1* vienen expresados en mg/g peso fresco (PF) los resultados obtenidos en las determinaciones analíticas de los diferentes polifenoles para el clon Syrah 174. Se observa que los flavonoles y los antocianos varían significativamente en cada estadio, mientras que los niveles de taninos catequínicos totales se mantienen constantes durante el envero y

el contenido en proantocianidoles se estabiliza desde el envero hasta la madurez.

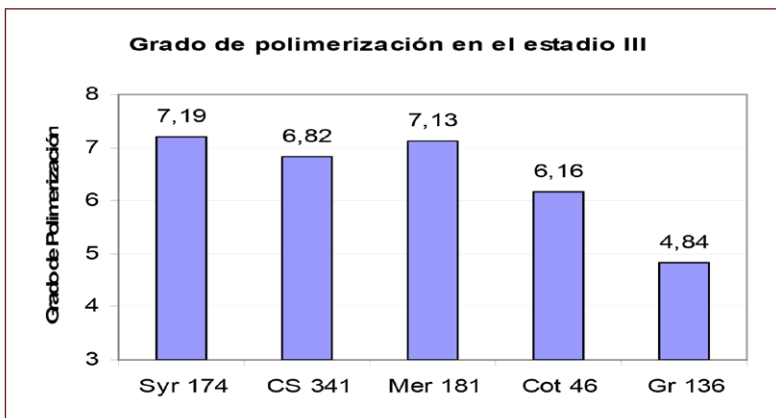
El *Cuadro 2* muestra los resultados obtenidos para el clon Cabernet Sauvignon 341. Todos los polifenoles varían significativamente en cada estadio fenológico, excepto el contenido en flavonoles que en la madurez es similar al del estadio cierre de racimo.

En el *Cuadro 3* vienen expresados en mg/g peso fresco (PF) los resultados obtenidos en las determinaciones analíticas de las concentraciones de flavonoles, taninos catequínicos totales, proantocianidoles y antocianos para el clon Merlot 181. Los contenidos de los diferentes polifenoles presentan diferencias significativas desde el cierre de racimo hasta la madurez.

En el *Cuadro 4* vienen expresados en mg/g peso fresco (PF), los resultados obtenidos en las determinaciones analíticas de los diferentes polifenoles para el clon Cot 46. El contenido polifenólico presenta diferencias significativas en todos los estadios.



**GRÁFICO 3.** Evolución de la concentración de proantocianidoles para cada clon y estadio fenológico.



**GRÁFICO 4.** Valores medios del grado de polimerización en el estadio III para cada clon.

En el *Cuadro 5* vienen expresados en mg/g peso fresco (PF), los resultados obtenidos en las determinaciones analíticas de los compuestos polifenólicos para el clon Grenache 136. El contenido en flavonoles y en antocianos varía significativamente en cada estadio. Los proantocianidoles se mantienen constantes a lo largo de desarrollo de la baya, siendo significativamente más elevados en el envero. Finalmente, el contenido en taninos catequínicos totales es estadísticamente significativo en la madurez de las bayas, puesto que no existen diferencias significativas hasta el envero.

Estos datos se pueden expresar en mg/g peso seco (PS), utilizando el porcentaje en materia seca de los hollejos, con el objetivo de comprender bien la carga de compuestos fenólicos de la uva, ya que, siguiendo la curva de crecimiento sigmoidal de la baya, tras el envero se produce un aumento de la misma que puede llegar incluso a duplicar el volumen. Este aumento de volumen y peso no se debe a que aumen-

ta el número de células, ya que en esta fase no se produce división ni multiplicación celular, se debe a que en esta fase la baya acumula agua y azúcares sobre todo en la pulpa, pero también en el hollejo. Debido a este fenómeno, muchos de los solutos presentes verán reducida su concentración aunque no sean metabolizados (COOMBE, 1992). En efecto, en muchos casos donde las diferencias no aparecen significativas al expresar los compuestos fenólicos en mg/g peso fresco, sí que lo son cuando se expresan en mg/g peso seco.

En el *Cuadro 6* vienen expresados en mg/g peso seco (PS), los resultados obtenidos en las determinaciones analíticas de las concentraciones de polifenoles para el clon Syrah 174. Como se puede observar, esta vez, existen diferencias significativas en el contenido en todos los compuestos fenólicos para cada estadio fenológico, lo cual hace pensar que la acumulación de agua influye en los niveles reales de polifenoles.



**CUADRO 6.** Influencia de los diferentes estadios fenológicos sobre los valores medios en mg/g PS de los polifenoles analizados para el clon Syrah 174.

Polifenoles	Estadios fenológicos			
	EI	EIIV	EIIR	EIII
Flavonoles	6,17 ± 0,20 a	3,19 ± 0,08 b	4,15 ± 0,07 c	5,77 ± 0,229 d
Taninos Cat. Tot.	34,87 ± 1,77 a	21,96 ± 0,98 b	18,49 ± 0,75 c	9,73 ± 0,360 d
Proantocianidoles	97,34 ± 4,71 a	86,50 ± 2,73 b	78,92 ± 4,20 c	60,25 ± 2,733 d
Antocianos	–	–	3,64 ± 0,13 a	24,20 ± 0,551 b

**CUADRO 7.** Influencia de los diferentes estadios fenológicos sobre los valores medios en mg/g PS de los polifenoles analizados para el clon Cabernet Sauvignon 341.

Polifenoles	Estadios fenológicos			
	EI	EIIV	EIIC	EIII
Flavonoles	5,79 ± 0,11 a	2,44 ± 0,07 b	2,95 ± 0,11 c	3,90 ± 0,16 d
Taninos Cat. Tot.	31,17 ± 1,37 a	23,08 ± 1,01 b	15,98 ± 0,50 c	8,57 ± 0,31 d
Proantocianidoles	128,29 ± 5,73 a	101,02 ± 2,64 b	69,14 ± 2,20 c	50,97 ± 2,33 d
Antocianos	–	–	3,94 ± 0,16 a	18,66 ± 0,80 b

**CUADRO 8.** Influencia de los diferentes estadios fenológicos sobre los valores medios en mg/g PS de los polifenoles analizados para el clon Merlot 181.

Polifenoles	Estadios fenológicos			
	EI	EIIV	EIIR	EIII
Flavonoles	5,59 ± 0,09 a	4,15 ± 0,08 b	4,67 ± 0,13 c	4,69 ± 0,11 c
Taninos Cat. Tot.	26,73 ± 1,48 a	20,40 ± 0,54 b	16,25 ± 0,38 c	6,57 ± 0,16 d
Proantocianidoles	81,92 ± 1,83 a	58,84 ± 1,75 b	44,95 ± 2,55 c	40,29 ± 1,35 d
Antocianos	–	–	2,13 ± 0,06 a	19,89 ± 0,35 b

**CUADRO 9.** Influencia de los diferentes estadios fenológicos sobre los valores medios en mg/g PS de los polifenoles analizados para el clon Cot 46.

Polifenoles	Estadios fenológicos			
	EI	EIIV	EIIR	EIII
Flavonoles	6,20 ± 0,15 a	4,38 ± 0,09 b	4,38 ± 0,15 b	7,20 ± 0,10 c
Taninos Cat. Tot.	66,07 ± 2,80 a	45,42 ± 1,07 b	34,63 ± 0,56 c	16,95 ± 0,38 d
Proantocianidoles	135,36 ± 2,51 a	106,57 ± 7,02 b	94,68 ± 3,05 c	87,51 ± 3,29 d
Antocianos	–	–	4,40 ± 0,17 a	43,58 ± 1,30 b

**CUADRO 10.** Influencia de los diferentes estadios fenológicos sobre los valores medios en mg/g PS de los polifenoles analizados para el clon Grenache 136.

Polifenoles	Estadios fenológicos			
	EI	EIIV	EIIR	EIII
Flavonoles	9,97 ± 0,28 a	7,48 ± 0,53 b	10,61 ± 0,17 c	4,95 ± 0,06 d
Taninos Cat. Tot.	31,32 ± 1,50 a	28,19 ± 0,74 b	22,57 ± 1,09 c	9,69 ± 0,44 d
Proantocianidoles	107,13 ± 1,53 a	94,48 ± 1,56 b	81,91 ± 5,19 c	37,23 ± 0,46 d
Antocianos	–	–	1,55 ± 0,03 a	6,87 ± 0,10 b

En el *Cuadro 7* vienen expresados en mg/g peso seco (PS), los resultados obtenidos en las determinaciones analíticas de las concentraciones de polifenoles para el clon Cabernet Sauvignon 341. De nuevo, se manifiestan diferencias estadísticamente significativas entre todos los estadios y para todos los compuestos polifenólicos.

El *Cuadro 8* refleja, expresados en mg/g peso seco (PS), los resultados obtenidos en las determinaciones analíticas de las concentraciones de flavonoles, taninos catequínicos totales, proantocianidoles y antocianos para el clon Merlot 181. Este clon también manifiesta contenidos polifenólicos estadísticamente significativos para cada estadio, excepto en el caso de los flavonoles, los cuales se estabilizan a final del envero y madurez.

En el *Cuadro 9* vienen, expresados en mg/g peso seco (PS), los resultados obtenidos en las determinaciones analíticas del contenido polifenólico para el clon Cot 46. El contenido de los diferentes polifenoles presenta diferencias significativas en cada estadio excepto en el caso de los flavonoles que se mantienen constantes en el envero.

El *Cuadro 10* muestra los resultados, expresados en mg/g peso seco (PS), obtenidos en las determinaciones analíticas de las concentraciones de los diferentes polifenoles para el clon Grenache 136. De nuevo, se manifiestan diferencias significativas en cuanto a contenido polifenólico en todos los estadios.

### *Estudio comparativo del contenido en polifenoles de los clones para cada uno de los estadios fenológicos*

La existencia de diferencias en cuanto a contenido fenólico entre las variedades se debe a que cada una reúne una serie de características que favorecen una mayor concentración de los compuestos fenólicos en la baya, tales como, pequeño tamaño, un bajo vigor propio de la variedad y una baja producción (PEÑA, 1999). CHEYNIER *et al.* (1998) coinciden con esta teoría dado que el reparto de las diferentes estructuras químicas presentes en las bayas está sometido al patrimonio genético de las cepas, lo que les confiere un valor taxonómico.

En los *Cuadros 11, 12, 13 y 14* vienen los resultados, expresados en mg/g peso seco (PS), obtenidos en las determinaciones analíticas de las concentra-

ciones de los diferentes polifenoles para los diferentes clones en cada uno de los estadios fenológicos EI, EIIIV, EIIC y EIII. Generalmente, existen diferencias significativas en cuanto a contenido polifenólico entre los clones en cada estadio, aunque en algunos casos estos contenidos pueden ser similares. En el estadio EI (*Cuadro 11*), el nivel de flavonoles en la Syr 174 y CS 46 no presenta diferencias significativas, lo mismo ocurre entre el CS 341 y Gr 136 en cuanto a contenido en taninos catequínicos.

El *Cuadro 12*, correspondiente al estadio EIIIV, muestra que en todos los casos existen diferencias significativas en el contenido polifenólico entre los clones, excepto entre Mer 181 y Cot 46, que en el caso de los flavonoles presentan niveles similares.

En el *Cuadro 13*, se observan los contenidos polifenólicos para cada clon en el estadio fenológico II BR. En este caso, únicamente CS 341 y Mer 181 no presentan diferencias significativas en el contenido de taninos catequínicos totales.

El *Cuadro 14* muestra que, en el estadio de madurez de vendimia, los contenidos en taninos catequínicos totales entre Syr 174 y el Gr 136 no presentan diferencias estadísticamente significativas. Siendo este estadio fenológico el más importante para la futura elaboración del vino, cabe destacar que el Cot 46 cuenta con los contenidos más elevados en todos los compuestos fenólicos.

En el *Gráfico 1* se recoge la evolución de la concentración de flavonoles a lo largo de los diferentes estadios fenológicos en cada clon.

En primer lugar, de estos resultados se extrae que los flavonoles, compuestos fenólicos muy poco abundantes en la uva, siguen una evolución similar en todos los clones. En el primer estadio, tres de los clones (Syr 174, CS 341 y Cot 46) parten de concentraciones de alrededor de 6 mg/g materia seca, disminuyendo ésta hasta el estado II BV y aumentando ligeramente o manteniéndose constante durante el envero, para aumentar finalmente en la madurez. En el cierre de racimo existen diferencias significativas entre los contenidos de flavonoles de las diferentes variedades (excepto, Syr 174 y Cot 46 que no las presentan). Un comportamiento diferente muestra el Mer 181, el cual disminuye hasta el estadio II BV y tras aumentar ligeramente en el envero, se mantiene constante en la madurez, no existiendo diferencias significativas entre II BR y III. En el caso del

**CUADRO 11.** Influencia de los diferentes clones sobre los valores medios en mg/g PS de los polifenoles analizados para estadio fenológico EI.

Polifenoles	Clones				
	Syr 174	CS 341	Mer 181	Cot 46	Gr 136
Flavonoles	6,17 ± 0,20 a	5,79 ± 0,11 b	5,59 ± 0,09 c	6,20 ± 0,15 a	9,97 ± 0,28 d
Taninos Cat. Tot.	34,87 ± 1,76 a	31,17 ± 1,37 b	26,73 ± 1,48 c	66,70 ± 2,80 d	31,32 ± 1,50 b
Proantocianidoles	97,34 ± 4,71 a	128,29 ± 5,73 b	81,92 ± 1,83 c	135,36 ± 2,51 d	107,13 ± 1,53 e

**CUADRO 12.** Influencia de los diferentes clones sobre los valores medios en mg/g PS de los polifenoles analizados para estadio fenológico EIV.

Polifenoles	Clones				
	Syr 174	CS 341	Mer 181	Cot 46	Gr 136
Flavonoles	3,19 ± 0,08 a	2,44 ± 0,07 b	4,15 ± 0,08 c	4,38 ± 0,09 c	7,48 ± 0,53 d
Taninos Cat. Tot.	21,96 ± 0,98 a	23,08 ± 1,01 b	20,40 ± 0,54 c	45,42 ± 1,07 d	28,19 ± 0,74 e
Proantocianidoles	86,50 ± 2,73 a	101,02 ± 2,64 b	58,84 ± 1,75 c	106,57 ± 7,02 d	94,48 ± 1,56 e

**CUADRO 13.** Influencia de los diferentes clones sobre los valores medios en mg/g PS de los polifenoles analizados para estadio fenológico EIC.

Polifenoles	Clones				
	Syr 174	CS 341	Mer 181	Cot 46	Gr 136
Flavonoles	4,15 ± 0,07 a	2,95 ± 0,11 b	4,67 ± 0,13 c	4,38 ± 0,15 d	10,61 ± 0,17 e
Taninos Cat. Tot.	18,49 ± 0,65 a	15,98 ± 0,50 b	16,25 ± 0,38 b	34,63 ± 0,56 c	22,57 ± 1,09 d
Proantocianidoles	78,92 ± 4,20 a	69,14 ± 2,20 b	44,95 ± 2,55 c	94,68 ± 3,05 d	81,91 ± 5,19 e
Antocianos	3,64 ± 0,13 a	3,94 ± 0,16 b	2,13 ± 0,06 c	4,40 ± 0,17 d	1,55 ± 0,03 e

**CUADRO 14.** Influencia de los diferentes clones sobre los valores medios en mg/g PS de los polifenoles analizados para estadio fenológico EIII.

Polifenoles	Clones				
	Syr 174	CS 341	Mer 181	Cot 46	Gr 136
Flavonoles	5,77 ± 0,23 a	3,90 ± 0,16 b	4,69 ± 0,11 c	7,20 ± 0,10 d	4,95 ± 0,06 e
Taninos Cat. Tot.	9,73 ± 0,36 a	8,57 ± 0,31 b	6,57 ± 0,16 c	16,95 ± 0,38 d	9,69 ± 0,44 a
Proantocianidoles	60,25 ± 2,73 a	50,97 ± 2,33 b	40,29 ± 1,35 c	87,51 ± 3,29 d	37,23 ± 0,46 e
Antocianos	24,20 ± 0,55 a	18,66 ± 0,80 b	19,89 ± 0,35 c	43,58 ± 1,30 d	6,87 ± 0,10 e

**CUADRO 15.** Valores absolutos de los contenidos de glucosa y fructosa para cada clon y estadio fenológico.

	Glucosa (mg/mL mosto)				Fructosa (mg/mL mosto)			
	I	IIBV	IIBR	III	I	IIBV	IIBR	III
Syr 174	5,70	25,42	44,60	90,37	0,62	13,51	33,20	82,57
CS 341	4,89	23,48	57,28	111,12	0,26	15,52	47,99	103,40
Mer 181	7,31	36,48	59,48	113,17	1,00	25,22	47,28	104,66
Cot 46	3,18	17,77	43,53	119,11	0,50	9,60	35,70	112,58
Gr 136	7,01	31,41	56,16	119,92	0,34	16,11	41,40	106,28

Gre 136 parte en el cierre de racimo de 9,97 mg de flavonoles/g materia seca, y disminuye hasta el estadio II BV, para aumentar destacadamente en el estadio II BR y después volver a disminuir hasta la madurez incluso por debajo de valores iniciales.

En el segundo estadio, entre todas las variedades existen diferencias significativas en cuanto a niveles de flavonoles excepto entre Mer 181 y Cot 46. Y también, tanto en el envero como en la madurez, los niveles de flavonoles en peso seco continúan presentando diferencias significativas para todas las variedades. Estudios realizados por CHEYNIER *et al.* en 1998, ponen de manifiesto que los contenidos en flavonoles son variables y alcanzan valores entre 10 y 100 mg/kg de bayas, en este trabajo los valores mínimos, como en el caso del Cabernet Sauvignon, son de 69,97 mg/kg bayas en el estadio II BV, mientras que el Cot 46 en el estado de madurez llega a alcanzar hasta 289,06 mg/kg bayas.

En el estado de madurez de vendimia, la variedad que cuenta con mayor contenido en flavonoles es el Cot 46 debido a que, aunque esta variedad posee bayas medianas, sus hollejos cuentan con un alto porcentaje en materia seca (Anejo II, *Cuadro 2*).

En el *Gráfico 2* se representa la evolución de la concentración de taninos catequínicos totales a lo largo de los diferentes estadios fenológicos de cada variedad.

En cuanto a los taninos catequínicos totales de los hollejos, se observa que todos los clones coinciden en valores altos (25–35 mg/g PS) en el estadio del cierre de racimo, los cuales van disminuyendo hasta alcanzar la madurez. La cantidad de taninos final (estadio III) es siempre menor a la inicial (estadio I). Así, en el primer estadio, las variedades presentan diferencias significativas en cuanto a contenido de taninos, excepto las variedades CS 341 y Gr 136. En este caso, cabe destacar los altos niveles de taninos del Cot 46 que presenta 66,07 mg/g PS (equivalente a 1,56 g/kg baya) en el estadio I hasta llegar a 16,95 mg/g PS en la madurez.

En el segundo estadio, antes del envero también existen diferencias significativas entre las variedades y, ya en el cambio de color del hollejo, únicamente las variedades que no se diferencian significativamente en cuanto contenido de taninos son el CS341 y M181.

Finalmente en la madurez, las variedades S174 y

G136 no presentan, entre sí, diferencias significativas del contenido en taninos, mientras que los demás clones sí que lo hacen.

Los taninos son sintetizados durante la época de crecimiento herbáceo de la baya y su síntesis finaliza poco después del envero. A partir del fin del envero los contenidos totales de taninos en la uva ya están completados y no cambian durante el proceso de maduración de la uva (OJEDA, 1999). Este descenso generalizado de los taninos catequínicos totales, podría deberse a que durante el crecimiento de la baya, ciertas células del hipodermo del hollejo se convierten en células de la pulpa y sus taninos vacuolares van desapareciendo.

Al contrario, existen autores que afirman que la cantidad de taninos en la baya aumenta durante la maduración, debiéndose esto a la disminución de los contenidos en taninos de las pepitas y al aumento de los mismos en los hollejos (MARQUETTE, 1999). Cabe destacar que, en el presente estudio, se han separado los taninos monómeros o catequinas por una parte y los proantocianidoles que corresponden a formas más o menos polimerizadas por otra.

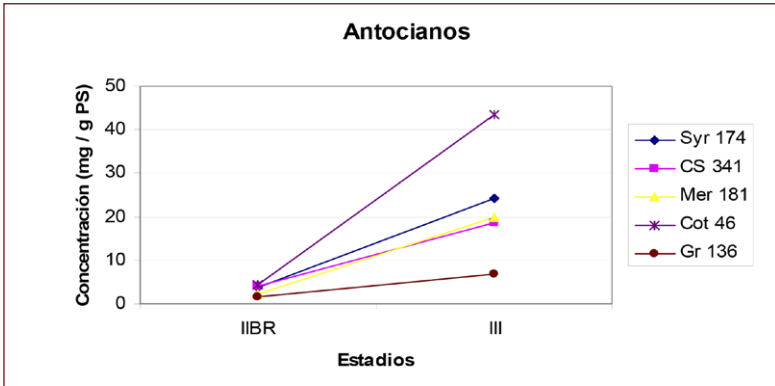
En la elaboración de los vinos es de vital importancia la extracción de los taninos y la fuente más importante proviene de las semillas (AMRANI JOUTEY *et al.*, 1994) aunque su difusión es lenta y requiere un alto contenido de alcohol para asegurar su disolución. Es por ello que, en las primeras etapas de la maceración, los taninos de los hollejos son los que se difunden más rápidamente ya que están más disponibles, de ahí la importancia de estos compuestos fenólicos.

En la uva, valores normales de taninos son: en la piel 1,3 g/kg, en las semillas 1 g/kg y en el raspón 1,5 g/kg (RUIZ, 1999). En nuestro caso, el Cot 46 presenta un alto contenido en taninos en el hollejo en el primer estadio, unos 1,6 g/kg.

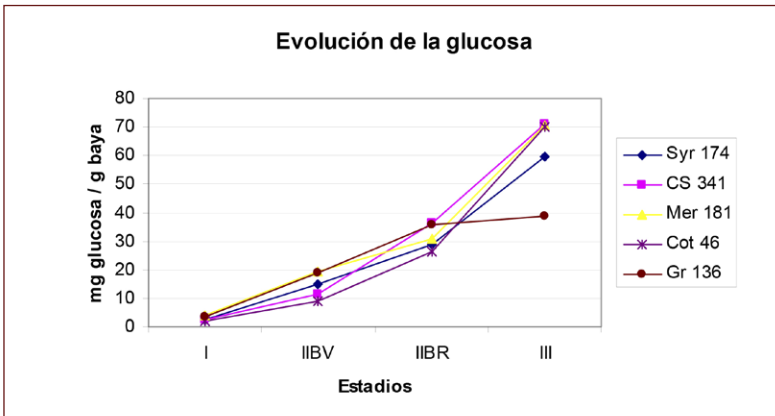
Más adelante se relacionan los taninos catequínicos totales con los proantocianidoles con objeto de interpretar el sentido del grado de polimerización, el cual es muy importante tanto en la baya como en el vino elaborado a partir de la misma.

En el *Gráfico 3* se recoge la evolución de la concentración de proantocianidoles a lo largo de los diferentes estadios fenológicos de cada variedad.

Los proantocianidoles, 3–flavonoles con capaci-



**GRÁFICO 5.** Evolución de la concentración de antocianos para cada clon y estadio fenológico.



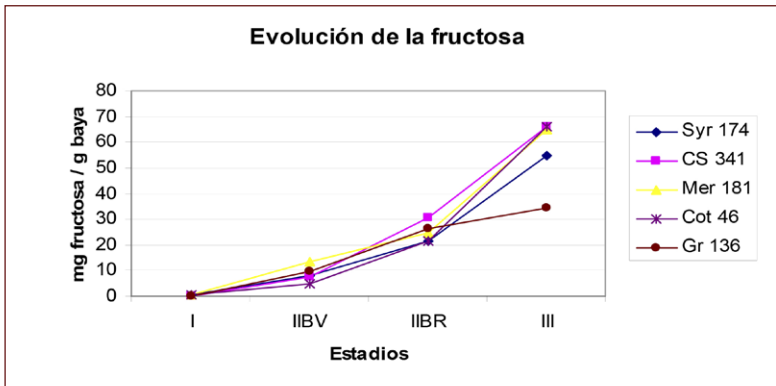
**GRÁFICO 6.** Evolución de los niveles de glucosa para cada clon y estadio fenológico.

dad de liberar antocianos en medio ácido, son compuestos que presentan valores más altos que los fenoles anteriores, aunque también siguen una evolución similar en todas las variedades. En este caso, los proantocianidoles presentes en el estadio de cierre de racimo van disminuyendo en todos los clones hasta llegar a la madurez. Únicamente el clon Gre 136 sufre un descenso más marcado en el estadio III. Desde el cierre de racimo hasta la madurez, todas las variedades presentan diferencias significativas en cuanto a contenido en proantocianidoles (mg/g peso seco) para cada estado. De nuevo en la madurez de vendimia la variedad con mayor contenido en proantocianidoles es el Cot 46.

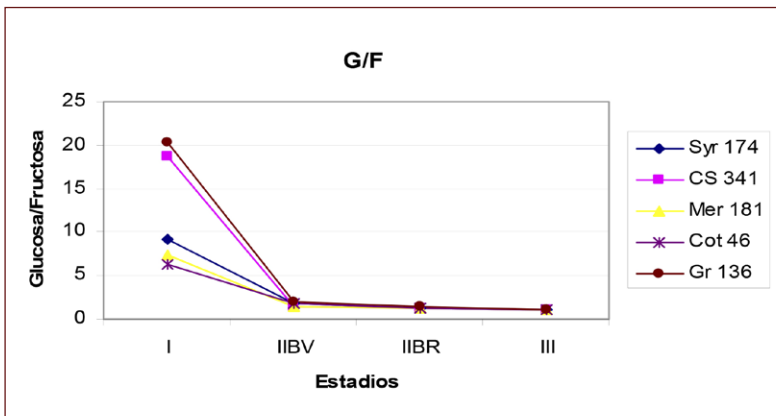
Llegado a este punto, es importante el estudio del grado de polimerización (DP), que nos indica el predominio de los proantocianidoles sobre las estructuras menos polimerizadas. Los taninos de los hollejos se caracterizan por poseer un DP mayor que en el caso de las semillas. Así, las semillas presentan

valores medios de grados de polimerización de alrededor de 10, mientras que los hollejos pueden llegar hasta DP de 30 en algunas variedades (SOUQUET *et al.*, 1996). En nuestro caso, los grados de polimerización de los hollejos en el estadio de maduración se sitúan entre 5 y 7.

El grado de polimerización está en directa relación con el amargor y la astringencia de los hollejos (OSZMIANSKI *et al.*, 1986). Además influye en el grado de astringencia del vino, ya que moléculas demasiado grandes no pueden combinarse con las proteínas de la saliva (amilasa salival) (PEÑA, 1999). Así, mayores grados de polimerización implican que existe mayor cantidad de proantocianidoles (oligómeros y polímeros) que de taninos menos polimerizados (principalmente monómeros). Los proantocianidoles son los que se ligan con las proteínas y otros polímeros, tales como los polisacáridos, y así se explica la astringencia que provocan en la boca al probar ciertos vinos tintos (RIBÉREAU-GAYON,



**GRÁFICO 7.** Evolución de los niveles de fructosa para cada clon y estadio fenológico.



**GRÁFICO 8.** Relación glucosa/fructosa para cada clon y estadio fenológico.

1964).

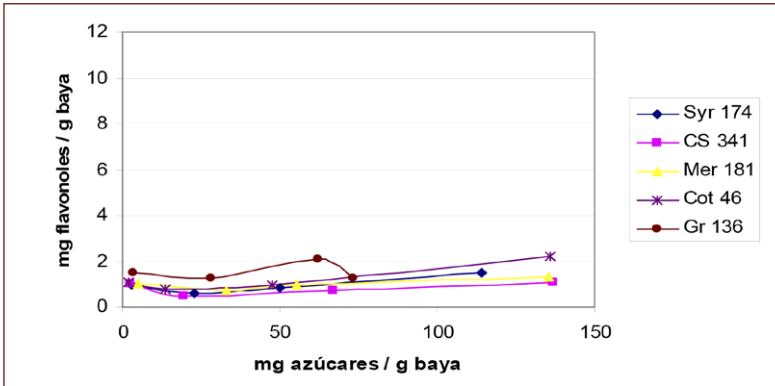
El Gráfico 4 se observan los grados de polimerización para cada clon en el estadio de maduración, de éste se deduce que, en los hollejos de las variedades existen mayor cantidad de formas polimerizadas que de formas monoméricas de los taninos.

En el Gráfico 5 se recoge la evolución de la concentración de antocianos a lo largo de los diferentes estadios fenológicos de cada variedad.

Los niveles de antocianos, uno de los compuestos fenólicos más importantes, empiezan a evolucionar a lo largo del envero y a partir de aquí se acumularán hasta la maduración. Pero cabe destacar que se pueden encontrar estancamientos un poco antes de la maduración (GONZÁLEZ-SAN JOSÉ *et al.*, 1992) causado por un descenso y posterior incremento de los algunos derivados de la malvidina. En nuestro caso, los cinco clones se comportan de igual forma, parten de niveles bajos de antocianos en el estadio II BR, como por ejemplo 1,55 mg/g PS para el Gr

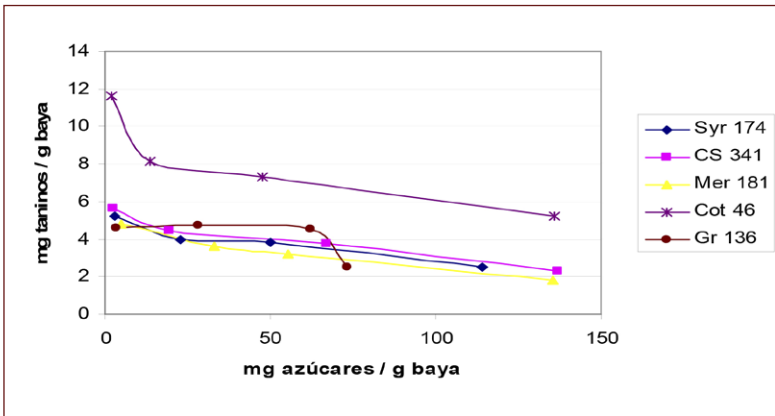
136 hasta 4,4 mg/g PS en el Cot 46 y alcanzan valores máximos en la madurez (43,58 mg/g PS para el Cot 46). En todos los casos existen diferencias significativas entre todas las variedades dentro de cada estadio.

El incremento de los niveles de antocianos se produce a diferente velocidad según las variedades. En el caso del Merlot, Syrah y Cabernet Sauvignon, los antocianos aumentan rápidamente una vez empieza el envero y por ello se alcanza alrededor del 75% del contenido final, unas dos semanas después del envero. En cambio, en el caso de la Grenache la síntesis se produce más pausadamente y se alarga durante un mes. Esta velocidad está muy relacionada con el tiempo que tarda la variedad en conseguir el 100% de las bayas coloreadas. En el Merlot, Cabernet Sauvignon y Syrah este proceso es más rápido, y eso hace que también aumente más rápidamente el contenido en antocianos. Esto explica que en el gráfico se presenten diferentes pendientes para las



**GRÁFICO 9.** Relación entre el contenido en flavonoles y azúcares para cada clon y estadio fenológico\*.

(\*) Los puntos marcados sobre la curva de evolución que sigue cada clon corresponden a los diferentes estadios fenológicos considerados.



**GRÁFICO 10.** Relación entre el contenido de taninos catequínicos totales y azúcares para cada clon y estadio fenológico\*.

rectas que representan los incrementos de antocianos en los diferentes clones, destacando por encima de todos los demás el comportamiento del Cot 46.

Según la bibliografía consultada, Cot, Cabernet Sauvignon y Merlot presentan altos contenidos de antocianos, ya que son variedades de bayas pequeñas, por otra parte, la Syrah, con bayas que van de pequeñas a medianas, presenta contenidos medios y finalmente la Garnacha, que posee un bajo contenido antocianico (MATEUS *et al.*, 2002). En este trabajo la Syrah supera los niveles de antocianos del Cabernet Sauvignon y Merlot.

Se han encontrado contenidos de antocianos que van de 900 a 1.500 mg/kg uva (RIBÉREAU-GAYON, 1982) para el Merlot en Burdeos, en este estudio el Merlot presenta niveles de antocianos de 741,76 mg/kg uva. El Cabernet Sauvignon puede llegar a acumular 2.000 mg/kg uva y la Garnacha no suele superar un gramo por kg (RUIZ, 1999), observándose para el CS 341 de 802,56 mg/kg uva y para la Gr 136

valores de 0,2 g/kg uva.

### *Evolución de los azúcares dentro de cada estadio fenológico*

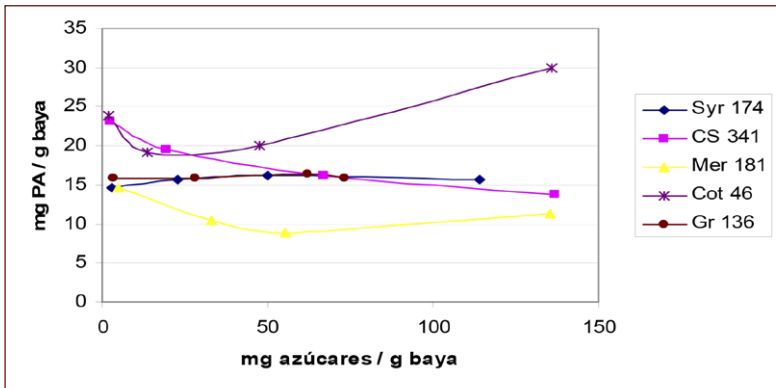
Las características del mosto obtenido de las bayas para la determinación tanto de la glucosa como de la fructosa se reflejan en los Cuadros 4, 5, 6 y 7 del Anejo 2.

En el Gráfico 6 puede observarse que la evolución de la glucosa durante el crecimiento de la baya y en todas las variedades aumenta desde el cierre de racimo hasta la madurez.

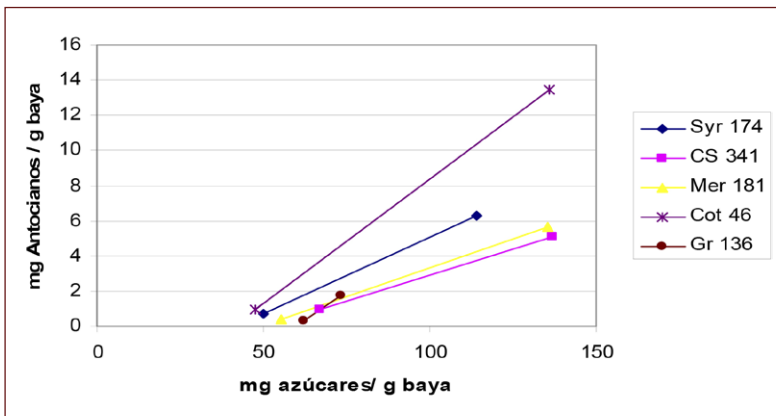
El aumento más pronunciado del contenido en glucosa se da entre el envero y la madurez. Esto se produce en todos los clones excepto en Gre 136, en el cual también aumenta pero en menor grado.

En el Cuadro 15 se muestran los valores absolutos de glucosa y fructosa (mg/mL de mosto) en cada estadio fenológico y para cada variedad estudiada.

Se observa que hasta el envero, el clon que presen-



**GRÁFICO 11.** Relación entre el contenido proantocianidoles y azúcares para cada clon y estadio fenológico\*.



**GRÁFICO 12.** Relación entre el contenido de antocianos y azúcares para cada clon y estadio fenológico\*.

ta más glucosa (mg/mL mosto) es el Mer 181 siendo superado por el Cot 46 y Gr 136 en la fase de maduración. En cambio, si se habla de mg glucosa por gramo de baya, en el Gráfico 10 se observa que los mayores niveles de glucosa en maduración los posee el CS 341, esto se debe a que aunque la Garnacha posee las bayas más grandes, es el Cabernet el que posee mayor cantidad de mosto por baya y por tanto más glucosa (Anejo II, Cuadros 3 y 5).

Por su parte, la fructosa muy ligada a la glucosa, también sigue la misma evolución durante el crecimiento de las bayas, como se puede observar en el Gráfico 7.

Así, en el caso de la fructosa, se observa que durante las dos primeras etapas de desarrollo de la baya el Mer 181 presenta de nuevo mayores niveles de fructosa (mg fructosa/mL mosto) siendo superada en el envero por el CS 341 y predominando el Cot 46 como el clon con mayor contenido en fructosa en el estadio de madurez (Cuadro 15).

En el Gráfico 8, se observa que en la madurez los clones que presentan mayor contenido en fructosa por gramo de baya son el CS 341 y Cot 46. En el Cot 46 podría explicarse, ya que es una variedad que presenta un elevado peso medio de baya y además un alto contenido en mosto por baya (Anejo II, Cuadros 3 y 5). En cambio, el CS 341 presenta bayas más bien pequeñas y el contenido en mosto no es de los más altos, por lo que se podría pensar que esta variedad posee un mayor potencial de síntesis de azúcares.

El contenido en glucosa y el de fructosa aumentan conforme se desarrollan las bayas, pero es desde el envero hasta la madurez, cuando este aumento se produce más rápidamente. Esto se debe a la hidrólisis de la sacarosa obtenida en la biosíntesis. La sacarosa de la baya se desdobla en glucosa y fructosa, y llegan a encontrarse en partes iguales en la vendimia aunque al principio predomine la glucosa (KLEWER, 1967). Se puede observar la relación en-



tre glucosa y fructosa en el *Gráfico 8*.

Se comprueba que en el primer estadio fenológico el contenido en glucosa es mayor que el de fructosa en todas las variedades, pero enseguida se van igualando porque se acumula fructosa y el metabolismo utiliza otros sustratos como el malato. Finalmente en la madurez, el índice G/F está alrededor de 1 ya que glucosa y fructosa se presentan en partes prácticamente iguales.

## *Relación entre el contenido en polifenoles y el contenido en azúcares*

La evolución de los azúcares a lo largo del crecimiento de la baya nos da una idea de su estado en cada momento, así la vendimia se puede decidir determinando el contenido en azúcares de las bayas y teniendo en cuenta la evolución de la acidez (ZAMORA, 2003). Como se ha comprobado el contenido en polifenoles en cada estadio fenológico es diferente para cada clon. La relación entre ambos factores nos da una idea del posible desfase fisiológico entre las variedades.

En el *Gráfico 9*, se observa que no se alcanzan niveles elevados de flavonoles a lo largo de todo el ciclo de crecimiento y destaca el comportamiento del Gr 136 el cual cubre su desarrollo en la mitad de tiempo que los demás clones, alcanzando sus valores finales de azúcares mucho antes que todas las demás variedades.

En el caso de los taninos catequínicos totales, en el *Gráfico 10*, se observa una relación negativa, puesto que conforme aumentan los azúcares en las bayas se produce una disminución de los taninos. De nuevo se observa el efecto del rápido desarrollo del clon Gre 136 y en menor medida le sigue la Syr 174.

En el caso de los proantocianidoles, como se observa en el *Gráfico 11*, éstos se mantienen constantes a lo largo del crecimiento de la baya en el caso de la Syr 174 y Gr 136, mientras en el CS 341 y Mer 181 disminuyen. Sólo en el clon Cot 46 se produce un descenso inicial y seguidamente, desde el envero, los niveles de proantocianidoles aumentan hasta la madurez. De nuevo se intuye el rápido desarrollo del Gr 136.

Finalmente, como se observa en el *Gráfico 12*, la cantidad de antocianos en las bayas está muy relacionada con el contenido en azúcares. Para ver exactamente la cinética de ambas concentraciones se de-

bería haber muestreado en tiempos intermedios entre los estadios de envero y madurez. Pero globalmente se observa que, por ejemplo, en el caso del Cot 46 existe una velocidad de carga de antocianos y azúcares similar siendo la pendiente de la recta casi de 45°. En los demás clones se observa que la velocidad de síntesis de los azúcares supera ligeramente la de los antocianos.

## Conclusiones

Los resultados obtenidos para cada uno de los cinco clones estudiados han presentado diferencias significativas tanto entre las variedades como dentro de cada una de ellas para los diferentes estadios fenológicos, presentando en general valores ligeramente superiores a los que aparecen en la bibliografía consultada, debido probablemente a unas condiciones de cultivo más favorables.

El clon Cot 46 presenta los mayores contenidos en polifenoles respecto a los demás clones en cada uno de los estados fenológicos considerados, debido en parte al elevado peso medio de sus hollejos. El clon Grenache 136, aunque no cuenta con valores destacables de polifenoles, ha alcanzando la madurez de vendimia antes que las otras variedades. Esto se contradice con el hecho de que sea una variedad de ciclo largo, con lo que probablemente, debido a que el suelo es fértil, no haya llegado al punto óptimo de madurez fisiológica.

Finalmente, se podría afirmar que el fenotipo se debe al genotipo, ya que todas las variedades se han cultivado en las mismas condiciones y en la misma zona, con lo que las diferencias entre los fenoles y azúcares estudiados en todas ellas se deben únicamente a las características propias de cada variedad.

## Bibliografía

- ALEIXANDRE BENAVENT, J.L., (1999). Vinos y bebidas alcohólicas. S.P.U.P.V.
- AMRANI JOUTEI, K., GLORIES, Y., (1994). Étude en conditions modèles de l'extractibilité des composés phénoliques des pellicules et des pépins de raisins rouges. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, 28, 4:303-317.
- ARAZARENA, I., AYESTARÁN, B., CANTALEJO, M.J., NAVARRO, M., VERA, M., ABRIL, I., CASP, A., (2002). Anthocyanin composition of Tempranillo, Garnacha and Cabernet Sauvignon grapes from high and low quality vineyards over two years. *Europ. Food Research and Technology*, 214 (4) 303-309.
- ARAZARENA, I., CASP, A., MARIN, R., NAVARRO, M., (2000). Differentiation of some Spanish wines according to variety and region based on their anthocyanin composition. *European Food Research*

- and *Technology*, 212 (1) 108–112.
- BATE–SMITH, E.C., (1954). Astringency in Foods. *Fodd* 23:124.
- BERGMEYER, H.U., BERNT E., SCHMIDT F. and STORK, H. (1970). Méthodes d'analyse enzymatique by BERBMEYER H.U., 2e éd. P. 1163, Verlag–Chemie Weinheim/Bergstraße.
- BLOUIN, A., GUIMBERTEAU, G., (2002). Maduración y madurez de la uva. Ed. Mundi–Prensa.
- BOEHRINGER Manheim, (1973). Méthodes d'analyse enzymatique en chimie alimentaire, documentation technique. JUNGE Ch., F.V. O.I.V., 1973, N° 438.
- BOURISQUOT, JM., SAPIS, JM., MACHEIX, JJ., (1986). Les esters hydroxycinnamiques chez le genre *Vitis*. Essai d'application taxonomique: premiers résultats. *CR Acad Sci, Paris Ser. III*, 302, 177.
- BUCELLI, P., FAVIERI, V., GIANNETTI, F., GIGLIOTTI, A., (1995). Evaluation of phenolic components of some black grape varieties grown in Tuscany. *Rivista di Viticoltura e di Enologia*, 48 (1): 39–50.
- CASTIA, T., FRANCO, M.A., MATTIVI, F., MUGGIOLU, G., SFERLAZZO, G., VERSINI, G., (1992). Characterization of grapes cultivated in Sardinia: Chemometric methods applied to the anthocyanic fraction. *Sciences des Aliments*, 12: 239–255.
- CHAMPAGNOL, F. (1984). Les composés phénoliques; Éléments de physiologie de la vigne et de la viticulture générale. Ed. Déhan.
- CHEYNIER, V., MOUTOUNET, M. y SARNI–MANCHADO, P., (1998). Les composés phénoliques. En: *Oenologie, fondements scientifiques et technologiques*. C.Flanzy, Pariás, Lavoissier Tec&Doc (Eds), pp 124–164.
- COOMBE, B.G., (1995). Adoption of a system for identifying grapevine growth stages. *Australian Journal of Grape and Wine Reserach*, 1, 100–110.
- COOMBE, B.G., (1992). Research on development and ripening of the grape berry. *Am. J. Enol. Vitic.* 43, 101–110.
- DELOIRE, A., KRAEVA, E., GUANG–HUI DAI, RENAULT, A., ROCHARD, J., CHATELAIN, C., CARBONNEAU, A., ANDARY, C., (1998). Les mécanismes de défense de la vigne. *Phytoma. La défense des végétaux* n° 510. 46–51.
- DI STEFANO, R., MORIONDO, G., BORSA, D., GENTILINI, N., FOTI, S., (1994). Influenza di fattori climatici e colturali sul profilo antocianico varietale. *Annali dell'Istituto Sperimentale per l'Enologia Asti*, 25 (1) 31–46.
- ESTEVE RODRÍGUEZ, M. D., (1999). Química enológica. S.P.U.P.V.
- FLAMINI, R., TOMASI, D., (2000). The anthocyanin content in berries of the hybrid grape cultivars Clinton and Isabella. *Vitis*, 39 (2) 79–81.
- FURTADO, P., FIGUEIREDO, P., CHAVES DAS NEVES, H., PINA, F., (1993). Photochemical and thermal degradation of anthocyanins. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 15:29–40.
- GARCÍA–BENEYTEZ, E., REVILLA, E., CABELLO, F., (2002). Anthocyanin pattern of several red grape cultivars and wines made from them. *European Food Research and Technology*, 215 (1): 32–37.
- GLORIES, Y (1999). Substances responsables for astringency, bitterness and wine colour. *J. Internat. Sci. Vigne Vin*, 33. 107–110.
- GLORIES, Y., JOUTEL, K.A., (1995). Tanins et anthocyanes: localisation dans la baie de raisin et mode d'extraction. *Rev. Française d'Oenologie*, 153, 28–31.
- GLORIES, Y., (1984). La couleur des vins rouges. 1ère partie. Les équilibres des anthocyanes et des tannins. *Conn. Vigne Vin*, 18, 195–217.
- GONZALEZ–SAN JOSE, M.L., DIEZ, C., (1992). Compuestos fenólicos en el hollejo de uva tinta durante la maduración. *Agrochimica*, 36, 63–70.
- HASHIZUME, K., SAMUTA, T., (1999). Grape maturity and light exposure affect berry methoxypyrazine concentration quality. *Am. J. Enol. Vitic.* 50:194–198.
- JEANDET, P., BESSIS, R., GAUTHERON, B., (1991). The production of resveratrol (3',5, 4'–tri–hydroxystilbene) by grape berries in different developmental stages. *Am J Enol Vitic*, 42:41–46.
- KELLER, M., HRAZDINA, G., (1998). Interaction of nitrogen availability during bloom and light intensity during veraison. II. Effects on anthocyanin and phenolic development during grape ripening. *Am. J. Enol. Vitic.* 49 (3): 341–349.
- KENNEDY, J., (2002). Understanding grape berry development. *Practical winery & vineyard*. Jul/Ag 2002, 14–23.
- KENNEDY, J., HAYASAKA, Y., VIDAL, S., WATERS, E.J., JONES, G.P., (2001). Composition of Grape Skin Proanthocyanidins at Different Stages of Berry Development. *Journal of Agricultural & Food Chemistry* 49: 5348–5355.
- KENNEDY, J., MATTHEWS, M.A., WATERHOUSE, A.L., (2000). Changes in grape seed polyphenols during fruit ripening. *Phytochemistry*. 55: 77–85.
- KLIEWER, W.M., (1967). The glucose–fructose ratio of *Vitis vinifera* grapes. *Am. J. Enol. Vitic.* 18, 33–41.
- MARKHAM, K.R., GOULD, K.S., WINEFIELD, C.S., MITCHELL, K.A., BLOOR, S.J., BOASE, M.R., (2000). Anthocyanic vacuolar inclusions – their nature and significance in flower colouration. *Phytochemistry*, 55: 327–336.
- MATEUS, N., MACHADO, J.M., DE FREITAS, V., (2002). Development changes of anthocyanins in *Vitis vinifera* grapes grown in the Douro Valley and concentration in respective wines. *J. S. Food and Agriculture*, 82 (14) 1689–1695.
- MARQUETTE, B., (1999). Seminario Internacional de Microbiología y Polifenoles de Vino; Facultad de Ciencias Agrarias Universidad de Chile, 59.
- MAZZA, G. et MINIATI, E., (1993). Grapes. In: *Anthocyanins in fruits, vegetables and grains* C.R.C. Press. Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo, 149–199.
- MC. MURROUGH, I. y MC. DOWELL, J., (1978). Cromatographic separation and automated analysis of flavonols. *Anal. Bichem.*, 91:92–100.
- MORIONDO, G., GENTILINI, N. (1992). Phenolic composition of some grape varieties grown in Valle d'Aosta. *Riv. Vitic. e di Enol.* 45 (3) 59–68.
- O.I.V., (1990). Office Internacional de la Vigne et du Vin. Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des mûts. Paris.
- OJEDA, H.; (1999). Influence de la contrainte hydrique sur la croissance du péricarpe et sur l'évolution des phénols des baies de raisin (*Vitis vinifera* L.) cv Shiraz. Thèse de Doctorat, École National Supérieure Agronomique de Montpellier.
- OJEDA, H., ANDARY C., KRAEVA E., CARBONNEAU A. and DELOIRE A., (2002). Influence of pre and postveraison water deficit on synthesis and concentration of skin phenolic compounds during berry growth of *Vitis vinifera* L., cv Shiraz. *Am. J. of Enol. Vitic*, 53:4, 261–267.
- OSZMIANSKI, J., ROMEYR, F., SAPIS, J.C. MACHEIX, JJ., (1986). Grape seed phenolic: Extraction as affected by some conditions during wine processing. *Am.J.Enol.Vitic.* 37 (1) : 7–12.
- PASCUAL–TERESA, S., RIVAS–GONZALO, J.C., SANTOS–BUELGA, C., (2000). Prodelphinidins and related flavanols in wine. *Int. J. Food Science & Techn*, 35, 33–40.
- PEÑA, A., (1999). Compuestos Fenólicos en la Enología: In : Seminario Internacional de Microbiología y Polifenoles del Vino. Facultad

- de Ciendias Agronómicas, Universidad de Chile, Santiago. 1–24.
- PRICE, S.F., BREEN, P.J., VALLADAO, M. y WATSON, B.T., (1995a). Cluster sun exposure and quercetin in Pinot noir grapes and wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 46 : 187–194.
- PRICE, S.F., WATSON, B.T. y VALLADAO, M., (1995b). Vineyard and winery effects on wine phenolics–flavonols in Oregon Pinot noir. Proceedings of the Ninth Australian Wine Industry Technical Conference, Adelaide. Stockley, C.S., Sas, A.N., Johnstone, R.S., and Lee, T.H. (Eds.). pp. 93–97.
- PRIEUR, C., RIGAUD, J., CHEYNIER, V., MOUTOUNET, M. (1994). Oligomeric and polymeric procyanidins from grape seeds. *Phytochem.* 36 (3) : 781–784.
- RIBÉREAU–GAYON, P., (1982). The Anthocyanins of Grapes and Wines. Anthocyanins as Food Colours. P. Markakis, Academic Press, New York. Pp 209–243.
- RIBÉREAU–GAYON, P., (1966). *Chim. Anal.* 48 :188–196.
- RIBÉREAU–GAYON, P., (1965). Identification d'esters des acides cinamiques et de l'acid tartrique dans les limbes et les baies de *V. vinifera* CR Acad Sci, Paris, 260–341.
- RIBÉREAU–GAYON, P., (1964). Les composés phénoliques du raisin et du vin II. Les flavonosides et les anthocyanosides. *Ann. Physiol. Veg.* 6, 211–242.
- ROGGERO, J.P., LARICE, J.L., ROCHEVILLE–DIVORNE, C., ARCHIER, P., COEN, S., (1988). Composition anthocyanique des cépages. Essai de classification par analyse en composants principaux et par analyse factorielle discriminante. *Revue Française d'œnologie, Cahier Scientifique*, 28 (112) : 41–48.
- ROMEYER, FM., MACHEIX, JJ., GOIFFON, JJ., REMINIAC, CC., SAPI, JC. (1983). The browning capacity of grapes. 3. Changes and importance of hydroxycinnamic acid–tartaric acid esters during development and maturation of the fruit. *J Agric. Food Chem*, 31 : 346–349.
- ROSON, J.P., MOUTOUNET, M., (1992). Quantités d'anthocyanes et de tanins des raisins de quelques cépages du sud–ouest en 1988 et 1989. *Revue Française d'œnologie*, 32 (135) : 17–27.
- RUIZ HERNÁNDEZ, M., (1999). La crianza del vino tinto desde la perspectiva vitícola. Ed. Mundi–prensa. Madrid 1ª edición.
- SINGLETON, V., (1987). Oxygen with phenols and related reactions in musts, wines and model systems: observations and practical implication. *Am. J. Enol. Vitic.* 38, 69–76.
- SIPIORA, M.J., GUTIÉRREZ, M.J., (1998). Effects of pre–veraison irrigation cutoff and skin contact time on the composition, color, and phenolic content of young Cabernet Sauvignon wines in Spain. *Am. J. Enol. Vitic.* 49 (2) 152–162.
- SOUQUET, J.M., CHEYNIER, V., SARNI–MANCHADO, P., MOUTOUNET, M., (1996). Les composés phénoliques du raisin. *J.Int.Sci.Vigne et Vin*, Hors série, 99–107.
- STRACK, D., WRAY, V., (1994). The anthocyanins. The flavonoids : Advances in research since 1986. Chapman & Hall.
- STRAUSS, C.R., WILSON, B., ANDERSON, R., WILLIAMS, P.J., (1987). Development of precursors of C13 nor–isoprenoids flavorants in Riesling grapes. *Am. J. Enol. Vitic.* 38, 23–27
- VALENTI, L., MASTROMAURO, F., BRANCADORO, L., BOGONI, M., MATTIVI, F., (1997). The description and evaluation of grapevine land races in Oltrepo Pavese, northern Italy. *Journal of Wine Research*, 8 (2) 3–25.
- WULF, L.W., NAGEL, C.W., (1978). High–Pressure liquid chromatographic separation of anthocyanins of *Vitis vinifera*. *Am.J. Enol. Vitic.* 29 :42–49.
- YOKOTSUKA, K., NAGAO, A., NAKAZAWA, K., SATO, M., (1999). Changes in anthocyanins in berry skins of Merlot and Cabernet Sauvignon grapes grown in two soils modified with limestone or oyster shell versus a native soil in two years. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50 (1) 1–12.
- ZAMORA, F. (2003) Elaboración y crianza del vino tinto: aspectos científicos y prácticos. AMV Ediciones, Mundi–Prensa.