

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA
AGRONÓMICA Y DEL MEDIO NATURAL

MÁSTER UNIVERSITARIO EN ENOLOGÍA



Composición polifenólica de pepitas y hollejos de uvas de la variedad Monastrell en relación a distintos tratamientos de riego

TRABAJO FIN DE MÁSTER UNIVERSITARIO EN ENOLOGÍA

ALUMNA: Rosalía Rodríguez Esteban

TUTORA: Victoria Lizama Abad

Curso Académico: 2020/2021

Valencia, Julio de 2021



COMPOSICIÓN POLIFENÓLICA DE PEPITAS Y HOLLEJOS DE UVAS DE LA VARIEDAD MONASTRELL EN RELACIÓN A DISTINTOS TRATAMIENTOS DE RIEGO

Autora: Rosalía Rodríguez Esteban

Tutora: Victoria Lizama Abad

Valencia, Julio 2021

RESUMEN

En la actualidad, los viñedos en secano están sufriendo un importante estrés hídrico debido a la escasez de recursos hídricos que puede tener consecuencias negativas en el crecimiento vegetativo y por tanto en su producción. Por ello en el presente trabajo se sometió a diferentes niveles de riego y distintas composiciones de sales minerales a uvas de la variedad Monastrell durante su periodo de maduración y se evaluó el efecto que tuvo sobre su composición polifenólica en hollejos y pepitas. Las bayas se recolectaron en el periodo de vendimia. Posteriormente se pesaron 100 uvas y se obtuvo el peso de sus respectivas pepitas y hollejos. Se realizó la extracción de compuestos polifenólicos en los hollejos y las pepitas con el fin de determinar las proantocianidinas mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC), el índice de polifenoles totales y la concentración de taninos condensados. Además, en el extracto de hollejos se cuantificó la intensidad colorante y los antocianos totales.

Los resultados obtenidos fueron de gran importancia para saber cómo afectan las diferentes estrategias de riego sobre la composición polifenólica de las uvas.

Palabras clave: Monastrell, uvas, pepitas, hollejos, riego, antocianos, HPLC, mDP, taninos, catequinas, intensidad colorante, salinidad, floroglucinólisis.

COMPOSICIÓ POLIFENÒLICA DE LLAVORS I PELLIS DE RAÏM DE LA VARIETAT MONASTRELL EN RELACIÓ A DIFERENTS TRACTAMENTS DE REG

Autora: Rosalía Rodríguez Esteban

Tutora: Victoria Lizama Abad

València, Juliol 2021

RESUM

En l'actualitat, les vinyes en secà estan patint un important estrés hídric a causa de l'escassetat de recursos hídrics que pot tindre conseqüències negatives en el creixement vegetatiu i per tant en la seua producció. Per això en el present treball es va sotmetre a diferents nivells de reg i diferents composicions de sals minerals a raïm de la varietat Monastrell durant el seu període de maduració i es va avaluar l'efecte que va tindre sobre la seua composició polifenòlica en pells i llavors. Les baies es van recol·lectar en el període de verema. Posteriorment es van pesar 100 baies i es va obtindre el pes de les seues respectives llavors i pells. Es va realitzar l'extracció de compostos polifenòlics en les pells i les llavors amb la finalitat de determinar les proantocianidines mitjançant cromatografia líquida d'alta eficàcia (HPLC), l'índex de polifenols totals i la concentració de tanins condensats. A més, en l'extracte de pells es quantifica l'intensitat colorant i els antocians totals.

Els resultats obtinguts van ser de gran importància per a saber com afecten les diferents estratègies de reg sobre la composició polifenòlica del raïm.

Paraules clau: Monastrell, raïm, llavors, pells, reg, antocians, HPLC, mDP, tanins, catequines, intensitat colorant, salinitat, floroglucinólisis.

POLYPHENOLIC COMPOSITION OF SEEDS AND SKINS OF GRAPES OF THE MONASTRELL VARIETY IN RELATION TO DIFFERENT IRRIGATION TREATMENTS

Author: Rosalía Rodríguez Esteban

Tutor: Victoria Lizama Abad

Valencia, July 2021

ABSTRACT

At present, dry land vineyards are suffering significant water stress due to the scarcity of water resources that can have negative consequences on vegetative growth and therefore on their production. For this reason, in the present work, grapes of the Monastrell variety were subjected to different levels of irrigation and different compositions of mineral salts during their ripening period and the effect it had on their polyphenolic composition in skins and seeds was evaluated. The berries were harvested in the harvest period. Subsequently, 100 grapes were weighed and the weight of their respective seeds and skins was obtained. The extraction of polyphenolic compounds in the skins and seeds was carried out in order to determine the proanthocyanidins by means of high efficiency liquid chromatography (HPLC), the total polyphenol index and the concentration of condensed tannins. In addition, the color intensity and total anthocyanins were quantified in the extract of skins.

The results obtained were of great importance to know how the different irrigation strategies affect the polyphenolic composition of the grapes.

Keywords: Monastrell, grapes, seeds, skins, irrigation, anthocyanins, HPLC, mDP, tannins, catechins, color intensity, salinity, floroglucinolysis.

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría en primer lugar dar mi más sincero agradecimiento a mi tutora Victoria Lizama Abad por darme la oportunidad de hacer este proyecto y sobre todo por toda la paciencia y ayuda que me ha prestado.

También agradecer a toda mi familia, sobre todo a mis padres que me han pagado el Máster.

En especial a mi madre, que siempre me ha apoyado pese a mis malas decisiones y ha creído en mí. Ojalá ser como tú mama.

Darle las gracias también a toda la gente con la que me he cruzado estos años de Máster, en especial a Cristina y Javi por toda la ayuda, enseñanzas de la vida y tardes de cervezas.

A Fernando, porque es lo mejor que he conocido este año “raro” y el que ha estado ahí en mis días buenos y malos.

A la Nikis, porque pese a la distancia, las dos sabemos que no podemos vivir una sin la otra.

A Rosana, mi psicóloga.

A toda la gente buena que he conocido en las vendimias, porque han convertido estos años en los mejores de mi vida.

A algunos de mi grupo de carnicería, porque después de todo me han ayudado a despejarme por las tardes.

A las dos oposiciones que me han servido para organizarme mejor y ver que he podido sobrevivir sin casi tener tiempo para dormir.

También me gustaría agradecer a todos los grupos de música cutre que he escuchado durante la redacción de este trabajo, los cuales por vergüenza no voy a nombrar. Y a la familia tres chocolates y a Mimi xxl, porque he perdido muchísimo tiempo mirando sus videos de YouTube.

A todos los escritores (Stephen King, Robin Cook, Isabel Allende, Torcuato Luca de Tena, Noah Gordon...) que han conseguido que por la noche me olvide un poco de la realidad con sus novelas.

Por último, me gustaría agradecer a mis mascotas, Sofrito, Sofrita y Monito, ya que con ellas las tardes de trabajo se me han hecho más entretenidas.

A todos, mil gracias

Este trabajo se enmarca dentro del proyecto de investigación financiado por Mineco-FEDER Estrategias para mitigar los efectos del estrés hídrico severo en la viticultura de clima cálido y árido del sureste de España AGL 2014-54201-C4-4-R

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Monastrell.....	1
1.2 Semillas de las uvas	2
1.3. Hollejos de las uvas	2
1.4. Compuestos fenólicos presentes en uvas tintas.....	3
1.5. Influencia de la cantidad de agua suministrada a los viñedos y su composición en sales minerales sobre los granos de uva, la producción y la composición y síntesis de compuestos polifenólicos	5
2.OBJETIVOS	7
3. PLAN DE TRABAJO	8
4. MATERIALES Y MÉTODOS	10
4.1 Características de la parcela de estudio	10
4.2 Obtención del extracto de hollejos	10
4.3 Obtención del extracto de pepitas.....	11
4.4 Índice de polifenoles totales (IPT) en hollejos y pepitas	11
4.5 Determinación de taninos condensados totales en hollejos y pepitas	11
4.6 Determinación de antocianos totales en hollejos.....	12
4.7 Determinación de la intensidad colorante en hollejos.....	12
4.8 Determinación de proantocianidinas mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) en hollejos y pepitas.	12
4.9 Análisis de antocianos pormenorizados en hollejos.	13
4.10 Análisis estadístico.	13
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	14
5.1. Efectos producidos por el uso de los distintos tratamientos sobre el peso de 100 bayas, el peso de las pepitas de 100 bayas y la composición del extracto de las pepitas.....	14
5.2. Efectos producidos por el uso de los distintos tratamientos sobre el peso de 100 bayas, el peso de los hollejos de 100 bayas y la composición del extracto de los hollejos.	16
5.3 Análisis del grado medio de polimerización (mDP) del extracto de pepitas y hollejos mediante cromatografía en fase líquida de alta eficacia (HPLC).	18
5.4 Análisis de la concentración de antocianos pormenorizados del extracto de hollejos mediante cromatografía en fase líquida de alta eficacia (HPLC).	20
5.5 Análisis PCA de los resultados obtenidos.	21
6. CONCLUSIONES.....	23
7. BIBLIOGRAFIA	24

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tratamientos aplicados a la parcela de estudio.	8
Tabla 2. Promedio y desviación típica de peso de 100 bayas (g), el peso de las pepitas de 100 bayas (g) y el % pepita/baya de la uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.	14
Tabla 3. Promedio y desviación típica de los compuestos polifenólicos de las pepitas de la uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.	15
Tabla 4. Promedio y desviación típica de peso de 100 bayas (g), el peso de los hollejos de 100 bayas (g) y el % hollejo/baya de la uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.	16
Tabla 5. Promedio y desviación típica de los compuestos polifenólicos de los hollejos de la uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.	17
Tabla 6. Promedio y desviación típica del grado medio de polimerización de taninos (mDP), el porcentaje de galoilación y el peso molecular de proantocianidinas (aMW) de pepitas de uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.	19
Tabla 7 Promedio y desviación típica del grado medio de polimerización de taninos (mDP), el porcentaje de galoilación y el peso molecular de proantocianidinas (aMW) de hollejos de uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.	20

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura de los monómeros que conforman los taninos (Peñarrieta et al., 2014)	4
Figura 2. Distribución de las diferentes zonas con sus determinados tratamientos.	8
Figura 3. Parcela de estudio	10
Figura 4. Análisis de los diferentes tratamientos de riego (t2, t2, t3 y t4) realizado sobre los resultados obtenidos (a) gráfico de puntuaciones para los diferentes riegos (scores); (b) gráfico de cargas (loadings).	22

1. INTRODUCCIÓN

La vid (*Vitis vinifera L.*) es uno de los frutales con más historia y tradición en el mundo. Durante la Era Terciaria, crecía en estado silvestre apoyada sobre los árboles del bosque templado del Círculo Polar Ártico y su proceso de propagación fue desde Oriente a Occidente, durante el cual tardó más de dos mil años en cubrir la distancia que hay desde Mesopotamia y Egipto hasta su llegada a la Península Ibérica (Picornell y Melero, 2012).

Según los datos obtenidos de la Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV), la superficie vitícola mundial ocupa 7.453.53 hectáreas. Lidera España con 969.000 hectáreas, seguida de China (875.000 ha) y Francia (793.000 ha) (OIV, 2017).

En España, el cultivo de la vid aparece aproximadamente en el año 6.000 a.C y que alcanza su auténtico desarrollo más de 3.000 años después (Serres, 2018).

De las 969.000 hectáreas de viñedo en España, un 53,6 % de la producción corresponde a Castilla La Mancha, un 8,9 % a Cataluña, un 8,6% a Extremadura y un 6,1% a la Comunidad Valenciana (MAPAMA, 2020).

En la Comunidad Valencia destaca la comarca Requena-Utiel en cuanto a la producción vitícola. Tiene un relieve topográfico peculiar por el desnivel de las tierras, baja capacidad para retener agua con un resultado de uvas de calidad. Los suelos son en su mayoría de textura franca, con terrenos de cantos y gravas y con un buen equilibrio de arena, limo y arcilla. Suelen ser alcalinos con elevada caliza y pobres en materia orgánica, fósforo y magnesio. Estas características son de gran influencia en las posteriores cualidades aromáticas de los vinos (Navarro, 2017).

1.1. Monastrell

La variedad Monastrell es de origen español, donde se cultiva desde el siglo XV. Algunos autores sitúan su origen en la Comunidad Valenciana (Camp de Morvedre, Sagunto) y en la región de Cataluña, concretamente en la localidad barcelonesa de Mataró, por lo que también es denominada con el nombre de Mataró. Después del siglo XVI, la variedad Monastrell se comenzó a cultivar ampliamente en Francia, en Provenza, en el valle del Ródano y en la región de Languedoc-Roussillon. Se puede denominar según su origen con diferentes sinónimos, Alcabate (Albacete), Garrut (Tarragona y Zaragoza), Gayata (Murcia), Morastrell o Morrastrell (Albacete y Valencia), Murviedro (Valencia) y Mourvedre (Francia y EE.UU) (Lara, 2013).

Es una variedad tardía que sólo se produce en zonas de climas mediterráneo, no atlánticos, como ocurre en la región francesa de Bandol, California o Australia. Necesita un cultivo delicado con temperaturas elevadas. Tiene un rendimiento bajo de 3,5 u 4 kg por cepa, su porte es erecto, pero no sensible al viento. Fertilidad media. Muy exigente en magnesio y potasio y muy sensible a la sequía. Poco sensible a la excoriosis y botrytis, medianamente sensible al oídio y ácaros. Sensible al mildiu y podredumbre ácida. (MAPAMA, 2021)

Los racimos son de tamaño pequeño-mediano, bastante compactos y con el pedúnculo muy corto. Las bayas son uniformes, de tamaño pequeño-mediano, esféricas, de color negro-azul intenso, con bastante pruina, de piel gruesa rica en antocianos, con una pulpa muy carnosa y jugosa, blanda e incolora (Savin, 2017), (MAPAMA, 2021).

En el año 2019, el 51% de las variedades de uvas plantadas en España eran tintas. La variedad Monastrell con 38.642 hectáreas, principalmente en Murcia y Alicante, se sitúa en el cuarto lugar, por detrás de las variedades Tempranillo, Bobal y Garnacha Tinta (Escamilla, 2020).

En el ámbito internacional, se reconoce la Monastrell gracias a las denominaciones de origen DO Jumilla, la DO Yecla o la DO Almansa Todas ellas cuentan con veranos largos, secos y cálidos, condiciones requeridas por la cepa de uva Monastrell para llegar a una madurez completa en sus bayas, ya que es una variedad de brotación tardía y con ello de maduración-recolección tardía. Sus vinos son bastante tánicos y estructurados, ásperos en juventud, por lo que necesitan crianza de acidez débil. Tienen alta coloración y elevado volumen alcohólico. Con aromas a frutos rojos y negros silvestres y sorprendentes matices minerales. Son aptos para técnicas de maceración carbónica. Muy resistente a la oxidación (VEREMA, 2015).

1.2 Semillas de las uvas

Son las responsables de la fecundación para perpetuar la especie. En un grano de uva pueden aparecer hasta cuatro pepitas. El tamaño de la baya está relacionado con el número de pepitas, siendo de mayor tamaño a más cantidad de semillas, aunque este hecho tiene un efecto negativo porque los primeros nutrientes se utilizan para formar las semillas, por lo que no se utilizan para la madurez de la baya (Hidalgo, 2011).

Están compuestas en su gran mayoría por agua (25-45%), polisacáridos (34-36%), taninos (4-10%), compuestos nitrogenados (4-6,5%), minerales (2-4%) y lípidos (13-20%), aunque estos porcentajes van cambiando con su desarrollo (Rodríguez, 2013).

Las semillas de uva tienen dos aceites, uno es el oleico (13-28%) y el linoleico (70-75%). Por otro lado, están los taninos. Durante la maduración de la uva, el contenido en taninos de las pepitas disminuye por migración de éstos hacia el hollejo. Estos taninos de las semillas están poco polimerizados, por lo que presentan acidez y astringencia, pero en vinos tintos se polimerizan con los antocianos, suavizándose y contribuyendo a la estabilización del color.

Se debe evitar la rotura de la pepita en todo el proceso de elaboración de vino para evitar las sensaciones de dureza y verdor, además de liberarse las sustancias grasas que contienen en su interior (Benito, 2011).

1.3. Hollejos de las uvas

Son la piel delgada que cubre el grano de uva y representa del 8 al 20% de este. En él se encuentran la mayor parte de taninos, aromas y pigmentos. Posee un recubrimiento de levaduras llamado pruina. El hollejo o película forma un conjunto heterogéneo integrado por la cutícula, la epidermis y la hipodermis. Sobre la hay un polvillo blancuzco y cerúleo que es la

pruina o flor, en la mayoría de las variedades. En la hipodermis se encuentran los pigmentos, los aromas (fundamentalmente debidos a la presencia de heterósidos) y los taninos.

Su misión es encerrar los tejidos vegetales que contienen las sustancias de reserva que acumula el fruto y proteger las semillas, hasta llegar a su completa maduración. Las paredes celulares del hollejo son muy anchas, y contienen una composición de pectinas más débil que las de la pulpa, con más del 15% de cutina y proantocianidoles insolubles, mientras que los polisacáridos representan el 50% (celulosa, pectinas, hemicelulosas, xiloglucanos, arabinoxilanos y mananos). Existe la presencia de antocianos en las variedades tintas.

Los antocianos, del griego “anthos” (flor) y “kyanos” (azul), se sitúan en las vacuolas o en estructuras especializadas (antocianoplastos) de las células del hollejo, siendo más ricas las que se localizan en la hipodermis. Por otra parte, los taninos (3-flavanoles) se distribuyen en las mismas capas de células (células tánicas), pudiendo estar libres dentro de sus vacuolas, combinados formando polímeros con polisacáridos de las paredes celulares (tonoplasto o membrana proteofosfolipídica) o inmovilizados dentro de la pared celulosapéctica de las células.

La cantidad de polifenoles del hollejo es muy variable, depende de la variedad de uva y de su grado de maduración, pudiendo contener valores del 12 al 61% de los polifenoles totales de la uva, representando en un 14 a 50% de materias tánicas y en otro 17 a 47% de antocianos y taninos (Benito, 2011).

1.4. Compuestos fenólicos presentes en uvas tintas.

Los fenoles o compuestos fenólicos son metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Todos poseen una estructura común: un anillo fenol -un anillo aromático que lleva al menos un sustituyente hidroxilo (Paladino, 2008).

Se encuentran en todas las partes de las plantas y su concentración es variable a lo largo del ciclo vegetativo. Entre sus funciones destacan, la actividad antioxidante, la asimilación de nutrientes, la síntesis proteica, la actividad enzimática, la fotosíntesis, la formación de componentes estructurales y la defensa ante los factores adversos del ambiente. También influyen en las características sensoriales (sabor, astringencia, dureza) y nutritivas (Robbins, 2003).

Las uvas (*Vitis vinifera L.*) blancas y tintas, poseen una amplia variedad de compuestos fenólicos. En vinos tintos, esta clase de sustancias contribuye a la astringencia, amargura, estructura, cuerpo y color rojo del vino. En vinos blancos, son indeseables ya que aportan amargor y colores dorados al exponerse al oxígeno. Los compuestos polifenólicos de la uva se encuentran en la piel, especialmente en las células epidérmicas y en las pepitas siendo su concentración baja en la pulpa y el raspón (Waterhouse, 2002), (Chidi et al., 2018).

Los compuestos fenólicos presentes en las uvas y en los vinos son ácidos fenólicos (por ejemplo, ácidos hidroxibenzoicos como el ácido gálico, ácidos hidroxicinámicos que se encuentran en el zumo de uva), tres clases de flavonoides que se encuentran en la piel y las semillas (las antocianinas rojas, los flavonoles y las abundantes flavan-3-oles, que comprenden las

catequinas monoméricas), proantocianidinas oligoméricas y taninos condensados poliméricos (Waterhouse, 2002).

Los flavanoles o taninos condensados se encuentran en su mayoría en la semilla y la piel de la uva, aunque también se pueden encontrar en menor porcentaje en el raspón. Desde el punto de vista sensorial, poseen propiedades gustativas (amargor) y táctiles (astringencia), e intervienen en la estabilización del color a través de reacciones de copigmentación y/o condensación con las antocianinas. También participan en reacciones de pardeamiento oxidativo químico y enzimático, en interacciones con otras macromoléculas del vino y en la formación de turbidez o precipitados. La estructura de los taninos se basa en polímeros más o menos complejos formados por unidades de flavan-3-oles o 3-flavanoles. Los flavan-3-oles, comúnmente llamados catequinas poseen dos ciclos bencénicos unidos por un heterociclo oxigenado saturado (núcleo fenil-2 cromano). Esta estructura presenta dos carbonos asimétricos (C2 y C3) que originan cuatro isómeros. Las unidades monoméricas comúnmente presentes en uvas de *Vitis vinifera* son la (+)-catequina, (-)-epicatequina, (+)-galocatequina, y (-)-epigalocatequina. (Fanzone, 2012), (Romero, 2008)

Estos monómeros que forman los taninos se pueden observar en la **Figura 1**. Su intensidad de astringencia es proporcional a su tamaño, aunque es inversamente proporcional a su amargor. A medida que aumentan su tamaño se vuelven insolubles para las proteínas de la saliva y dejan de ser astringentes (Peña-Neira, 2009).

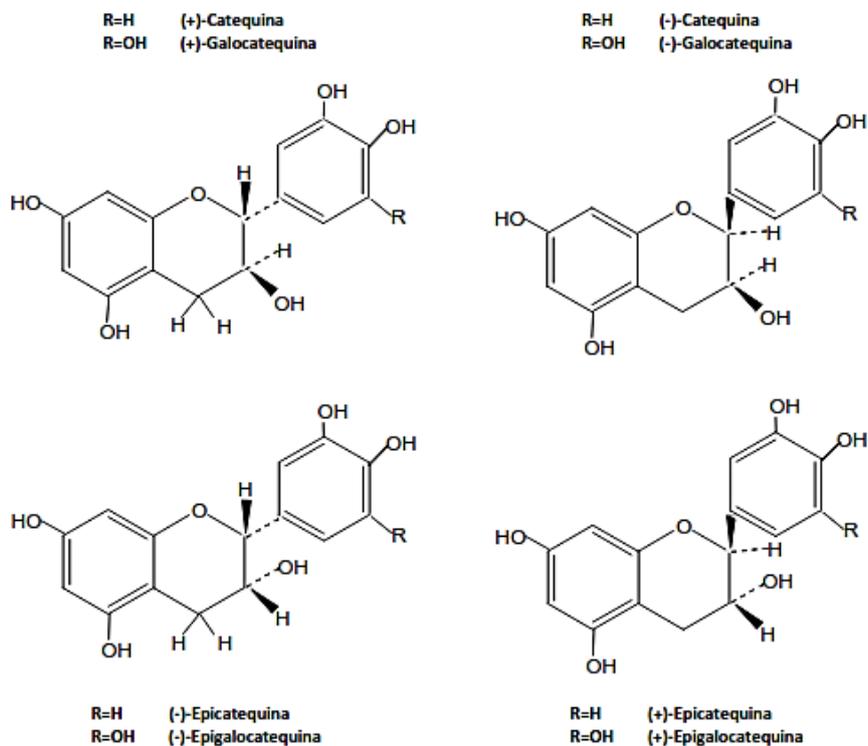


Figura 1. Estructura de los monómeros que conforman los taninos (Peñarrieta et al., 2014)

Los antocianos son responsables del color de los vinos tintos y están involucrados en las reacciones de polimerización que suceden durante el envejecimiento. Se encuentran en los hollejos y en algunos casos en el mesocarpio de variedades tintoreras. Su estructura se caracteriza por un esqueleto básico de quince átomos de carbono (C6-C3-C6) de tipo 2-fenil

benzopirona. Son sales de flavilio (de núcleo favilio polihidroxiado y/o metoxilado) y glucósidos (están unidos por enlace glucosídico a una molécula de azúcar) (Romero, 2008).

1.5. Influencia de la cantidad de agua suministrada a los viñedos y su composición en sales minerales sobre los granos de uva, la producción y la composición y síntesis de compuestos polifenólicos

El agua es un factor importante en los terroir vitícolas. Algunas veces, es limitante para el cultivo de la vid y es necesario regar o aceptar las restricciones hídricas, que según su intensidad y su período de ocurrencia pueden ser favorables o desfavorables para la calidad de la vendimia o de los vinos (ácidos, azúcares, compuestos polifenólicos y aromáticos). Además, la gestión de este vendrá influenciada por factores como la climatología, el tipo de suelo o la estructura de este (DeLoire et al., 2006), (Lund y Bohlmann, 2006).

En la zona del sudeste de España, los viñedos tienen una producción de (2.500-4.000 kg/ha), porque tradicionalmente se cultivan en condiciones de secano, debido a la escasez de recursos hídricos (Romero et al., 2013). Por ello, una solución rentable, sería reutilizar el agua, ya que se reduce el volumen de agua utilizado y se proporciona una solución adaptable al cambio climático junto con un aumento del valor social y medioambiental del agua. Este uso de aguas se debe estudiar ya que podría acarrear riesgos ambientales y afectar a la salud humana (Costa et al., 2016).

El aumento de la sequía puede producir un aumento de la salinidad de los suelos debido a las aguas de regadío que contienen sales disueltas en el agua y a la evaporación. La vid es una especie sensible a la salinidad, por lo que se deben mantener los niveles salinos bajos. El aumento de la salinidad genera un efecto osmótico con la consiguiente sequía en la planta que depende de la variedad, la concentración de sales en el agua y del momento del ciclo vegetativo en el que se aplica (Keller, 2010), (Marschner, 1986), (Osorio y Céspedes, 2000). Por el contrario, el exceso de disponibilidad de agua puede provocar una disminución de la síntesis, una reducción del contenido en azúcar, color y desequilibrios en la acidez debido a la disolución de compuestos en la baya (Escalona, 2005), (Chaves et al., 2007).

En algunos estudios se llega a la conclusión de que una cantidad menor de agua que la requerida por la evotranspiración de la vid en las diferentes etapas fenológicas puede ser beneficioso para tener una mejor calidad en la composición de la uva (Dry et al. 2001). Esta técnica denominada régimen de riego deficitario (RDI) se basa en eliminar o reducir la entrada de agua en períodos específicos del ciclo de cultivo para conseguir la máxima actividad fotosintética y así, controlar el crecimiento vegetativo, desarrollo reproductivo y mejorar la calidad de la fruta (Romero et al., 2013), (Ojeda y Saurin, 2014). A largo plazo tiene la capacidad de regular la expresión de los genes que codifican las enzimas biosintéticas de taninos (Castellarin et al., 2007). La formación de polifenoles es muy sensible a las variaciones hídricas y está influida por factores bióticos y abióticos (Kennedy et al. 2002), (Kennedy y Cohen, 2010). En el estudio de Cassasa et al., 2015 se demostró un aumento de la concentración de taninos en las semillas de la vid. Las antocianinas de los hollejos y aumentan al disminuir el tamaño de la baya con el RDI (Casassa et al. 2015), (Jackson y Lombard, 1993). Con el régimen de riego deficitario también se consigue un mejor microclima entre los racimos y una mejor exposición a la radiación solar para la síntesis de antocianinas, debido a que se regula su crecimiento vegetativo (Esteban et al. 2001).

La técnica de RDI se debería aplicar durante dos periodos. Desde la formación de la baya hasta el envero para controlar el vigor de la vid y de la baya y promover la acumulación de azúcares (Keller, 2006). Y después del envero durante la maduración de la uva para aumentar los compuestos fenólicos y la biosíntesis de antocianinas (McCarthy et al., 2002), (Keller, 2005). El problema de esta técnica es llevar el control de la aplicación de agua (Williams y Matthews, 1990).

2.OBJETIVOS

El objetivo de este estudio es analizar la composición polifenólica en pepitas y hollejos de la variedad Monastrell para comprobar el efecto que supone reducir el déficit hídrico que poseen estos viñedos en seco. Además, se quiere determinar el efecto de las sales minerales en las aguas procedentes de los vertidos municipales en esta composición polifenólica.

Con los resultados obtenidos se pretende ver si existe la posibilidad de sustituir el agua de calidad por agua salinizada y si se puede reducir los niveles de agua para ayudar en la escasez de agua provocada por el cambio climático.

3. PLAN DE TRABAJO

Este estudio está realizado sobre un viñedo de uva de la variedad Monastrell en Fuente Álamo (Albacete) y consistió en suministrar diferentes tratamientos de riego en distinta cantidad y calidad de agua. Las diferentes estrategias de riego se aplicaron en 4 zonas, subdivididas en 4 sectores de riego con 192 cepas por tratamiento denominadas T1, T2, T3 y T4 (En la tabla 1 se observan los diferentes tratamientos aplicados) (En la **figura 2** se representa la distribución de las diferentes zonas).

Tabla 1. Tratamientos aplicados a la parcela de estudio.

TRATAMIENTO	mm ³	CANTIDAD DE AGUA SUMINISTRADA	SALINIDAD DEL AGUA. EFECTO OSMÓTICO
T1	0	Secano, sin riego	
T2	111,4	Riego moderado distribuido a partir de la floración	Agua de "buena calidad". Sin efecto osmótico
T3	114,3	Riego moderado distribuido a partir de la floración	Agua con una conductividad eléctrica (CE) de 4,0 dS/m de sulfato básico
T4	115	Riego moderado distribuido a partir de la floración	Agua con una conductividad eléctrica (CE) de 4,0 dS/m de cloruro básico

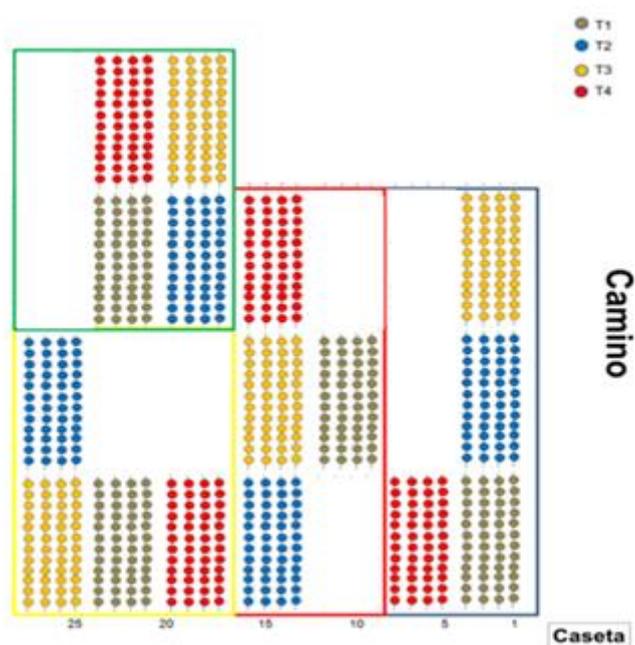


Figura 2. Distribución de las diferentes zonas con sus determinados tratamientos.

El riego de la parcela se modificó para que cada zona dispusiera del tratamiento adecuado. En los cuatro sectores se distribuyó el riego por goteo en cuatro filas de 12 cepas y se repitió el tratamiento por zona para que los resultados fueran más fiables.

En total cada zona contaba con 28 filas en las cuales había 1.152 cepas en una superficie de 5184 m², aunque en este proyecto solo se estudiaron 768 cepas.

Con este estudio se pretendió crear diferentes situaciones (**Tabla 1**) que pueden ocurrir en un futuro próximo, como el aumento de la salinidad del suelo y la escasa disponibilidad de recursos hídricos para poder actuar en el caso de que suceda y que no suponga un impacto negativo sobre el viñedo.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Características de la parcela de estudio

La parcela estudiada se encuentra en Fuente Álamo (Albacete) con coordenadas geográficas son 38° 43 '43 de 0.3 " Norte y 1 28 '12.6 " Oeste. Es un viñedo del año 2007 de uva de variedad Monastrell injertado sobre portainjerto SO4. Las cepas se separan por una distancia de 1,5 metros y 3 metros por fila, con forma de doble cordón orientadas en eje Norte-Sur. En total, su densidad es de 2.222 cepas aproximadamente por hectárea. El terreno se sitúa a 820 m de altitud con un 5% de pendiente y en un área de 1,147 ha. La parcela se puede observar en la **Figura 3**.



Figura 3. Parcela de estudio

4.2 Obtención del extracto de hollejos

Las muestras de bayas se descongelaron un día antes de proceder con la extracción. Se separaron 50 bayas, se pesaron y se repitió el proceso dos veces para que los resultados fueran más exactos.

Los hollejos fueron separados con ayuda de un bisturí de forma manual y se pusieron en una placa Petri. Se introdujeron en un colador para facilitar su lavado con agua destilada y se secaron con un tiempo en el ambiente. A continuación, se pesaron en una báscula de precisión (10 gr de hollejos) y se introdujeron en un enlenmeyer de plástico con canicas y una solución hidroalcohólica formada por 10 % etanol, y 5 g/L de ácido tartárico para su extracción (Proporción 1:9, hollejos: solvente). Finalmente se dejaron durante dos horas en un baño a 50°C con agitación a 75 rpm. El extracto obtenido tras pasar ese tiempo se filtró con lana de vidrio y se centrifugó a 4000 rpm durante 15 minutos. El contenido se vertió en 2 viales Eppendorf y 4 tubos Falcon para sus posteriores análisis y se almacenaron a 14 °C.

El espectrofotómetro utilizado en los análisis fue el JASCO V-630 UV-Visible de doble haz (Tokyo, Japón).

4.3 Obtención del extracto de pepitas

Las muestras de bayas se descongelaron un día antes de proceder con la extracción. Se separaron 50 bayas, se pesaron y se repitió el proceso dos veces para que los resultados fueran más exactos.

Las pepitas se separaron de la pulpa de forma manual y se dejaron en una placa Petri. Se lavaron con agua destilada para la eliminación de azúcares, se secaron y se pesaron. Posteriormente se transfirieron 3 gr en un tubo Falcon con 50 mL de una solución acetona:agua (proporción 2:1) y se agitaron a 75 rpm en oscuridad durante 24 horas y a temperatura ambiente (25°C) para su maceración. Transcurrido ese tiempo se filtró el contenido con lana de vidrio, se introdujo en un matraz balón y se llevó a un rotavapor a 35°C y presión reducida para la eliminación de la acetona. Con el extracto resultante y agua destilada se llevó a 25mL de volumen en un Erlenmeyer. A continuación, se llenaron dos tubos y se introdujeron en la centrifuga a 4000 rpm durante 15 minutos. Mediante una bomba de vacío se filtró con 0,45 μ m el extracto sacado de la centrifuga y se llenaron dos tubos eppendorf. Otra parte del extracto se congelo a -40°C para liofilizarlo. El polvo liofilizado se metió en viales y se guardó en un desecador hasta su posterior análisis.

El espectrofotómetro utilizado en los análisis fue el JASCO V-630 UV-Visible de doble haz (Tokyo, Japón).

4.4 Índice de polifenoles totales (IPT) en hollejos y pepitas

Este índice detecta los compuestos fenólicos del vino mediante la absorbancia a una longitud de onda en la que el grupo fenol se separa. La metodología para las pepitas y hollejos consistió en realizar una dilución del extracto 1:100 con agua destilada. A continuación, se utilizó una cubeta de cuarzo de 10 mm para medir la disolución a una longitud de onda de 280 nm (Ribereau Gayon 1974).

4.5 Determinación de taninos condensados totales en hollejos y pepitas

Las proantocianidinas o taninos condensados pueden transformarse parcialmente en antocianidinas rojas mediante un medio ácido y calor. Esta transformación ocurre por la ruptura de los enlaces intermonoméricos (Ribereau Gayon y Stonestreet 1966). Mediante esta propiedad se pueden detectar los taninos condensados totales.

Para las pepitas y para los hollejos, el método consistió en realizar una dilución 1:50 con agua destilada. Se introdujo 1 mL de la dilución en dos tubos de ensayo. En ambos tubos se añadió 3mL de HCL (37%) y 0,5 mL de agua destilada. Un tubo se puso en la estufa a 90°C durante 30 minutos y el otro se dejó a temperatura ambiente. Transcurrido ese tiempo se añadió a cada tubo 0,5 mL de etanol y se midió en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 550 nm con una cubeta de cuarzo de 10 mm.

En el caso de las muestras de hollejos se restaron los resultados de los dos tubos.

En el caso de las muestras de pepitas no se pudo realizar la diferencia porque los valores del segundo tubo eran próximos a 0 y se despreciaron. Por ello, solo se utilizaron los datos del primer tubo.

4.6 Determinación de antocianos totales en hollejos

Este procedimiento consiste en la cuantificación de antocianos totales en medio ácido. Con el extracto de los hollejos se determinaron los antocianos totales añadiendo a 0,1 mL de muestra 10 mL de ácido clorhídrico 0,1 M. Se dejaron 3 horas para que tenga efecto la reacción y se midió la absorbancia a 520 nm en una cubeta de 5 mm (Ojeda et al., 2002).

4.7 Determinación de la intensidad colorante en hollejos.

La intensidad colorante (IC) consiste en la suma de los valores obtenidos en las absorbancias de 420 nm (amarillo), 520 nm (rojo) y 620 nm (azul), para conocer los polifenoles encargados del color en los hollejos.

Para su determinación se utilizó el método oficial de análisis de la UE (Comisión Europea, 1990). Directamente se introdujeron las muestras del extracto de hollejos en una cubeta de 10 mm de cuarzo o vidrio en el espectrofotómetro y se midieron a diferentes absorbancias.

4.8 Determinación de proantocianidinas mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) en hollejos y pepitas.

La cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) se utiliza para obtener el grado medio de polimerización de proantocianidinas y para la cuantificación de antocianos pormenorizados.

Este método está basado en el de Kennedy y Jones (2001) con algunas modificaciones.

Los tubos Falcon guardados con extracto de hollejos se filtraron con un filtro de 0,45 µm, para la realización de una separación de compuestos en la fase Toyopearl.

En el Toyopearl se eliminaron los hidratos de carbono y material monomérico de flavan-3-ol de bajo peso molecular mediante un lavado con 5 volúmenes de columna de fase móvil 1:1 de metanol:agua al 0,1 % /v de ácido trifluoroacético. Las proantocianidinas se diluyeron con 3 volúmenes de columna de fase móvil 2:1 de acetona:agua con 0,1% v/v de ácido trifluoroacético (Kennedy y Jones 2001). La solución obtenida se introdujo en un matraz balón y se llevó a un rotavapor a 35°C y presión reducida para la eliminación de la acetona. Por último, este extracto se llevó a -40 °C en flaneras para luego ser liofilizada hasta polvo seco. El polvo liofilizado se metió en viales y se guardó en un desecador hasta su posterior análisis del grado medio de polimerización de taninos mediante floroglucínolisis.

Para la realización de este método se preparó una disolución de hidrólisis (HCl 0,1 N en metanol) con 50 g/L de floroglucínol y 10 g/L de ácido ascórbico. Se pesaron 5 mg polvo liofilizado (hollejos y pepitas) y se sometieron a la disolución durante 20 minutos a 50°C. A continuación, se adicionaron 2 volúmenes de una solución de acetato de sodio 200 mM y se filtró la solución con una membrana de acetato de celulosa de 0,45 µm. El extracto obtenido se introdujo en viales de HPLC.

El método de floroglucínol utiliza un gradiente binario, la fase móvil A es una solución de ácido acético 1% en agua Milli Q y la fase B es metanol 100%. Las eluciones se monitorearon a 280 nm y sus condiciones fueron 5% de B por 10 minutos, un gradiente lineal de 5 a 20% de B en 20 minutos, de 20 a 40% de B en 25 minutos. La columna se lavó con 90% de B durante 10 minutos y se equilibró con 5% de B en 5 minutos antes de la siguiente inyección.

El grado medio de polimerización (mDP) se obtuvo por la división de la totalidad de las subunidades identificadas (proantocianidinas terminales y de extensión) entre las proantocianidinas terminales. Por otra parte, para el porcentaje de galoilación (%G) se dividió la totalidad de proantocianidinas galoiladas y la totalidad de las proantocianidinas identificadas, y

se multiplicó por 100. Por último, el peso molecular promedio (aMW) se consiguió a través de la proporción de cada molécula y del peso molecular.

El cromatógrafo líquido de alta eficacia (HPLC-DAD) utilizado fue el JASCO serie MD-2010 Plus, (JASCO, Tokyo, Japón) equipado con un detector Diodo Array LC-Net II/ADC (Tokyo, Japón). La columna cromatográfica utilizada fue Gemini NX (Phenomenex, Torrance, CA), 250 mm x 4,6 mm de 5 μ m de tamaño de partícula.

4.9 Análisis de antocianos pormenorizados en hollejos.

Este método está basado en la técnica de HPLC descrita por Ferrer (2011) con algunas modificaciones. Para la obtención de la recta patrón se prepararon los patrones de malvidina (67,5 ppm, 125 ppm, 250 ppm y 500 ppm de malvidina). Estos patrones se analizaron de menor a mayor concentración mediante la técnica de HPLC con la columna en fase reversa a 35°C. En la fase móvil A se utilizó una disolución acuosa al 0,1% de ácido trifluoroacético y en la fase B acetonitrilo 100%. La columna utilizada fue la columna Gemini NX de 250 mm adaptada a la de Ferrer (2011) de 150 mm. Las eluciones se monitorizaron a 520nm y sus condiciones fueron 10% de B durante 4,8 minutos, un gradiente lineal de 10 a 15% de B en 19,2 minutos y de 30 a 35% de B en 8 minutos. El volumen inyectado era de 60 μ L y el flujo de trabajo de 0,5 mL/min.

Los tubos eppendorf con extractos de hollejos guardados anteriormente se centrifugaron y analizaron igual que los patrones. A continuación, se identificaron los picos mediante la comparación de los patrones. Por último, se expresaron los resultados en equivalentes de malvidina (ppm) y se obtuvieron las concentraciones de los antocianos glucosilados, acetilados, cumarilados y cafeicos.

4.10 Análisis estadístico.

Los datos fueron analizados con el programa informático STATGRAPHICS Centurion XVIII mediante un análisis de varianza (ANOVA) simple y multifactorial. El nivel de confianza utilizado fue del 95% utilizando un valor $P < 0,05$ para detectar posibles diferencias significativas entre los valores.

El análisis simple se utilizó para los datos obtenidos en las determinaciones espectrofotométricas con los cuatro tratamientos tanto en hollejos y pepitas, para ver el efecto de cada tratamiento. Además, se agruparon los datos según la cantidad del agua suministrada.

El análisis multifactorial se utilizó para conocer las posibles interacciones entre la cantidad de agua de riego suministrada y la salinidad de la propia agua.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

5.1. Efectos producidos por el uso de los distintos tratamientos sobre el peso de 100 bayas, el peso de las pepitas de 100 bayas y la composición del extracto de las pepitas.

En la **Tabla 2** se van a evaluar mediante ANOVA, las diferencias obtenidas por el efecto de los tratamientos (T1, T2, T3, T4) en uva de la variedad Monastrell para el peso de 100 bayas (g), el peso de las pepitas en 100 bayas (g) y el porcentaje pepita/baya.

Tabla 2. Promedio y desviación típica de peso de 100 bayas (g), el peso de las pepitas de 100 bayas (g) y el % pepita/baya de la uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.

	Peso de 100 bayas (g)	Peso pepitas 100 bayas (g)	% pepita/baya
T1	118,11 ±17,1 a	8,41± 0,7 a	7,19 ± 0,6 c
T2	160,19 ± 19,6 c	9,32 ± 0,7 a	5,86 ± 0,5 a
T3	137,04 ± 11,8 b	8,26 ± 0,5 a	6,04 ± 0,4 ab
T4	137,11 ± 9,3 b	8,60 ± 0,7 a	6,27 ± 0,2 ab
Razón- F	10,52	2,02	5,95
Valor- P	0,000	0,165	0,01

T1= Secano; T2= Riego moderado, agua de buena calidad; T3= Riego moderado, agua con sulfato básico, T4= Riego moderado, agua con cloruros básicos. Las letras diferentes en la misma columna indican que existen diferencias significativas entre muestras establecidas por el ANOVA (valor $p < 0,05$).

Con los resultados representados en la **Tabla 2** observamos que existen diferencias significativas en el peso de 100 bayas y en el porcentaje pepita/baya respecto a los diferentes tratamientos siendo el valor $p < 0,05$.

El riego suministrado en los diferentes casos tiene un efecto en el peso de las bayas. Con riego moderado (T2, T3 y T4) se obtuvieron los mayores valores respecto a los obtenidos con secano. A mayor cantidad de agua suministrada los valores aumentan. Dentro de los tratamientos destaca el T2 con agua de buena calidad, ya que su valor es superior al resto. Se aprecian diferencias en el peso de las bayas con agua de buena calidad frente a las aguas con sales minerales. Por otra parte, no se observan diferencias entre los tratamientos con aguas con cloruros (T3) y con sulfatos (T4).

En referencia al peso de las pepitas contenidas en 100 bayas, no se observan diferencias significativas puesto que el valor P es mayor que 0,05. Los diferentes tratamientos no afectan al peso de las pepitas

Finalmente, se encuentran diferencias significativas ($P < 0,05$) en los valores obtenidos en la variable % pepita/baya. Con el tratamiento en secano (T1) obtuvimos el valor más elevado. El valor más pequeño resultó con el tratamiento T2 con riego moderado y aguas de buena calidad. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas con el grupo de riego moderado, dichos resultados coinciden con los obtenidos en el peso de 100 bayas. Sin embargo, en un estudio de Marschner, (1986) apreció un efecto tóxico en la planta al utilizar aguas con sales, ya que producían un efecto osmótico de sequía en la planta y esto generaba un limitado crecimiento de ésta.

En definitiva, con riego moderado se obtuvieron valores mayores respecto al riego por secano. En el estudio de 2018 de Cáceres et al., se llegó a la conclusión que los diferentes niveles de

agua aplicados sobre la viña no producían ninguna diferencia en el peso de la baya. Aunque en el estudio de Kennedy et al., (2000), los resultados coinciden con los de este estudio, aumentando el peso de la baya en el tratamiento con riego moderado frente al de seco. Por el contrario, en otro estudio elaborado por Matthews et al., (1987), los efectos debidos a los diferentes niveles de riego dependían del estado fenológico de la vid y de la cantidad de agua. Entre la floración y el envero las bayas son más sensibles a la cantidad de agua e incrementan su crecimiento (Girona et al., 2009). McCarthy., (1997), observó que al someter a la vid a un déficit hídrico en el periodo a continuación de la floración se producía una reducción considerable del peso de la baya. La planta está más susceptible cuando se aplica riego antes que después del envero Gil y Pszczółkowski., (2007).

Finalmente, si se encuentran diferencias significativas ($P < 0,05$) en los valores obtenidos en la variable % pepita/baya, puesto que con el tratamiento en seco se obtuvo el valor más elevado.

En la **Tabla 3** se van a recoger los resultados obtenidos mediante ANOVA de la composición del extracto de las pepitas con efecto de los diferentes tratamientos.

Tabla 3. Promedio y desviación típica de los compuestos polifenólicos de las pepitas de la uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.

	Taninos (mg/g pepita)	Taninos (mg/g uva)	IPT pepitas
T1	87,37 ± 1,7 a	6,71 ± 0,3 a	63,68 ± 6,1 a
T2	104,25 ± 3,4 ab	6,22 ± 0,8 a	67,63 ± 1,6 a
T3	112,52 ± 3,8 b	6,81 ± 0,3 a	63,09 ± 4,4 a
T4	83,88 ± 2,9 a	5,25 ± 0,7 a	62,46 ± 3,3 a
Razón- F	3,88	3,18	1,24
Valor- P	0,037	0,063	0,339

T1= Secano; T2= Riego moderado, agua de buena calidad; T3= Riego moderado, agua con sulfato básico, T4= Riego moderado, agua con cloruros básicos. Las letras diferentes en la misma columna indican que existen diferencias significativas entre muestras establecidas por el ANOVA (valor $p < 0,05$).

Según los resultados obtenidos (**Tabla 3**) se observa que existen diferencias significativas (valor $p < 0,05$) en los taninos (expresados en mg de taninos/g pepita) entre las uvas sometidas a riego moderado y las de tratamiento en seco. Pero en el ensayo realizado, la cantidad y tipo de agua, no afectó a la concentración de taninos de pepitas (mg de taninos/g uva) ni a los valores de IPT de las pepitas.

Las distintas sales utilizadas, no influyen sobre los compuestos polifenólicos estudiados en pepitas, únicamente en su concentración de taninos; dichos valores tienden a aumentar cuando se riega con aguas con sulfatos, aunque cabe destacar el efecto de la presencia de cloruros en el agua de riego con respecto a los demás tipos de agua empleadas. Por otra parte, el índice de polifenoles totales es mayor con aguas de buena calidad, aunque sin diferencias significativas con los otros tratamientos.

En el estudio de Keller., (2005) se observó que al utilizar aguas de riego con sales se producen diferentes efectos en el crecimiento de la planta. Estos resultados concuerdan con los observados por Mirás y Intrigliolo (2017) donde aumentaba la concentración polifenólica de la uva con riego moderado con respecto a tratamientos de seco y según Roby et al., 2004 no se

observaron diferencias significativas con el contenido en flavonoles de las pepitas. En un estudio realizado con Cabernet Sauvignon y Syrah se llegó a la conclusión que las consecuencias de los diferentes niveles de riego tienen diferentes efectos en el contenido polifenólico de las pepitas según la variedad (Kyraleou et al., 2016). También, en un estudio de 2017 de Kyraleou et al., los taninos de las semillas aumentaron en riego moderado frente a seco. Cassasa et al., (2015) y Catellarin et al., (2007) indicaron que el estrés hídrico desde el envero hasta la cosecha puede producir la madurez en la baya y reducir la síntesis de polifenoles en los hollejos y las pepitas. Por el contrario, Kennedy., (2008) obtuvo mayores concentraciones de flavonoles en pepitas maduras con un régimen de seco. El déficit de agua puede limitar la síntesis de taninos en pepitas, pero el reducido tamaño de la baya anularía este efecto y los taninos aumentarían. Puerto., (2018), realizó un estudio anterior a este en la misma parcela y tampoco obtuvo diferencias significativas en la composición polifenólica de las pepitas con los diferentes tratamientos.

5.2. Efectos producidos por el uso de los distintos tratamientos sobre el peso de 100 bayas, el peso de los hollejos de 100 bayas y la composición del extracto de los hollejos.

En la **Tabla 4** se van a evaluar mediante ANOVA, las diferencias obtenidas por el efecto de los tratamientos (T1, T2, T3, T4) en uva de la variedad Monastrell para el peso de los hollejos en 100 bayas (g) y el porcentaje hollejo/baya.

Tabla 4. Promedio y desviación típica de peso de 100 bayas (g), el peso de los hollejos de 100 bayas (g) y el % hollejo/baya de la uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.

	Peso hollejos 100 bayas (g)	% hollejos/baya
T1	22,96 ± 3,8 a	19,46 ± 1,8 a
T2	29,52 ± 2,9 b	18,49 ± 0,6 a
T3	26,43 ± 2,3 ab	19,30 ± 0,8 a
T4	27,01 ± 0,8 ab	19,74 ± 0,6 a
Razón- F	4,11	1,02
Valor- P	0,032	0,417

T1= Secano; T2= Riego moderado, agua de buena calidad; T3= Riego moderado, agua con sulfato básico, T4= Riego moderado, agua con cloruros básicos. Las letras diferentes en la misma columna indican que existen diferencias significativas entre muestras establecidas por el ANOVA (valor p<0,05).

Según los resultados de la **Tabla 4** se observan diferencias significativas (valor p < 0,05) en los valores de los pesos de los hollejos de 100 bayas. Existe una diferencia entre el tratamiento de seco (T1) y el tratamiento de riego moderado con agua de buena calidad (T2). Por ello, se puede decir que el tratamiento en este caso afecta moderadamente al peso de los hollejos. Según Esteban et al., (2001) en condiciones de seco se disminuye el tamaño de la uva generándose un microclima en los racimos con buena iluminación y una humedad reducida que hace aumentar el porcentaje de hollejo en la baya.

En referencia a los tratamientos con riego moderado (T2, T3 y T4) se puede comprobar que los valores del peso de los hollejos aumentan con respecto al tratamiento en seco (T1), correspondiendo a los obtenidos con la aplicación de agua de buena calidad, los valores más

altos, es decir, a mayores niveles hídricos, aumenta el tamaño del hollejo y de la baya, no apareciendo diferencias significativas la relación %hollejos/baya. Aunque se demuestra que los valores aumentan con el riego moderado.

Bucchetti et al., (2011) observó una reducción del peso de la baya al disminuir la cantidad de agua; en el caso de uva para vinificación, estos efectos son positivos (Casassa et al., 2015). Keller et al., (2016) indicó que el aporte de agua antes del envero produce cambios en la baya como el aumento de esta y de los hollejos. Según McCarthy., (1997), el déficit hídrico mejoraba la calidad de la fruta como consecuencia de un aumento de los hollejos frente a la baya, ya que en el hollejo encontramos la mayor parte de los compuestos orgánicos beneficiosos en el proceso de vinificación como el color, sabor y aroma. Aragüés et al., (2014) confirmaron en su estudio que el peso de la baya tiende a disminuir cuando se aumentan las sales disueltas en el agua de riego.

En la **Tabla 5** se recogen los resultados obtenidos mediante ANOVA de la composición del extracto de los hollejos con efecto de los diferentes tratamientos.

Al observar la **Tabla 5** se observa que no existen diferencias significativas en la concentración de antocianos por gramo de hollejo, aunque la proporción hollejo-baya se mantiene en todos los tratamientos sin dar lugar a diferencias significativas ($p > 0,05$). Sin embargo, sí se encuentran diferencias significativas en la concentración de antocianos por gramo de uva (valor $p < 0,05$), porque a pesar de no hallarse diferencias significativas en la relación de hollejo/baya, la suma de pequeñas diferencias hace que los tratamientos provoquen diferencias significativas en dicha variable. En el tratamiento en secano (T1), aparecen valores de antocianos ligeramente superiores. Sin embargo, la composición del agua de riego no influye en su concentración.

Tabla 5. Promedio y desviación típica de los compuestos polifenólicos de los hollejos de la uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.

	Antocianos (mg/g hollejo)	Antocianos (mg/g uva)	IPT hollejos	IC hollejos	Taninos (mg/g hollejo)	Taninos (mg/g uva)
T1	3,89 ± 0,5 a	0,79 ± 0 b	21,20 ± 0,8 b	21,50 ± 1,6 c	6,75 ± 0,8 a	1,31 ± 0,2 a
T2	3,76 ± 0,1 a	0,70 ± 0 a	20,30 ± 0,8 b	19,22 ± 0,6 b	8,04 ± 0,1 b	1,49 ± 0 a
T3	3,40 ± 0,3 a	0,66 ± 0 a	17,7 ± 1,1 a	17,12 ± 1,1 a	6,59 ± 0,6 a	1,27 ± 0,1 a
T4	3,29 ± 0,3 a	0,64 ± 0 a	16,90 ± 1,3 a	17,92 ± 1 ab	6,26 ± 0,3 a	1,23 ± 0 a
Razón- F	3,32	9,03	14,71	10,88	9,32	3,34
Valor- P	0,057	0,002	0,000	0,001	0,009	0,055

T1= Secano; T2= Riego moderado, agua de buena calidad; T3= Riego moderado, agua con sulfato básico, T4= Riego moderado, agua con cloruros básicos. Las letras diferentes en la misma columna indican que existen diferencias significativas entre muestras establecidas por el ANOVA (valor $p < 0,05$).

Castellarin et al., (2007) indicó que el riego en etapas anteriores y posteriores al envero tiene efectos en la concentración de los compuestos polifenólicos en los hollejos. Los polifenoles de los hollejos son muy sensibles a las variaciones de riego (Matthews et al., 1987) y disminuyen con riegos moderados como ocurre en nuestro estudio. El régimen de secano produce una disminución del tamaño de la uva, pero reduce la síntesis de compuestos polifenólicos y por ello aumentan en secano (Romero et al., 2010), (Castellarin y Di Gaspero., 2007).

Por otra parte, los resultados para el índice de polifenoles totales (IPT) y los de la intensidad colorante (IC) nos muestran diferencias significativas, ya que en ambos casos el p valor es menor de 0,05. Con el tratamiento en seco (T1) se obtuvieron valores mayores de IC e IPT y en el tratamiento con riego moderado con agua de buena calidad (T2) respecto al riego con sales disueltas. Esto indica que los tratamientos de seco y riego con agua de buena calidad (T1 y T2) provocan una mayor concentración de taninos y antocianos. Respecto al IC, encontramos valores menores en los tratamientos de riego moderado con aguas con sales. La intensidad colorante aumenta debido a la cantidad de antocianos ya que estos son los responsables principales del color.

En los tres análisis aparecen incrementados los valores en el tratamiento en régimen de seco, por lo que las condiciones de restricción hídrica influyen en el resultado. Además, dentro del riego moderado, hay una clara influencia sobre las sales minerales del agua en relación con el agua de buena calidad, observándose una disminución de los valores al añadir sales en los resultados para IPT y IC.

En relación con los resultados sobre la cantidad de taninos expresados en mg de taninos/mg de uva, no se observan diferencias significativas, pero sí en la concentración de taninos expresada en mg por gramo de hollejo. Como se ha visto en la **Tabla 5**, el valor p es de 0,0554, es igual a 0,05, por ello no aparecen diferencias. Esto indica que existe una influencia ligera de los tratamientos en la síntesis de taninos, principalmente cuando se emplea agua de buena calidad (T2). Las sales disueltas en el agua tienen efectos en la estructura del suelo, el crecimiento de la planta y la composición de las bayas (Netzer et al., 2014).

Los compuestos polifenólicos son mayores con el tratamiento en seco, menos en el caso de los taninos.

5.3 Análisis del grado medio de polimerización (mDP) del extracto de pepitas y hollejos mediante cromatografía en fase líquida de alta eficacia (HPLC).

Mediante el análisis, con una catálisis ácida en presencia de floroglucinol, del grado medio de polimerización de proantocianidinas de los extractos, se obtiene información sobre la concentración de taninos condensados (Kennedy y Jones., 2001). El método se basa en la ruptura del enlace interflavonoide en condiciones ácidas, en presencia de floroglucinol y a 50°C para la despolimerización de las proantocianidinas y la liberación de las subunidades terminales de monómeros de flavan-3-ol y subunidades de extensión. El floroglucinol únicamente va a reaccionar con las subunidades de extensión para generar aductos analizables. Las subunidades terminales se dividen en catequina, epicatequina, epigalocatequina y epicatequina-3-O-galato., y las subunidades de extensión unidas al floroglucinol son la catequina-floroglucinol, epicatequina-floroglucinol, epigalocatequina-fluoroglucinol y epicatequina-3-O-galato-floroglucinol.

Además del grado medio de polimerización (mDP) de los taninos condensados también se obtuvieron el peso molecular de los taninos (aMW), y el % de galoilación. Este porcentaje nos da información sobre la cantidad de taninos unidos a O-galato (Geny et al., 2003). El % de galoilación indica la astringencia del tanino, ya que, con un grado de polimerización de tanino bajo, los taninos precipitan en mayor medida las proteínas de la saliva formando la astringencia.

En la **Tablas 6** se representan los valores obtenidos para el grado medio de polimerización (mDP), el porcentaje de galoilación, y el peso molecular promedio de los taninos en el extracto

de las pepitas. Se van a evaluar mediante ANOVA, las diferencias obtenidas por el efecto de los tratamientos (T1, T2, T3, T4) en uva de la variedad Monastrell.

En la realización de los análisis de la composición de las subunidades terminales y de extensión en pepitas, encontramos la presencia de la catequina, la epicatequina, la catequina-floroglucinol, la epicatequina-floroglucinol, la epicatequina-3-O-galato-floroglucinol y la epicatequina-3-O-galato. Dentro de estas fueron mayoritarias las subunidades de epicatequina-floroglucinol y la epicatequina-3-O-galato-floroglucinol.

Tabla 6. Promedio y desviación típica del grado medio de polimerización de taninos (mDP), el porcentaje de galoilación y el peso molecular de proantocianidinas (aMW) de pepitas de uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.

	mDP	% Galoilación	aMW
T1	7,97 ± 0,6 a	15,35 ± 0,8 a	2500,89 ± 191,4 a
T2	7,7 ± 0,5 a	15,22 ± 0,6 a	2413,43 ± 139,3 a
T3	7,87 ± 0,3 a	15,23 ± 0,2 a	2467,87 ± 100,6 a
T4	7,77 ± 0,3 a	14,86 ± 0,6 a	2433 ± 82,83 a
Razón- F	0,29	0,56	0,33
Valor- P	0,829	0,651	0,805

T1= Secano; T2= Riego moderado, agua de buena calidad; T3= Riego moderado, agua con sulfato básico, T4= Riego moderado, agua con cloruros básicos. Las letras diferentes en la misma columna indican que existen diferencias significativas entre muestras establecidas por el ANOVA (valor $p < 0,05$).

Al observar los resultados de la **Tabla 6**, no apreciamos diferencias significativas ($p > 0,05$) en ninguno de los tratamientos respecto al mDP, al % de galoilación y aMW, por lo que en los ensayos realizados en la cosecha 2018 de la variedad Monastrell, ningún tratamiento tiene efectos en los parámetros medidos, pero sí que podemos ver valores ligeramente superiores al resto en el caso del tratamiento en régimen de secano (T1).

Estos resultados de porcentaje de galoilación y mDP, concuerdan con los rangos de valores obtenidos por Prieur et al., (1994). Con el tratamiento en secano se consiguieron valores mayores de mDP, % de galoilación y aMW que con el riego moderado, sin encontrarse diferencias significativas.

En los estudios de Kyraleou et al., (2016) y Kyraleou et al., (2017) obtuvieron resultados similares, al no obtenerse diferencias significativas en el grado medio de polimerización con diferentes niveles de riego. También se llegó a la conclusión que el tratamiento sin riego producía valores superiores en el % de galoilación sin diferencias significativas, como en nuestro caso.

En la **Tabla 7** se representan los valores obtenidos para el grado medio de polimerización (mDP), el porcentaje de galoilación, y el peso molecular promedio de los taninos en el extracto de los hollejos. Se van a evaluar mediante ANOVA, las diferencias obtenidas por el efecto de los tratamientos (T1, T2, T3, T4) en uva de la variedad Monastrell.

En la realización de los análisis de la composición de las subunidades y de extensión en hollejos, encontramos la presencia de la catequina-floroglucinol, la epicatequina-floroglucinol, la epigallocatequina-fluoroglucinol y la epicatequina-3-O-galato-floroglucinol. Respecto a las subunidades terminales encontramos la catequina. En el estudio de Kennedy y Jones (2001) encontraron las subunidades terminales de catequina, epicatequina y epicatequina-3-O-galato. Esto puede ser debido a la poca cantidad de subunidades terminales que poseen los hollejos y por ello no tienen representación en este estudio. Entre las subunidades de extensión destacó la epicatequina-floroglucinol como en los resultados que obtuvo Riou et al., (2002).

Tabla 7. Promedio y desviación típica del grado medio de polimerización de taninos (mDP), el porcentaje de galoilación y el peso molecular de proantocianidinas (aMW) de hollejos de uva de variedad Monastrell sometida a diversos tratamientos.

	mDP	% Galoilación	aMW
T1	15,18 ± 2,7 a	3,55 ± 0,7 a	4454 ± 775 a
T2	15,50 ± 2,5 a	3,1 ± 1 a	4540 ± 741 a
T3	14,83 ± 4 a	2,9 ± 0,4 a	4337,5 ± 1177,6 a
T4	16,58 ± 1 a	4,44 ± 1,3 a	4891,5 ± 335,2 a
Razón- F	0,30	2,14	0,34
Valor- P	0,827	0,148	0,793

T1= Secano; T2= Riego moderado, agua de buena calidad; T3= Riego moderado, agua con sulfato básico, T4= Riego moderado, agua con cloruros básicos. Las letras diferentes en la misma columna indican que existen diferencias significativas entre muestras establecidas por el ANOVA (valor $p < 0,05$).

En la **Tabla 7** no se observan diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los diferentes tratamientos y los parámetros representados. Es decir, ningún tratamiento influye en los valores de mDP, % de galoilación y aMW. Jávaga (2017) tampoco obtuvo diferencias significativas entre estos parámetros y los diferentes tratamientos. En los tres factores, los resultados son ligeramente superiores en el caso del agua con cloruros. Esto quiere decir que los vinos que se obtengan de uvas regadas con agua con cloruros podrán ser más tánicos y pero menos astringentes debido a sus valores mayores de mDP. Estos resultados de mDP son bastante parecidos a los obtenidos en el estudio de Kyrleou et al., (2020) con los hollejos de diferentes variedades de uva.

5.4 Análisis de la concentración de antocianos pormenorizados del extracto de hollejos mediante cromatografía en fase líquida de alta eficacia (HPLC).

La concentración de antocianos pormenorizados del extracto de los hollejos se basó en la carente esterificación del carbono 6 del anillo glucosa (Cheynie et al., 2000). Estos antocianos glucosilados son los mayoritarios en la baya y están formados por delphinidina-3-glucósido, cianidina-3-glucósido, petunidina-3-glucósido, peonidina-3-glucósido y malvidina-3-glucósido. El compuesto coloreado más abundante en las uvas es la malvidina-3-glucósido (Ribéreau-Gayon et al., 2000).

Núñez et al., (2004), llegó a la conclusión en su estudio con la variedad Graciano que cada variedad de uva tiene sus fracciones antocianicas propias y gracias a ello se pueden distinguir diferentes cultivares.

En la **Tabla 8** se van a representar los resultados obtenidos en la fracción de antocianos glucosilados.

Tabla 8. Promedio y desviación típica de la concentración de la fracción glucosilada de hollejos de uva de variedad Monastrell sometida a sometida a diferentes tratamientos.

	Antocianos glucosilados totales (mg/g hollejo)
T1	3,1 ± 0,3 b
T2	2,93 ± 0,3 b
T3	2,49 ± 0,4 a
T4	2,46 ± 0,3 a
Razón- F	6,66
Valor- P	0,001

T1= Secano; T2= Riego moderado, agua de buena calidad; T3= Riego moderado, agua con sulfato básico, T4= Riego moderado, agua con cloruros básicos. Las letras diferentes en la misma columna indican que existen diferencias significativas entre muestras establecidas por el ANOVA (valor $p < 0,05$).

Al observar los resultados de la **Tabla 8**, se aprecian diferencias significativas ($p < 0,05$) entre la concentración de antocianos glucosilados y los diferentes tratamientos, aunque. Esto nos indica que la cantidad y calidad del agua influye en la cantidad de antocianos. Sin embargo, no se obtenían diferencias en el análisis de la concentración de antocianos totales (**Tabla 5**), debido a que la metodología de antocianos pormenorizados nos permite detectar mejor cada grupo de antociano presente. Con el tratamiento en secano se consigue la mayor concentración de antocianos pormenorizados. Respecto a las diferentes salinidades, no tienen influencia en la cantidad de antocianos pormenorizados, pero sí que la tiene el agua de buena calidad. Por otra parte, se puede ver que en el caso del riego con agua de buena calidad se consigue un aumento de la malvidina-3-glucósido. Estos resultados concuerdan bastante con los del estudio de Ky et al, (2014) que se realizó con orujos de una suma de diferentes variedades de uva con resultados del orden de 2,9 mg.

5.5 Análisis PCA de los resultados obtenidos.

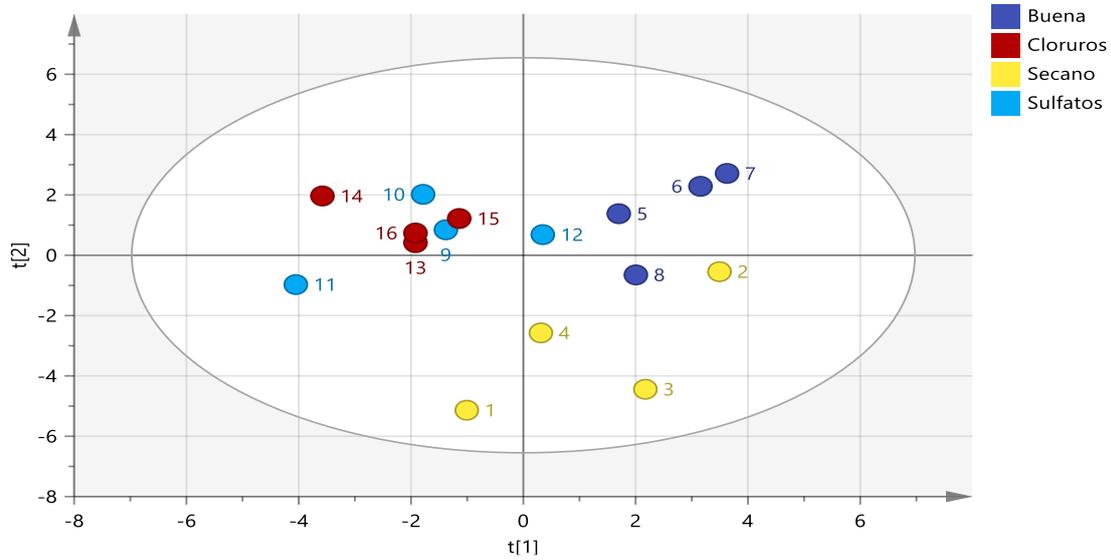
En la figura 2 se van a representar todos los resultados obtenidos mediante un análisis de componentes principales. En los gráficos se representan los diferentes tratamientos y las variables obtenidas (pesos, composición polifenólica, mDP) en hollejos y pepitas.

Este análisis nos permite explicar las interacciones existentes entre los diferentes tratamientos y los resultados obtenidos. Consiste en condensar la información para que resulte más sencillo su apreciación.

El grafico de puntuaciones (Figura 4 a) sirve para observar las diferencias entre los distintos tratamientos de riego

El grafico de cargas (Figura 4 b) se representan todas las variables y los tratamientos.

a) Gráfico de puntuaciones



b) Gráfico de cargas

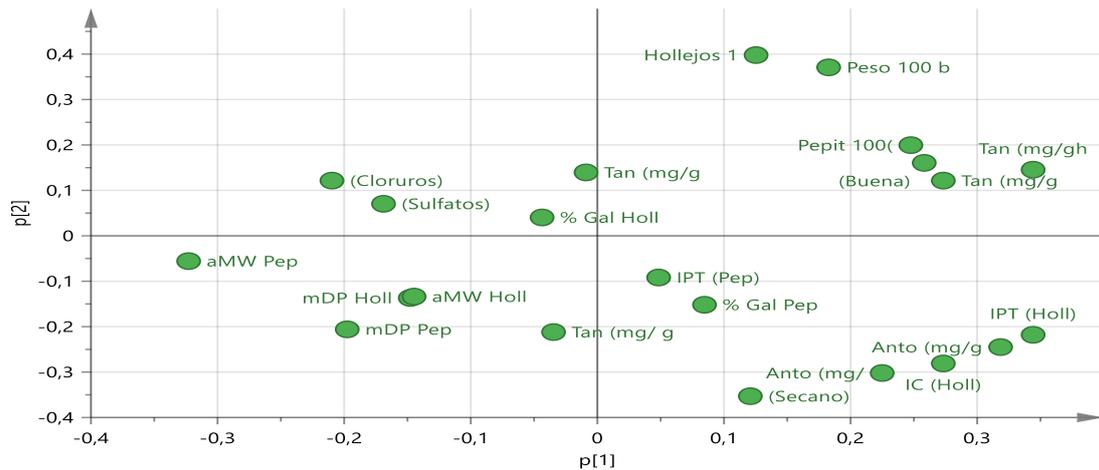


Figura 4. Análisis de los diferentes tratamientos de riego (t2, t2, t3 y t4) realizado sobre los resultados obtenidos (a) gráfico de puntuaciones para los diferentes riegos (scores); (b) gráfico de cargas (loadings).

Al observar los dos gráficos de la **Figura 4** se puede apreciar el efecto de la calidad del agua sobre la composición polifenólica, los pesos de las bayas, hollejos y pepitas y el mDP, dando lugar a tres grupos diferenciados. El primero de ellos estaría formado por las uvas de régimen de secano, el segundo, por las uvas procedentes del riego con agua de buena calidad y el tercero por las uvas sometidas a riego con aguas con sales de cloruros y sulfatos.

Mediante el grafico de cargas observamos que mediante el tratamiento en secano se consigue mayor composición polifenólica, pero es con el tratamiento con aguas de buena calidad donde se consiguen los mayores pesos de las bayas, pero también de sus hollejos y pepitas. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en las diferentes tablas a lo largo de este estudio, pero aporta una mejor visualización de los resultados.

6. CONCLUSIONES

1. El menor peso en las bayas y hollejos se consigue con el tratamiento en secano. Los hollejos de estas uvas tienen mayor contenido en antocianos, polifenoles, y color. Aunque en las pepitas no resultó influyente el tratamiento de secano con respecto a riego moderado. Este resultado es positivo si el objetivo es elaborar vinos tintos con mejores características organolépticas ya que estos compuestos influyen en su astringencia, amargor, estructura, cuerpo y color rojo del vino.
2. Dentro del riego moderado, la utilización de aguas de buena calidad genera el mayor peso de las bayas, hollejos y pepitas. La carga polifenólica es ligeramente superior al resto. Gracias a estas características este tipo de agua es el más indicado para la elaboración de vinos tintos debido al alto contenido en taninos que al polimerizarse con los antocianos se suavizan y estabilizan el color. Por lo tanto, se obtendría mayor volumen de vino con características organolépticas adecuadas.
3. El riego con aguas salinas tiene resultados bastante parecidos, en los pesos de bayas, pepitas, hollejos y compuestos polifenólicos. Por lo que no hay diferencias entre las distintas sales de cloruros y sulfuros. Los valores de taninos, polifenoles y color fueron ligeramente inferiores al resto de tratamientos, por lo que no sería interesante su utilización a no ser que pretendamos obtener grandes cantidades de vino, pero sin calidad, un poco oxidados debido al mayor valor de A_{420} y con bajo contenido en polifenoles protectores de las oxidaciones.
4. El grado medio de polimerización de proantocianidinas en hollejos es mayor con el tratamiento salino con cloruros básicos, aunque no es significativo por lo que tendrán el mismo nivel de astringencia.
5. Con estos resultados llegamos a la conclusión que utilizar aguas de buena calidad es la mejor opción para obtener los mejores resultados en la cantidad, el color y en el índice polifenólicos, pero si tenemos que sustituirla, es preferible el tratamiento en secano antes que el riego con sales disueltas a pesar de la disminución del rendimiento. Por otra parte, respecto a los antocianos y taninos no existirían diferencias. Esta opción es buena para los climas mediterráneos.

Es recomendable realizar este estudio en diferentes añadas para que las conclusiones sean más acertadas, debido a la poca información que existe sobre diferentes aguas de riego y sobre la variedad Monastrell.

7. BIBLIOGRAFIA

ARAGÜÉS, R.; MEDINA, E.T.; CLAVERÍA, I.; MARTÍNEZ-COBB, A.; FACIA, J. (2014). Regulated deficit irrigation, soil salinization and soil sodification in a table grape vineyard drip-irrigated with moderately saline waters. *Agricultural Water Management* 134: 84-93.

BENITO, S.P. (2011). Hollejo de la uva. *Urbina Vinos Blog*. Visto el 2 de Abril de 2021: <http://urbinavinos.blogspot.com/2011/09/hollejo-de-la-uva.html>

BENITO, S.P. (2011). Pepitas o semillas de la Uva. *Urbina Vinos Blog*. Visto el 2 de Abril de 2021: <http://urbinavinos.blogspot.com/2011/09/pepitas-o-semillas-de-la-uva.html>

BUCCHETTI, B.; MATTHEWS, A. M.; FALGINELLA, L.; PETERLUNGER, E.; CASTELLARIN, S.D. (2011). Effect of water deficit on Merlot grape tannins and anthocyanins across four seasons, *Scientia Horticulturae*, 128: 297–305.

CÁCERES, A, M.; RIBALTA, P.C.; VILLALOBOS, G., L.; CUNEO, I.F.; PASTENESC, C. (2018). Controlled water deficit modifies the phenolic composition and sensory properties in Cabernet Sauvignon wines. *Scientia Horticulturae*, 237: 105–111.

CASASSA, L.F.; KELLER, M.; HARBERTSON, J.F. (2015). Regulated Deficit Irrigation Alters Anthocyanins, Tannins and Sensory Properties of Cabernet Sauvignon Grapes and Wines. *Molecules Journal*, 20: 7820-7844.

CASTELLARIN, S.D.; DI GASPERO, G. (2007). Transcriptional control of anthocyanin biosynthetic genes in extreme phenotypes for berry pigmentation of naturally occurring grapevines. *BMC Plant Biol*, 7: 46.

CASTELLARIN, S.D.; PFEIFFER, A.; SIVILOTTI, P.; DEGAN, M.; PETERLUNGER, E.; DI GASPERO G. (2007). Transcriptional regulation of anthocyanin biosynthesis in ripening fruit of grapevine under seasonal water deficit. *Plant Cell Environment*, 30: 1381-1399.

CHAVES, M.M.; SANTOS, T.P.; ORTUÑO, M.F.; MAROCO, J.P.; SOUZA, C.R.; RODRIGUES, M.L.; LOPES, C.M.; PEREIRA, J.S. (2007). Deficit irrigation in grapevine improves water use efficiency while controlling vigour and production quality. *Ann Appl Biol*, 150: 237–252.

CHEYNIER, V.; SCHEIDER, R.; SALMON, J.; FULCRAND, H. (2010). Chemistry of Wine. *Comprehensive Natural Products II*, 3: 1119 - 1172.

CHIDI, B.S; MAFATA, M; NOTSHOKOVU, N.Z; VAN JAARVELD, F. (2018). Impact of grape temperature at pressing on organic acids and oenological characteristics of Méthode Cap Classique wines. *J. Agric. Food Chem*, 52: 6640– 6645.

COMISIÓN EUROPEA, 1990. Reglamento (CEE) No 2676/90 de 17 de septiembre de 1990 por el que se determinan los métodos oficiales de análisis de vinos, zumos y mostos de uva. En: *Diario Oficial de las Comunidades Europeas L272* (3 de octubre de 1990). *Comisión Europea ed. Bruselas. Bélgica*: 0001-0192

COSTA, J. M.; VAZ, M., ESCALONA, J.; EGIPTO, R., LOPES, C.; MEDRANO, H. (2016). Modern viticulture in southern Europe: vulnerabilities and strategies for adaptation to water scarcity. *Agric. Water Manage*, 164: 5–18.

DELOIRE, A; CARBONNEAU, A.; WANG, Z.; OJEDA, H. (2006). Vid y agua. Una breve revisión. *Enología*. 5: 36-42.

- DRY, P. R.; LOVEYS, B.R.; MCCARTHY, M.G.; STOLL, M. (2001) Strategic irrigation management in australian vineyards. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, 35: 129-139
- ESCALONA, J. (2005). Efecto del riego deficitario en el color y otros parámetros de calidad de la baya en dos variedades tintas de vid cultivadas en Mallorca. *Institut de Recerca i Formació Agrària i Pesquera*.
- ESCAMILLA, V. (2020). Superficie de viñedo plantado en España por variedades. *La semana Vitivinícola*. Visto el 1 de Abril de 2021: www.sevi.net
- ESTEBAN, M; VILLANUEVA, M.J; LISSARRAGUE, J.(2001). Effect of irrigation on changes in the anthocyanin composition of the skin of cv. Tempranillo (*Vitis vinifera* L.) grape berries during ripening. *J. Sc. Food and Agriculture*, 81: 409-420
- FANZONE, S. M.L. (2021). Caracterización de la composición fenólica de uvas y vinos de la variedad malbec (*Vitis vinifera* L.): su relación con el origen geográfico, factores vitivinícolas y valor comercial. Trabajo final de grado. *Universitat Rovira i Virgili*.
- GENY, L., et al. (2003). Composition and cellular localization of tannins in grape seeds during maturation. *J.Agric Food Chem.*, 51: 8051-8054.
- GIL, G.; PSZCZÓŁKOWSKI, F. (2007). VITICULTURA, Fundamentos para optimizar producción y calidad. *Ed. Pontificia Universidad Católica de Chile*.
- GIRONA, J.; MARSAL, J.; MATA, M.; DEL CAMPO, J.; BASILE, B. (2009). Phenological sensitivity of Berry growth and composition of Tempranillo grapevines (*Vitis vinifera* L.) to water stress. *Aus. J. Grape Wine Res.* 15: 268–277.
- HIDALGO, J. (2011). Tratado de Enología I (2ª ed.). *Ed. Mundi-Prensa S.A. (Madrid)*
- JÁVAGA, A. T.(2017) Estudio de la composición polifenólica de hollejos de uvas de vinificación de la variedad Monastrell sometidas a diferentes tratamientos. Trabajo final de grado. *Universidad politécnica de Valencia*.
- JACKSON, D.I.; LOMBARD, P.B. (1993). Environmental and management practices affecting grape composition and wine quality. *Am. J. Enol. Vitic.*, 44 (4): 409-430.
- KELLER, M. (2005). Déficit de riego y nutrición mineral de la vid. *American Journal of Enology and Viticulture*, 56: 267 – 283.
- KELLER, M. (2006). Ripening grape berries remain hydraulically connected to the shoot. *Journal of Experimental Botany*, 57: 2577 - 2587.
- KELLER, M. (2010). Managing grapevines to optimize fruit development in a challenging environment: a climate change primer for viticulturists. *Aus. J. Grape Wine Res.*, 16: 56–59.
- KELLER, M.; ROMERO, P.; GOHJL, H.; SMITHYMAN, R. P.; RILEY, W. R.; CASASSA, L. F. (2016). Deficit irrigation alters grapevine growth, physiology, and fruit microclimate. *Am. J. Enol. Vitic.* 67: 426–435.
- KENNEDY, A. J. (2008). Grape and wine phenolics: Observations and recent finding. *Cien. Inv. Agr.* 35(2): 77-90.
- KENNEDY, J.; JONES, G. (2001). Analysis of proanthocyanidin cleavage products following acid-catalysis in the presence of excess phloroglucinol. *J. Agric. Food Chem.* 47: 1740- 1746.

- KENNEDY, J.A.; MATTHEWS, M. A.; WATERHOUSE, A. L. (2002) Effect of maturity and vine water status on grape skin and wine flavonoids. *Am. J. Enol. Vitic.*, 53: 268-274.
- KENNEDY, J.A.; MATTHEWS, M.A.; WATERHOUSE, A.L. (2000). Changes in grape seed polyphenols during fruit ripening. *Phytochemistry* 55: 77-85.
- KY, I.; LORRAIN, B.; KOLBAS, N; CROZIER, A.; TEISSEDRE, P. L. (2014). Wine by-products: Phenolic characterization and antioxidant activity evaluation of grapes and grape pomaces from six different French grape varieties. *Molecules*,19(1):482-506.
- KYRALEOU, M.; KOTSERIDIS, Y.; KOUNDOURAS, S.; CHIRA, K., TEISSEDRE, P.L.; KALLITHRAKA, S. (2016). Effect of irrigation regime on perceived astringency and proanthocyanidin composition of skins and seeds of *Vitis vinifera* L. cv. Syrah grapes under semiarid conditions. *Food Chemistry* 203: 292–300.
- KYRALEOU, M.; KALLITHARAKA, S.; THEODOROU, N.; TEISSEDRE, P.L.; KOTSERIDIS, Y.; KOUNDOURAS, S. (2017). Changes in Tannin Composition of Syrah Grape Skins and Seeds during Fruit Ripening under Contrasting Water Conditions. *International Journal of Wine Research*, 9: 23-33
- KYRALEOU, M.; KALLITHARAKA, S.; GKANIDI, E.; KOUNDOURAS, S.; MANNION, D.T.; KILCAWLEY, K.N.(2020). Discrimination of five Greek red grape varieties according to the anthocyanin and proanthocyanidin profiles of their skins and seeds. *Journal of Food Composition and Analysis*, 92: 103547.
- LARA, J. F. (2013). Caracterización de variedades tintas de vid (*Vitis vinifera* L.) de la D.O. Jumilla. Evolución de su composición durante la maduración y efecto en la calidad del vino. Trabajo final de grado. *Universidad de Castilla-La Mancha*.
- LUND, S.T.; BOHLMAN, J. (2006). The Molecular Basis for Wine Grape Quality, A Volatile Subject. *Science*, 311: 804-805.
- MARSCHNER, H. (1986). Mineral Nutrition of Higher Plants. *London: Academic Press*.
- MATTHEWS M.A.; ANDERSON M.M.; SCHULTZ H.R., (1987). Phenologic and growth responses to early and late season water deficits in Cabernet franc. *Vitis*, 26: 147-160.
- MCCARTHY, M.G.(1997).The effect of transient water deficit on berry development of cv. Shiraz (*Vitis vinifera* L.). *Australian Journal of Grape and Wine Research*,
- MCCARTHY, M.G.; LOVEYS, B.R.; DRY, P.R.; STOLL, M. (2002).Regulated deficit irrigation and partial root zone drying as irrigation management techniques for grapevines. Déficit irrigation practices. *FAO Water Reports* No. 22. Rome, Italy.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA, ALIMENTACIÓN (2020). Visto el 27 de Marzo de 2021: <https://www.mapa.gob.es/es/agricultura/temas/produccionesagricolas/vitivinicultura/>
- MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA, ALIMENTACIÓN (2021). Material vegetal. Visto el 27 de Marzo de 2021: <https://www.mapa.gob.es/app/materialVegetal/fichaMaterialVegetal.aspx?lng=es&IdFicha=489>

- MIRÁS, A.J.M.; INTRIGLIOLO, D.S. (2017). Grape Composition under Abiotic Constrains: Water Stress and Salinity. *Front. Plant Sci.* 8:851.
- NAVARRO, M. J. (2017). Evaluación económica y social del cultivo de vid para vinificación en la comarca Requena-Utiel. Trabajo de final de grado. *Universidad politécnica de Valencia* .
- NETZER, Y.; SHENKER, M.; SCHWARTZ, A. (2014). Effects of irrigation using treated wastewater on table grape vineyards: dynamics of sodium accumulation in soil and plant. *Irrig. Sci.* 32: 283–294.
- NUÑEZ, V.; MONAGAS, M.; GÓMEZ, C.M.; BARTOLOMÉ, B.(2004). *Vitis vinifera* L cv. Graciano grapes characterized by its anthocyanin profile. *Postharv. Biol. Tech.* 31:69-79.
- OJEDA, H.; ANDARY, C.; CARBONNEAU, A.; DELOIRE, A. (2002). Influence of pre and post-veraison water deficit on the synthesis and concentration of skin phenolic compounds during berry growth of *Vitis vinifera* L., cv Shiraz. *Am. J. of Enol. and Vitic.* 53: 261-267.
- OJEDA, H.; SAURIN, N. (2014). L'irrigation de précision de la vigne : méthodes, outils et stratégies pour maximiser la qualité et les rendements de la vendange en économisant de l'eau. *Innovations Agronomiques*, 38: 97-108.
- ORGANIZACIÓN INTERNACIONAL DE LA VIÑA Y EL VINO. (2017). Visto el 27 de Marzo de 2021: <http://www.oiv.int/es/>
- OSORIO A.; CÉSPED R. (2000). Efecto de métodos de riego localizado en la salinidad del perfil de suelo en vid de mesa.: conductividad eléctrica, sodio, cloro y boro en distintos puntos del perfil. *Agricultura Técnica*, 60(2):178-194.
- PALADINO, S.C. (2008). Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos contenidos en las semillas de la vid (*Vitis vinifera* L.). Trabajo final de máster. *Universidades Nacionales de Cuyo, La Rioja, San Juan y San Luis*.
- PEÑA- NEIRA, A. (2009). Composición fenólica de uvas y vinos. Departamento de Agroindustria y Enología. Grupo de Investigación Enológica (GIE). *Universidad de Chile*.
- PEÑARRIETA, J.; TEJEDA, L.; MOLLINEDO, P.; VILA, J.; BRAVO, J.A (2014). Phenolic compounds in food. *Rev. Bol. Quim.*31:..2.
- PICORNELL, B. M^a.R; MELERO, M. J.M^a. (2012). “Historia del cultivo de la vid y el vino”. *Revista de la Facultad de Educación de Albacete*, N^o27.
- POMPEI, C.; PERI, C. (1971). Determination of catechins in wines. *Vitis*, 9: 312-316.
- PRIEUR, C.; RIGAUD J.; CHEYNIER, V.; MOUTOUNET, M. (1994). Oligomeric and polymeric procyanidins from grape seeds. *Phytochemistry*, 36: 781-784.
- PUERTO, G. M. (2018). Efecto de distintos tratamientos sobre la composición polifenólica de pepitas de uvas de vinificación de la variedad Monastrell. Trabajo final de grado. *Universidad politécnica de Valencia*.
- RIBEREAU-GAYON, J.; STONESTREET, E.(1966). *Chim. Anal* 48: 188- 196.
- RIBEREAU-GAYON, P. (1974). The chemistry of red wine color. *The Chemistry of Winemaking*. A. D. Webb. Washington

- RIBÉREAU-GAYON, P.; GLORIES, Y.; MAUJEAN, A.; DUBOURDIEU, D. (2000). Handbook of Enology, Volume II, The Chemistry of Wine, Stabilization and Treatments. Ed. John Wiley & Sons. Chichester
- RIOU, V.; VERNHET, A.; DOCO, T.; MOUTOUNET, M. (2002). Aggregation of grape seed tannins in model wine effect of wine polysaccharides. *Food Hydrocolloid*, 16: 17- 23.
- ROBBINS, R. (2003). Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology. *J. Agric. Food Chem*, 51: 2866-2887.
- ROBY, G.; HARBERTSON, J.F.; ADAMS, D.A.; MATTHEWS, M.A. (2004). Berry size and vine water deficits as factors in winegrape composition: Anthocyanins and tannins. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 10: 100–107.
- RODRIGUEZ, P. F.J (2013). Aplicación de técnicas de imagen para la evaluación de la madurez fenólica de semillas de uva. Trabajo final de grado. *Universidad de Sevilla*.
- ROMERO, C.I. (2008). Extracción de compuestos fenólicos de la uva al vino. Papel de los enzimas de maceración. Trabajo final de grado. *Universidad de Murcia*.
- ROMERO, P.; FERNÁNDEZ, J. I.; MARTINEZ, A. (2010). Physiological thresholds for efficient regulated deficit-irrigation management in winegrapes grown under semiarid conditions. *Am. J. Enol. Vitic.* 61: 300–312.
- ROMERO, P.; GIL, M.R.; DEL AMOR, F.; VALDES, E.; FERNANDEZ, J.; MARTINEZ, C. A. (2013). Regulated Deficit Irrigation based upon optimum water status improves phenolic composition in Monastrell grapes and wines. *Agricultural Water Management*, 121: 85-101.
- SAVIN, A. (2017). Monastrell, la variedad más mediterránea. Visto el 29 de Marzo de 2021: <http://www.saberdevino.com/monastrell-la-variedad-mas-mediterranea>
- SERRES, C.(2018). Origen, historia y evolución del cultivo de la vid. Visto el 27 de Marzo de 2021: <https://www.carlosserres.com/origen-historia-y-evolucion-del-cultivo-de-la-vid/>
- VEREMA (2015). La variedad Monastrell se sitúa en el top 5 de la producción española. Visto el 28 de Marzo de 2021: <https://www.verema.com/blog/noticias-del-vino/1323057-variedad-monastrell-situa-top-5-produccion-espanola>
- WATERHOUSE, A.L. (2002). Determination of total phenolics. *Current protocols in food analytical chemistry*, 111-118.
- WILLIAMS, L.E.; MATTHEWS, M.A. (1990). Grapevine. In Irrigation of Agricultural Crops. *Series of Agronomy*, 1019–1055.

