



UNIVERSIDAD DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

**Selección de Cruzamientos Dirigidos de Monastrell para
una Adaptación al Cambio Climático**


**D. Juan Daniel Moreno Olivares
2022**

D^a Rocío Gil Muñoz, investigadora del Departamento de Desarrollo Rural, Enología y Agricultura Sostenible del Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Medioambiental y Profesora asociada de la Universidad de Murcia en el Departamento de Tecnología de los Alimentos, Nutrición y Bromatología, AUTORIZA:

La presentación de la Tesis Doctoral titulada “**Selección de cruzamientos dirigidos de Monastrell para una adaptación al cambio climático**”, realizada por D. Juan Daniel Moreno Olivares bajo mi tutela, y que presenta para la obtención del Grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

En Murcia, a 5 de Septiembre de 2022

Fdo. Rocío Gil Muñoz



Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Medioambiental

Estación Enológica

Avda. Asunción N° 24-30520 Jumilla (Murcia) Tel. y Fax. 968 75 75 80

La ejecución de esta Tesis Doctoral ha tenido lugar en el marco del programa:

Fondos Europeos de Desarrollo Regional “Una manera de hacer Europa” 2017-2022, en el que D. Juan Daniel Moreno Olivares ha sido beneficiario de un contrato regional, financiado con el 80% por los fondos FEDER y el 20% por el IMIDA (Instituto Murciano de Desarrollo Agrario y Medioambiental).

El trabajo de investigación ha sido financiado por los siguientes Proyectos de Investigación:

“Programa integral para la mejora de la calidad de la uva y el vino ante los nuevos escenarios derivados del cambio climático (Vid4vino)”

“La variedad Monastrell: adaptación a un nuevo escenario edafoclimático (FEDER 14-20-29)”



UNIÓN EUROPEA

**FONDO EUROPEO DE
DESARROLLO REGIONAL**

UNA MANERA DE HACER EUROPA

Instituto Murciano de
Investigación y Desarrollo
Agrario y Medioambiental



Agradecimientos

A lo largo de esta investigación he contado con la ayuda de muchas personas a las que les debo mi gratitud. En primer lugar, la directora de la presente Tesis Doctoral, D^a Rocío Gil Muñoz. Gracias a ella, este arduo trabajo ha podido salir a la luz. Cada corrección era un paso más a la perfección, y si no hubiera sido por todo su empeño, ganas e ilusión, este trabajo no sería lo mismo. Mil gracias de corazón, siempre te estaré agradecido por el duro verano del “2022”.

Todo este recorrido ha ido de la mano de grandes compañeros de trabajo, y a los cuales se acaban teniendo como familia. Gracias a todo el equipo del laboratorio por las intensas catas llevadas a cabo, y las que quedan... Gracias a Juan Antonio, Seve, Juan Corredor y David. Especial mención a José Ignacio, el padre de la Enológica, tu sabiduría, el saber estar, la paciencia y la humanidad son calificativos que van contigo de la mano, siempre hay algo que aprender de ti. Maica los momentos jocosos siempre han estado ahí, gracias por compartirlos y darme estas vitaminas diarias!

Calentamientos de cabeza, horas y horas en amor y compañía, ¿lograremos patentar algún día la máquina “pela uvas”? Seguro que sí! Sabéis que sin vosotros esto no hubiera sido posible, juntos todo ha sido más fácil para mí. Ana, contigo empezó todo, mi mano derecha siempre en el Feder. Maria José, esa persona que pone coherencia en mi vida, en mis datos, en mi día a día, gracias. Todos mis amigos, me llaman... “Cayetano”, que te voy a decir que no sepas, sin ti el Laboratorio de Investigación y la Bodega no serían lo mismo, eres un pilar muy importante en esta gran familia. Paladines-Quezada... el que siempre me abre los ojos y me hace crecer un poquito más, gracias de corazón.

María Dolores, no olvidaré el día que me dijiste “Sí, vente a hablar con Rocio que seguro que estará encantada de hacer la Tesis contigo”, de eso ya hace cuatro años, y hoy puedo decir que lo he conseguido. Gracias.

Grandes compañeros puedo presumir de tener en la Universidad de Murcia, gracias a Encarna y Belén por sus enormes conocimientos y ganas de compartir y enseñaros cada día un poquito más. Paula, todo comenzó en el Máster de Enología y desde entonces sabemos los grandes amigos que siempre seremos. Alejandro, Pili, Andrea y Lucía un buen equipo con el que siempre se puede contar.

También me gustaría agradecer la especial acogida durante mi estancia en el “Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino” (ICVV) en la Rioja. La Dra Mar Vilanova junto con su equipo me hizo adentrarme más en el increíble mundo de los aromas.

Si hay algo que me ayuda a seguir la pasión por el mundo del vino, son las personas que me rodean, las cuales me transmiten toda su pasión. Gracias a la Familia Pacheco, Carchelo, a mi prima Inés por estar siempre ahí, a todos esos amigos con los que se puede compartir una copa de vino, por supuesto sin olvidarme de mis “pescaillos”, nadie más que ellos saben cada una de las rabietas y alegrías que me ha brindado la Tesis Doctoral.

*Especial mención a Francisco Pardo una de las primeras personas en descubrirme este mundo y al cual estoy muy agradecido de pertenecer. Las innumerables horas de charla en las prácticas de BSI contigo ayudaron a empezar mi camino como eno-
enamorado del vino. Siempre te recordaremos “In vino veritas”.*

Por supuesto, gracias a mi familia, mi apoyo incondicional. A mi madre por su constante y gran motivación a poder terminar esta Tesis Doctoral, siempre te estaré eternamente agradecido por los valores y principios que me has dado junto a papá. A mi hermana por saber escucharme y entenderme cuando más lo necesito, sabes que siempre te necesitaré a mi lado, somos el engranaje perfecto para que todo funcione. A Pedro, esa cabeza de familia tan importante en mi vida. Y a la persona con la que espero pasar el resto de mi vida, cari gracias por estar siempre ahí, siempre has estado a mi lado durante este largo camino, animándome a no tirar nunca la toalla y a ayudándome en los momentos más “críticos”, ya tu sabes.

*Esta Tesis está dedicada a mi padre **Juan Moreno Martínez**, quien siempre ha sido mi principal fuente de apoyo, mi aliento cuando más he necesitado de ti. Sé que siempre estás aquí y gracias por aquel día en el que me enseñaste lo duro que es vivir.*

*“Dejarse llevar, suena demasiado bien
jugar al azar
nunca saber dónde puedes terminar...
O empezar...”*

CAPÍTULO 1: ANTECEDENTES Y OBJETIVOS **1**

1.1 ANTECEDENTES **1**

1.2 OBJETIVOS **2**

CAPÍTULO 2: INTRODUCCIÓN GENERAL **5**

2.1 EL EFECTO DEL CAMBIO CLIMÁTICO EN LA VITICULTURA **5**

2.1.1 TEMPERATURA **5**

2.1.2 PRECIPITACIONES **6**

2.1.3 POTENCIAL DE EVAPOTRANSPIRACIÓN **7**

2.1.4 RADIACIÓN SOLAR **8**

2.2 LA VARIEDAD MONASTRELL **8**

2.2.1 INVESTIGACIONES RECIENTES SOBRE LA VARIEDAD MONASTRELL **11**

2.2.1.1 Prácticas vitícolas **12**

2.2.1.2 Prácticas enológicas **13**

2.2.2 PROBLEMÁTICAS ACTUALES DE LA VARIEDAD MONASTRELL RELACIONADAS CON EL CAMBIO CLIMÁTICO **14**

2.2.2.1 Disminución de la superficie de cultivo **15**

2.2.2.2 Aumento del grado alcohólico **16**

2.2.2.3 Disminución de la acidez **16**

2.2.2.4 Sistema de conducción **17**

2.3 ESTRATEGIAS DE ADPTACIÓN DE LA VITICULTURA AL CAMBIO CLIMÁTICO EN LA REGIÓN DE MURCIA **17**

2.3.1 ACCIONES A CORTO PLAZO **18**

2.3.1.1 Manejo del suelo y algunas prácticas vitícolas **18**

2.3.1.2 Sistemas de conducción **18**

2.3.1.3 Manejo del dosel **19**

2.3.1.4 Prácticas de riego **20**

2.3.1.5 Uso de microorganismos **20**

2.3.1.6 Uso de elicitores **21**

2.3.2 ACCIONES A LARGO PLAZO **22**

2.3.2.1 Ubicación y orientación del viñedo **22**

2.3.2.2 Portainjertos	23
2.3.2.3 Selección clonal	23
2.3.2.4 Programas de mejora genética clásica	24
2.4 PROGRAMA DE MEJORA GENÉTICA PARA LA OBTENCIÓN DE NUEVAS VARIEDADES PROCEDENTES DE MONASTRELL. LÍNEAS ACTUALES	25
2.4.1 OBTENCIÓN DE NUEVAS VARIEDADES TOLERANTES A ALTAS TEMPERATURAS Y A LA SEQUÍA	25
2.4.2 OBTENCIÓN DE NUEVAS VARIEDADES TOLERANTES A <i>OÍDIO Y/O MILDIU</i>	26
2.4.3 OBTENCIÓN DE NUEVAS VARIEDADES DE UVA BLANCA	26
2.4.4 OBTENCIÓN DE NUEVAS VARIEDADES APIRENAS	27
2.5 PROCESO DE SELECCIÓN DE NUEVAS VARIEDADES	27
2.5.1 PROCESO DE CRUZAMIENTO	27
2.5.1.1 Emasculación	28
2.5.1.2 Polinización	29
2.5.1.3 Cuajado	30
2.5.1.4 Obtención de semillas	30
2.5.2 SELECCIÓN DE LAS VARIEDADES	31
2.5.2.1 Primera fase de selección de las variedades por su calidad de uva	33
2.5.2.2 Segunda fase de selección de las variedades por su calidad de vino.	34
2.5.2.3 Tercera fase. Registro de nuevas variedades.	35

3.1 MATERIAL VEGETAL	40
3.1.1 NUEVAS VARIEDADES	40
3.2 CARACTERÍSTICAS EDÁFO-CLIMÁTICAS DEL ÁREA DE CULTIVO	41
3.2.1 DATOS EDÁFICOS	41
3.2.2 DATOS CLIMÁTICOS	41
3.3 UVA	45
3.3.1 PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS EN LA UVA	45
3.3.1.1 Grado Brix	45
3.3.1.2 pH	45
3.3.1.3 Acidez total	45
3.3.1.4 Ácido tartárico	45
3.3.1.5 Ácido málico	46
3.3.2 ANÁLISIS Y COMPOSICIÓN DE LA PARED CELULAR	46
3.3.2.1 Aislamiento de las paredes celulares	46
3.3.2.2 Análisis de los componentes de la pared celular	46
3.3.2.2.1 Azúcares neutros	47
3.3.2.2.1.1 Hemicelulosa (glucosa no celulósica)	47
3.3.2.2.1.2 Glucosa total	47
3.3.2.2.1.3 Glucosa celulósica	48
3.3.2.2.1.4 Ácidos urónicos	48
3.3.2.2.2 Lignina	48
3.3.2.2.3 Proteínas	49
3.3.2.2.4 Compuestos fenólicos	49
3.3.2.3 Estudio de microscopía óptica	49
3.3.3 ANÁLISIS DE COMPUESTOS FENÓLICOS POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN	50
3.3.3.1 Antocianos y flavonoles	50
3.3.3.2 Proantocianidinas	51
3.3.3.3 Análisis de proantocianidinas por cromatografía de exclusión molecular	52
3.3.4 ANÁLISIS DE AROMAS EN VARIEDADES BLANCAS	53
3.4 VINO	54
3.4.1 VINIFICACIONES	54
3.4.1.1 Vinos tintos	54

3.4.1.2 Vinos blancos	55
3.4.2 PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DEL VINO	56
3.4.2.1 Grado alcohólico	56
3.4.2.2 pH	56
3.4.2.3 Acidez total	56
3.4.2.4 Acidez volátil	56
3.4.3 ANÁLISIS ESPECTROFOTOMÉTRICOS DEL VINO	56
3.4.3.1 Índice de polifenoles totales	56
3.4.3.2 Antocianos totales	57
3.4.3.3 Proantocianidinas	57
3.4.3.4 Intensidad de color	57
3.4.3.5 Parámetros CIELAB	57
3.4.3.6 Capacidad antioxidante	57
3.4.4 ANÁLISIS DE COMPUESTOS FENÓLICOS POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA	58
3.4.4.1 Antocianos y flavonoles	58
3.4.4.2 Proantocianidinas	58
3.4.4.3 Análisis de proantocianidinas en vinos por cromatografía de exclusión molecular	59
3.4.5 ANÁLISIS DE COMPOSICIÓN AROMÁTICA EN VINOS BLANCOS	59
3.4.6 ANÁLISIS SENSORIAL EN VINOS	61
3.4.6.1 Vinos tintos	61
3.4.6.2 Vinos blancos	63
3.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	65

<u>CAPÍTULO 4: CARACTERIZACIÓN DE NUEVAS VARIEDADES CON ALTO CONTENIDO FENÓLICO (VACF)</u>	<u>67</u>
<u>PARTE 1-PARED CELULAR DE LAS NUEVAS VARIEDADES</u>	<u>67</u>
4.1 LA PARED CELULAR DE LAS UVAS	67
4.2 ESTRUCTURA DE LA PARED CELULAR	68
4.2.1 PROTEÍNAS	68
4.2.2 COMPUESTOS FENÓLICOS	68
4.2.3 LIGNINA	69
4.2.4 AZÚCARES NEUTROS	69
<u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	<u>71</u>
4.3 RENDIMIENTO DEL AISLAMIENTO DE LAS PAREDES CELULARES	71
4.4 COMPOSICIÓN DE LA PARED CELULAR	72
4.4.1 PROTEÍNAS	72
4.4.2 COMPUESTOS FENÓLICOS	75
4.4.3 LIGNINA	75
4.4.4 AZÚCARES NEUTROS	76
4.4.4.1 Glucosa celulósica	76
4.4.4.2 Ácidos urónicos	77
4.4.5 MICROSCOPIA ÓPTICA	78
<u>PARTE 2-COMPOSICIÓN POLIFENÓLICA EN UVAS Y VINOS</u>	<u>80</u>
4.5 COMPUESTOS FENÓLICOS	80
4.5.1 ANTOCIANOS	81
4.5.2 FLAVONOLES	82
4.5.3 PROANTOCIANIDINAS	83
<u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	<u>84</u>
4.6 UVAS	84
4.6.1 PARÁMETROS DE CALIDAD DE LA UVA EN EL MOMENTO DE LA VENDIMIA	84
4.6.2 COMPUESTOS FENÓLICOS ANALIZADOS POR HPLC	90

4.6.2.1 Antocianos	90
4.6.2.2. Flavonoles	94
4.6.2.3 Proantocianidinas	96
4.6.2.3.1 Parámetros relacionados con las proantocianidinas en los hollejos	96
4.6.2.3.2 Parámetros relacionados con las proantocianidinas en las semillas	99
4.6.2.3.3 Distribución de masas moleculares de proantocianidinas en hollejos y semillas.	102
4.6.3 ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES EN LAS UVAS	104
4.7 VINO	106
4.7.1 PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS EN LOS VINOS	106
4.7.2 CARACTERÍSTICAS ESPECTROFOTOMÉTRICAS DE LOS VINOS	109
4.7.2.1 Parámetros fenólicos del vino	109
4.7.2.1.1 Índice de polifenoles totales	109
4.7.2.1.2 Antocianos totales	110
4.7.2.1.3 Proantocianidinas totales	113
4.7.2.2 Parámetros cromáticos del vino. Intensidad de color y parámetros CIELAB	114
4.7.2.3 Capacidad antioxidante	118
4.7.3 COMPUESTOS FENÓLICOS ANALIZADOS POR HPLC	120
4.7.3.1 Antocianos	120
4.7.3.2 Flavonoles	126
4.7.3.3 Parámetros relacionados con las proantocianidinas	129
4.7.3.4 Distribución de masas moleculares de proantocianidinas en los vinos	133
4.7.4 ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES	135
4.7.5 ANÁLISIS SENSORIAL	137

CAPÍTULO 5: CARACTERIZACIÓN DE NUEVAS VARIEDADES CON BAJA GRADUACIÓN ALCOHÓLICA (VBGA) **142**

5.1 TÉCNICAS VITIVINÍCOLAS PARA LA OBTENCIÓN DE VINOS DE BAJA GRADUACIÓN ALCOHÓLICA	142
5.1.1 ESTRATEGIAS VITÍCOLAS	142
5.1.1.1 Aclareo de racimos y doble vendimia	142
5.1.1.2 Poda tardía	143
5.1.1.3 Uso de portainjertos	143
5.1.1.4 Uso de anti-transpirantes	144
5.1.1.5 Mejora genética	144
5.1.2. ESTRATEGIAS ENOLÓGICAS	144
5.1.2.1 Adición de agua	144
5.1.2.2 Mezcla de mostos con diferente concentración en azúcares	145
5.1.2.3 Uso de enzimas	145
5.1.2.4 Uso de levaduras <i>Sacharomyces</i> y <i>no-Sacharomyces</i>	145
5.1.2.5 Aplicación de ultrasonidos de alta potencia	145
5.1.2.6 Utilización de columnas de conos rotatorios	146
5.1.2.7 Utilización de ósmosis inversa	146
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	148

5.2 UVAS	148
5.2.1 PARÁMETROS DE CALIDAD EN LA UVA EN EL MOMENTO DE LA VENDIMIA	148
5.2.2 COMPUESTOS FENÓLICOS ANALIZADOS POR HPLC	152
5.2.2.1 Antocianos	152
5.2.2.2 Flavonoles	157
5.2.2.3 Proantocianidinas	158
5.2.2.3.1 Proantocianidinas totales	159
5.2.2.3.2 Parámetros relacionados con las proantocianidinas	161
5.2.2.3.2.1 Hollejos	161
5.2.2.3.2.2 Semillas	162
5.3 VINOS	165
5.3.1 PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS EN LOS VINOS	165
5.3.2 PARÁMETROS ESPECTROFOTOMÉTRICOS DE LOS VINOS	167

5.3.2.1	Parámetros fenólicos del vino	167
5.3.2.1.1	Índice de polifenoles totales	167
5.3.2.1.2	Antocianos totales	168
5.3.2.1.3	Proantocianidinas totales	169
5.3.2.2	Parámetros cromáticos del vino: intensidad de color y parámetros CIELAB	170
5.3.2.3	Capacidad antioxidante de los vinos	174
5.3.3	COMPUESTOS FENÓLICOS ANALIZADOS POR HPLC	175
5.3.3.1	Antocianos	175
5.3.3.2	Flavonoles	180
5.3.3.3	Proantocianidinas	182
5.3.3.3.1	Proantocianidinas totales	182
5.3.3.3.2	Parámetros relacionados con las proantocianidinas	183
5.3.3.4	Distribución de masas moleculares de las proantocianidinas de los hollejos, semillas y vinos	186
5.4	ANÁLISIS DISCRIMINANTE	188
5.4.1	ANÁLISIS DISCRIMINANTE EN UVAS	188
5.4.2	ANÁLISIS DISCRIMINANTE EN VINOS	190

<u>CAPÍTULO 6: OBTENCIÓN DE NUEVAS VARIEDADES BLANCAS (VB)</u>	
<u>ADAPTADAS AL CLIMA DEL SURESTE ESPAÑOL</u>	193
6.1 VARIEDADES BLANCAS EN LA REGIÓN DE MURCIA	193
6.2 PARÁMETROS DE CALIDAD EN LOS VINOS BLANCOS	194
6.3 NUEVAS VARIEDADES BLANCAS	196
6.4 EL AROMA DEL VINO	198
6.4.1 COMPUESTOS AROMÁTICOS EN LAS UVAS Y VINOS	199
6.4.1.1 Ácidos grasos volátiles	199
6.4.1.2 Alcoholes superiores	199
6.4.1.3 Compuestos C6	199
6.4.1.4 Fenoles volátiles	200
6.4.1.5 Ésteres	200
6.4.1.6 Terpenos	200
6.4.1.7 Norisoprenoides	201
<u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	202
6.5 UVAS	202
6.5.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICAS EN LAS UVAS	202
6.5.2 COMPUESTOS AROMÁTICOS EN LAS UVAS	206
6.5.2.1 Análisis del aroma en la uva	206
6.5.2.2 Mapa de calor y dendograma	211
6.6 VINOS	215
6.6.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICAS EN LOS VINOS	215
6.6.2 COMPUESTOS AROMÁTICOS EN LOS VINOS	218
6.6.2.1 Ácidos grasos volátiles	218
6.6.2.2 Alcoholes superiores	219
6.6.2.3 Compuestos C6	221
6.6.2.4 Fenoles volátiles	222
6.6.2.5 Ésteres	223
6.6.2.6 Terpenos	224
6.6.2.7 Norisoprenoides	225
6.6.3 ANÁLISIS DISCRIMINANTE	229
6.6.4 ANÁLISIS SENSORIAL	231

6.6.4.1 Campaña 2020	231
6.6.4.2 Campaña 2021	235
<u>CAPÍTULO 7: CONCLUSIONES</u>	<u>239</u>
<u>CAPÍTULO 8: ANEXOS</u>	<u>248</u>
<u>CAPÍTULO 9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	<u>280</u>

Índice de Figuras

Figura 2. 1 Cultivo de Monastrell en el mundo vitivinícola. _____	9
Figura 2. 2 Racimos de Monastrell. _____	9
Figura 2. 3 Esquema del proceso de cruzamiento entre variedades. _____	28
Figura 2. 4 Flor de Monastrell. _____	28
Figura 2. 5 Proceso de cruzamiento de variedades. _____	29
Figura 2. 6 Racimo cuajado de Monastrell. _____	30
Figura 2. 7 Cronología del proyecto mejora genética del IMIDA. _____	32
Figura 2. 8 Variedades seleccionadas en la primera fase por la calidad de sus uvas. _____	33
Figura 2. 9 Variedades seleccionadas en la segunda fase por la calidad de sus vinos. _____	35
Figura 3. 1 Datos climatológicos para la campaña 2018 (A) y 2019 (B). _____	43
Figura 3. 2 Datos climatológicos para la campaña 2020 (A) y 2021 (B). _____	44
Figura 3. 3 Ficha técnica de cata de vinos tintos. _____	62
Figura 3. 4 Ficha técnica de cata de vinos blancos. _____	64
Figura 4. 1 Imágenes de microscopía óptica del exocarpio de Monastrell y las nuevas VACF. _____	78
Figura 4. 2 Vía de biosíntesis de los diferentes compuestos fenólicos. _____	81
Figura 4. 3 Distribución de masas moleculares de las proantocianidinas de hollejos y semillas en Monastrell y las nuevas VACF durante las campañas 2018, 2019 y 2020. _____	103
Figura 4. 4 Análisis de componentes principales en uvas de Monastrell y las nuevas VACF durante las campañas 2018, 2019 y 2020. _____	105
Figura 4. 5 Índice de polifenoles totales en los vinos de Monastrell y los de las nuevas VACF durante las campañas 2018, 2019 y 2020. _____	110
Figura 4. 6 Antocianos totales en los vinos de Monastrell y las nuevas VACF durante las campañas 2018, 2019 y 2020. _____	111
Figura 4. 7 Proantocianidinas totales en los vinos de Monastrell y los de las nuevas VACF durante las campañas 2018, 2019 y 2020. _____	114
Figura 4. 8 Fotografía de los vinos de Monastrell y los de las nuevas VACF. _____	115
Figura 4. 9 Capacidad antioxidante de los vinos de Monastrell y los de las nuevas VACF durante 2018, 2019 y 2020. _____	119
Figura 4. 10 Distribución de masas moleculares de las proantocianidinas de los vinos de Monastrell y de las nuevas VCAF durante las campañas 2018, 2019 y 2020. _____	135
Figura 4. 11 Análisis de componentes principales en vinos de Monastrell y de las nuevas VCAF durante las campañas 2018, 2019 y 2020. _____	136

Figura 4. 12 Perfil sensorial de los vinos de Monastrell y los de las nuevas VACF durante las campañas 2019 (A) y 2020 (B).	138
Figura 4. 13 Grupos aromáticos en los vinos de Monastrell y los de las nuevas VACF en los vinos al mes de la fermentación maloláctica durante la campaña 2020.	140
Figura 5. 1 Antocianos totales medidos por HPLC en las uvas de Monastrell y las nuevas VBGA expresadas en μg de hollejo.	153
Figura 5. 2 Porcentaje de antocianos acilados y no acilados en uvas de Monastrell y las nuevas VBGA. (A) Campaña 2020. (B) Campaña 2021.	155
Figura 5. 3 Acetatos y cumaratos presentes en Monastrell y las nuevas VBGA. (A) Campaña 2020. (B) Campaña 2021.	156
Figura 5. 4 Flavonoles totales en uvas de Monastrell y en las nuevas VBGA en las campañas 2020 y 2021.	157
Figura 5. 5 Concentración total de proantocianidinas en hollejos y semillas de Monastrell y las nuevas VBGA. (A) Campaña 2020. (B) Campaña 2021.	160
Figura 5. 6 Índice de polifenoles totales en Monastrell y en las nuevas VBGA durante las campañas 2020 y 2021.	168
Figura 5. 7 Antocianos totales en los vinos de Monastrell y en los de las nuevas VBGA durante las campañas 2020 y 2021.	169
Figura 5. 8 Proantocianidinas totales en los vinos de Monastrell y en los de las nuevas VBGA durante las campañas 2020 y 2021.	170
Figura 5. 9 Fotografía de los vinos de Monastrell y los de las nuevas VBGA al final de fermentación alcohólica.	171
Figura 5. 10 Capacidad antioxidante de los vinos de Monastrell y los de las nuevas VBGA.	174
Figura 5. 11 Concentración total de antocianos en vinos de Monastrell y en los de las nuevas VBGA.	175
Figura 5. 12 Porcentaje de antocianos acilados y no acilados en vinos de Monastrell y en los de las nuevas VBGA.	177
Figura 5. 13 Acetatos, cumaratos y vitisinas presentes en los vinos de Monastrell y en los de las nuevas VBGA. (A) Campaña 2020. (B) Campaña 2021.	178
Figura 5. 14 Composición de flavonoles en los vinos de Monastrell y en los de las nuevas VBGA en las campañas 2020 y 2021.	181
Figura 5. 15 Concentración total de proantocianidinas en vinos de Monastrell y los de las nuevas VBGA durante las campañas 2020 y la campaña 2021.	183
Figura 5. 16 Distribución de masas moleculares de las proantocianidinas de hollejos, semillas en Monastrell y las nuevas VBGA durante las campañas 2020 y 2021.	187
Figura 5. 17 Distribución de masas moleculares de las proantocianidinas de los vinos de Monastrell y de las nuevas VBGA durante las campañas 2020 y 2021.	188

Figura 5. 18 Gráfico de dispersión de análisis discriminante en uvas de Monastrell y las nuevas VBGA durante las campañas 2020 y 2021. _____	189
Figura 5. 19 Gráfico de dispersión de análisis discriminante en vinos de Monastrell y en las nuevas VBGA durante las campañas 2020 y 2021. _____	190
Figura 6. 1 Principales familias aromáticas en las uvas de Verdejo y nuevas VB. _____	207
Figura 6. 2 Mapa de calor y dendograma con los compuestos aromáticos individuales analizados en las variedades de uva Verdejo y nuevas VB durante las campañas 2020 y 2021. _____	214
Figura 6. 3 Gráfico de dispersión de análisis discriminante en vinos de Verdejo y las nuevas VB durante las campañas 2020 y 2021. _____	231
Figura 6. 4 Percepción global de los vinos elaborados durante la campaña 2020. _____	232
Figura 6. 5 Perfil aromático de los vinos de la variedad Verdejo y de las nuevas VB durante la campaña 2020. _____	233
Figura 6. 6 Percepción global de los vinos elaborados durante la campaña 2021. _____	236
Figura 6. 7 Perfil aromático de los vinos de la variedad Verdejo y de las nuevas VB durante la campaña 2021. _____	237

Índice de Tablas

Tabla 2. 1 Bodegas que poseen material vegetal experimental cedido por el IMIDA. _____	37
Tabla 2. 2 Nuevas variedades registradas o por registrar a corto plazo. _____	38
Tabla 3. 1 Nuevas variedades objeto de estudio: VACF, VB y VBGA. _____	41
Tabla 3. 2 Condiciones cromatográficas para el análisis de antocianos y flavonoles en uva. _____	50
Tabla 3. 3 Condiciones cromatográficas para el análisis de proantocianidinas en uva. _____	52
Tabla 3. 4 Condiciones cromatográficas para el análisis de antocianos y flavonoles en vino. _____	58
Tabla 3. 5 Cuantificación de compuestos aromáticos. _____	60
Tabla 3. 6 Atributos aromáticos para las diferentes familias aromáticas. _____	63
Tabla 4. 1 Rendimiento del aislamiento de las paredes celulares de Monastrell y nuevas VACF durante las campañas 2018, 2019 y 2020. _____	72
Tabla 4. 2 Composición de la pared celular en Monastrell y las VACF durante las campañas de estudio 2018, 2019 y 2020. _____	74
Tabla 4. 3 Características físico-químicas para las uvas de Monastrell y VACF durante las campañas 2018, 2019 y 2020. _____	89
Tabla 4. 4 Caracterización antociánica mediante HPLC de las uvas de Monastrell y nuevas VACF durante las campañas 2018, 2019 y 2020. _____	93
Tabla 4. 5 Caracterización de flavonoles ($\mu\text{g/g}$ hollejo) mediante HPLC de las uvas de Monastrell y nuevas VACF durante las campañas 2018, 2019 y 2020. _____	94
Tabla 4. 6 Caracterización de proantocianidinas mediante HPLC en hollejos de Monastrell y las nuevas VACF durante las campañas 2018, 2019 y 2020. _____	98
Tabla 4. 7 Caracterización de proantocianidinas mediante HPLC en semillas de Monastrell y las nuevas VACF durante las campañas 2018, 2019 y 2020. _____	101
Tabla 4. 8 Características físico-químicas para los vinos de Monastrell y los de las nuevas VACF durante las campañas 2018, 2019 y 2020. _____	108
Tabla 4. 9 Parámetros cromáticos del vino: intensidad de color y parámetros CIELAB en los vinos de Monastrell y los de las nuevas VACF. _____	117
Tabla 4. 10 Caracterización antociánica mediante HPLC de los vinos de Monastrell y los de las nuevas VACF durante las campañas 2018, 2019 y 2020. _____	124
Tabla 4. 11 Caracterización de flavonoles mediante HPLC de los vinos de Monastrell y los de las nuevas VACF durante las campañas 2018-2019 y 2020. _____	127
Tabla 4. 12 Caracterización de PAs mediante HPLC en vinos de Monastrell y los de las nuevas VACF durante las campañas 2018, 2019 y 2020. _____	132

Tabla 5. 1 Características físico-químicas para Monastrell y las nuevas VBGA durante las campañas 2020 y 2021.	149
Tabla 5. 2 Parámetros relacionados con las proantocianidinas en los hollejos de Monastrell y las nuevas VBGA durante las campañas 2020 y 2021.	164
Tabla 5. 3 Parámetros relacionados con las proantocianidinas en las semillas de Monastrell y las nuevas VBGA durante las campañas 2020 y 2021.	164
Tabla 5. 4 Características físico-químicas para los vinos de Monastrell y las nuevas VBGA durante las campañas 2020 y 2021.	166
Tabla 5. 5 Parámetros cromáticos del vino: intensidad de color y parámetros CIELAB en los vinos de Monastrell y los de las nuevas VBGA.	173
Tabla 5. 6 Parámetros relacionados con las proantocianidinas en vinos de Monastrell y en las nuevas VBGA durante las campañas 2020 y 2021.	185
Tabla 6. 1 Características físico-químicas para Verdejo y las nuevas VB durante las campañas 2020 y 2021.	205
Tabla 6. 2 Compuestos aromáticos en las uvas agrupados por familias aromáticas.	210
Tabla 6. 3 Características físico-químicas para los vinos de Verdejo y VB durante las campañas 2020 y 2021.	217
Tabla 6. 4 Concentraciones de los principales compuestos aromáticos expresados en mg/L y agrupados por familias en las variedades Verdejo y nuevas VB durante el año 2020.	226
Tabla 6. 5 Concentraciones de los principales compuestos aromáticos expresados en mg/L y agrupados por familias en las variedades Verdejo y nuevas VB durante el año 2021.	227
Tabla 6. 6 Análisis factorial multivariable sobre los compuestos aromáticos individuales de los vinos en las variedades Verdejo y las nuevas VB durante las campañas 2021 y 2021.	229

TABLAS ANEXOS

Tabla 8. 1 Antocianos individuales ($\mu\text{g/g}$ hollejo) en uvas de Monastrell y nuevas VACF en la campaña 2018.	248
Tabla 8. 2 Antocianos individuales ($\mu\text{g/g}$ hollejo) en uvas de Monastrell y nuevas VACF en la campaña 2019.	249
Tabla 8. 3 Antocianos individuales ($\mu\text{g/g}$ hollejo) en uvas de Monastrell y nuevas VACF en la campaña 2020.	250
Tabla 8. 4 Flavonoles individuales ($\mu\text{g/g}$ hollejo) en Monastrell y las nuevas VACF durante las campañas 2018, 2019 y 2020.	251
Tabla 8. 5 Concentración de compuestos individuales de las PAs expresados en $\mu\text{g/g}$ hollejo en Monastrell y las nuevas VACF durante las campañas 2018, 2019 y 2020.	252
Tabla 8. 6 Concentración de compuestos individuales de las PAs expresados en $\mu\text{g/g}$ semilla en Monastrell y las nuevas VACF durante las campañas 2018, 2019 y 2020.	253
Tabla 8. 7 Antocianos individuales en vinos (mg/L) de Monastrell y en los de las nuevas VACF en la campaña 2018.	254
Tabla 8. 8 Antocianos individuales en vinos (mg/L) de Monastrell y en los de las nuevas VACF en la campaña 2019.	255
Tabla 8. 9 Antocianos individuales en vinos (mg/L) de Monastrell y en los de las nuevas VACF en la campaña 2020.	256
Tabla 8. 10 Flavonoles individuales expresados en mg/L en vinos de Monastrell y en los de las nuevas VACF durante la campaña 2018.	257
Tabla 8. 11 Flavonoles individuales expresados en mg/L en vinos de Monastrell y en los de las nuevas VACF durante la campaña 2019.	258
Tabla 8. 12 Flavonoles individuales expresados en mg/L en vinos de Monastrell y en los de las nuevas VACF durante la campaña 2020.	259
Tabla 8. 13 Concentración de compuestos individuales de la PAs expresados en mg/L en los vinos de Monastrell y las nuevas VACF durante las campañas 2018, 2019 y 2020.	260
Tabla 8. 14 Antocianos individuales ($\mu\text{g/g}$ hollejo) en uvas de Monastrell y nuevas VBGA en la campaña 2020.	261
Tabla 8. 15 Antocianos individuales ($\mu\text{g/g}$ hollejo) en uvas de Monastrell y nuevas VBGA en la campaña 2021.	262
Tabla 8. 16 Flavonoles individuales ($\mu\text{g/g}$ hollejo) en Monastrell y las nuevas VBGA durante las campañas 2020 y 2021.	263
Tabla 8. 17 Concentración de compuestos de PAs individuales expresados en $\mu\text{g/g}$ hollejo en Monastrell y las nuevas VBGA durante las campañas 2020 y 2021.	264
Tabla 8. 18 Concentración de compuestos de PAs individuales expresados en $\mu\text{g/g}$ semillas en Monastrell y las nuevas VBGA durante las campañas 2020 y 2021.	265

Tabla 8. 19 Antocianos individuales en vinos (mg/L) de Monastrell y en los de las nuevas VBGA en la campaña 2020. _____	266
Tabla 8. 20 Antocianos individuales en vinos (mg/L) de Monastrell y en los de las nuevas VBGA en la campaña 2021. _____	267
Tabla 8. 21 Flavonoles individuales expresados en mg/L en vinos de Monastrell y en los de las nuevas VBGA durante la campaña 2020. _____	268
Tabla 8. 22 Flavonoles individuales expresados en mg/L en vinos de Monastrell y en los de las nuevas VBGA durante la campaña 2021. _____	269
Tabla 8. 23 Concentración de compuestos de PAs individuales expresados en mg/L en vinos de Monastrell y en los de las nuevas VBGA durante las campañas 2020 y 2021. _____	270
Tabla 8. 24 Coeficientes discriminantes estandarizados en uvas para las funciones discriminantes 1 y 2. _____	272
Tabla 8. 25 Coeficientes discriminantes estandarizados en los vinos para las funciones discriminantes 1 y 2. _____	272
Tabla 8. 26 Compuestos aromáticos individuales en uva durante la campaña 2020. _____	275
Tabla 8. 27 Compuestos aromáticos individuales en uva durante la campaña 2021. _____	278
Tabla 8. 28 Coeficientes discriminantes estandarizados en los vinos blancos para las funciones discriminantes 1 y 2. _____	279

LISTADO DE ABREVIATURAS

ACP	Análisis de componentes principales
Ant	Antocianos
Antocianos*	Antocianos analizados por espectrofotómetro
A. Total	Acidez Total
A. Volátil	Acidez Volátil
ANOVA	Análisis de la varianza
°Bé	Grado Baumé
BOE	Boletín Oficial del Estado
°C	Grado centigrado
C*	Cromaticidad
CA	Capacidad Antioxidante
CFT	Compuestos fenólicos totales
CoA	Coenzima A
CPVO	Oficina Comunitaria de Variedades Vegetales
Di-OH	Di hidroxilados
DOP	Denominación de Origen Protegida
DOs	Denominaciones de Origen
EGC	Epicagalocatequina
EPI-GAL	Epicatequina-3-orto-galato
ETo	Evapotranspiración
FLAV	Flavonoles
% GAL	Porcentaje de galoilación
gMP	Grado medio de polimerización
GPC	Cromatografía de permeación en gel
H*	Hue (Tono o matiz)
H	Hollejo
HPLC	Cromatografía líquida de alta eficacia
HS-SPME	Microextracción en fase sólida en espacio de cabeza
IC	Intensidad de color
IMIDA	Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Medioambiental

IPT	Índice de polifenoles totales
L*	Luminosidad
LSD	Least Significant Difference
LOD	Límite de detección
LOQ	Límite de cuantificación
MANOVA	Análisis multivariable de la varianza
Mono-OH	Mono hidroxilados
NIR	Espectroscopía de infrarrojo cercano
N	Nitrógeno
OIV	Organización Internacional de la Viña y el Vino
OH	Grupo hidroxilo
P	Fósforo
PA	Proantocianidinas
PC	Pared celular
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PREC	Precipitaciones
RCV	Registro de Variedades Comerciales
RL	Rango de linealidad
S	Semilla
SIAM	Sistema de Información Agrario de Murcia
TR	Tiempo de retención
Tri- OH	Tri hidroxilados
V x A	Variedad x Añada
VACF	Variedades con alto contenido fenólico
VBGA	Variedades con baja graduación alcohólica
VB	Variedades blancas

Resumen

La presente Tesis Doctoral forma parte de dos proyectos que están enmarcados dentro del Programa de Fondos Europeos de Desarrollo Regional “Una manera de hacer Europa” 2017-2022. Esos proyectos se centran principalmente en la adaptación de la variedad Monastrell al nuevo escenario climático mediante el uso de diferentes estrategias.

La variedad Monastrell es una variedad de gran importancia económica no solo en la Región de Murcia, donde constituye la variedad preferente en las D.O. de Jumilla, Yecla y Bullas, sino también en otras áreas del Mediterráneo. Esta variedad presenta un gran potencial para obtener uva y vino de gran calidad. Sin embargo, el cambio climático le está afectando al igual que a otras muchas variedades de vid.

Por tanto, el objetivo general de esta Tesis Doctoral fue demostrar la mejora en la calidad de las nuevas variedades originarias de cruces dirigidos de Monastrell con otras variedades tales como Cabernet Sauvignon, Syrah, Tempranillo y Verdejo, así como su alta adaptación al nuevo escenario climático de nuestra zona, mediante un estudio pormenorizado y detallado de aquellos parámetros que contribuirán a la calidad final de sus vinos.

Para ello abordaremos tres líneas de investigación: estudiaremos en primer lugar variedades seleccionadas por su alto contenido fenólico (VACF) y resistentes a las altas temperaturas. En ellas evaluaremos las propiedades estructurales de sus paredes celulares, así como la composición fenólica de sus uvas y vinos que nos permitirán establecer el potencial enológico de cada una de ellas, así como determinar su adaptación a las nuevas condiciones climáticas.

En segundo lugar estudiaremos variedades seleccionadas para ser destinadas a la elaboración de vinos de baja graduación alcohólica (VBGA) por su baja acumulación en azúcares tras completar su madurez fenólica. En ellas se llevará a cabo una caracterización fenólica de sus uvas y vinos con el fin de establecer su potencial para elaborar vinos más afines a los gustos del consumidor.

Finalmente, abordaremos el estudio de nuevas variedades blancas (VB) que puedan ser potenciales de obtener vinos frescos y de calidad, poco abundantes en nuestra zona. En ellas se caracterizará el potencial aromático de sus uvas y vinos

Las conclusiones obtenidas en este estudio fueron claras y contundentes. En cuanto a las nuevas VACF, su pared celular mostró diferencias entre variedades pero fueron las diferencias entre las añadas las que más influyeron en los resultados obtenidos. En

cuanto a su composición fenólica, las variedades MC80, MC98 y MS10, obtuvieron altas concentraciones de antocianos y flavonoles, destacando entre ellas la variedad MS10. La variedad MC4, en cambio mostro más similitudes con Monastrell, aunque destacó por obtener los mayores porcentajes de antocianos acilados. Las concentraciones de proantocianidinas también fueron superiores en las VACF, sobre todo en MC80, sin embargo MS10 presentó valores más bajos y cercanos a Monastrell.

En relación a las VBGA, los estudios son prometedores ya que las variedades (T4, T11, T75, T81 y T82) alcanzaron la madurez fenólica con una menor acumulación de azúcares en sus bayas, dando lugar a vinos con menor contenido en alcohol, destacando entre ellos la variedad T81. A pesar de ello, todas las VBGA mostraron concentraciones fenólicas superiores a las obtenidas con Monastrell.

Por último, se ha conseguido obtener nuevas VB (MT103, MC180, MV67 y MC69) con acidez alta y un increíble potencial aromático en zonas cálidas como la nuestra. Fueron los vinos de la variedad MC69 los que destacaron por su alta concentración en aromas varietales, acorde a los gustos del consumidor.

En definitiva, la obtención de nuevas variedades sin duda ayudará al sector vitivinícola como herramienta para luchar contra el cambio climático, al mismo tiempo que consolidará y potenciará la calidad de los vinos de nuestra zona. Esto a su vez, propiciará un aumento en la competitividad, producción y exportación de sus vinos, contribuyendo de forma significativa al incremento de la riqueza económica del sector en la Región de Murcia.

Abstract

This Doctoral Thesis is part of two projects that are framed within the European Regional Development Funds Program "A way to make Europe" 2017-2022. These projects focus mainly on the adaptation of the Monastrell variety to the new climate scenario through the use of different strategies.

The Monastrell variety is a variety of great economic importance not only in the Region of Murcia, where it is the preferred variety in the D.O. Jumilla, Yecla and Bullas, but also in other areas of the Mediterranean. This variety has great potential for obtaining high quality grapes and wine. However, climate change is affecting it as well as many other vine varieties.

Therefore, the general objective of this Doctoral Thesis was to show the improvement in the quality of the new varieties originating from directed crosses of Monastrell with other varieties such as Cabernet Sauvignon, Syrah, Tempranillo and Verdejo, as well as their high adaptation to the new climate scenario of our area, through a detailed study of those parameters that will contribute to the final quality of their wines.

For this, it will address three lines of research: it will study, first, varieties selected for their high phenolic content (VACF) and resistant to high temperatures. In them it will evaluate the structural properties of their cell walls, as well as the phenolic composition of their grapes and wines that will allow us to establish the oenological potential of each one of them, as well as determine their adaptation to the new climatic conditions.

Secondly, it will study varieties selected to be used for the production of low alcohol content wines (VBGA) due to their low accumulation of sugars after completing their phenolic maturity. In them, a phenolic characterization of their grapes and wines will be carried out in order to establish their potential to produce wines more in line with consumer tastes.

Finally, it will address the study of new white varieties (VB) that may have the potential to obtain fresh and quality wines, which are not very abundant in our area. They will characterize the aromatic potential of its grapes and wines.

The conclusions obtained in this study were clear and forceful. As for the new VACF, their cell wall showed differences between varieties, but it was the differences between the vintages that most influenced the results obtained. Regarding its phenolic composition, the MC80, MC98 and MS10 varieties obtained high concentrations of anthocyanins and flavonols, the MS10 variety standing out among them. The MC4 variety, on the other hand, showed more similarities with Monastrell, although it stood

out for obtaining the highest percentages of acylated anthocyanins. The concentrations of proanthocyanidins were also higher in the VACF, especially in MC80, however MS10 presented lower values and closer to Monastrell.

In relation to the VBGA, the studies are promising since the varieties (T4, T11, T75, T81 and T82) reached phenolic maturity with a lower accumulation of sugars in their berries, giving rise to wines with lower alcohol content, highlighting among them the variety T81. Despite this, all the VBGA showed phenolic concentrations higher than those obtained with Monastrell.

Finally, it has been possible to obtain new VB (MT103, MC180, MV67 and MC69) with high acidity and incredible aromatic potential in warm areas like ours. It was the wines of the MC69 variety that stood out for their high concentration of aromas. varieties, according to consumer tastes.

In short, obtaining new varieties will undoubtedly help the wine sector as a tool to combat climate change, while at the same time consolidating and enhancing the quality of wines from our area. This, in turn, will lead to an increase in the competitiveness, production and export of its wines, contributing significantly to the increase in the economic wealth of the sector in the Region of Murcia.

CAPÍTULO 1

ANTECEDENTES Y OBJETIVOS



CAPÍTULO 1: ANTECEDENTES Y OBJETIVOS

1.1 Antecedentes

El cambio climático está modificando las condiciones medioambientales en todas las zonas del mundo. Los efectos que está causando podrían ser favorables en zonas más septentrionales; sin embargo, en zonas cálidas y secas como el sureste español las consecuencias podrían ser nefastas, tanto para el volumen de producción como para la calidad de sus uvas y vinos. En estas zonas más meridionales ya se están evidenciando sus consecuencias, produciéndose un adelanto en la fenología de la vid, tanto en la brotación, el envero y la maduración, así como en el momento de vendimia, que evidentemente lleva consigo modificaciones en la composición de la uva, como es un mayor contenido en azúcares, una menor concentración de ácidos orgánicos, especialmente de ácido málico, un pH más alto y una menor concentración de compuestos fenólicos.

Por otro lado, es evidente la mejora continua que está asumiendo en el mercado vitivinícola a nivel estatal y a nivel mundial, tanto como para poder satisfacer las demandas de un consumidor cada vez más exigente, como para poder adaptar los viñedos a las nuevas condiciones climatológicas. Por todo ello, se debe generar las condiciones precisas para poder fomentar actividades de investigación y desarrollo tecnológico (I+D) que nos hagan alcanzar estos objetivos. En la Región de Murcia, y en concreto en el IMIDA (Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Medioambiental), el equipo de Enología y Viticultura junto con el Equipo de Mejora Genética llevan desarrollando desde el año 1997 un programa de mejora genética para la obtención de nuevas variedades procedentes de Monastrell. Este programa basado en la obtención de cruzamientos dirigidos de nuestra variedad autóctona con otras variedades como Syrah, Cabernet Sauvignon, Tempranillo o Verdejo, en su comienzo, tuvo como principal objetivo obtener un nuevo material vegetal descendiente de Monastrell que, heredando de ella sus buenas características, aportasen además los caracteres necesarios para poder solucionar los retos del futuro.

El estudio llevado a cabo hasta ahora de estas nuevas variedades, resulta muy limitado puesto que su proceso de selección puede durar entre 20 y 30 años. A lo largo de los años se ha ido evaluando la calidad de aquellas variedades que presentaban mejores aptitudes para la obtención de los vinos de mayor calidad. Aunque han sido varios los proyectos de investigación en los que se ha abordado esta temática, lo conseguido a día de hoy es la selección de cuatro variedades tintas de alto contenido

fenólico y tres variedades blancas con alto potencial aromático que han sido ya registradas o están en proceso de registro como nuevas variedades comerciales.

También a lo largo de estos años, se han comenzado líneas paralelas para la selección de material vegetal con otros objetivos diferentes, así el Equipo de Mejora Genética del IMIDA está llevando a cabo una selección de nuevas variedades con dos objetivos diferentes, la resistencia a estreses bióticos como son el *oídio* y el *mildiu* que son las principales plagas que atacan a la vid; y a estreses abióticos como la sequía. Por su parte, el equipo de Enología y Viticultura está llevando a cabo por un lado, una selección de variedades apirenas que en zonas cálidas como las nuestras nos permitirían un adelanto de la vendimia evitando la presencia de sabores vegetales y astringentes en los vinos, y por otro lado, una selección de variedades que den lugar a vinos de baja graduación alcohólica, tan demandados hoy en día por los consumidores.

Debido a todo lo expuesto anteriormente, es necesario seguir con el estudio de caracterización de estas nuevas variedades y sus vinos, así como continuar con el proceso de selección en aquellas líneas donde todavía no ha culminado. Por ello, en esta Tesis Doctoral se va a mostrar los avances en esta temática respecto a algunas de las líneas ya puestas en marcha como son:

- Nuevas variedades de alto contenido fenólico a pesar de las adversas condiciones climáticas en la que son cultivadas.
- Nuevas variedades que nos pueden dar lugar a vinos de menor graduación alcohólica en una zona donde los grados son cada vez mayores debido a ese desacoplamiento entre las madurez fenólica y tecnológica.
- Nuevas variedades blancas con propiedades organolépticas denominadas como “frescas” en una zona de cultivo considerada como árida y seca.

1.2 Objetivos

Por tanto, el objetivo de esta Tesis Doctoral es demostrar la mejora en la calidad de las uvas y vinos procedentes de nuevas variedades originarias de cruces dirigidos de Monastrell con otras variedades tales como Cabernet Sauvignon, Syrah, Tempranillo y Verdejo, así como su alta adaptación al nuevo escenario climático de nuestra zona, mediante un estudio pormenorizado y detallado de aquellos parámetros que contribuirán a la calidad final sensorial y organoléptica de sus vinos.

Siguiendo con la hipótesis de inicio, se plantean los siguientes objetivos específicos:

1. Evaluar las propiedades estructurales de las nuevas variedades con alto contenido fenólico mediante el estudio de la composición de la pared celular que nos permitirán establecer el potencial enológico de cada una de ellas.
2. Evaluar las características fenólicas de las nuevas variedades seleccionadas por su alto contenido fenólico; así como de los vinos elaborados con ellas, para poder determinar su adaptación a las nuevas condiciones climáticas de nuestra zona.
3. Caracterizar la composición fenólica de las nuevas variedades seleccionadas por su baja graduación alcohólica con el fin de evaluar su potencial para la elaboración de vinos más afines a los gustos del consumidor.
4. Caracterizar el potencial aromático de las nuevas variedades blancas seleccionadas con el fin de evaluar su calidad como vinos potenciales para la elaboración de vinos frescos en una zona de clima cálido.

Los resultados que se obtengan de este estudio podrán ayudar a los viticultores y elaboradores a tener acceso a un nuevo material vegetal, más adaptado a las condiciones de sequía y altas temperaturas que se dan en la zona del sureste español. Estos resultados tendrán una gran transcendencia socio-económica, que se traducirá en una mayor rentabilidad de este cultivo incrementando la calidad de los vinos de la zona. Todo ello además, consolidará y potenciará las tres Denominaciones de Origen de la Región de Murcia; Yecla, Jumilla y Bullas propiciando un incremento de la riqueza económica del sector en nuestra zona.

CAPÍTULO 2

INTRODUCCIÓN GENERAL



CAPÍTULO 2: INTRODUCCIÓN GENERAL

2.1 El efecto del cambio climático en la viticultura

El cambio climático está provocando numerosas transformaciones en la adaptación de las plantas en viñedos de todo el mundo. El calentamiento global, causado por las emisiones excesivas de gases con efecto invernadero, se ha convertido en uno de los problemas más graves que atrae una atención sin precedentes en el mundo vitivinícola (Zhang et al., 2021).

La vid *Vitis vinifera* es un importante cultivo frutal de gran importancia económica en amplias zonas del planeta. Europa es el líder mundial en producción de vino, representando alrededor del 63% de la producción mundial durante el año 2020, aunque durante el año 2021 disminuyó en 22 millones de hL en países como Italia, Francia y España con respecto a 2020 debido a las heladas tardías de primavera y a las condiciones climáticas desfavorables (OIV, 2021). Es una realidad, que hoy en día existe un elevado número de factores que comprometen el cultivo de la vid en numerosas regiones vitivinícolas del mundo. El cambio climático ya es un hecho y es necesaria la búsqueda de nuevas estrategias que nos permitan mitigar sus efectos y seguir elaborando vinos de calidad.

Por otro lado, la vid tiene un papel importante en el paisaje mediterráneo, debido a su buena adaptación a su clima, sobre todo a las condiciones semiáridas de esta zona, lo que ayuda a explicar que sea un cultivo muy extendido no solo en estas regiones, sino en el resto de España (Resco, 2015a). Sin embargo, cada vez de manera más recurrente, se están produciendo fenómenos meteorológicos extremos que están dificultando el cultivo de la vid. El clima tiene una gran incidencia en la fisiología de este cultivo y por ende en la calidad de los vinos elaborados. La temperatura, la lluvia, la evapotranspiración y las horas de sol entre otros factores, determinan la calidad de la vendimia y la productividad del viñedo.

2.1.1 Temperatura

Los estudios más recientes sobre la evolución del calentamiento global confirman que la temperatura del planeta sigue en constante aumento y que en los últimos años se han registrado de forma consecutiva nuevos récords (Marín et al., 2021; Morales-Castilla et al., 2020; Rahmstorf et al., 2017). Estos cambios globales se están viendo acentuados en la zona del Mediterráneo, donde la temperatura media actual es 1.4 °C superior a la media global del planeta, incluso hasta 1.5 °C en la Región de Murcia

(Riquelme y Martínez-Cutillas, 2018). Las respuestas de las distintas variedades de vid frente a esta nueva situación son complejas; así con temperaturas superiores a 35°C las plantas desencadenan una respuesta de “parada fisiológica” afectando a la producción y características sensoriales de la uva (Cradock-Henry et al., 2020). Del mismo modo, estas altas temperaturas generan modificaciones en su metabolismo primario produciendo desincronización en los metabolismos del azúcar y los ácidos orgánicos (Gutiérrez-Gamboa et al., 2020).

Además de las diferencias varietales, parece que esta compleja respuesta de la temperatura depende también de las particularidades climáticas anuales y estacionales de cada región vitivinícola. Se prevé que el calentamiento global reduzca la producción de uva en regiones más cálidas y la incremente en regiones más frías, siempre que el agua no sea un factor limitante. Del mismo modo, el aumento de las temperaturas podría ocasionar un mayor riesgo de presencia de plagas y enfermedades (Cradock-Henry et al., 2020) y un incremento de las pérdidas de calidad y de rendimiento por golpes de calor, sobre todo en zonas continentales y cálidas del centro y sur de la Península Ibérica (Resco, 2015b).

2.1.2 Precipitaciones

Otro de los factores con gran impacto en la viticultura es el agua de lluvia. La mayoría de las regiones vitivinícolas de Europa se cultivan actualmente en condiciones de secano, con solo aproximadamente un 10 % de los viñedos regados, como consecuencia de las restricciones políticas establecidas entre otras por las normas de regulación en las Denominaciones de Origen (DOs) y las preocupaciones por el uso sostenible del agua (Costa et al., 2016). Sin embargo, para la viticultura de secano, el estrés por déficit hídrico se ha convertido en un problema incluso en países europeos relativamente más fríos y húmedos, como Francia, Alemania y Luxemburgo (Santos et al., 2020). Este hecho se puede atribuir al aumento de las temperaturas en las últimas décadas, acompañado de eventos climáticos más extremos, como olas de calor (Fraga et al., 2020).

Por un lado, se conoce que un déficit hídrico bajo durante el periodo de floración-enero, favorece un aumento de la acidez, mientras que también, un incremento en este déficit hídrico durante este periodo producirá un ligero aumento en la concentración de antocianos. Además, cuando se producen temperaturas altas anticipadas, dependiendo de cómo varíen los déficits de agua, se podrían equilibrar las disminuciones en los parámetros de calidad de la uva (Ramos y Martínez de Toda, 2020). No obstante, los efectos de déficits de agua en floración-enero en los parámetros de calidad de la vid

dependerán también de factores como las ubicaciones y de las variedades (Yang et al., 2022) siendo por tanto más o menos acentuados estos efectos.

Por otro lado, un estrés hídrico más severo, podría ser perjudicial para la calidad de la uva. Esto es debido a un desarrollo deficiente del dosel y a una reducción de la tasa de asimilación de las hojas que tiene como consecuencia una disminución en la capacidad de la vid para madurar de manera adecuada, provocando así un impacto negativo en su rendimiento (Jones et al., 2022). Este estrés tan severo, también es capaz de producir alteraciones en las características sensoriales de la uva como consecuencia del retraso o adelanto en el desarrollo de sus distintos componentes (semilla, hollejo y pulpa), aunque su efecto dependerá de la variedad y de las condiciones climáticas que se produzcan cada año (Sadras et al., 2012).

En los países del sur del Mediterráneo, como Italia, Portugal y España, el crecimiento de la vid está expuesto con frecuencia al estrés por sequía, lo que lleva a reducciones en el rendimiento y además, en condiciones de estrés hídrico severo, a un deterioro de los atributos de calidad del vino (Costa et al. 2016; Yang et al. 2022). En estas regiones vitivinícolas, el déficit hídrico combinado con las altas temperaturas en verano durante el período de maduración de las bayas, puede representar un factor limitante importante para la productividad del viñedo (Chacón-Vozmediano et al., 2020). Además, los déficits de agua pueden exacerbarse aún más bajo el cambio climático en términos de frecuencia e intensidad, que pueden ser particularmente pronunciados en las regiones más vulnerables (Santos et al., 2020) como es el caso de las regiones mediterráneas de España, y más concretamente de la Región de Murcia.

2.1.3 Potencial de evapotranspiración

Un factor relacionado con la humedad es el potencial de evapotranspiración. Se utiliza para representar la demanda atmosférica con respecto al dosel de la vid (Jones et al., 2022). Actualmente, se está observando un aumento en los valores de evapotranspiración en algunas regiones vitivinícolas como es el caso del sureste español, lo que resulta en un balance hídrico del suelo cada vez más negativo (Van Leeuwen et al., 2019). Estos incrementos son consecuencia directa del aumento de las temperaturas en un contexto de cambio climático (Van Leeuwen, 2022) de modo que cuando la evapotranspiración se incrementa, las vides experimentan episodios de sequía más severa. Este aumento previsto de la evapotranspiración y de las necesidades hídricas de la vid como consecuencia del cambio climático, hará necesaria la aplicación de agua de riego para mantener la sostenibilidad de los viñedos y evitar

tensiones severas en muchas regiones vitivinícolas, como por ejemplo, la Región de Murcia (Romero et al., 2018).

Es por tanto, la evapotranspiración, un factor importante a tener en cuenta para tener un correcto mantenimiento de la vid en las condiciones actuales, de modo que es necesario buscar estrategias que supongan un ahorro en el uso del agua y lo hagan de manera eficiente y sostenible.

2.1.4 Radiación solar

Siguiendo con los factores climatológicos que afectan a la viticultura y enología, la radiación solar afecta moderadamente a la calidad de la uva. La vid precisa de una radiación elevada importante para conseguir la madurez y color adecuado en los racimos. Este cultivo necesita una cantidad mínima de 1500 a 1600 horas de sol anuales, de las que debe corresponder un mínimo de 1200 horas al periodo de vegetación que comprende al proceso de la fotosíntesis (Hidalgo, 2002).

Sin embargo, es importante identificar los rangos óptimos de exposición a la radiación solar de las bayas para la regulación al alza de la efectividad de ciertas prácticas vitícolas (manejo del dosel, la eliminación de hojas, el adelgazamiento de brotes, orientación de los viñedos...) que pueden afectar a la vid (*Vitis vinifera* L. cv.) (Torres et al., 2020). Un ejemplo sería la eliminación de hojas y el adelgazamiento de los brotes para aumentar la exposición de los racimos a la radiación solar con el fin de reducir la carga de cultivo, disminuir las plagas, aumentar el contenido de flavonoides y disminuir los aromas herbáceos (Martínez-Lüscher et al., 2017). Sin embargo, cuando se combina la alta temperatura del aire con una radiación excesiva, se han encontrado efectos perjudiciales sobre la acidez de las bayas y el contenido de flavonoides en regiones de clima cálido (Torres et al., 2020).

2.2 La variedad Monastrell

Monastrell es una variedad de uva tinta cultivada principalmente en la costa mediterránea, concretamente en la zona de Murcia, donde constituye la variedad preferente en las D.Os de Jumilla, Yecla y Bullas, aunque también se pueden encontrar en otras áreas de Albacete, Alicante y Valencia. No obstante, Monastrell también se cultiva en otras zonas geográficas del mundo (**Figura 2.1**) cómo en las regiones meridionales de Francia (Vallée du Rhone-Provenza y Languedoc-Roussillon), identificada bajo el nombre de Mouvédre; en la costa oeste de Estados Unidos (California) conocida como Mataró; en el norte de África (Argelia) presente desde la época de los fenicios y con el sinónimo de “Matterou Fin” o en la zona del sur de África.

Por último, también está siendo cultivada en otras zonas geográficas del nuevo mundo como el sur de Australia (Barossa Valley).



Figura 2. 1 Cultivo de Monastrell en el mundo vitivinícola.

En general, la planta de Monastrell es de porte erguido y tronco vigoroso, con hojas medianas afelpadas en el envés, de ancho seno peciolar y color verde intenso. Los racimos son de dimensión mediana y bastante compactos. Sus bayas se caracterizan por tener forma esférica, una piel gruesa y un tamaño pequeño-medio con un color negro-azulado intenso. Es una variedad que contiene una pulpa carnosa, muy dulce e incolora con respecto a otras variedades de uva.

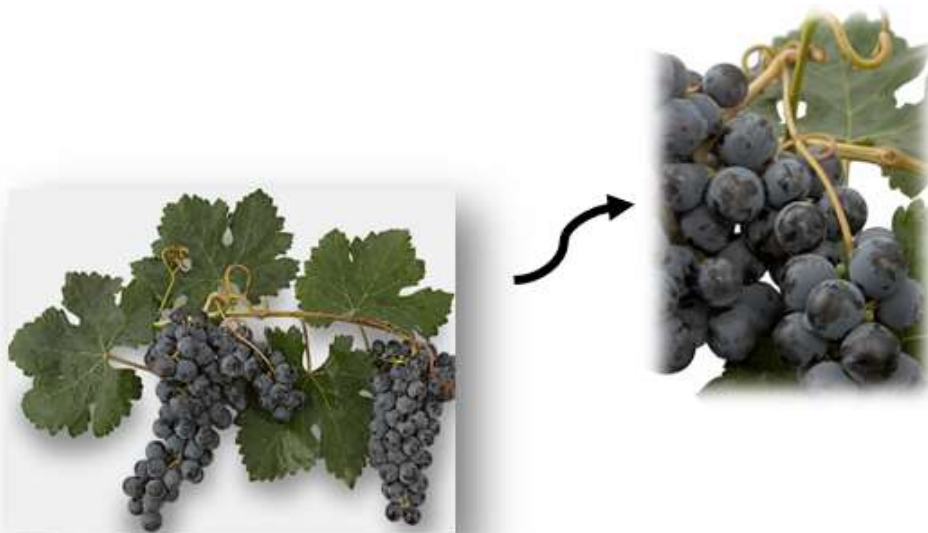


Figura 2. 2 Racimos de Monastrell. Fotografía (D.O Alicante).

Monastrell crece mejor en climas cálidos, con periodos largos de cultivo, como es el caso del sureste español (Ruiz-García et al., 2013b). La brotación que tiene Monastrell es tardía, cuya vendimia se suele producir a finales de septiembre e incluso principio o mediados de octubre, por tanto es una variedad que se encuentra mejor adaptada a climas cálidos que otras variedades. Aún así, es evidente que el cambio climático también ha afectado y afectará a esta variedad.

Sus vinos son fácilmente identificables y se caracterizan por un intenso color rubí, gran sabor y acidez baja-media. Además, Monastrell es conocida por la elaboración de vinos con una alta graduación alcohólica. Los vinos elaborados suelen tener notas dulces en boca con aromas que recuerdan a la zarzamora, higos con una perfecta combinación entre fruta roja y negra, y además son vinos aptos para el envejecimiento. Sin embargo, múltiples factores influyen en las propiedades organolépticas finales de este tipo de vinos. Entre estos factores destaca las características climáticas específicas de las zonas de cultivo, pudiendo influir notablemente los diferentes “microclimas” encontrados en determinadas parcelas.

El cultivo de uva de vinificación en la Región de Murcia, también tiene una gran importancia tanto económica como social, siendo la principal actividad agrícola y la única fuente de ingresos para muchos agricultores de la zona. En los últimos años se ha apostado por mejorar la calidad y competitividad de la variedad Monastrell, y algunos vinos de Bullas, Jumilla, Yecla así como otras zonas manchegas, están teniendo cada vez un mayor reconocimiento nacional e internacional por su calidad.

En la Región de Murcia contamos con tres Denominaciones de Origen: Bullas, Jumilla y Yecla. La Denominación de Origen Protegida (DOP) Bullas ampara diversos municipios de nuestra región (Bullas, Cehegín, Mula, Pliego y Ricote) con una extensión de aproximadamente 5.500 hectáreas de viñedos. Existe una gran tradición del vino en la población del territorio de la DOP Bullas, la cual se ha ido incrementado con el paso de los años, apostando por la producción de la uva y su calidad. La DOP Bullas juega un papel fundamental en todos los eslabones de la cadena de valor del vino, involucrando a diferentes actores del territorio: viticultores, bodegueros y consumidores (Bullas, n.d.).

Siguiendo con las Denominaciones de la Región de Murcia, Jumilla comprende unas 22.700 hectáreas de viñedos repartidos entre las provincias de Murcia y Albacete, y además es considerada por la prensa especializada como una denominación de origen emergente por la calidad y originalidad de sus vinos, siendo una de las denominaciones de origen española que más vino comercializa hoy en día. Desde la DOP Jumilla, se

está llevando a cabo un gran esfuerzo a todos los niveles para seguir ofreciendo cada vez más vinos de calidad, desde el viticultor con el esmerado cuidado de sus viñedos, controles de vendimia y seguimientos de madurez, hasta los bodegueros con la mejor tecnificación y modernización de sus instalaciones (Jumilla, n.d.).

Finalmente, situada al norte de la Región, se encuentra la DOP Yecla. Este Consejo Regulador avala con su sello la autenticidad a los vinos elaborados englobados únicamente en el municipio de Yecla con unas 6.500 hectáreas de viñedo. Controla y protege tanto la fase de cultivo y vendimia, como la elaboración, crianza y contraetiquetado de los vinos, garantizando así la calidad de los vinos de Yecla. Fomenta la plantación de la variedad autóctona Monastrell además de desarrollar una intensa actividad promocional constituyéndose prácticamente como un monocultivo. Yecla es una zona de transición entre la meseta y el Mediterráneo, de modo que la característica más importante desde el punto de vista orográfico de esta zona es la notable altitud de la altiplanicie, de la que sobresalen numerosas alineaciones montañosas, contribuyendo estas circunstancias de manera notable a la calidad de sus vinos (Yecla, n.d.).

Entre las tres Denominaciones de Origen, se está consiguiendo alzar el nombre de la “Monastrell” en todo el mundo vitivinícola, así como el de la Región de Murcia. Todas ellas luchan por destacar entre los diferentes vinos elaborados en todo el mundo. No obstante, todo el gran trabajo realizado por estas tres Denominaciones se verá en peligro en los próximos años, debido a las nuevas condiciones climáticas venideras.

2.2.1 Investigaciones recientes sobre la variedad Monastrell

Numerosos estudios de investigación se han llevado a cabo sobre la variedad Monastrell, aunque de manera más acuciada en las últimas décadas debido en parte al panorama vitivinícola generado por la nueva situación climática, que nos exige buscar soluciones para seguir manteniendo la calidad de sus vinos.

Estas investigaciones están basadas en el desarrollo de técnicas vitícolas (aplicación de elicitores, estrategias de riego, selección de portainjertos u obtención de nuevas variedades, etc.) o enológicas (aplicación de ultrasonidos, microondas, uso de enzimas pectolíticas o el uso de orujos como nuevos afinantes, etc.) que nos permitan seguir manteniendo los estándares exigidos por los consumidores en el mercado vitivinícola.

2.2.1.1 Prácticas vitícolas

En cuanto a las técnicas vitícolas, diferentes autores han profundizado en el efecto de los elicitores. Entre los estudios más recientes realizados en la Región de Murcia y con la variedad Monastrell, se encuentra por ejemplo el llevado a cabo por el investigador, Paladines-Quezada et al. (2019) quien estudió los efectos de la aplicación de dos elicitores (metil jasmonato y benzotiadazol) sobre la pared celular de Monastrell, observando cambios en los principales componentes de ésta (proteínas y azúcares). Del mismo modo, Pérez-Álvarez et al. (2022) estudió la aplicación de metil jasmonato sobre la concentración de aminoácidos en la variedad Monastrell en dos regímenes de riego. Además, hay otros estudios novedosos en esta variedad, como los de Parra-Torrejón et al. (2021) que revelan una posible aplicación de elicitores con nanopartículas, como nanoportadores ideales debido a su biocompatibilidad y biodegradabilidad inherente, además estos nuevos nanocompuestos orgánico/inorgánicos muestran una gran estabilidad a largo plazo (175 días a 4°C) y una citotoxicidad más baja que la del metil jasmonato libre. Siguiendo con la misma línea de investigación, Gil-Muñoz et al. (2021) también demostró el efecto de estas nanopartículas dopadas con metil jasmonato, como una estrategia para aumentar la concentración nitrogenada en los mostos y vinos de Monastrell de la Región de Murcia, utilizando una dosis 10 veces más baja que el metil jasmonato convencional y contribuyendo así a un menor impacto ambiental.

En cuanto al uso de diferentes estrategias de riego, se están realizando grandes avances con el fin de optimizar el uso del agua y poder realizar un riego deficitario cuando las condiciones medioambientales no sean sostenibles. Así, Romero et al. (2022) ha desarrollado diferentes estrategias para mejorar el uso y la eficiencia productiva del agua en zonas climatológicamente áridas y secas como es el caso de la Región de Murcia, mediante prácticas de riego combinadas con prácticas agroecológicas. También han realizado un estudio exhaustivo sobre prácticas de riego deficitario y riego por secado parcial de la zona radicular. Otros autores como Martínez-Moreno et al. (2021) también han estudiado el uso de agua de riego salino en esta variedad y lo han comparado con situaciones de sequía, mostrando que la composición del vino de Monastrell estaba más influenciado por el régimen de riego que por la aplicación de agua salina, además se evidenció que la mejor composición fenólica y cromática del vino se obtuvo en el régimen de secano. Sin embargo, otros autores como Almagro et al. (2022) si obtuvieron resultados más evidentes con respecto a niveles más altos de compuestos fenólicos por un incremento de la actividad de la fenilalanina

amonio liasa bajo condiciones salinas en la variedad Monastrell y sometidas a elicitación.

El estudio de portainjertos como práctica vitícola con el fin de obtener una mejor adaptación al cambio climático, está siendo también estudiada. Así, Romero et al. (2018) han estudiado el comportamiento de diferentes portainjertos con la variedad Monastrell cultivada en la Región de Murcia. Las vides injertadas en portainjertos vigorizantes (140Ru o 1103P) mostraron un mayor vigor y una mejor eficiencia productiva en el uso del agua, pero a expensas de la calidad de las bayas (índices de calidad de bayas más bajos), en comparación con las de los portainjertos de vigor medio-bajo (41B, 110R y 161-49C).

Por último, la necesidad de desarrollar un modelo de viticultura sostenible y respetuoso con el medio ambiente ha dado lugar también a numerosos programas de mejora de la vid con el objetivo de aumentar la resistencia a plagas como el *mildiu* y el *oídio*. El éxito de estos programas depende de la disponibilidad de protocolos que puedan cuantificar la resistencia/susceptibilidad de nuevos genotipos, y de la existencia de marcadores moleculares de *loci* de resistencia que puedan ayudar en el proceso de selección. Por tanto, investigadores como Ruiz-García et al., (2021) están evaluando en la actualidad, el grado de resistencia fenotípica/susceptibilidad al *mildiu* y *oídio* de 28 nuevos genotipos obtenidos a partir de cruces entre variedades como Monastrell y Regent.

2.2.1.2 Prácticas enológicas

En cuanto a las prácticas enológicas estudiadas para mantener la calidad de nuestros vinos, otros autores están revelando importantes avances con los cuales se facilita la extracción de compuestos fenólicos en las uvas durante el proceso de maceración. Así, Osete-Alcaraz et al. (2022) estudió el uso de enzimas pectolíticas en la variedad Monastrell, y sus resultados mostraron que durante la elaboración de vinos, la eliminación de las paredes celulares previa a la fermentación/maceración junto con la aplicación de enzimas pectolíticas, mejoran la composición fenólica de los vinos.

Otros investigadores también pertenecientes a la Universidad de Murcia como Pérez-Porras et al. (2022) estudiaron la combinación de tecnologías como el ultrasonidos y el uso de enzimas enológicas durante la elaboración del vino, para mejorar las características cromáticas de los vinos tintos de Monastrell. Este estudio revela como el uso de ultrasonidos mejora notablemente las características cromáticas de los vinos, siendo más efectivo que el uso de enzimas pectolíticas. Además, cuando

se añadieron las enzimas a las uvas sonicadas, se produjo un claro efecto sinérgico. También, Martínez-Lapuente et al. (2021) han estudiado el incremento que se produce con ultrasonidos, en el contenido y composición de monosacáridos y polisacáridos de los mostos y vinos de Monastrell. Siguiendo la línea del estudio de oligosacáridos, Apolinar-Valiente et al. (2021) hizo un estudio exhaustivo en relación a estos compuestos, sugiriendo sus grandes beneficios como estrategia de defensa en las plantas y defendiendo sus beneficios sobre la salud humana.

Además hay otras líneas novedosas en esta variedad. Por ejemplo, Anaya et al. (2022) están investigando la aplicación de copigmentos como el extracto de trigo sarraceno rico en rutina, en un intento de mejorar la capacidad fenólica y aromática de los vinos de Monastrell o, por otro lado, López-Borrell et al. (2022) aborda la nanofiltración de lías provenientes de Monastrell con el fin de recuperar los polifenoles embebidos en ellas, por sus amplios efectos beneficiosos como antioxidantes, antiinflamatorios, eliminación de radicales libres y la quelación/transición de metales, para su aplicación en diversas empresas farmacéuticas, cosméticas etc.

Otros estudios se están llevando a cabo también en relación a la elaboración de diferentes tipos de vinos demandados por el consumidor, como es el caso del Fondillón. Este tipo de vino, es una bebida ancestral, elaborada con uva sobremadura de Monastrell y caracterizada por ser vinos alcohólicos y con una crianza mínima de 10 años en bodega. Autores como Issa-Issa et al. (2020) están estudiando el perfil sensorial y la composición fenólica en este tipo de vinos.

En definitiva, como se ha podido observar, existe un constante interés en relación al conocimiento que podemos obtener de esta variedad, lo cual está generando una gran cantidad de información en el mundo científico. Aún así, es necesario seguir con su estudio, por tanto, en esta Tesis Doctoral nos centraremos en la caracterización de aquellas variedades que a través del programa de mejora genética de la variedad Monastrell liderado por el IMIDA han resultado seleccionadas por su adaptación a las nuevas condiciones climáticas actuales.

2.2.2 Problemáticas actuales de la variedad Monastrell relacionadas con el cambio climático

La superficie dedicada al cultivo de la vid en España representa el 5,6% del total de tierras cultivadas, siendo el 98% variedades de uvas dedicadas a la vinificación. Entre las variedades tintas, Monastrell es la sexta en cuanto a superficie cultivada (Gil-Muñoz

et al., 2021) que como ya hemos nombrado anteriormente, se está viendo afectada por las condiciones ambientales que experimentan zonas áridas como el sureste español.

Por un lado, son varios los efectos adversos del calentamiento global que afectan a la calidad de la uva y el vino, entre los que se encuentran quemaduras solares, arrugamiento de la baya, aumento del consumo de agua por parte de la planta o la foto-inhibición crónica de las hojas. Todos estos efectos se observarán comúnmente en este cultivo en regiones de viticultura cálida como la nuestra, afectando seriamente al crecimiento normal de las vides (Greer and Weedon, 2013).

Por otro lado, el adelanto en el ciclo vegetativo observado en las bayas, dará lugar a que el enólogo tenga que elegir entre una vendimia tardía, la cual resultará en vinos con alto grado alcohólico y amargos, o una vendimia más temprana que resultará en vinos con baja densidad de color así como poca intensidad aromática (Ubeda et al., 2020). Esto conllevará a la elaboración de vinos menos complejos y con ciertas características sensoriales que podrían dar lugar al rechazo por parte del consumidor. Es conocido que la calidad del vino está estrechamente relacionada con la acumulación de metabolitos secundarios, principalmente polifenoles y compuestos orgánicos volátiles que determinan el color, el sabor y el aroma final del vino (Torres et al., 2022). Por tanto, es necesario mantener las características intrínsecas de cada vino a pesar de las condiciones adversas actuales para poder preservar su calidad.

A continuación se mostrarán las principales problemáticas que experimenta en la actualidad la variedad Monastrell, y que están principalmente relacionadas con aspectos relativos a su cultivo en la Región de Murcia.

2.2.2.1 Disminución de la superficie de cultivo

Uno de los principales problemas que se está experimentando en esta área de cultivo, es la disminución de superficie de viñedo destinada al cultivo de la Monastrell. La evolución de la superficie de vid de vinificación en la Región de Murcia se situaba en el año 2000 en 42.187 hectáreas, en el año 2011 era de 29.791 hectáreas, un descenso muy acusado cercano al 30%, mientras que en la actualidad se registran 22.000 hectáreas que supone un 50% menos que hace 20 años ("Agroinformación," n.d.). Aunque el cultivo de Monastrell en España también ha ido disminuyendo en las últimas décadas debido a su paulatina sustitución por otras variedades premium, como Cabernet Sauvignon o Syrah, es la Región de Murcia, la comunidad autónoma española donde se ha experimentado la mayor pérdida de viñedo con respecto a aquellas que tienen un largo reconocimiento por la calidad de sus vinos.

Por otra parte, a pesar de ser una variedad muy bien adaptada al sureste español, Monastrell está sufriendo ya las consecuencias del cambio climático (Gil-Muñoz et al., 2021). Las actuales condiciones meteorológicas hacen que cada vez experimentemos primaveras más secas, temperaturas extremas y episodios de sequía.

Todo esto en conjunto, está haciendo que para el viticultor sea cada vez más difícil obtener uvas de calidad. Además, es importante destacar la baja compensación económica que reciben los viticultores por el cultivo y recolección de la uva, lo que ha provocado su sustitución en esta zona por otros cultivos más rentables como almendros, cítricos u olivos (Riquelme y Martínez-Cutillas, 2018).

2.2.2.2 Aumento del grado alcohólico

Monastrell es conocida por ser una variedad de maduración tardía, vendimiándose a finales de septiembre o principios de octubre en función de la zona en la que se encuentre plantada. Por tanto, su periodo de maduración suele durar en torno a 60 días, con el fin de obtener una adecuada maduración tecnológica, fenólica y aromática y así obtener vinos de calidad.

Por otra parte, el cambio climático está provocando un desacoplamiento entre la madurez fenólica y tecnológica haciendo que las vendimias tengan que retrasarse si queremos obtener unas buenas cualidades en las uvas de partida. Esto se traduce en bayas con un mayor °Bé y por tanto, en la elaboración de vinos con una mayor graduación alcohólica, algo que resulta desfavorable debido a las exigencias del consumidor, que demandan cada vez más, vinos con menor graduación alcohólica y mayor frescura, a la vez que ese alto contenido en alcohol se asocia como un factor perjudicial para su salud

Finalmente, a nivel comercial, la alta graduación alcohólica de nuestros vinos supone un handicap para nuestros bodegueros debido a la política de aranceles que existe en ciertos países para productos con contenido en alcohol (países nórdicos, Japón o EE.UU).

2.2.2.3 Disminución de la acidez

Otra de las dificultades con la que se encuentra esta variedad, es la gran rapidez que experimenta en la degradación de los ácidos durante la etapa de maduración debido a las condiciones ambientales encontradas en esta zona. Los niveles más bajos de acidez también se correlacionan con frecuencia con un pH de uva más alto (Gil-Muñoz et al., 2021). El pH de la uva también se ve afectado por la acumulación de potasio en

sus suelos, que depende de la temperatura (Mira de Orduña, 2010) haciendo que esos altos valores se puedan traducir posteriormente en problemas de estabilidad microbiológica durante el proceso de elaboración de los vinos.

Monastrell, al igual que otras variedades cultivadas en la Región de Murcia, tiene grandes dificultades para poder alcanzar unos valores óptimos de acidez, siendo necesaria su corrección en bodega. Este problema es cada vez más recurrente y se está viendo acentuado por las condiciones climáticas actuales.

2.2.2.4 Sistema de conducción

Por último, se conoce el buen comportamiento que tiene Monastrell plantada en vaso y bajo condiciones de secano ya que la plantación en vaso hace a la vid más resistente a las temperaturas y la sequía (Gutiérrez-Gamboa et al., 2020; Santos et al., 2020) además de permitir una vegetación más porosa, con una mejor ventilación y un microclima homogéneo (Martínez de Toda, 2019). Por otro lado, este sistema de conducción tiene bajos costes de producción porque no hay un sistema de enrejado que se pueda configurar y mantener, ya que no se tiene que realizar el posicionamiento de los brotes y la eliminación de la madera de poda. Por lo tanto, a pesar de los rendimientos moderadamente bajos que da este sistema de plantación, el costo de producción por kg de uva no es necesariamente alto (Van Leeuwen and Destrac-Irvine, 2017).

Sin embargo, actualmente en nuestra zona, se está viendo incrementado el cambio en el sistema de conducción de esta variedad, de vaso a espaldera por su facilidad a la hora de vendimiar en algunas variedades. En cambio, como desventaja este sistema de enrejado no disipa el estrés térmico como lo hace la plantación en vaso, y por lo tanto se hace necesario elegir bien la orientación de la fila (Gutiérrez-Gamboa et al., 2020). Por ende, a Monastrell no le beneficia su plantación con un sistema en conducción en espaldera al que sería necesario aplicar un suministro de riego ya que cuando la variedad no se encuentra en su habitat de cultivo, tiende a aumentar su producción y por tanto, dará lugar a uva de menor calidad.

2.3 Estrategias de adaptación de la viticultura al cambio climático en la Región de Murcia

Dado que el cambio climático es un proceso continuo, es necesaria la búsqueda constante de estrategias vitivinícolas que ayuden al sector a paliar sus consecuencias. Todas las estrategias de adaptación tendrán un mayor o menor efecto que a su vez estarán marcados por los tiempos de actuación. De este modo, entre las estrategias a

utilizar para conseguir la adaptación de los viñedos de nuestra región al nuevo horizonte edafoclimático estarían aquellas que se pueden implantar en un periodo corto de tiempo y otras que necesitan un periodo de tiempo mucho más largo para poder ser establecidas. A continuación se hace una breve descripción de algunas de ellas.

2.3.1 Acciones a corto plazo

Las medidas de adaptación a corto plazo suponen ser las primeras estrategias a desarrollar. Éstas se centran en intervenciones en el viñedo que pueden aplicarse dentro de una temporada de cultivo vitivinícola y que nos lleven a atenuar los efectos de la radiación solar, las altas temperaturas sobre las hojas y racimos así como solventar la problemática existente de déficit hídrico.

2.3.1.1 Manejo del suelo y algunas prácticas vitícolas

Es importante realizar un adecuado manejo del suelo para poder mantener las condiciones idóneas de cultivo e intentar, en la medida de lo posible, reducir los laboreos. Una de las técnicas utilizadas se basa en el uso de cubiertas vegetales (Naulleau et al., 2022) para obtener una viticultura de calidad y sostenible con el medio ambiente, equilibrando así el desarrollo vegetativo y productivo de la vid.

Otra técnica se basaría en los cambios en los sistemas de poda (Gutiérrez-Gamboa et al., 2021) como la poda tardía de invierno para evitar heladas primaverales u otro cambio en el sistema de poda como es el reforzamiento del rebrote también conocido como poda doble. Esta técnica consiste en cortar brotes en crecimiento, dejando varios nudos con el objetivo de forzar el desarrollo de nuevos cogollos y así romper la paradormancia de brotes. Forzar el rebrote de los brotes ha permitido trasladar la maduración de las bayas hacia períodos más fríos de la temporada de crecimiento (Martínez De Toda et al., 2019).

Por último, la utilización de mallas de sombreo y alineación de las plantas hacia orientaciones este-oeste (Resco, 2015a) son algunas de las prácticas vitícolas que se están llevando a cabo en la actualidad. Estas estrategias podrían ayudar a mejorar la protección de los racimos contra la insolación excesiva.

2.3.1.2 Sistemas de conducción

El uso de un adecuado sistema de conducción permite una mejor exposición a los racimos y al dosel frente a la radiación solar y a la circulación del aire, mejorando cualitativamente la calidad de las uvas (Poni et al., 2018).

Un enfoque actual es utilizar densidades de plantación más bajas con sistemas de conducción que resultan en un área de dosel más pequeña por hectárea y, por lo tanto, requieran una menor demanda de agua que es más probable que se satisfaga a pesar de la reducción de la precipitación (Jones et al., 2022). Por tanto, hoy en día se está volviendo a contemplar el Gobelet o vaso como sistema de conducción que promueve una mejor eficiencia del agua (Fraga et al., 2020). Las vides de Gobelet tienen un área foliar moderadamente baja por hectárea, lo que reduce la transpiración de la vid. Debido a que los rendimientos también son moderadamente bajos, la relación entre el área foliar y el peso del fruto no se altera. Además, este sistema de conducción, como ya se ha nombrado antes, tiene bajos costes de producción porque no hay que instalar y mantener un sistema de espaldera, ni colocar los brotes ni quitar la madera de poda (Van Leeuwen and Destrac-Irvine, 2017).

Otra forma también importante de adaptación frente al estrés térmico sería el usar sistemas de conducción más libres frente a sistemas de conducción vertical y alineada tipo espaldera, que tanto se han extendido en los últimos años. Por ejemplo, los sistemas con vasos abiertos o los sistemas desparramados como el tipo “sprawl”, que evitan una excesiva exposición solar y reducen el riesgo de sobre maduración de la uva (Poni et al., 2018; Palliotti et al., 2014; Resco, 2015).

2.3.1.3 Manejo del dosel

Una metodología para retrasar la maduración tecnológica hacia fechas más tardías y menos cálidas sería la utilización de diferentes geometrías del dosel, la reducción de la superficie de asimilación por la eliminación de las hojas por encima de la zona del racimo, la reducción del tamaño del dosel para minimizar el consumo de agua y la aplicación de sustancias/materiales antitransparentes para reducir tanto la asimilación de carbono como el consumo de agua (Magalhães, 2008).

El manejo del dosel, como parte del manejo de la vid, se clasifica como un conjunto de prácticas vitícolas muy utilizadas para evitar una excesiva densidad foliar que daría sombra a la zona frutal y la volvería más húmeda. La eliminación de hojas (defoliación) en la zona de fructificación es la estrategia de manejo del dosel más aplicada, para mejorar la circulación de aire y la penetración de la luz en el mismo. Esta práctica se puede aplicar desde la etapa de floración hasta el envero, y se ha demostrado que afecta a varios parámetros que influyen en la calidad final del vino (Nicolli et al., 2018).

2.3.1.4 Prácticas de riego

Otra de las medidas que se incluyen dentro del periodo de actuación a corto plazo es la utilización del riego deficitario. En este escenario climático, el aumento de la evapotranspiración y de las necesidades hídricas de la vid, va a hacer necesario el aporte de agua a través del riego para mantener la sostenibilidad del viñedo y prevenir un estrés severo en numerosas regiones vitivinícolas y DOs del sur peninsular (Resco et al., 2016).

De este modo, para poder dar solución a este problema se han llevado a cabo estudios sobre la mejora de la eficiencia en el uso del agua y de la calidad de uva mediante la aplicación de técnicas de riego deficitario (Romero-Azorín y García-García, 2020). Estos autores explican que pese a la baja precipitación actual (300 mm/año) y las altas temperaturas que se dan en la Región de Murcia, la supervivencia de la variedad Monastrell en los años venideros se verá comprometida. Por tanto, sus estudios muestran como la aplicación de bajos volúmenes de riego (85-90 mm/año) en combinación con bajos aportes de fertilizantes, portainjertos de bajo vigor (161-49 C y 110R) y estrategias de riego deficitario bien diseñadas (riego deficitario regulado y riego parcial por zonas radiculares) podría ser una solución para garantizar la sostenibilidad de los viñedos de Monastrell en condiciones semiáridas. Además, para los portainjertos vigorizantes y tolerantes a la sequía 140Ru y 1103 P, sus resultados muestran que el riego podría reducirse aún más, bajo estrategias de riego deficitario controlado que permitiría controlar el exceso de vigor y rendimiento de las viñas.

2.3.1.5 Uso de microorganismos

Otras investigaciones dentro del marco que atiende al estrés hídrico que sufren las plantas, se centran en el uso de microorganismos beneficiosos (hongos y bacterias) como estrategia para aumentar la tolerancia al déficit hídrico y la absorción de nutrientes en vid (Trouvelot et al., 2015). Este estudio revela como los hongos micorrízicos arbusculares aumentan el crecimiento y la nutrición de la vid mediante una mejora en el acceso a los nutrientes del suelo y mediante la regulación de las proteínas de transporte de las plantas para el fósforo (P), el nitrógeno (N) y otros elementos. Los hongos micorrízicos arbusculares también aumentan la tolerancia a los estreses abióticos como el estrés hídrico, la salinidad del suelo, la clorosis férrica y la toxina de metales pesados. Por otro lado, estos hongos también protegen contra el estrés biótico como las enfermedades de la raíz y además, producen glicoproteínas y una densa red hifal que aumenta la estabilidad del suelo a nivel nutricional.

2.3.1.6 Uso de elicitores

Por último, destacar el uso de elicitores como estrategia, por un lado para la mejora en la defensa de la planta frente a plagas comportándose así como posibles sustitutos de los fitosanitarios convencionales, y por otro lado para incrementar la concentración de metabolitos secundarios, tales como los polifenoles de elevada importancia nutricional y tecnológica en la calidad final de uvas y vinos.

Se han llevado a cabo estudios en células cultivadas en suspensión de *Vitis vinifera* de Monastrell con la aplicación de elicitores (metil jasmonato, etileno y ácido salicílico) junto con la combinación de ciclodextrinas. Los resultados mostraron como el ácido salicílico tiene un efecto antagónico y negativo con el metil jasmonato o el etileno en la síntesis de *trans*-resveratrol. Así mismo, la aplicación exógena de estos compuestos indujo la acumulación de proteínas relacionadas con la patogénesis. Sin embargo, la aplicación de metil jasmonato junto con las ciclodextrinas demostraron ser muy eficaces en la producción de *trans*-resveratrol en las células en suspensión de Monastrell (Belchí-Navarro et al., 2013a, 2013b).

Ya en campo, diversos autores han investigado sobre la aplicación de distintos elicitores en la variedad Monastrell en parcelas de la Región de Murcia, por ejemplo Ruiz-García et al. (2014) o Gómez-Plaza et al. (2012) realizaron investigaciones sobre el efecto del metil jasmonato y benzotiadazol en la mejora del perfil aromático de Monastrell. Gómez-Plaza et al. (2017) también estudió el incremento que se produce de compuestos fenólicos al aplicar elicitores en Monastrell, Merlot y Syrah en el envero. Otros autores como Paladines-Quezada et al. (2021), estudió el efecto de la aplicación de elicitores en dos momentos diferentes de la maduración de uvas Monastrell, sugiriendo que a mitad de maduración es el momento más adecuado para la aplicación de metil jasmonato y benzotiadazol. Del mismo modo, Gil-Muñoz et al. (2021) estudió el incremento que se produce en la composición de aminoácidos en la variedad Monastrell, con la aplicación de metil jasmonato en nanopartículas. En Fuente Álamo, también se han llevado a cabo estudios sobre la aplicación foliar con nanopartículas dopadas con metil jasmonato en uvas de Monastrell (Pérez-Álvarez et al., 2022) para un bajo régimen de riego de secano y un riego deficitario controlado, aunque en este estudio preliminar no se pudo confirmar el efecto de este elicitor sobre el contenido de aminoácidos en mostos de Monastrell y se deberán realizar más trabajos de investigación para optimizar la dosis de aplicación.

También Apolinar-Valiente et al. (2018) llevó a cabo algunos estudios en relación a la aplicación de metil jasmonato, benzotiadazol y dos tipos de quitosano en uvas de

Monastrell en el momento de envero. Estos resultados apuntaron a una menor degradación de la pared celular de la piel de las uvas tratadas y se sugirió que la causa sería un refuerzo de la pared celular de la piel como resultado de la acción de estos elicitores. Finalmente, también el investigador Paladines-Quezada et al. (2022) ha estudiado el efecto del metil jasmonato y el benzotiadiazol en la pared celular de Monastrell, observando aumentos en la concentración de fenoles, proteínas y lignina, especialmente con los tratamientos de metil jasmonato y con la aplicación de metil jasmonato junto con benzotiadiazol en el envero. Asimismo, se observó una reducción de los ácidos urónicos en el tratamiento metil jasmonato más benzotiadiazol aplicado durante el envero.

2.3.2 Acciones a largo plazo

2.3.2.1 Ubicación y orientación del viñedo

Entre las alternativas a largo plazo que se estarían pensando utilizar en un futuro cercano, estarían el cambio de ubicación de las propias vides a terrenos de mayor altitud donde las temperaturas serían más frescas y los intervalos entre el día y la noche serían más evidentes. Por tanto, podría ser más apropiado seleccionar una orientación de viñedo que conduzca a una menor intercepción de la radiación solar y establecer viñedos a mayores altitudes (Gutiérrez-Gamboa et al., 2020). Según la altitud a la que se encuentren los viñedos, los efectos en las uvas en el momento de la vendimia pueden ser diferentes, por ejemplo un estudio realizado en viñedos de una altitud media, demuestra cómo afectan los niveles de UV solares ambientales típicos del Mediterráneo, causando así un estrés fisiológico en las hojas de las vides, e induciendo a una acumulación de flavonoles, interpretado esto como una respuesta protectora regulatoria (Del-Castillo-Alonso et al., 2016).

La orientación del viñedo es una práctica muy importante a tener en cuenta y requiere de una cuidadosa consideración antes de tomar la decisión final sobre la plantación en un terruño específico. Además, la orientación de las filas están determinadas por diversos factores climáticos tales como intensidad de radiación, temperatura, viento y humedad, así como por factores orográficos como la pendiente, aspecto, relieve y terreno (Hunter et al., 2017). También se conoce que pueden existir diferencias en los balances energéticos y dinámicos estacionales de parámetros fisiológicos, como la asimilación del carbono y el estado del agua, debido a la orientación de la fila de la vid (Hunter et al., 2016).

Por tanto, investigadores como Hunter et al. (2016, 2017) inciden en la importancia de la decisión sobre la orientación de las hileras de vid, ya que ello afectará a la respuesta fisiológica de la vid; también lo hacen en el papel que tiene esta decisión como práctica de viticultura así como en la gestión de los viñedos.

2.3.2.2 Portainjertos

El material vegetal es una de las estrategias con mayor potencial para la modificación del ciclo reproductivo de la vid (Delrot et al., 2020), por lo tanto una opción sería el uso de portainjertos más adaptados a estas nuevas condiciones climáticas (Gutiérrez-Gamboa et al., 2020). Además, la combinación entre patrón/variedad tiene una respuesta frente al estrés hídrico, principalmente a través de la regulación del metabolismo primario y secundario (Romero et al., 2018).

Son varios los patrones que se encuentran en estudio actualmente, de los cuales ya hay varios seleccionados como los más resistentes a la sequía y al estrés térmico. Por ejemplo, con respecto al estrés térmico en viticultura, se debe considerar la selección de portainjertos tales como 110-Ritcher, 140-Ruggeri y 1103 Paulsen ya que se encuentran más adaptados a las condiciones venideras (Corso and Bonghi, 2014). También se espera que los portainjertos tolerantes a la sequía permitan que el vástago crezca y rinda cuando el suministro de agua sea reducido (Van Leeuwen et al., 2019). Por ejemplo, de acuerdo con los estudios de Romero et al. (2022) con relación a la variedad Monastrell en la Región de Murcia, han determinado que con portainjertos de bajo vigor como 110 R y unos bajos volúmenes de agua (85-90 mm/año) aplicados usando el conocido como riego de secado parcial en la zona radicular, se mejora el rendimiento de la variedad Monastrell, así como la calidad de la baya y el potencial nutraceutico en zonas cálidas. Por otro lado, para portainjertos de alto vigor (1103 Paulsen o 140 Ruggeri) un riego deficitario regulado funciona muy bien para obtener vinos de alta calidad.

Actualmente, también se están llevando a cabo estudios en países del Nuevo Mundo como Nueva Zelanda, donde se estudian determinados portainjertos con determinados hongos micorrícicos arbusculares para mejorar la sanidad y producción de la vid (Moukarzel et al., 2021), además se ha demostrado que la presencia de unas colonias u otras dependían del portainjerto utilizado.

2.3.2.3 Selección clonal

En general, se puede decir que el propósito de la selección clonal es proveer a los viticultores de plantas sanas, cuya autenticidad varietal esté aprobada y tenga una

buena aptitud vitícola y enológica (Ruiz-García, 2014). Más específicamente, la selección clonal se basa en encontrar y seleccionar un material vegetal que determinará el desarrollo de la planta en base a factores permanentes como el clima, el suelo y el sistema de conducción, así como factores que están relacionados con las técnicas que el agricultor quiera desarrollar, siendo factores no permanentes puesto que se pueden cambiar con el transcurso de los años.

Esta selección es necesaria para obtener plantas sanas, que se encuentren libres de enfermedades por virus y además para obtener cepas que destaquen por sus cualidades físico-químicas, que den lugar a una uva de calidad con producciones medias. Todo ello es posible gracias a que las diferentes variedades han dado lugar con el paso de los años a diferentes mutaciones.

Actualmente en todo el mundo existen varios programas de selección de los mejores clones con el fin de obtener los mejor adaptados a las nuevas condiciones ambientales. Por ejemplo, se están estudiando 30 clones de Tempranillo en la zona del Duoro (Mendes Lemos et al., 2020), 3 clones de Cabernet Franc en Serbia (Stanimirović et al., 2018), 46 cepas diferentes de Monastrell en la zona de la D.O Alicante (Esteras et al., 2017) o en el ENTAV-INRA de Francia se han seleccionado 14 clones de Mouvedre (233, 234, 244, 245, 247, 248, 249, 369, 448, 449, 450, 1069 y 1215).

Por otro lado, el IMIDA también cuenta con cuatro clones de Monastrell denominados IMIDA 1,2,3 y 4 procedentes de una selección clonal que comenzó en el año 1979. Esta selección se llevó a cabo en tres fases, en la primera se llevó a cabo la selección de parcelas homogéneas en diferentes municipios y con cepas de pie franco vigorosas, con buen aspecto vegetativo y productivo, descartando aquellas que eran heterogéneas o tenían síntomas de ataques de filoxera, *oídio*, *mildiu*, virosis etc, y en la que se seleccionaron 83 clones. La segunda fase de estudio, la selección sanitaria, se basó en el estudio de diferentes virus tales como el entrenudo corto infeccioso, el enrollado clorótico, el jaspeado y el virus de la madera rizada. Al final de este periodo se obtuvieron 16 clones que dieron negativo en el análisis de este tipo de virus.

Finalmente, en la tercera fase, con los 16 clones de Monastrell procedentes de la anterior fase, se llevó a cabo su evaluación agronómica y enológica, de los que finalmente se seleccionaron los cuatro clones IMIDA anteriormente nombrados.

2.3.2.4 Programas de mejora genética clásica

Las plantas pertenecientes a una misma especie pueden distinguirse en base a ciertos caracteres lo suficientemente diferentes como para considerarlos variedades

distintas. *Vitis vinifera* es una especie vegetal caracterizada por ser muy heterocigótica, teniendo así una alta variabilidad genética (Ruiz-García, 2014). A causa de esta gran variabilidad, los agricultores a lo largo del tiempo han ido seleccionando aquellas variedades que reunían las características buscadas en ese momento, satisfaciendo así las necesidades del sector.

Los principales objetivos que instigan al uso de la mejora de la genética clásica están influenciados predominantemente por factores climáticos y, por lo tanto, su influencia en la presencia o gravedad de plagas y enfermedades. En general, se puede afirmar que la primera parte del ciclo de mejoramiento se centra principalmente en los rasgos de resistencia, mientras que la calidad se investiga más a fondo hacia el final del ciclo, después de pasar por el proceso de multiplicación para poder tener más material vegetal (Reynolds, 2015).

Hoy en día son varios los programas de mejora que están realizando estudios en diferentes zonas vitivinícolas del mundo. En los últimos años, las nuevas tecnologías de cruzamientos, como la edición de genes a través de CRISPR-Cas9, han surgido como herramientas innovadoras en la mejora genética para cultivos de vid con gran importancia agronómica (Pirrello et al., 2021).

2.4 Programa de mejora genética para la obtención de nuevas variedades procedentes de Monastrell. Líneas actuales

El Equipo de Viticultura y Enología junto con el actual Equipo de Mejora Genética del IMIDA inició un programa de mejora en el año 1997 con el propósito de obtener nuevas variedades procedentes de Monastrell. Aunque en sus inicios se puso como objetivo que estas nuevas variedades cumplieran una serie de requisitos (tamaño de baya pequeño, alta acidez, alto contenido polifenólico y una maduración tardía), hoy en día el objetivo marcado es más ambicioso y se ha sustituido por la obtención de nuevas variedades descendientes de Monastrell que sean resistentes a estreses bióticos y abióticos. Esto ha dado lugar a que en la actualidad se estén llevando a cabo diferentes líneas de mejora con objetivos diversos.

2.4.1 Obtención de nuevas variedades tolerantes a altas temperaturas y a la sequía

Como ya se ha comentado anteriormente, esta fue la línea con la que se inició el programa de mejora, cuyo objetivo principal era obtener variedades con un alto contenido fenólico adaptadas a las condiciones climáticas de nuestra zona, caracterizada por veranos muy calurosos y por la presencia de lluvias torrenciales en septiembre de manera cada vez más recurrente.

Durante estos 20 años de estudio hemos ido seleccionando material vegetal que se ha caracterizado por tener un alto contenido en antocianos y taninos, mucho más elevado que la variedad Monastrell y además, que pudiera soportar esas altas temperaturas sin que se viera resentida su concentración (variedades con alto contenido fenólico, a partir de ahora denominadas como VACF).

Por otro lado, dadas las condiciones actuales ambientales, también algunas de las variedades seleccionadas se están estudiando por ser tolerantes a la sequía. Así, el equipo liderado por la Dra. Leonor Ruiz García está llevando a cabo este estudio y los resultados a día de hoy son muy prometedores y objeto de estudio de otra Tesis Doctoral.

2.4.2 Obtención de nuevas variedades tolerantes a *oídio* y/o *mildiu*

Dado que algunas de las plagas más frecuentes en la vid son la presencia de *oídio* y *mildiu*, también se están seleccionando nuevas variedades resistentes a estreses bióticos. Este estudio se está llevando a cabo usando marcadores moleculares y hasta el momento se han conseguido 33 cruces portadores de tres genes de resistencia a *oídio* y uno a *mildiu* (Ren3, Ren9, Ren1, Rpv3) y 31 cruces con dos genes de resistencia a *oídio* y dos a *mildiu* (Ren3, Ren9, Rpv3, Rpv10). El objetivo final es obtener variedades que sean portadoras de tres genes de resistencia a *oídio* y dos genes de resistencia a *mildiu* (Ruiz-García, L. Comunicación personal).

Para culminar este estudio será imprescindible poder evaluar la tolerancia de las nuevas variedades a estas dos plagas mediante la caracterización fenotípica de dicha tolerancia, de modo que nos permitirá correlacionarla con la presencia de determinados alelos de resistencia, y la identificación de los mismos para posteriores selecciones de resistencia asistida por marcadores.

2.4.3 Obtención de nuevas variedades de uva blanca

Para sorpresa nuestra, a lo largo del recorrido de este programa de mejora nos encontramos con la obtención de variedades blancas procedentes de Monastrell mediante cruzamientos dirigidos con otras variedades tintas, como Tempranillo o Cabernet Sauvignon; o blancas como Verdejo. Esto hizo que abordáramos una nueva línea de investigación en la que tuvieramos como objetivo la selección de variedades blancas con un alto potencial aromático y un gran equilibrio entre la cantidad de azúcar y ácido málico.

El objetivo marcado era ofrecer al sector nuevas variedades blancas de alta calidad, en una tierra de variedades tintas, adaptadas al cambio climático y acordes a los gustos del consumidor.

2.4.4 Obtención de nuevas variedades apirenas

Con el objetivo de evitar el desfase entre la madurez fenólica y tecnológica, también se está llevando a cabo una selección de variedades apirenas tintas. La obtención de estas nuevas variedades con un alto potencial fenólico en sus pieles y sin pepitas nos permitiría poder practicar una vendimia más temprana que se traduciría en vinos menos alcohólicos y con sabores menos vegetales y astringentes.

Actualmente, se está recogiendo material de las semillas germinadas para la extracción de ADN y el análisis por PCR de las plantas que han heredado el carácter de apirenia o ausencia de semillas. Para ello se utilizarán los marcadores VMC7F2, VVIN16 y pMAS_VvAGL11 útiles para la selección de este carácter. Las plantas que molecularmente se han identificado como plantas que han heredado el carácter de apirenia, se están estableciendo en campo para una evaluación agronómica, y en un futuro próximo para evaluar la calidad de sus uvas y vinos.

2.5 Proceso de selección de nuevas variedades

2.5.1 Proceso de cruzamiento

Para poder realizar la selección de las nuevas variedades, se necesita que uno de los parentales sea portador de los genes que se quieren tener en las variedades descendientes. Sin embargo, debido a la heterocigosidad de la vid, en la descendencia, como consecuencia de fenómenos de aditividad, sobredominancia o epistasia, pueden aparecer individuos que superan a sus padres en determinados caracteres buscados (Riquelme y Martínez-Cutillas, 2018). En la **Figura 2.3** se muestran las principales etapas en el proceso de cruzamiento de variedades.



Figura 2. 3 Esquema del proceso de cruzamiento entre variedades.

2.5.1.1 Emasculación

El primer paso tras elegir las cepas parentales es el proceso de emasculación. Las flores tienen cuatro estambres epipetálos y un pistilo que contiene hasta 16 óvulos. Cuando las flores se abren, no aparecen todas las anteras y por tanto el estambre no es receptivo, esto facilita la castración experimental de las flores (Lankinen et al., 2007). Cuando se inicia la floración en las cepas del parental madre (en nuestro caso la variedad Monastrell), se emasculan los racimos seleccionados. Este es un proceso tedioso y de mucha precisión y consiste en la eliminación de todos los estambres de cada flor, con cuidado de no dañar el pistilo y el estigma (**Figura 2.5-C**). Cuando se finaliza la emasculación de 80-100 flores por racimo, hay que proteger inmediatamente el mismo con una bolsa con el objetivo de evitar polinizaciones cruzadas indeseadas.



Figura 2. 4 Flor de Monastrell. Fotografía de Ruiz-García L.

2.5.1.2 Polinización

La recogida del polen se hace cuando los racimos del parental padre (en nuestro caso el resto de variedades con las que se pretende cruzar Monastrell) están en floración; se cogen los racimos, se extraen las anteras y se dejan secar durante 18-20 horas bajo una fuente de calor suave. A continuación, se extraen los granos de polen presionando las anteras sobre un cedazo muy fino. Una vez extraído el polen, se introduce en viales y se colocan en un desecador en el frigorífico a 4 °C (Riquelme y Martínez-Cutillas, 2018).

Una secreción estigmática cuando se abren los lóbulos y las papilas estigmáticas de la flor días después de la emasculación, indicará que el estigma está preparado para el proceso de polinización (Lankinen et al., 2007). Con la utilización de un pincel distribuiremos el polen del parental padre sobre los racimos de la planta madre y este proceso es repetido de 3 a 5 veces cada dos días para asegurar que una gran cantidad de flores han sido polinizadas (**Figura 2.5-D**).



Figura 2. 5 Proceso de cruzamiento de variedades. (A) Racimo de Monastrell. (B) Racimo de Monastrell en flor. (C) Castración de la flor. (D) Polinización. Fotografía Giménez-Bañón M.J.

2.5.1.3 Cuajado

Cuando los granos de uva que se encuentran dentro de las bolsas (**Figura 2.6**) en el parental madre han cuajado bien, se abren las bolsas para airear los racimos. Para favorecer el cuaje de los racimos, es necesario eliminar la competencia de la planta, despuntando los pámpanos.



Figura 2. 6 Racimo cuajado de Monastrell. Fotografía Giménez-Bañón M.J.

2.5.1.4 Obtención de semillas

Una vez madurado el grano de uva, se procede a la recolección de los racimos. Se pelan las uvas y seguidamente se extraen las semillas, se lavan y se dejan secar a temperatura ambiente. Su conservación es en el frigorífico a 4 °C para su estratificación, favoreciendo de este modo la germinación de las mismas. El siguiente proceso a realizar es la escarificación de las semillas, para ello se erosiona la cubierta y se activa la germinación. Para erosionar la cubierta, se sumergen las semillas en una solución al 10 % de ácido sulfúrico durante 30 segundos y luego se lavan muy bien para eliminar los posibles restos de ácido. Seguidamente, se dejan en agua durante 24 horas antes de proceder a su siembra y germinación en bandejas de semilleros hortícolas (Riquelme y Martínez-Cutillas, 2018).

Cuando las plantas tienen 4 hojas verdaderas se trasplantan a campo. En nuestro caso, se eligió un marco de plantacion de 0.50 x 2.5 metros con riego por goteo. El sistema de conducción elegido fue en espaldera con tres alambres.

2.5.2 Selección de las variedades

Una vez que están sembradas las nuevas variedades en campo, hemos de esperar a que entren en producción para poder comenzar con la primera fase de la selección. En esta Tesis Doctoral se van a abordar las siguientes líneas enclavadas en el programa de mejora genética: selección de nuevas variedades de alto contenido fenólico (VACF), de variedades de bajo grado alcohólico (VBGA) y de variedades blancas (VB).

En la línea relativa (**Figura 2.7**) a la obtención de nuevas variedades con alto contenido fenólico (VACF) se comenzó con su plantación en el año 2001, año en el que se plantaron 649 cruzamientos de Monastrell con otras variedades como Syrah, Cabernet Sauvignon, Tempranillo, Barberá y Verdejo y de estos fueron seleccionadas 10 nuevas variedades que destacaron por su alto contenido fenólico, en el año 2005 se plantaron otros 942 cruzamientos de los que en los sucesivos años fueron seleccionadas 34 VACF. La selección de variedades con alto contenido fenólico y adaptadas a las condiciones de altas temperaturas fue terminada en el año 2013 con 44 nuevas variedades descendientes de Monastrell.

En el año 2012 se llevó a cabo la plantación de semillas procedentes de cruces entre los propios VACF seleccionados (en la **Figura 2.7** denominados como cruces dobles), de modo que se plantaron 2.258 semillas, y cuando entraron en producción se observó que algunas de ellas seguían manteniendo su alto contenido fenólico sin embargo a pesar de experimentar una maduración tecnológica completa, sus niveles de azúcar eran inferiores a los obtenidos en variedades como Monastrell. Por tanto, se decidió abordar una nueva línea de selección, en la que se obtuvieran nuevas variedades que pudieran ser potenciales de obtención de vinos de baja graduación alcohólica (VBGA). En el año 2017 se seleccionaron cinco nuevas variedades con estas características.

En cuanto a la línea de variedades blancas (VB) (**Figura 2.7**), aunque eran variedades que surgieron como consecuencia de la plantación de las semillas de las que se querían obtener variedades con alto contenido fenólico, su aparición y potencial aromático, así como sus niveles de ácido málico hizo que en el año 2007 ya se seleccionaran 7 nuevas variedades blancas, en el año 2009 otra más y en el año 2013 otras cinco nuevas variedades. Esta línea terminó con 13 nuevas variedades blancas seleccionadas.

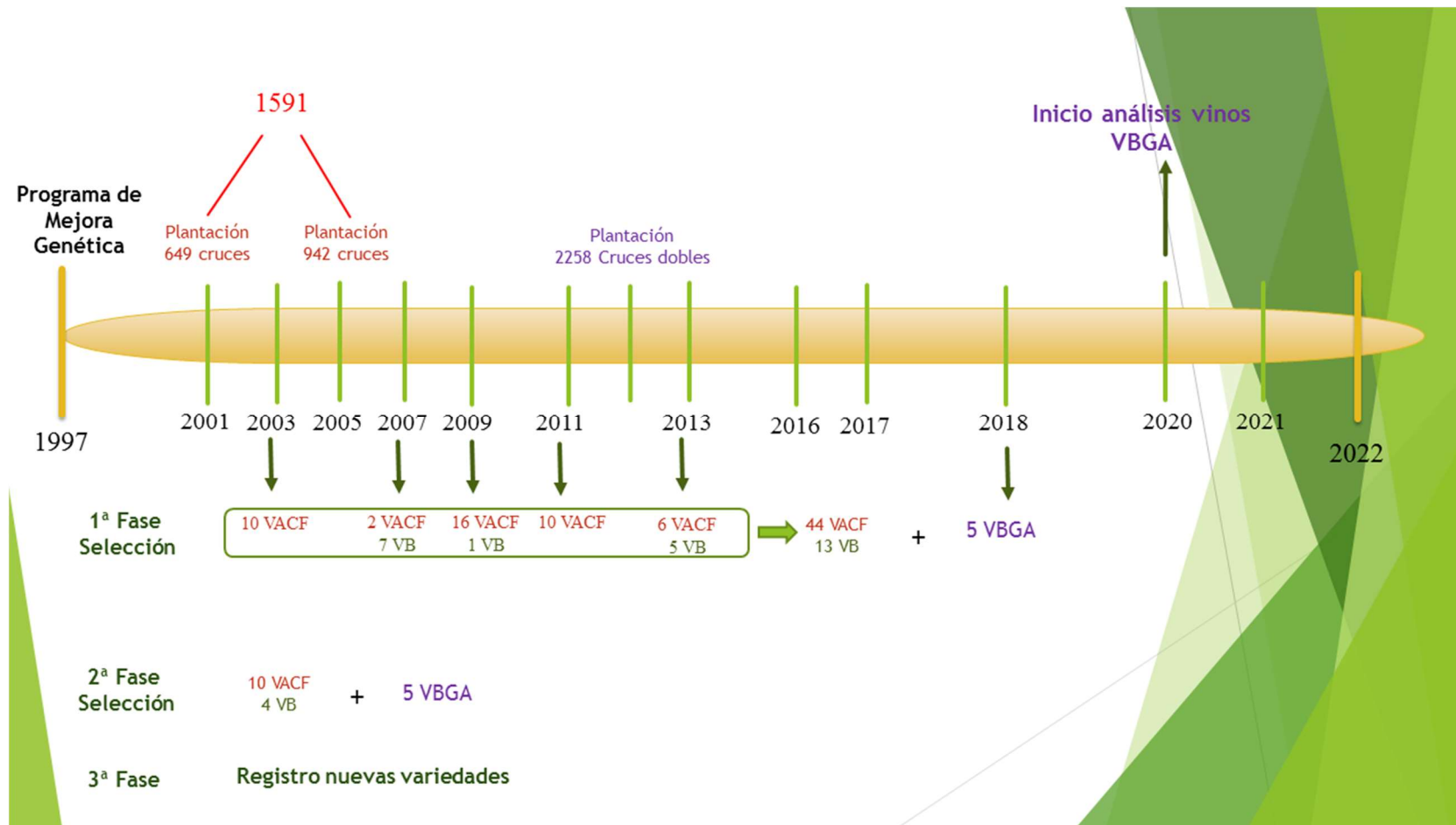


Figura 2. 7 Cronología del proyecto mejora genética del IMIDA. Abreviaturas: VACF (Variedades con alto contenido fenólico), VBGA (Variedades con baja graduación alcohólica) y VB (Variedades blancas).

2.5.2.1 Primera fase de selección de las variedades por su calidad de uva

Las nuevas variedades descendientes de Monastrell seleccionadas procedían de cruces de esta variedad con otras como Syrah (S), Cabernet Sauvignon (C), Barbera (B), Tempranillo (T) y Verdejo (V). Desde el año 2001 hasta el año 2013 se realizaron numerosos estudios sobre la calidad de la uva de todos los cruces que estaban plantados, analizando para ello numerosos parámetros tales como el grado Baumé, la acidez total, el pH, los ácidos tartárico y málico, la concentración de antocianos y la cantidad de polifenoles totales.

Como criterios de selección de la calidad de la uva para la obtención de VACF (Figura 2.8) se seleccionaron aquellas variedades con un pH inferior a 3.80, un tamaño pequeño de baya (menor a 1.80 g), una cantidad de ácido málico superior a 2.0 g/L una concentración de antocianos superior a los 2.000 mg/kg (Ant) y en compuestos fenólicos totales (CFT) superior a los 2.700 mg/kg. En el caso de las VB se tuvo en cuenta el nivel de ácido málico y el pH. Como se puede observar en la Figura 2.8, en esta primera fase de selección, se seleccionaron 44 VACF y 12 VB en base a su calidad de uva, así como también 5 VBGA que todavía están siendo objeto de estudio.

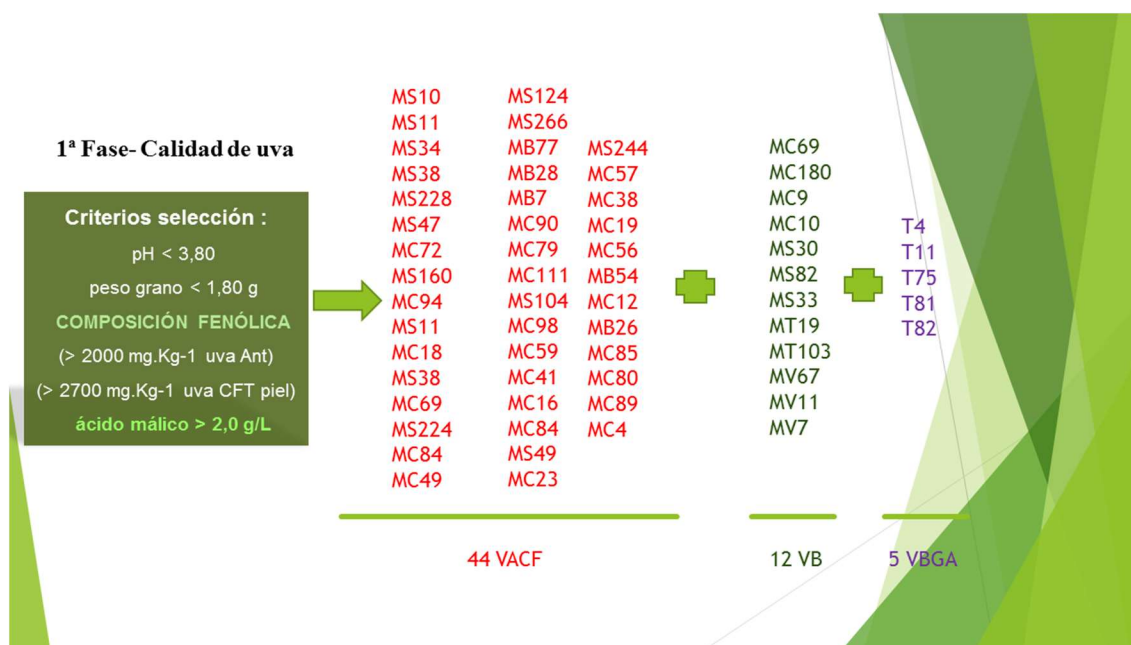


Figura 2. 8 Variedades seleccionadas en la primera fase de la calidad de sus uvas. Abreviaturas: M: Monastrell; C: Cabernet Sauvignon; S: Syrah; T: Tempranillo y V: Verdejo; CFT: Compuestos fenólicos totales.

2.5.2.2 Segunda fase de selección de las variedades por su calidad de vino.

Para llevar a cabo la siguiente fase, la selección de las nuevas variedades por su calidad de vino, es necesario plantar 20 cepas de cada una de las variedades seleccionadas en la primera fase. Para ello se injertó en un patrón R-110 la madera recolectada durante la poda de cada una de ellas. Este paso es necesario para poder obtener una producción mínima que nos permita llevar a cabo micro-elaboraciones en las que evaluar la calidad del vino obtenido de estas uvas.

En la selección por la calidad de vino, se tuvo en cuenta la concentración de polifenoles totales (> 74) y la intensidad de color (> 35). Además al tener ya 20 cepas por variedad, también se seleccionaron aquellas que tuvieran una producción entre 1,5 y 2 kg por planta. Otro factor a tener en consideración fue el hecho de que las variedades seleccionadas pudieran vendimiarse en fechas de vendimia diferentes. Esto es algo que ha ido surgiendo a lo largo de los años de estudio, de modo que es cierto que al comienzo del programa de mejora se pretendía obtener variedades de maduración más tardías que Monastrell con el fin de evitar los periodos más calurosos de vendimia. Por contra, en nuestro estudio hemos podido comprobar que estas nuevas variedades con momentos de vendimia anteriores a Monastrell presentan un grado de adaptación al cambio climático muy alto, puesto que a pesar de vendimiarse en épocas con altas temperaturas siguen siendo muy superiores en concentración fenólica a la variedad Monastrell. Además, al tener ciclos más cortos de maduración que Monastrell, se puede evitar vendimiar en épocas caracterizadas por las lluvias torrenciales en forma de tormenta, e incluso con granizo, evitando así grandes pérdidas económicas para el agricultor.

Como consecuencia de esta segunda fase de selección, de las 44 variedades que fueron seleccionadas por su calidad de uva se han seleccionado finalmente 10 VACF, de las 13 VB seleccionadas en la primera fase se han seleccionado finalmente 4 VB como se pueden observar en la **Figura 2.9**. Para el resto de líneas o se ha comenzado esta segunda fase de manera muy preliminar como es el caso de las VBGA o todavía no se ha comenzado (como es el caso de la selección de uvas apirenas o resistentes a *oídio* y *mildiu*).

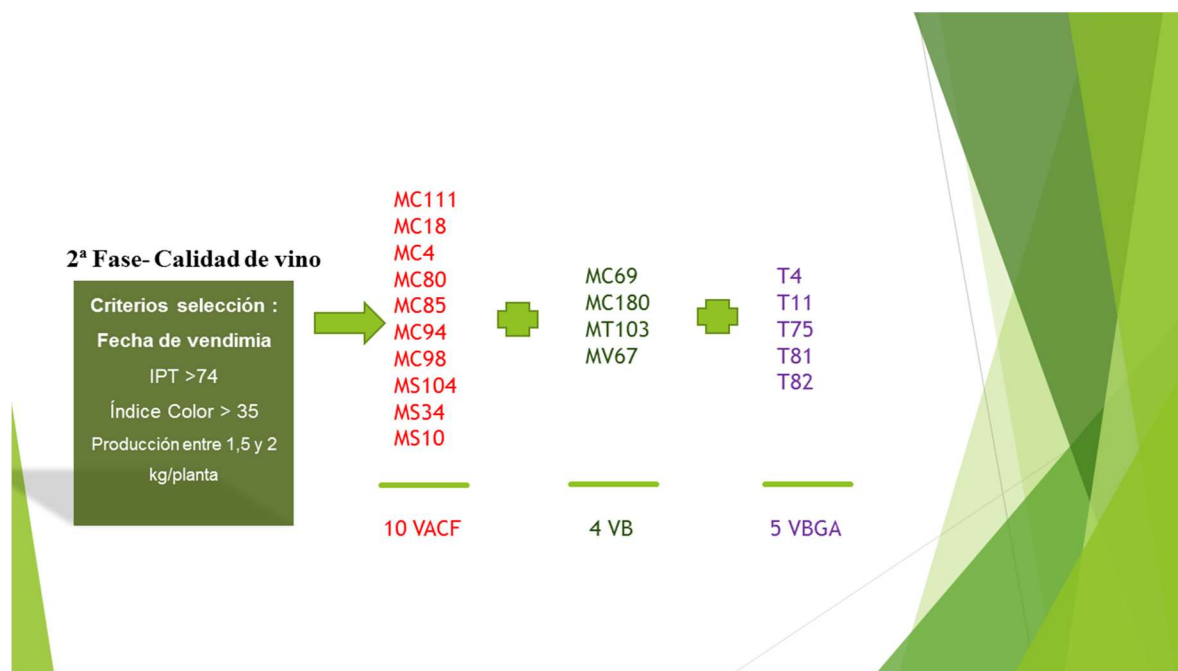


Figura 2. 9 Variedades seleccionadas en la segunda fase por la calidad de sus vinos. Abreviaturas: M: Monastrell; C: Cabernet Sauvignon; S: Syrah; T: Tempranillo y V:Verdejo. T:Cruces dobles entre VACF.

2.5.2.3 Tercera fase. Registro de nuevas variedades.

Según la legislación actual, en la Región de Murcia sólo se puede elaborar vinos con uvas de vinificación con variedades que se encuentren autorizadas. Además, solo pueden autorizarse aquellas que se recojan en el Registro de variedades comerciales. Por tanto, la tercera fase es la última de este programa de mejora y se basa en el registro de aquellas variedades que han resultado seleccionadas tanto en la primera fase como en la segunda fase, y cuyo fin último es mostrar su disponibilidad para el uso por parte de viticultores, enólogos y las propias del sector.

Actualmente, el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación es el organismo encargado de llevar a cabo el proceso de registro de las nuevas variedades. Para ello se ha de llevar a cabo los siguientes pasos:

1. El IMIDA debe presentar una doble solicitud de registro, por un lado en el Registro de variedades comerciales (RVC) y por otro en la Oficina Comunitaria de Variedades Vegetales (CPVO). También es necesario entregar material injertado al Ministerio, el cual debe ser un material injertado de un año y libre de virus. También se requiere hacer una caracterización ampelográfica previa del

material vegetal que se quiere registrar, completando un formulario técnico sobre las nuevas variedades. Todo este proceso de registro tiene una duración de cuatro años de examen.

2. Una vez finalizado los cuatro años de registro y tras un informe positivo por parte del RVC y el CPVO, el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación publicará en el BOE el listado de nuevas variedades comerciales tanto en España como a nivel Europeo. Actualmente ya hay cuatro variedades registradas, ya que se inició su registro en el año 2017 como veremos más adelante. Así, de este modo se publicó el BOE con la orden APA/228/2022 del pasado 17 de marzo de 2022 el cual establece a estas cuatro variedades (MS10, MC98, MC80 y MC180) como nuevas variedades comerciales. Además, se publicó recientemente en la Oficina Española de Variedades Vegetales BOLETIN Nº 2/2022 (27/4/2022) la inclusión de estas nuevas variedades.
3. Una vez registradas como variedades comerciales, es necesario solicitar inclusión de la nueva variedad en el listado de variedades autorizadas de uva de vinificación para la Región de Murcia (proporcionando un estudio de mínimo 5 años). Para ello, hay que emitir un informe de aptitud con la necesidad de realizar una evaluación previa que exponga que las variedades experimentales ofrecen un vino con calidad cabal y comercial para posteriormente ser tramitado a través de la Consejería de Agua, Agricultura, Ganadería, Pesca, Medio Ambiente y Emergencias de la Región de Murcia.
4. Finalmente, se debe publicar por parte del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación en el Anexo XXI "CLASIFICACIÓN DE LAS VARIEDADES DE VID" del Real Decreto 1338/2018, potencial producción vitícola, como variedades de uva de vinificación autorizadas para la Región de Murcia.

Para obtener toda la información necesaria para realizar el mencionado estudio previo a la inclusión en el listado de variedades autorizadas de uva de vinificación de los cruces de Monastrell desarrollados en el IMIDA, hace unos años se implementó el programa de cesión de variedades vegetales experimentales, mediante la firma de contratos entre el IMIDA y cualquier interesado, tanto bodega como viticultor, en la obtención de este material experimental.

Dichos contratos de cesión de los cruces de Monastrell desarrollados por el IMIDA, implican la realización de plantaciones, con variedades no registradas ni autorizadas para la Región de Murcia, pero que, sin embargo se pueden llevar a cabo, ya que, las mismas están exestán por el artículo 36 del Real Decreto 1338/2018, que permite

plantaciones no autorizadas si son utilizadas en investigación científica y experimentación (Bleda-Sánchez, 2019).

En estos contratos se obliga al cedente que es el IMIDA a garantizar la calidad y trazabilidad del material vegetal entregado y al beneficiario a injertar y cultivar la variedad experimental cedida y no apropiarse de la propiedad intelectual de la misma. Actualmente ya son varias las bodegas de nuestra Región las que han prestado especial interés en el uso de estas nuevas variedades (**Tabla 2.1**). El IMIDA a través de un convenio le ha cedido material vegetal experimental con el fin de realizar estudios de comportamiento agronómico y de calidad en otras zonas geográficas de la Región de Murcia, ya que todos los estudios llevados a cabo se han realizado en nuestra finca experimental Hacienda Nueva, sita en El Chaparral, perteneciente al municipio de Cehegín.

DOP BULLAS	DOP JUMILLA	DOP YECLA
Bodegas Monastrell	Bodegas BSI	Bodegas Evine
	Egobodegas	
	Bodegas Carchelo	
	Bodegas Luzón	
	Finca Toli	

Tabla 2.1 Bodegas que poseen material vegetal experimental cedido por el IMIDA.

Además cómo se puede observar en la **Tabla 2.2** y se ha mencionado anteriormente, en el año 2017 se empezó con el registro de tres variedades tintas, MS10, la cual se ha registrado con el nombre de Myrtia, MC98 conocida como Gebas, MC80 o Calnegre, así como una variedad blanca MC180 conocida bajo el nombre de Calblanque. En el año 2018 se comenzó el registro de otras dos variedades tintas, MC18 o Quípar y el cruce MC4 o Carmolí. Finalmente, en 2023 se comenzará el registro de dos variedades blancas MT103 y MC69, todavía sin nombre comercial.

2017	2018	2023
MS10-Myrtia	MC18-Quípar	MC69
MC98-Gebas	MC4-Carmolí	MT103
MC80-Calnegre		
MC180-Calblanque		

Tabla 2. 2 Nuevas variedades registradas o por registrar a corto plazo.

Cabe destacar que los nombres elegidos de estas nuevas variedades, hacen referencia a zonas geográficas relacionadas con la Región de Murcia con el objetivo de intentar mantener la identidad de estas nuevas variedades y su relación con su procedencia.

De este modo, Myrtia proviene de Myrtea o Mirtea, y así es como se conocía la ciudad de Murcia según la mitología romana primitiva, además tenía un templo llamado así en el valle situado entre las colinas del Aventino y el Palatino, en Roma. Gebas hace referencia al barranco de Gebas situado entre Alhama de Murcia y Librilla. La variedad de uva Calnegre, hace recordar a la playa del Ramonete, perteneciente al municipio de Lorca y conocida como Puntas de Calnegre. Calblanque al ser una variedad blanca, se ha buscado la identidad con esta playa asentada bajo un Parque Regional de largas playas de arena dorada y blancas salinas. Por otro lado Quípar, es un pequeño río, afluente del Segura que discurre en su totalidad por el territorio de la Región de Murcia y Carmolí es un cono volcánico procedente de un volcán extinguido situado a orillas del Mar Menor y junto al pueblo de las Urrutias.

CAPÍTULO 3

MATERIALES Y MÉTODOS



CAPÍTULO 3: MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Material Vegetal

3.1.1 Nuevas variedades

En este estudio llevado a cabo durante tres años consecutivos (2018-2020), se estudiaron nuevas variedades procedentes de cruces de Monastrell con otras variedades premium, como ya se ha especificado anteriormente: Los estudios han seguido dos líneas diferentes:

1 **VACF**: 3 cruces de Monastrell (M) con Cabernet Sauvignon (C) MC80, MC98 y MC4; y 1 cruce de Monastrell con Syrah (S), MS10.

2 **VB**: 2 cruces de Monastrell (M) con Cabernet Sauvignon (C), las cuales son MC180 y MC69, una variedad procedente de un cruce entre Monastrell (M) y Tempranillo (T), MT103 y otra nueva variedad cruzada entre Monastrell (M) y Verdejo (V), MV67.

Por otro lado, siguiendo una tercera línea de investigación, durante dos campañas consecutivas (2020-2021) se estudiaron las variedades conocidas por su baja graduación alcohólica (VBGA): procedente de cruces entre VACF seleccionadas:

3 **VBGA**: T4 (MS49 x MC19), T11 (MC49 x MC59), T75 (MS49 x MC80), T81 (MC104 x MC56) y T82 (MS104 x MC56).

Para todas ellas se utilizaron viñedos (*Vitis vinifera* L. c.v.) injertados en portainjertos R110 y ubicados en un viñedo experimental localizado en la Finca “El Chaparral” perteneciente al término municipal de Cehegín (Murcia, SE de España) con una latitud 38.11° y longitud -1.68°. Veinte plantas por variedad fueron el objeto de estudio, plantadas en un sistema de espaldera y con una densidad de plantación de 3 × 1,25 m. Las vides recibieron riego por goteo deficitario, con un máximo de 0,665 m³/año por planta, dependiendo de las precipitaciones anuales.

El resumen de todas las nuevas variedades estudiadas se muestran en la **Tabla 3.1**. Destacar que el color de las diferentes variedades ayudará a una rápida visualización en las **Figuras 3.1** y **3.2** del siguiente apartado, es decir, rojo para las VACF, amarillo para las VB y lila para las VBGA:

VACF	VB	VBGA
MC80	MC180	T4
MC98	MC69	T11
MC4	MT103	T75
MS10	MV67	T81
		T82

Tabla 3.1 Nuevas variedades objeto de estudio: VACF, VB y VBGA.

3.2 Características edáfo-climáticas del área de cultivo

3.2.1 Datos edáficos

La tipografía de la parcela en la que se desarrolló el ensayo está caracterizada por tener suelos franco-arenosos y muy pobres en materia orgánica (por debajo del 1.5%), presentando altos contenidos de carbonato cálcico y caliza viva. El suelo de esta parcela es una marga arcillosa de 80 cm de profundidad (33% arcillosa, 38% limo y 30% arena) con 1.12% de materia orgánica (Romero-Azorín y García-García, 2020).

3.2.2 Datos climáticos

Las temperaturas que se registran en la zona son adecuadas para el desarrollo del ciclo vegetativo y productivo de los viñedos, especialmente Monastrell, aunque en las últimas décadas se están observando temperaturas extremas, que van desde heladas en primavera, a épocas muy calurosas en verano.

El clima mediterráneo está muy matizado por la altitud en la zona dónde se encuentran los viñedos. Los inviernos son cortos pero rigurosos. En la zona donde está ubicada la parcela, los veranos son muy calurosos durante el día, a pesar de que el clima es generalmente más frío que el que caracteriza a otras zonas de la región, ya que existen repentinos vientos helados procedentes de la montaña, y esto produce un notable frescor nocturno, factor de clara influencia positiva sobre la calidad de la uva (Bullas, n.d.). La temperatura media anual es de 15.6 ° C, con máximas de hasta 40°C, en el mes de agosto, y mínimas de -4°C, en el mes de enero, siendo la oscilación entre las temperaturas medias verano-invierno de unos 15°C. El tiempo sin heladas es de unos 7 meses, de abril a octubre. La precipitación media es escasa, del orden de 300 mm y con una evapotranspiración de referencia (ETo) superior a 1200 mm (Romero-Azorín and García-García, 2020). Periódicamente se producen lluvias torrenciales y

tormentas, principalmente en septiembre y octubre. Las exigencias de luminosidad están ampliamente cubiertas en la zona existiendo una fuerte insolación (promedio anual de 2.900 horas).

En las siguientes **Figuras 3.1 y 3.2** se muestran los datos climatológicos suministrados por el SIAM (Sistema de Información Agrario de Murcia) a través de la estación meteorológica situada en la zona del Chaparral. Los parámetros representados son: precipitaciones (mm) y temperaturas máximas (°C) registradas durante los meses de agosto, septiembre y octubre para las campañas (2018-2021). Además, se muestran las fechas de vendimia de las nuevas variedades blancas y tintas para los cuatro años de estudio.

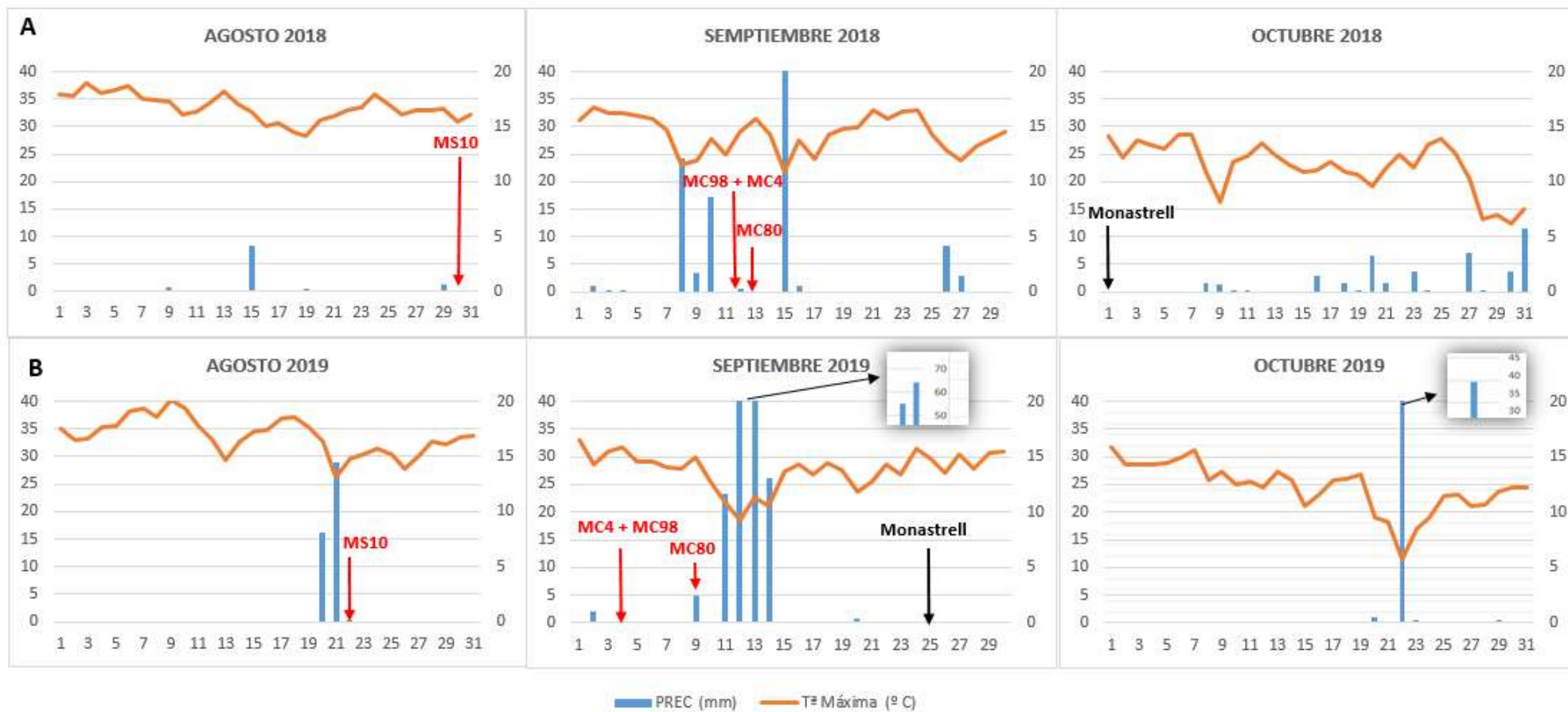


Figura 3.1 Datos climatológicos para la campaña 2018 (A) y 2019 (B). Fechas de vendimia de Monastrell (negro) y nuevas VACF (rojo). Abreviaturas: PREC: precipitaciones (mm) y Tª Máxima absoluta (°C).

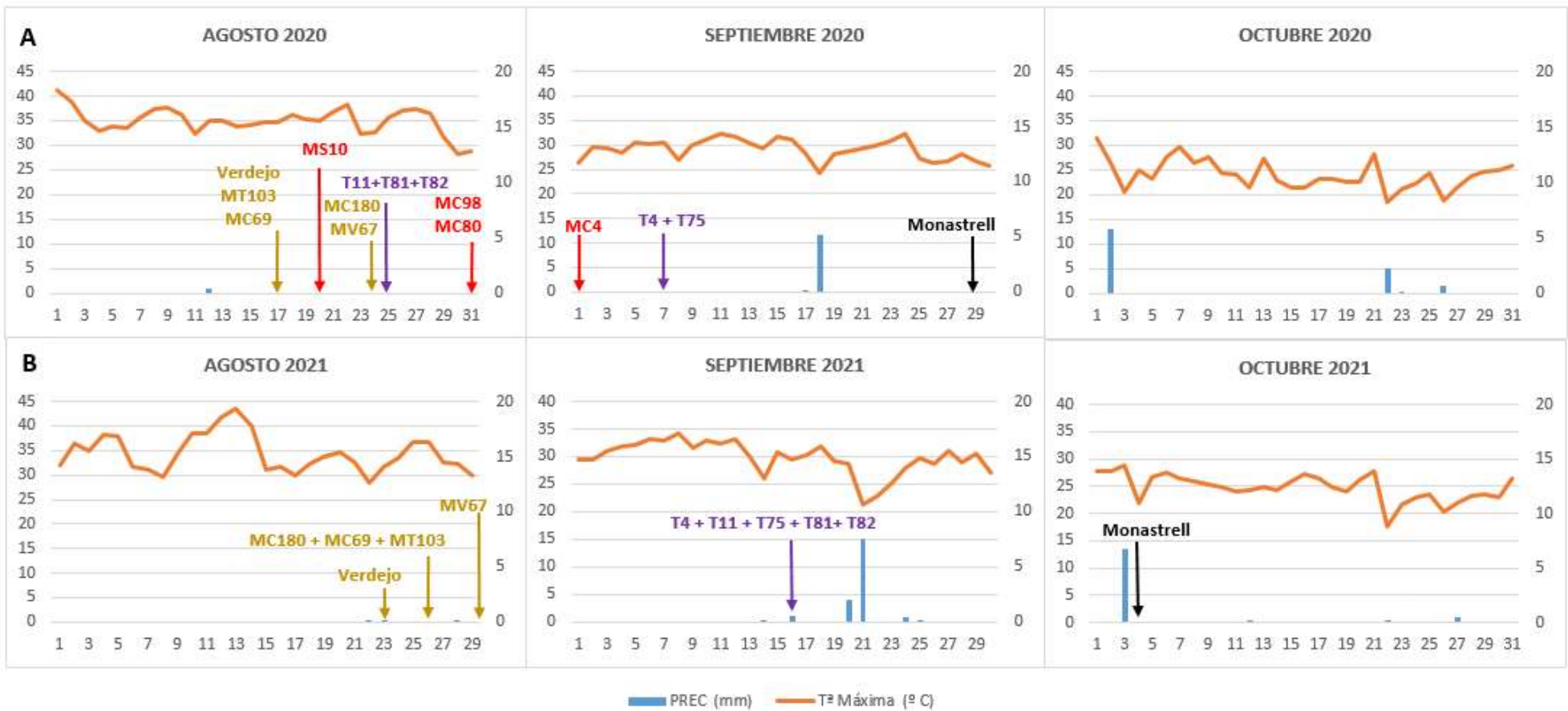


Figura 3.2 Datos climatológicos para la campaña 2020 (A) y 2021 (B). Fechas de vendimia de Monastrell (negro), nuevas VB (amarillo), nuevas VACF (rojo) y nuevas VBGA (lila). Abreviaturas: PREC: precipitaciones (mm) y T^a Máxima absoluta (°C).

3.3 Uva

Tras finalizar el período de maduración, la uva se vendimió y se trasladó a la Estación Enológica de Jumilla donde se realizó un muestreo de aproximadamente 300 gramos representativos de cada variedad. Para llevar a cabo las correspondientes analíticas, en primer lugar se separaron los diferentes granos del racimo, cortando las bayas por el pedúnculo. El mosto se obtuvo por trituración de la muestra, usando una batidora Robot coupé modelo Gt 550 (Montceau Les Mines, Francia). Se aseguró un perfecto estrujado durante dos minutos a una velocidad suave, evitando de este modo la ruptura de las pepitas. Por último, la muestra se centrifugó durante 15 min a 4400 rpm con una centrífuga JP Selecta modelo Meditronic-BL (Barcelona, España). A continuación se determinaron los siguientes parámetros físico-químicos: sólidos solubles totales (grados Brix), acidez total, pH, ácido tartárico y ácido L-málico. Todas las analíticas se realizaron por triplicado.

3.3.1 Parámetros físico-químicos en la uva

3.3.1.1 Grado Brix

Los sólidos solubles se midieron con un refractómetro digital modelo Abbé-type (Atago RX-5000, Tokyo, Japón), con corrección de temperatura, ajustando el cero con agua destilada. Los sólidos solubles se expresaron en °Baumé (°Bé).

3.3.1.2 pH

Para la medición del pH se utilizó un valorador automático Metrohm modelo 686 (Metrohm, Herisau, Suiza), siguiendo el método oficial (OIV, 2018).

3.3.1.3 Acidez total

Fue determinada por potenciometría con un valorador automático Metrohm modelo 686 (Metrohm, Herisau, Suiza), de acuerdo con el método oficial (OIV, 2018). Los resultados obtenidos fueron expresados en g/L de ácido tartárico en el mosto.

3.3.1.4 Ácido tartárico

Fue determinado con un analizador automático CETLAB 600 (Microdom, Taverny, Francia), siguiendo el método colorimétrico Rebelein modificado (Vidal and Blouin, 1978). Los resultados se expresaron en g/L de ácido tartárico.

3.3.1.5 Ácido málico

Fue determinado con el analizador automático CETLAB 600 (Microdom, Taverny, Francia), utilizando un test enzimático y siguiendo el método oficial (OIV, 2018). Los resultados obtenidos fueron expresados en g/L de ácido málico.

3.3.2 Análisis y composición de la pared celular

3.3.2.1 Aislamiento de las paredes celulares

Se partió de 5 g de piel fresca que fue triturada con nitrógeno líquido en un molinillo (Vibratory Ball Mill Pulverisette 0, Cryo-box, FRITSCH, Alemania). Posteriormente, siguiendo la metodología de Vries et al. (1984) se realizó el aislamiento de las paredes celulares de la uva.

A la muestra triturada se le añadió 300 mL de agua MiliQ hirviendo, y se mantuvo en agitación durante 5 minutos en una placa calefactora HC1202 (Bibby Sterilin, Francia) con el objetivo de inactivar las enzimas. El homogeneizado se centrifugó a 11000 rpm en una centrífuga (Eppendorf 5810R, Alemania) a 25 °C durante 15 minutos. Seguidamente, el sobrenadante fue eliminado y se lavó el residuo sólido con alcohol al 70 % (ACS, ISO, Panreac) repetidamente a una temperatura de 30-50 °C hasta que todos los azúcares fueron eliminados. La decisión final de ausencia de azúcares fue determinada con el método del fenol en ácido sulfúrico (Dubois et al., 1956). Finalmente el extracto se lavó una vez más con alcohol absoluto y dos veces con acetona (ACS, ISO, Panreac) dejándolo toda la noche a temperatura ambiente para eliminar la humedad. Posteriormente, se determinaron los pesos de uva fresca, piel fresca y pared celular obtenida.

3.3.2.2 Análisis de los componentes de la pared celular

Tras el aislamiento de las paredes celulares de las uvas, se determinaron los siguientes componentes: compuestos fenólicos, proteínas, lignina y azúcares neutros (glucosa no celulósica, glucosa celulósica y ácidos urónicos). Los análisis de los componentes de la pared celular se realizaron por cuadruplicado.

La determinación de azúcares neutros (ácidos urónicos y glucosa total) y lignina fue realizada tras una previa pre-hidrólisis e hidrólisis ácida conocida como "Hidrólisis de Seaman", técnica utilizada para hidrolizar los enlaces glicosídicos que se encuentran unidos a la celulosa con uniones más fuertes:

-Pre-hidrólisis: a 10 mg de pared celular se le añadieron 0.45 mL de ácido sulfúrico al 72 % (ISO, Panreac). La mezcla se agitó en un vortex y se mantuvo 1 hora en un baño de agua a 30 °C Selecta, Unitronic OR (Barcelona, España).

-Hidrólisis: a la muestra procedente de la pre-hidrólisis se añadieron 4.95 mL de agua destilada. La mezcla se agitó suavemente y se calentó en una estufa Memmert U40 (Schwabach, Germany) durante 3 horas a 100 °C. A continuación, la muestra se enfrió a temperatura ambiente durante 2 horas. Se agitó en un vortex y se centrifugó a 4500 rpm durante 20 minutos (Centrifuga Eppendorf 5810R, Alemania). Posteriormente, el sobrenadante se volvió a centrifugar (Centrifuga Eppendorf 5810R, Alemania) a 13000 rpm, obteniéndose el **sobrenadante A**.

Para la determinación de la glucosa no celulósica (hemicelulosa) se realizó una hidrólisis ácida para su posterior cuantificación. Se pesaron 10 mg de pared celular y se le añadieron 4 mL de ácido sulfúrico 1M (ISO, Panreac). La mezcla se agitó suavemente en vortex y estuvo durante 3 horas a 100 °C en la estufa Memmert U40 (Schwabach, Germany). Finalmente, se dejó enfriar a temperatura ambiente, se agitó nuevamente y se centrifugó a 4500 rpm durante 20 minutos (Centrifuga Eppendorf 5810R, Alemania), obteniéndose así el **sobrenadante B**.

Para la determinación de compuestos fenólicos y proteínas se realizó una hidrólisis alcalina. Se pesaron 10 mg de pared celular y se le añadió 1 mL de NaOH 1 N (Panreac, Barcelona, España). La mezcla se agitó suavemente en vortex y se dejó durante diez minutos a 100 °C en la estufa Memmert U40 (Schwabach, Germany). Posteriormente se dejó enfriar a temperatura ambiente y luego se centrifugó la muestra a 13000 rpm (Centrifuga Eppendorf 5810R, Alemania) durante 5 minutos obteniéndose el **sobrenadante C**.

3.3.2.2.1 Azúcares neutros

3.3.2.2.1.1 Hemicelulosa (glucosa no celulósica)

Para la determinación de la hemicelulosa se partió de 1 mL de muestra del **sobrenadante B** y el análisis se llevó a cabo en un analizador automático Miura (TDI, Roma, Italia) para el que se utilizó un kit enzimático D-Glucosa de TDI (Roma, Italia).

3.3.2.2.1.2 Glucosa total

Este parámetro corresponde a la suma de la glucosa celulósica y la glucosa no celulósica (hemicelulosa) presente en la pared celular. Por tanto, la determinación de la glucosa total nos permitirá obtener el cálculo de la glucosa celulósica.

La glucosa total se determinó partiendo de 1 mL de muestra del **sobrenadante A**. Para su análisis se utilizó un kit enzimático D-Glucosa y se llevó a cabo en un analizador automático Miura 200 (TDI, Roma, Italia).

3.3.2.2.1.3 Glucosa celulósica

Este parámetro se obtuvo con la diferencia entre la glucosa no celulósica (hemicelulosa) y la glucosa total.

3.3.2.2.1.4 Ácidos urónicos

Para la determinación de ácidos urónicos, 50 µL del **sobrenadante A** se mezclaron con 4 mL de ácido sulfúrico al 96 % (ISO, Panreac). La mezcla se agitó suavemente con vortex y luego se calentó en un baño de agua Selecta, Unitronic OR (Barcelona, Spain) a 70°C durante 10 minutos. Tras su enfriamiento, a la mezcla se le añadieron 200 µL de 3,5-dimetilfenol (Merck, Darmstadt, Alemania) [0,1% en ácido acético glacial (Merck, Darmstadt, Alemania)]. Transcurridos 15 minutos se midieron las absorbancias a 450 nm en un espectrofotómetro UV/visible, modelo 1600-UV (Shimadzu, Corporation, Kyoto, Japón). La interferencia que se produce con los azúcares neutros se corrigió con la medición a 397 nm, utilizando como blanco una muestra con agua destilada. Para la cuantificación de ácidos urónicos, se realizó previamente una recta de calibrado con una disolución de ácido D-(+)-galacturónico monohidrato (Sigma Aldrich, St. Louis, USA) [500] µmoles/L, con concentraciones entre 0 y 500 µmoles/L. Las medidas se efectuaron utilizando 250 µL de las disoluciones y midiendo su absorbancia frente a un blanco con agua.

3.3.2.2.2 Lignina

La determinación de lignina se realizó a partir del **sobrenadante A**. Para ello se utilizó un equipo de filtración a vacío al que se le puso un filtro de membrana PTFE de 0.45 µm de tamaño de poro (Filter Lab, Barcelona, España). El filtro fue previamente pesado y posteriormente se le añadió todo el material insoluble. Posteriormente, se añadieron 5 mL de etanol absoluto (ACS, ISO, Panreac) para facilitar el paso del agua de lavado (1L de agua mili-Q calentada previamente a 90 °C) hasta que el filtro se quedó sin trazas de ácido sulfúrico. A continuación, se secó la membrana en la estufa Memmert U40 (Schwabach, Germany) a 105 °C durante toda la noche, y al día siguiente se pesó en una balanza analítica Scaltec (Heiliquenstadt, Germany). El análisis de lignina se llevó a cabo gravimétricamente como lignina Klason (Theander and Aman, 1979).

3.3.2.2.3 Proteínas

Para la determinación de proteínas, 30 µL del **sobrenadante C** fueron mezclados con 2370 µL de agua destilada y con 600 µL de reactivo Bradford (Bio-Rad, Munich, Alemania). La mezcla fue agitada durante 15 minutos y luego se midió la absorbancia a 595 nm en un espectrofotómetro UV/visible, modelo 1600-UV (Shimadzu, Corporation, Kyoto, Japón). Para su cuantificación se utilizó una recta de calibrado realizada con albúmina de suero bovino (Sigma Aldrich, St. Louis, USA) con concentraciones comprendidas entre 0 y 60 µg/mL (Bradford, 1976).

3.3.2.2.4 Compuestos fenólicos

Para la determinación de los compuestos fenólicos a 30 µL del **sobrenadante C** se le añadieron 2730 µL de agua destilada, 120 µL de NaOH 1N (Panreac, Barcelona, España), y 120 µL de reactivo de Folin-Ciocalteu (Panreac, Barcelona, España) diluido con agua destilada (1:1). La mezcla fue agitada en un vortex y luego se dejó reposar durante 1 hora. Posteriormente, se midió la absorbancia a 700 nm en un espectrofotómetro UV/visible, modelo 1600-UV (Shimadzu, Corporation, Kyoto, Japón). Para su cuantificación se utilizó una recta de calibrado realizada con ácido gálico con concentraciones comprendidas entre 0 y 20 µg/mL (Ortega-Regules, 2006).

3.3.2.3 Estudio de microscopía óptica

Finalmente se llevó a cabo un estudio de microscopía óptica de acuerdo a la metodología de Amrani et al. (1994) con algunas modificaciones de Apolinar-Valiente et al. (2015). Pequeñas fracciones de hollejo (1 mm) de las variedades Monastrell, MS10, MC80 y MC98 se cortaron del tejido vascular y se fijó con glutaraldehído al 2,5 % (v/v) en tampón fosfato 0,1 M, pH 7,2 a 4 °C durante 2 h. Posteriormente, las muestras se enjuagaron varias veces en el mismo tampón, a 4 °C durante 2 h en un solución de tetróxido de osmio. Después se deshidrataron, con etanol de diferentes concentraciones (30%, 50%, 70% y 90%), con sulfato de cobre y una solución de óxido de pileno (15 min cada uno). Luego se infiltraron los tejidos con resina Spurr. Finalmente, las secciones ultrafinas se tiñeron con azul de toluidina y posteriormente fueron visualizados en el microscopio de la Universidad de Murcia.

3.3.3 Análisis de compuestos fenólicos por cromatografía líquida de alta resolución

3.3.3.1 Antocianos y flavonoles

En el momento de la recepción de la uva en la bodega, se recogieron muestras de 20 bayas por triplicado y fueron congeladas (-20 ° C) para su posterior análisis. Para el análisis de antocianos y flavonoles en hollejos, se utilizó el protocolo descrito por Moreno-Pérez (2013). Tras descongelar las uvas, el hollejo fue retirado de la pulpa con la ayuda de un bisturí. Las pieles obtenidas fueron secadas con papel con el fin de extraer la humedad. Posteriormente, los hollejos fueron liofilizados con un Lyofilizador Cryodos Telsar 50 (Terrasa, Spain) y triturados con un molinillo Vibratory Ball Mill Pulverisette 0, Cryo-box, Fritsch Analysette 3 (Idar-Oberstein, Germany). Dos gramos del triturado obtenido junto con 40 mL de metanol (HPLC gradiente, PAI-ACS, Panreac) fueron colocados en tarros de cristal herméticos y agitados durante cuatro horas en un agitador orbital (Labotron, INFORS, Suiza) a 150 rpm y 25 °C. Finalmente, el extracto metanólico obtenido fue filtrado con filtros de nylon de 0.45 µm (Albet LabScience, Dassel). Para su posterior análisis por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), 1 ml del extracto metanólico fue mezclado con 1 ml de ácido fórmico al 4.5 %.

El análisis de antocianos y flavonoles por HPLC, se realizó siguiendo el protocolo descrito por Gil-Muñoz et al. (2017b). Los compuestos fueron separados en un cromatógrafo líquido Waters 2690 (Waters, PA, USA) acoplado a un detector multidiodo-array Waters 2996. Se utilizó una columna de fase reversa SIELC Primesep B2 (Illinois, USA), de 4,6 mm x 250 mm, y 5,0 µm de tamaño de partícula. Las condiciones de trabajo para el análisis fueron: temperatura de 25 °C y el volumen de inyección de 20 µL. Para la separación de compuestos, se trabajó en gradiente (**Tabla 3.2**) utilizando como fases móviles una disolución de ácido fórmico (4.5%) (Fase A) en agua MiliQ (Millipore, US) y otra fase de acetonitrilo (Fase B) calidad HPLC a un flujo de 0.8 ml/min:

Tiempo (min)	0	28	30	52	60	70	80	90
Fase A (%)	95	91	87	79	76	30	95	95
Fase B (%)	5	9	13	21	24	70	5	5

Tabla 3.2 Condiciones cromatográficas para el análisis de antocianos y flavonoles en uva.

Los cromatogramas fueron registrados a 360 nm (flavonoles) y 520 nm (antocianos). Los antocianos fueron cuantificados usando cloruro de malvidin-3-glucósido como estándar externo (Extrasynthèse, Genay, Francia). Los flavonoles fueron cuantificados utilizando la quercetina (Sigma-Aldrich, MO, USA) como compuesto puro y patrón externo. Los resultados se expresaron en $\mu\text{g/g}$ de hollejo para cada uno de los antocianos y flavonoles identificados.

3.3.3.2 Proantocianidinas

La determinación de proantocianidinas (PAs), o comúnmente conocidas como taninos condensados, en pieles y semillas, se llevó a cabo siguiendo el protocolo de Moreno-Pérez, (2013). Este protocolo parte de la ruptura de las cadenas poliméricas mediante la reacción de floroglucinólisis explicada por Kennedy and Jones (2001).

En el momento de entrada en bodega, se seleccionaron 10 bayas por repetición (tres réplicas) y se congelaron a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Posteriormente, se separó el hollejo de la pulpa con un bisturí y se recolectaron las semillas. Tras la separación de los hollejos y las semillas, se sumergieron en 10 ml de acetona/agua 2:1 y estuvieron durante 24 horas en un agitador orbital (Labotron, INFORS, Suiza) a 200 rpm durante 24 horas a temperatura ambiente. El extracto obtenido de la extracción se llevó a sequedad mediante vacío a $35\text{ }^{\circ}\text{C}$, usando un concentrador Centrivap (Labconco, USA) y se redisolvió posteriormente en 2 mL de metanol (HPLC gradiente, PAI-ACS, Panreac).

Para la reacción de floroglucinólisis, en un tubo eppendorf de 2 mL se añadió una alícuota de 50 μL del extracto (hollejo y semilla) y para comenzar la reacción se le añadieron 50 μL de reactivo floroglucinol [solución con HCL 0,2N en metanol (HPLC gradiente, PAI-ACS, Panreac), 100 g/L de floroglucinol (Sigma-Aldrich, MO, USA) y 20 g/L de ácido ascórbico (Sigma-Aldrich, MO, USA)]. Seguidamente, las muestras se sumergieron en un baño de agua (Selecta, Unitronic OR) a $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 20 minutos. Para detener la reacción de floroglucinólisis, se añadió 100 μL de acetato sódico 200 mM (Merck, Darmstadt, Alemania). Finalmente, las muestras se centrifugaron a 13000 rpm (Centrífuga Eppendorf 5810R, Alemania) durante 5 min a temperatura ambiente. El sobrenadante se utilizó para el análisis de PAs por cromatografía líquida.

El análisis de HPLC siguió las condiciones descritas por Ducasse et al. (2010). El dispositivo HPLC era un sistema Waters 2695 (Waters, PA, USA) equipado con un sistema de automuestreo y un detector de diodo array Waters 2996. Se inyectaron 10 μL de muestra en una columna Atlantis C18 (embalaje de 250 x 4,6 mm, 5 μm) protegida con una pre-columna del mismo material (20 mm x 4,6 mm, embalaje de 5 μm) (Waters,

PA, USA). Las condiciones de elución fueron las siguientes: caudal de 0,8 ml/min; temperatura del horno 30 °C; fase móvil A, agua/ácido fórmico (98:2, v/v) y fase móvil B, acetonitrilo/agua/ácido fórmico (80:18:2, v/v). El gradiente utilizado fue el siguiente (Tabla 3.3):

Tiempo (min)	0	5	35	65	80	90
Fase A (%)	100	100	90	80	100	100
Fase B (%)	0	0	10	20	0	0

Tabla 3.3 Condiciones cromatográficas para el análisis de proantocianidinas en uva.

Los picos eluidos se monitorizaron a 280 nm. Los flavan-3-oles monómeros (-)-epicatequina, (+)-catequina y (-)-epicatequina-3-O-galato (EPI-GAL) se identificaron por comparación de sus espectros UV-Vis con los de los patrones puros (Sigma-Aldrich, MO, USA). El resto de compuestos se identificaron comparando sus espectros con los indicados en la bibliografía (Kennedy et al., 2001).

Para llevar a cabo la determinación de monómeros naturales, se analizó el extracto metanólico de hollejo y semillas sin añadir el floroglucinol. De este modo, los productos de ruptura se estimaron usando sus factores de respuestas relativos a catequina. La catequina se usó como patrón de cuantificación (Sigma-Aldrich, MO, USA), expresados en mmol/L.

El grado medio de polimerización (gMP) fue calculado como la suma de subunidades (monómeros y aductos de la floroglucinólisis) y dividido por la suma de los monómeros. El porcentaje de cada monómero se calculó con respecto a la suma en moles de los monómeros totales.

Finalmente el porcentaje de galoilación (% GAL) se obtuvo sumando el porcentaje de epicatequina-3-O-galato (monómero terminal) más el porcentaje del aducto epicatequina- 3-O-galato-floroglucinol (monómero de extensión). La cuantificación final de cada monómero se expresó en µg/g piel o µg/g semilla acorde a lo mostrado por Paladines-Quezada (2021).

3.3.3.3 Análisis de proantocianidinas por cromatografía de exclusión molecular

Una adaptación del método descrito por (Kennedy and Jones, 2001) y propuesto por Bautista-Ortín et al. (2015) se utilizó para la cromatografía de exclusión por tamaño

(SEC). Se utilizaron dos columnas PLgel [300 × 7,5 mm, 5 µm, una de 500 Å (rango de masa molecular efectiva de hasta 4000 utilizando estándares de poliestireno) y otra de 100 Å (rango de masa molecular efectiva de 500–30.000 utilizando estándares de poliestireno)], conectadas en serie y protegidas por una pre-columna que contenía el mismo material (50 × 7,5 mm, 5 µm), suministradas por Agilent Technologies (Santa Clara, USA). El método utilizado fue isocrático, para el que se empleó como fase móvil: N,N-dimetilformamida (Panreac, Barcelona, España) (2 L) junto con 20 ml de ácido acético glacial (Merck, Darmstadt, Alemania) y 12,72 g de cloruro de litio (Panreac, Barcelona, España) disueltos en 100 ml de agua MiliQ.

El volumen de inyección de la muestra fue de 10 µL, el caudal de 1 ml/min, la temperatura del horno de 50 °C y la elución se monitoreó a 280 nm. Las muestras se prepararon con una dilución 1/5 de la siguiente manera: a 20 µL de la extracción de metanólica previamente preparada de uvas (hollejos y semillas), se agregaron 80 µL de fase móvil. Las muestras se analizaron por triplicado.

3.3.4 Análisis de aromas en variedades blancas

La técnica utilizada en este estudio fue la separación de compuestos ligados y libres mediante extracción en fase sólida (SPE) desarrollada Coelho et al. (2020) con algunas modificaciones. En este apartado se explicará únicamente la extracción de compuestos ligados (mayoritarios), ya que las concentraciones de los compuestos libres no se muestran en la presente Tesis Doctoral. Se partió de 400 gramos de uva de los cuales se obtuvieron las tres réplicas que se analizaron. La muestra fue triturada en una Termomix Vorwerk (UK) durante 15 segundos con el fin de no romper las semillas. La muestra se centrifugó durante 10 minutos a 10000 rpm en una centrífuga Eppendorf 5810R (Alemania) a una temperatura de 5°C. A continuación, el sobrenadante obtenido se filtró utilizando lana de vidrio hasta obtener 75 mL por repetición a los que se le añadieron 25 µL de patrón interno 2-octanol (100 ppm) (Sigma-Aldrich, Madrid, España).

Posteriormente, para llevar a cabo la SPE, se acondicionaron cartuchos Lichrolut 0.5 mg (Merck, Darmstadt, Alemania) con 10 mL de diclorometano, 5 mL de metanol y 10 mL de agua MiliQ con etanol al 10 %. Para la extracción de compuestos ligados se añadieron lentamente los 75 mL de mosto en jeringuillas de cristal colocadas sobre los cartuchos. Para la extracción de la fracción ligada se añadió 7 mL acetato de etilo (ACS, ISO, Panreac) y posteriormente se llevó a a sequedad completa con la ayuda de un concentrador de nitrógeno DB3 de la marca Techne (Madrid, España).

Para liberar los compuestos ligados de la uva, es necesario añadir una enzima comercial al concentrado comentado anteriormente. Para ello se añadieron 100 µL de un tampón citrato-fosfato de pH 5, junto con 200 µL de una solución de enzima AR2000 (Rapidasa Revel aroma Erbsloh). Con los viales bien cerrados para evitar la evaporación de los aromas, se dejaron durante 12-14 horas a una temperatura de 40 °C en una estufa Memmert U40 (Schwabach, Germany). A continuación es necesario parar la reacción con hielo y añadir 25 µL de patrón interno 2-octanol (100 ppm) para su posterior cuantificación. Finalmente, las muestras fueron lavadas (3-5 veces) con azeotropo (pentano:diclorometano a una proporción 2:1) (ACS, ISO, Panreac) con la ayuda del concentrador de nitrógeno, hasta conseguir 1 mL de muestra.

Para el análisis de los compuestos volátiles se utilizó un automuestreador automático (Gertsel GmbH&Co. KG, Mellingshofen, Alemania) acoplado a un cromatógrafo de gases (GC) (HP 7890B) con detector de masas (HP 5977A) (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) siguiendo la metodología de Coelho et al. (2020) con algunas modificaciones. El inyector se ejecutó en modo pulsed-splitless durante 0,75 min con un liner Splitless Ultraintert (Agilent Technologies, Wilmington, DE, USA) de 900 µL (Agilent Technologies). Se utilizó una jeringuilla gold standard syringe (Agilent Technologies, Wilmington, DE, USA) y una columna capilar DB-WAXETR (30 m × película de 250 µm, 0,25 µm espesor). El gas portador utilizado fue helio 8.0 (Abelló Linde SA, Barcelona España) con una presión de cabeza de columna de 47 psi. La temperatura del horno se aumentó progresivamente hasta 260 °C, en primer lugar a 3°C min hasta los 170 °C, y por último a 4.5 °C min hasta los 260 °C. El espectrómetro de masas se utilizó en modo de ionización de electrones a 70 eV con el detector de masas en modo SCAN (rango de masas 20–350). Los picos fueron identificados con la biblioteca de masas National Institute of Standards and Technology (NIST: Gaithersburg, MD, USA). El análisis de cuantificación de aromas en uva fue semi-cuantitativo en referencia al patrón interno 2-octanol.

3.4 Vino

3.4.1 Vinificaciones

3.4.1.1 Vinos tintos

La uva vendimiada manualmente en cajas fue transportada inmediatamente a la Bodega Experimental, situada en la Estación Enológica de Jumilla. Tras su recepción, se introdujo en cámaras de refrigeración donde permaneció a una temperatura de 8-10 °C durante 24 horas. Seguidamente, los vinos fueron elaborados de acuerdo a un

protocolo tradicional de vinificación en tanques de acero de entre 50 y 100 litros. Durante el despalillado y estrujado de la uva, se sulfitó a razón del estado de sanidad de la uva, 50 mg/Kg de metabisulfito potásico (Laffort, Bordeaux, France) para uva sana y en caso de tener un pH superior a 3.80 el sulfitado fue a razón de 80 mg/Kg de uva. Posteriormente, se adicionaron levaduras comerciales (Zymaflore FX10 *Sacharomyces cerevisiae*, 20 g/100 Kg). A continuación, se llevaron a cabo las correcciones de acidez con ácido tartárico hasta alcanzar valores de 5.5-6.5 g/L. Durante la fermentación alcohólica (realizada a 25 °C), se controló la temperatura y densidad de los depósitos durante dos veces al día, realizándose remontados con aireación. El proceso de maceración duró aproximadamente 10-15 días, determinándose el final de la fermentación alcohólica cuando la cantidad de azúcares residuales estaba por debajo de 2 g/L. A continuación, se produjo el sangrado del vino y prensado de los orujos en una prensa neumática de la marca Grifo (Piadena Drizzona, Italy) con 75 L de capacidad, 1.5 bares de presión y un 65 % de rendimiento. Luego, los vinos se trasegaron y se estabilizaron por frío. Los análisis se llevaron a cabo por triplicado al finalizar la fermentación alcohólica.

3.4.1.2 Vinos blancos

La uva vendimiada manualmente en cajas fue transportada inmediatamente a la Bodega Experimental, situada en la Estación Enológica de Jumilla. Tras su recepción, se introdujo en cámaras de refrigeración, donde permaneció a una temperatura de 8-10 °C durante 24 horas. La uva fue despalillada, estrujada y sulfitada con 50 mg/Kg de metabisulfito potásico (Laffort, Bordeaux, France). Posteriormente se añadieron el 50 % del total las enzimas pectolíticas, en dosis recomendada por el fabricante (Lafazym CL 1 g/Hl) y se procedió al prensado directo y a la adición del 50 % de las enzimas restantes. Trascorridas 24h se llevó a cabo el desfangado y a continuación se adicionaron las levaduras (Zymaflore Spark *Sacharomyces cerevisiae*) en una dosis de 20 g/Kg de uva, realizándose la pertinente corrección de acidez total con ácido tartárico, hasta un mínimo de 5.5 g/L y un máximo de 6.5 g/L. Durante dos veces al día se controló la temperatura y densidad hasta la finalización de la fermentación alcohólica que se llevó a cabo en un rango de temperaturas comprendidas entre 18 y 22 °C. Finalmente, a los vinos se les adicionó ácido ascórbico (10 g/L) con el objetivo de consumir el posible oxígeno disuelto, se estabilizaron por frío, se sulfitaron con metabisulfito (100 mg/L) y se mantuvieron a una temperatura comprendida entre 8-10 °C. Todas las muestras fueron analizadas por triplicado al final de la fermentación alcohólica.

3.4.2 Parámetros físico-químicos del vino

Tras finalizar la fermentación alcohólica, se centrifugaron los vinos y se eliminó el exceso de CO₂ con un Ultrasonic Cleaner LT100 PRO (Spain).

Los parámetros físico-químicos analizados fueron: grado alcohólico, pH, acidez total y acidez volátil. Los parámetros cromáticos y fenólicos fueron analizados con un espectrofotómetro Shimadzu 1600-UV (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japón) y un equipo multiparamétrico CETLab 600 (Microdom, Taverny, Francia) y fueron los siguientes: índice de polifenoles totales (IPT), antocianos totales, proantocianidinas totales (PAs), intensidad de color (IC), parámetros CIELAB y capacidad antioxidante (CA).

3.4.2.1 Grado alcohólico

Con un analizador AlcoLyzer Wine (Anton Paar® GmbH, Graz, Austria) mediante espectroscopia de infrarrojo cercano (NIR) se midió el grado alcohólico de los vinos. Los resultados son mostrados en porcentaje de volumen de alcohol que contiene un vino.

3.4.2.2 pH

El pH se midió con un valorador automático Metrohm modelo 686 (Metrohm, Herisau, Suiza), siguiendo el método oficial (OIV, 2018).

3.4.2.3 Acidez total

La acidez total de los vinos se analizó mediante potenciometría, con un valorador automático Metrohm modelo 686 (Metrohm, Herisau, Suiza) siguiendo la metodología oficial (OIV, 2018). Los resultados son expresados en g/L de ácido tartárico.

3.4.2.4 Acidez volátil

La acidez volátil se determinó mediante un analizador de flujo continuo siguiendo la metodología oficial (OIV, 2018). Los resultados son expresados en g/L de ácido acético.

3.4.3 Análisis espectrofotométricos del vino

3.4.3.1 Índice de polifenoles totales

Para medir los IPT se utilizaron cubetas de 1 cm de paso óptico. El vino fue diluido 100 veces con agua destilada. La medición de los IPT se realizó a 280 nm.

3.4.3.2 Antocianos totales

Los antocianos totales se analizaron con el equipo multiparamétrico CETLab 600 (Microdom, Taverny, Francia) utilizando el kit colorimétrico de antocianos de TDI (Roma, Italia) siguiendo el método de Puissant-Léon propuesto por Ribereau-Gayon et Peynaud (1972). Los antocianos se midieron a una longitud de onda de 520 nm y son expresados en mg/L.

3.4.3.3 Proantocianidinas

El contenido de PAs en los vinos, se midió espectrofotométricamente por el método de precipitación de metilcelulosa (Sarneckis et al., 2006). A 50 µl de vino se le añadieron 600 µl de metilcelulosa de Sigma Aldrich (St. Louis, USA) (o agua destilada para la realización de los blancos control), 800 µl de H₂O MiliQ y 400 µl de sulfato de amonio SO₄ (NH₄)₂, (Panreac Barcelona, España). Posteriormente, la muestra se agitó en un vortex (Heidolph, Germany), y se centrifugó (Centrífuga Eppendorf 5810R, Alemania) durante 5 minutos a 10000 rpm. El sobrenadante se transfirió a una cubeta de UV-Visible (10 mm) y se midió su absorbancia a 280 nm. El contenido de PAs se determinó como diferencia entre los valores obtenidos en la muestra control y las muestras de vino multiplicados por un factor de dilución (37). La concentración se expresó como equivalentes de (-)-epicatequina.

3.4.3.4 Intensidad de color

Se determinó la intensidad de color, midiendo el vino directamente en cubetas de 0.1 cm de paso óptico. Se sumó las absorbancias a 620 nm (componente azul), 520 (componente roja) y 420 nm (componente amarillo) (Glories, 1984).

3.4.3.5 Parámetros CIELAB

Los vinos fueron analizados en cubetas de 1 mm de paso óptico en un intervalo de 380 y 780 nm y referidas a un observador de 10° e iluminante D65. Se realizó el cálculo de los parámetros CIELAB (L*, a*, b*, C* y H*) con el programa llamado "Color" de UVPC Optional Color Analysis 2.7 de Shimadzu Scientific Instruments.

3.4.3.6 Capacidad antioxidante

Este ensayo se basa en la decoloración que se produce cuando el catión radical ABTS⁺ es reducido a ABTS (ácido 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico), (Sigma Aldrich, St. Louis, USA). Dicho radical se genera por reacción de una solución de ABTS

en tampón fosfato salino (pH 7.4) con MnO₂. Para llevar a cabo esta medida hemos de trabajar siempre en oscuridad. A 100 µL de la muestra de vino diluida (1/10) se le añadieron 1000 µL del radical ABTS⁺. Tras dos minutos de reposo, se analizaron las muestras a 734 nm.

Los resultados se determinaron mediante el uso de una curva estándar preparada con diferentes concentraciones de Trolox, un análogo soluble en agua de vitamina E. Los resultados se expresan en milimoles de equivalentes de Trolox.

3.4.4 Análisis de compuestos fenólicos por cromatografía líquida

3.4.4.1 Antocianos y flavonoles

El vino previamente fue filtrado (filtros de nylon de 0.45 µm, Albet LabScience, Dassel) y posteriormente se analizó mediante inyección directa de 20 µL en un cromatógrafo líquido Waters 2690 (Waters, PA, USA), equipado con un detector diodo-array Waters 2996. Se utilizó una columna CORTECS® Shield RP18 (Crawford Scientific, Strathaven, Reino Unido), de 150 x 0,46 mm, y 2,7 µm de tamaño de partícula. El flujo utilizado fue 0.8 mL/min y la fase móvil A fue una disolución de ácido fórmico al 4,5% y la fase B, acetonitrilo. El gradiente empleado se muestra en la **Tabla 3.4**:

Tiempo (min)	0	1.00	28.69	29.98	31.57	34.45	40.20
Fase A (%)	95	95	65	20	20	95	95
Fase B (%)	5	5	35	80	80	5	5

Tabla 3. 4 Condiciones cromatográficas para el análisis de antocianos y flavonoles en vino.

La identificación y cuantificación de los antocianos y flavonoles se realizó a 520 nm y 360 nm respectivamente, según Gil-Muñoz et al. (2018).

3.4.4.2 Proantocianidinas

Al igual que en la uva, se determinaron las PAs de los vinos basándonos en la reacción de floroglucinólisis para romper las cadenas de los flavonoles poliméricos como aparece en el método descrito por Kennedy and Jones (2001). La preparación de las muestras se realizó siguiendo la metodología de Pastor del Rio and Kennedy (2006) con algunas modificaciones. Se llevó a sequedad 4 mL de vino en un concentrador Centrivap (Labconco, USA). Seguidamente, el extracto seco se redisolvió en 2 mL de agua Mili-Q

y ,a continuación, las muestras se pasaron por cartuchos SEP-PAK C18 (Vac 6 cc 1g) (Waters, Mildford, USA) previamente acondicionados con 10 mL de metanol (HPLC gradiente, PAI-ACS, Panreac) y 10 mL de agua mili-Q. Tras pasar las muestras de vino diluidas, los cartuchos se lavaron con 20 mL de agua Mili-Q y finalmente las PAs se eluyeron con 10 mL de metanol (HPLC gradiente, PAI-ACS, Panreac), llevándose de nuevo a sequedad en el centrivap (Labconco, USA). Finalmente, se redisolvió el extracto seco con 400 µl de metanol (HPLC gradiente, PAI-ACS, Panreac) y se analizó por cromatografía líquida tras realizar la extracción por el método de la fluoroglucinólisis. La separación, identificación y cuantificación de los diferentes compuestos en el extracto, se realizó acorde a lo mostrado en el análisis de proantocianidinas de hollejos y semillas (**apartado 3.3.3.2**).

3.4.4.3 Análisis de proantocianidinas en vinos por cromatografía de exclusión molecular

Para la determinación de las masas moleculares de las PAs, se realizó un análisis de cromatografía de permeación en gel (GPC) o exclusión molecular, siguiendo el método de Kennedy and Taylor (2003), propuesto por Bautista-Ortín et al. (2015). El extracto obtenido para la determinación de proantocianidinas en vinos comentado en el apartado anterior, se utilizó para llevar a cabo este análisis, siguiendo el método descrito en el **apartado 3.3.3.3**. El volumen de inyección fue de 20 µL y la proporción de dilución con la fase móvil (N,N dimetilformamida) fue 1/3, es decir, 50µL del extracto y 100µL de fase móvil.

3.4.5 Análisis de composición aromática en vinos blancos

Para analizar los aromas presentes en los vinos blancos se utilizó la metodología de microextracción en fase sólida en el espacio de cabeza HS-SPME siguiendo la metodología de Moreno-Olivares et al. (2019). En un vial de 20 mL se introdujeron 10 mL de vino, 3 g de NaCl de Panreac (Barcelona, Spain) y 25 µL de 2-octanol (100 ppm) como patrón interno.

Para el análisis de los compuestos volátiles en vino se utilizó un automuestreador automático (Gertsel GmbH&Co. KG, Mellinshofen, Alemania) acoplado a un cromatógrafo de gases (GC) (HP 7890B) con detector de masas (HP 5977A) (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA). El inyector se ejecutó en modo splitless durante 0,75 min con un liner para el SPME (Agilent Technologies) y el tiempo de desorción fue de 5 min. Se utilizó una fibra de divinilbenceno (DVB)-carboxen (CAR)-polidimetilsiloxano (PDMS) (Supelco, Bellefonte, PA, USA) y una columna capilar DB-WAXETR (30 m ×

película de 250 µm, 0,25 µm espesor). El gas portador utilizado fue helio 8.0 (Abelló Linde SA, Barcelona España) con una presión de cabeza de columna de 8 psi. La temperatura del horno se aumentó progresivamente hasta 260 °C a razón de 4 °C/min. El espectrómetro de masas se utilizó en modo de ionización de electrones a 70 eV con el detector en modo de SCAN (rango de masas 20–350). Los picos fueron identificados con la biblioteca de masas (Wiley Registry 6.0; Wiley, Chichester, Reino Unido). El análisis de cuantificación de aromas en uva fue cuantitativo en referencia al 2-octanol y utilizando para ello las rectas de calibrado correspondientes a los diferentes compuestos analizados. Estas rectas fueron realizadas con disoluciones de vino modelo (10 % etanol, 3 gramos de ácido tartárico y un pH ajustado a 3.5 con NaOH). Los análisis se realizaron por triplicado. La **Tabla 3.5** muestra la cuantificación de estos compuestos.

Compuestos Aromáticos	TR ¹	LOD ² (ppm)	LOQ ³ (ppm)	RL ⁴ (ppm)
Acetato de etilo	3.003	0.029	0.097	20-80
1-propanol	6.638	2.120	7.068	5-20
2-methyl-1-propanol	9.104	0.595	0.198	10-40
3-methyl-1-butanol-acetate	9.636	0.001	0.004	0.5-5
3-metil-1-butanol	13.896	0.018	0.058	25-500
Hexanoato de etilo	14.717	0.016	0.054	1-6
1-hexanol	20.13	0.071	0.238	1.5-5
Z-3-hexen-1-ol	21.373	0.007	0.246	0.1-0.5
Octanoato de etilo	23.702	0.0000723	0.00024	0.5-4
Linalool	28.361	6.52x 10 ⁻⁶	0.00002	0.001-0.01
3-methyl-thio-1-propanol	34.732	0.031	0.103	2-10
β-Damascenona	36.069	0.105	0.349	2-15
Citronellol	36.624	0.000001	0.000003	0.01-0.05
Dodecanoato de etilo	39.254	0.000105	0.000349	0.02-0.06
Ácido hexanoico	39.578	0.001	0.003	1-15
2-fenil etanol	41.708	0.124	0.412	10-250
Nerolidol	45.957	4.42x10 ⁻⁵	5.25x10 ⁻⁵	0.01-0.1
Tetradecanoato de etilo	46.1	0.001	0.002	0.01-0.04
Ácido octanoico	46.707	0.003	0.009	10-150
4-Vinilguaicol	50.737	4.19x10 ⁻⁵	0.00013	0.1-0.5
Hexadecanoato de etilo	52.355	0.00024	0.001	0.002-0.015
Ácido decanoico	53.148	0.001	0.003	125-500
Ácido 9-decenoico	54.915	0.003	0.011	5-12.50

Tabla 3. 5 Cuantificación de compuestos aromáticos. Abreviaturas: ¹ (TR): Tiempo de retención, ²(LOD): Límite de detección, ³ (LOQ): Límite de cuantificación, ⁴ (RL): Rango de linealidad.

3.4.6 Análisis sensorial en vinos

El análisis sensorial se realizó por un panel de catadores cualificados formado por 12 trabajadores de la Estación Enológica de Jumilla.

3.4.6.1 Vinos tintos

En el caso de las variedades tintas se realizó un análisis sensorial descriptivo y para ello se utilizó la ficha de cata del Consejo Regulador de la DOP Jumilla (**Figura 3.3**). De este modo se calificaron los vinos en base a las tres características sensoriales principales: vista, olfato y boca, así como una apreciación global del vino. En base al olfato se utilizaron 6 familias aromáticas (fruta madura, fruta fresca, floral, herbáceo, químico y especiado).

NÚMERO DE MUESTRA: _____

FECHA: _____

TIPO DE VINO: _____

CATADOR: _____

AÑADA: _____

							Excelente	Muy Bien	Bueno	Correcto	Insuficiente	Puntuación	OBSERVACIONES
VISTA	LIMPIDEZ						5	4	3	2	1		
	COLOR						10	8	6	4	2		
OLFATO	INTENSIDAD						10	9	7	5	3		
	CALIDAD						20	17	15	12	9		
	Fruta madura	Fruta fresca	Floral	Herbáceo	Químico	Especiado							Marcar los descriptores según intensidad: 0 nada 1 poca 2 media 3 mucha
BOCA	INTENSIDAD						10	9	7	5	3		
	CALIDAD						26	22	19	15	11		
	PERSISTENCIA						8	7	6	5	4		
	ARMONÍA / APRECIACIÓN GLOBAL						11	10	9	8	7		
SUMA													

Figura 3. 3 Ficha técnica de cata de vinos tintos.

3.4.6.2 Vinos blancos

Para las variedades blancas (VB), se estudiaron la percepción global que tuvieron los catadores con respecto al aroma del vino (Nariz); la acidez de los vinos (Acidez), ya que es un parámetro de calidad muy importante a tener en cuenta en los vinos blancos de calidad; así como la visión global que tuvieron los catadores con respecto a cada una de las variedades (Sensación final).

Por otro lado, se estudiaron diferentes atributos aromáticos para poder compararlas y caracterizarlas agrupados en diferentes familias: afrutados, cítricos, frutas exóticas, flores, hierbas aromáticas, etéreas, química, balsámico y especiado. En la siguiente tabla (**Tabla 3.6**) se pueden observar cada uno de los descriptores que engloban a cada una de las familias aromáticas:

Floral	Rosa/ Almendro/ Geranio/ Violeta/ Citronella/ Jazmín/ Azahar/ Miel
Fruta Exótica	Piña/ Maracuyá/ Mango/ Lichi
Cítrico	Limón/ Pomelo/ Lima/ Naranja
Afrutado	Melocotón/ Frambuesa/ Coco/ Albaricoque/ Membrillo/ Paraguaya/ Pera/ Manzana
Especiados	Mentol/ Jengibre/ Alcanfor/ Lavanda
Balsámicos	Pino/ Vainilla
Químicos	Acético/ Alcohol/ Azufrado/ Pegamento/ Disolvente/ Alquitrán
Etérea	Acetona/ Plátano/ Estearina = Levadura
Hierbas aromáticas	Menta/ Hoja de limón/ Eucalipto/ Hierba Buena
Herbáceos	Hierba/ Heno/ Hinojo/ Verduras/ Rábanos/ Musgo

Tabla 3. 6 Atributos aromáticos para las diferentes familias aromáticas.

Los catadores utilizaron una escala del 0 al 5 para calificar la intensidad de cada atributo. Para la realización de la cata se siguió la siguiente ficha técnica (**Figura 3.4**):



FICHA DE CATA (AROMAS HIBRIDOS BLANCOS)

Intensidad de 1 (+ baja) a 5 (+ alta)

Atributos del vino blanco (marcar con una cruz el grado de intensidad)	<u>FASE VISUAL</u>	1	2	3	4	5
Intensidad del color (pálido, débil, intenso, oscuro, denso) NORMAL (rodear esta opción)	<u>FASE VISUAL</u>					
Brillantez (sin brillo, apagado, poco brillante, brillante, luminoso)	<u>FASE VISUAL</u>					
Tonalidad Color (verdoso, pálido, pajizo, amarillo, dorado)	<u>FASE VISUAL</u>					
NARIZ		1	2	3	4	5
1ª Impresión (desagradable, corriente, fino, placentero, muy agradable)	<u>FASE OLFATIVA</u>					
Intensidad (tenue, sutil, ligera, intensa, muy intensa)	<u>FASE OLFATIVA</u>					
Aromas	<u>FASE OLFATIVA</u>	Señala los aromas que puedas diferenciar.				
• Frutas (Melocotón, frambuesa, coco, albaricoque, membrillo, paraguaya, pera, manzana)						
• Cítricos (limón, pomelo, lima, naranja)						
• Exóticas (Piña, maracuyá, mango, lichi)						
• Flores (Rosa, almendro, geranio, violeta, citronella, clavel, jazmín, azahar, miel)						
• Herbáceos (Hierba, heno, hinojo, verduras, rábanos, musgo)						
• Hierbas aromáticas (menta, hoja de limón, eucalipto, hierba buena)						
• Serie Etérea (acetona, plátano, estearina=levadura)						
• Serie química (acético, alcohol, azufrado, pegamento, disolvente, alquitrán)						
• Serie balsámica (pino, vainilla)						
• Serie especiada (mentol, jengibre, alcanfor, lavanda)						

Figura 3. 4 Ficha técnica de cata de vinos blancos.

3.5 Análisis estadístico

Debido a la cantidad de datos utilizados en esta Tesis Doctoral, y con el fin de poder caracterizar adecuadamente las diferentes variedades aquí estudiadas, se han llevado a cabo diferentes análisis estadísticos.

Por un lado se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) para determinar si existían diferencias significativas entre las medias de los diferentes parámetros evaluados. También se realizó un análisis multivariable de la varianza (MANOVA) para determinar si existían diferencias estadísticamente significativas entre los factores estudiados (variedad y año) con relación a las variables dependientes medidas. En ambos análisis la separación de medias se realizó utilizando el test LSD (Least Significant Difference) ($p < 0,05$).

Con el fin de poder conocer si con los parámetros medidos podríamos distinguir una variedad de otras se llevaron a cabo otros análisis multivariados, como el análisis discriminante o componentes principales. Finalmente, en la caracterización de las VB se realizó un mapa de calor y dendrograma (junto con la medición en la distancia de matrices euclídeas), con el fin de estudiar la relación de estos cruzamientos con los diferentes compuestos aromáticos evaluados.

Todos estos análisis fueron llevados a cabo usando los siguientes programas estadísticos: R Studio 1.1.453 (Boston, MA) y Statgraphics 18 (Statpoint Technologies, INC., Warrenton, VA, USA).

CAPÍTULO 4

CARACTERIZACIÓN DE NUEVAS VARIETADES CON ALTO CONTENIDO FENÓLICO (VACF)



CAPÍTULO 4: CARACTERIZACIÓN DE NUEVAS VARIEDADES CON ALTO CONTENIDO FENÓLICO (VACF)

Este capítulo estará dividido en dos partes, en la primera parte se estudiará la estructura de la pared celular de la uva correspondiente a las nuevas variedades, y en la segunda parte se llevará a cabo una caracterización de la composición fenólica tanto de sus uvas como de sus vinos.

PARTE 1-PARED CELULAR DE LAS NUEVAS VARIEDADES

La composición y estructura de las paredes celulares de las pieles de uva en estos nuevos genotipos no ha sido estudiada previamente. En esta primera parte de este capítulo, se abordará el estudio de los diferentes compuestos de la pared celular de tres de las cuatro VACF. Estas variedades son MS10, MC80 y MC98 ya que estas fueron las primeras en solicitar su registro como nuevas variedades de uva de vinificación. El estudio del genotipo MC4 se abordará en estudios futuros.

4.1 La pared celular de las uvas

La pared celular de la piel de la uva desempeña un papel importante en enología, actuando como una barrera protectora para la extracción de componentes de color y aroma durante el proceso de vinificación (Apolinar-Valiente et al., 2017). Como es bien sabido, las bayas de uva están compuestas por tejidos y células que a su vez están rodeadas de paredes celulares ricas en polisacáridos. Además, las paredes celulares de la uva deben romperse para liberar diferentes metabolitos (por ejemplo, azúcares, ácidos, volátiles, pigmentos) y polímeros (por ejemplo, pectinas, proteínas, polifenoles como los PAs) en el mosto fermentador durante el proceso de elaboración del vino (Gao et al., 2019). Dependiendo de cómo sea el proceso de ruptura de la pared celular, se obtendrá un vino de mayor o menor calidad, afectando a factores como el rendimiento del jugo y su calidad.

Una vez extraídos los compuestos de interés, como pueden ser los compuestos fenólicos, y elaborados los vinos, es imprescindible determinar y cuantificar la concentración de este tipo de compuestos en sus vinos con el fin de verificar su transferencia en variedades mejoradas como son estas VACF. Además, es ampliamente aceptado que los compuestos fenólicos del vino son indicadores de

calidad, especialmente en los vinos tintos (Garrido-Bañuelos et al., 2019), por lo que es fundamental su cuantificación desde el punto de vista enológico.

4.2 Estructura de la pared celular

La pared celular de las bayas se compone principalmente de dos estructuras, pared primaria y pared secundaria. Las paredes celulares primarias están compuestas mayoritariamente de polisacáridos (90%) y proteínas (10%) aunque estos porcentajes pueden variar dependiendo del grupo taxonómico y el tipo de tejido (Ortega-Regules, 2006). Además, los compuestos fenólicos son parte importante tanto en la pared celular primaria como en la secundaria.

Las paredes secundarias se sitúan entre la pared primaria y una membrana plasmática, y se forman a partir de las paredes celulares primarias por una acumulación progresiva de celulosa, xilanos y sobre todo lignina (Ortega-Regules, 2006).

A continuación se hablará brevemente de los principales compuestos presentes en la pared celular: proteínas, compuestos fenólicos, lignina y azúcares neutros (hemicelulosa, celulosa y ácidos urónicos).

4.2.1 Proteínas

Aproximadamente el 10 % de la pared celular está conformada por las proteínas pero es importante tener en cuenta que su composición dependerá de la variedad (Ortega-Regules et al., 2008a; Allegro et al., 2021).

Las proteínas estructurales se conocen también como glicoproteínas, ya que contienen cadenas de oligosacáridos, con residuos de tipo arabinofuranosil y galactopiranosil. Las extensinas son las principales proteínas de la pared celular (Cosgrove, 2001), e interactúan con polisacáridos pécticos de ésta. Se piensa que las proteínas forman una red fibrilar, independiente de la red celulósica, que refuerza la pared celular (Apolinar-Valiente, 2011).

4.2.2 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos se compartimentan principalmente en las vacuolas celulares, aunque cuentan con una fracción más pequeña unida a las capas de la pared celular. Estos compuestos se liberan cuando las células de la uva se interrumpen físicamente (trituration de la uva) o las paredes celulares se degradan durante el

proceso de maceración, pero incluso con la maceración extendida solo se extraerá una fracción de los polifenoles totales presentes en las uvas (Gao et al., 2019).

Las modificaciones que se producen en la pared celular del hollejo y la pulpa desde el envero hasta el momento de la vendimia tienen importantes implicaciones tecnológicas, ya que la pared celular interactúa con los compuestos fenólicos, en particular con las PAs, modulando así su capacidad de extracción y su precipitación durante el proceso de vinificación (Allegro et al., 2021). Con respecto a la extracción de antocianos, autores como Allegro et al. (2021) establecen que existen diferencias en la extractabilidad de antocianos procedentes de la pared celular en diferentes variedades ya que éstas se caracterizan por tener una pared celular con una estructura diferente.

4.2.3 Lignina

La lignina es un biopolímero complejo presente principalmente en la pared celular secundaria y está incrustada en las paredes celulares del haz vascular de la planta, junto con pectinas, hemicelulosas, celulosa y proteínas estructurales (Burton et al., 2010). La composición de la lignina no está totalmente caracterizada, pero depende en gran medida de la abundancia relativa de los precursores presentes en la zona de lignificación (Boudet, 2000).

4.2.4 Azúcares neutros

Los azúcares neutros presentes en la pared celular, se encuentran distribuidos en distintos tipos de componentes como la hemicelulosa (glucosa no celulósica), celulosa (glucosa celulósica), y ácidos urónicos (pectinas) (Azcón and Talón, 2008).

Las hemicelulosas son polisacáridos ramificados, que pueden interactuar de forma no covalente a través de enlaces de hidrógeno con microfibrillas de celulosa, y tienen la capacidad de recubrir las y unir las para formar un gran entramado (Thompson and Stephen, 2000). En cambio, la celulosa es un polisacárido no ramificado, formado por moléculas de glucosa que se unen mediante enlaces β -(1→4) glicosídicos formando cadenas de celobiosa. Estas cadenas se asocian entre sí, en paralelo, mediante puentes de hidrógeno formando microfibrillas con estructura enrollada (Azcón and Talón, 2008).

Entre los polímeros conocidos de mayor complejidad, figuran los polisacáridos pécticos o pectinas, conocidos también como ácidos urónicos, constituidos por una mezcla de azúcares ácidos y neutros, embebidos en la red formada por las celulosas y hemicelulosas, formando geles hidrofílicos capaces de retener el agua, lo que les hace

tener un papel importante en la regulación del estado hídrico y en el transporte de iones en la planta (Quijada-Morín et al., 2014).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.3 Rendimiento del aislamiento de las paredes celulares

En la **Tabla 4.1** se muestran los datos sobre el aislamiento de la pared celular de las diferentes variedades estudiadas correspondientes al peso medio de piel fresca en la uva y a la proporción de pared celular presente en la piel. Como se puede observar, la cantidad de piel aislada fue diferente entre las variedades y en los diferentes años de estudio. Los valores porcentuales de hollejo oscilaron entre el 6-10 % en los tres años aunque se evidenció una disminución en los valores obtenidos en el año 2019 con respecto a los otros dos años estudiados. Estos resultados están en consonancia con los encontrados por Ortega-Regules (2006) en algunas variedades como Monastrell (10.8 %) o Syrah (11.9 %).

Nuestros resultados mostraron como la variedad MC80 fue la que mayor porcentaje de piel presentó en los tres años de estudio con un valor medio de 9.33 %, lo que es una ventaja desde el punto de vista enológico ya que las pieles de uva son la principal fuente de compuestos de color y aroma (Ortega-Regules et al., 2008b). Por el contrario, Monastrell obtuvo el valor más bajo en las campañas 2018 y 2019 (7.41 y 6.06 %) mientras que la variedad MS10 obtuvo el porcentaje más bajo (7.68 %) en la campaña 2020. A priori, esto podría significar una menor obtención de compuestos fenólicos en los vinos, pero como se podrá comprobar en la segunda parte de este capítulo, MS10 es una variedad que se caracteriza por tener una alta cantidad de antocianos, y una menor concentración de taninos, sugiriendo que genotípicamente podría haber heredado las características de extractabilidad de su otro parental que es Syrah.

En cuanto a la cantidad de pared celular obtenida en cada variedad estudiada (**Tabla 4.1**), los resultados fueron diferentes durante los tres años de estudio. Monastrell obtuvo una mayor cantidad de pared celular en 2018 (114.50 mg) así como en la campaña 2019 con un valor muy similar al anterior (113.50 mg). Con respecto a la campaña 2020, la variedad MC80 fue la que presentó el valor más alto (121.40 mg) seguida de Monastrell (111.88 mg) que siguió mostrando valores similares a los años anteriores. Diferentes autores también han mostrado como la variedad Monastrell se caracteriza por tener una alta cantidad de pared celular en comparación con otras variedades como Cabernet Sauvignon, Merlot o Syrah (Apolinar-Valiente et al. 2017; Paladines-Quezada et al. 2019; Ortega-Regules et al. 2008). Estas diferencias se muestran de manera muy evidente en las fotos de microscopía óptica ilustradas en el artículo de Ortega-Regules et al. (2008b). Por otro lado, esto podría indicar que la extracción de compuestos de

interés durante el proceso de vinificación se podría ver más dificultado, dando lugar a vinos con menor riqueza en compuestos fenólicos y aromáticos

	Variedades	¹ % Hollejo fresco	² PC
2018	Monastrell	7,41 c	114,50 a
	MC80	10,15 a	108,50 b
	MC98	7,82 b	102,00 d
	MS10	7,86 b	104,50 c
2019	Monastrell	6,06 d	113,50 a
	MC80	8,11 a	80,60 d
	MC98	6,87 b	107,40 b
	MS10	6,70 c	86,60 d
2020	Monastrell	8.77c	111.88b
	MC80	9.74a	121.40a
	MC98	8.87b	101.28d
	MS10	7.68 d	107.08c

Tabla 4. 1 Rendimiento del aislamiento de las paredes celulares de Monastrell y nuevas VACF durante las campañas 2018, 2019 y 2020. Abreviaturas: ¹ Porcentaje de hollejo fresco en las uvas. ² Cantidad de pared celular (mg) en g de hollejo fresco. Diferentes letras indican diferencias significativas según el test LSD ($p < 0.05$).

4.4 Composición de la pared celular

Los principales grupos de compuestos analizados en las paredes celulares aisladas de Monastrell y las variedades MC80, MC98 y MS10 durante las tres campañas se muestran en la **Tabla 4.2**. Los parámetros que se han analizado en este apartado han sido proteínas, compuestos fenólicos, lignina, glucosa celulósica y ácidos urónicos.

4.4.1 Proteínas

Las proteínas pueden ser indicativas de la rigidez encontrada en las paredes celulares de los diferentes genotipos estudiados (VACF) y de su progenitor (Monastrell).

En nuestro estudio (**Tabla 4.2**), las variedades MC98 y MS10 fueron las que presentaron mayores concentraciones de proteínas en comparación con Monastrell en la campaña 2018, con valores de 49 mg frente a los 42.3 mg obtenidos por Monastrell. En la campaña 2019, Monastrell, MC80 y MC98, alcanzaron concentraciones similares (40-43 mg) siendo las variedades con una concentración más alta de proteínas, mientras que el cruce MS10 obtuvo la concentración de proteína más baja (34.2 mg). Por último, en la campaña 2020 Monastrell obtuvo las mayores concentraciones de proteínas en comparación con las demás variedades, alcanzando valores de 54.31 mg frente por ejemplo a los 29.87 de MC98, que fue la variedad con menor concentración.

Es razonable creer que el menor contenido de proteínas en las pieles de uva podría representar una rigidez estructural más débil, ayudando a la degradación del material de la pared celular de estas pieles de uva. Otros autores como Paladines-Quezada (2021) encontraron valores similares en la concentración de proteínas analizadas en la variedad Monastrell (30-60 mg), aunque por otro lado Apolinar-Valiente et al. (2015) encontró valores superiores en la variedad Monastrell, alcanzando los 114 mg. Este autor también analizó la concentración de proteínas en Monastrell cultivada en diferentes zonas geográficas de la Región, obteniendo unos resultados similares (Apolinar-Valiente et al., 2015b).

En la **Tabla 4.2** también se pueden observar los resultados del análisis multifactorial en el que la interacción entre los factores variedad y añada ($V \times A$) fue determinante con respecto a las concentraciones obtenidas (55 %), así como la añada (28.92 %) mientras que únicamente, el factor variedad mostró apenas significancia. Autores como Garrido-Bañuelos et al. (2021) establecen que un incremento en las proteínas estructurales de la pared celular, está correlacionado con una acumulación de las mismas durante el periodo de maduración, y además este incremento es dependiente de la añada.

		Monastrell	MC80	MC98	MS10	p-value	Análisis Multifactorial		
							Variedad	Añada	V x A
Proteínas	2018	42,3b ± 1,5	41,0b ± 0,1	49,2a ± 0,8	49,3a ± 3,2	***			
	2019	40,1a ± 5,2	43,2a ± 0,3	42,3a ± 3,0	34,2b ± 1,3	*	2,53 %	28,92 %	54,98 %
	2020	54,31a ± 3,5	44,20c ± 0,2	39,87d ± 1,9	48,41b ± 1,0	***	(*)	(***)	(***)
Compuestos fenólicos	2018	22,8b ± 1,1	20,2b ± 0,6	23,0b ± 2,9	27,3a ± 1,3	**			
	2019	18,2b ± 2,6	17,8b ± 0,1	26,2a ± 1,3	23,03a ± 2,3	**	12,41 %	45,75 %	35,85 %
	2020	36,89a ± 1,1	26,80b ± 0,4	26,62b ± 1,0	27,17b ± 0,5	***	(***)	(***)	(***)
Lignina	2018	578,7a ± 3,2	510,3b ± 33,5	512,6b ± 5,3	570,5a ± 237	**			
	2019	575,6a ± 4,4	516,4c ± 17,0	545,3b ± 5,5	576,9a ± 20,4	**	28,03 %	29,34 %	30,72 %
	2020	607,78a ± 8,5	580,73b ± 1,7	610,17a ± 6,0	548,60c ± 7,1	***	(**)	(***)	(***)
Glucosa celulósica	2018	139,4a ± 6,9	121,7b ± 8,6	122,7b ± 3,4	110,2b ± 12,6	*			
	2019	126,4 ± 9,7	137,7 ± 6,8	121,9 ± 7,8	124,3 ± 7,9	ns	7,82 %	33,99 %	34,77 %
	2020	114,75a ± 5,1	93,15b ± 8,1	109,35a ± 12,0	117,45a ± 5,1	**	(***)	(***)	(***)
Ácidos Urónicos	2018	218,4b ± 6,9	307,5a ± 29,3	292,5a ± 6,0	243,3b ± 13,7	***			
	2019	242,1b ± 6,3	287,7a ± 16,2	273,8a ± 0,5	243,5b ± 19,9	**	41,28 %	24,36 %	20,94 %
	2020	191,95b ± 11,7	243,95a ± 19,4	208,12b ± 20,7	258,38a ± 7,0	***	(***)	(***)	(***)

Tabla 4. 2 Composición de la pared celular en Monastrell y las VACF durante las campañas de estudio 2018, 2019 y 2020. Proteínas (expresadas en mg de albúmina de suero bovino g⁻¹ de la pared celular), compuestos fenólicos (expresados como mg de ácido gálico g⁻¹ de pared celular), lignina (expresada en mg g⁻¹ de pared celular), glucosa celulósica (expresada en mg g⁻¹ de pared celular) y ácidos urónicos (expresados en mg de ácido galacturónico g⁻¹ de pared celular). Los datos representan las medias ± desviación estándar. Diferentes letras indican diferencias significativas según el test LSD (p<0.05). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** (p < 0,001), 99%** (p< 0,01) y 95%* (p< 0,05). El superíndice en las interacciones indica el porcentaje de variación.

4.4.2 Compuestos fenólicos

La **Tabla 4.2** presenta los valores del contenido total de compuestos fenólicos en la pared celular aislada de la piel de Monastrell y las nuevas VACF.

En este estudio, se encontraron diferencias entre años y variedades. De este modo en la campaña 2018, la variedad MS10 fue la que registró una mayor concentración de polifenoles (27.3 mg de ácido gálico g⁻¹ pared celular). Con respecto a las demás variedades, no se obtuvieron diferencias entre ellas, mientras que en 2019, fue la variedad MC98 la que alcanzó la mayor concentración (26.2 mg) junto con MS10, con un valor de 23.03 mg. Frente a estos valores, MC80 y Monastrell obtuvieron las concentraciones más bajas, 17.8 y 18.2 mg respectivamente. Por último, en la campaña 2020 la variedad que destacó por su mayor concentración fue Monastrell, alcanzando valores de 36.89 mg mientras que las nuevas VACF obtuvieron una media de 26.86 mg, todas con valores muy aproximados.

Del mismo modo, Apolinar-Valiente et al. (2017) en un estudio sobre cruces de Monastrell también encontró que de un total de diez cruces de Monastrell, seis de ellos obtuvieron valores de compuestos fenólicos totales significativamente más altos que Monastrell, estableciendo de esta manera cierta variabilidad genética entre variedades. También, autores como Paladines-Quezada (2021) y Ortega-Regules et al. (2008b) encontraron valores similares a los nuestros con respecto a la concentración de compuestos fenólicos en las paredes de las uvas de Monastrell, sin embargo los analizados por Apolinar-Valiente et al. (2015a) también en la variedad Monastrell superaron los 100 mg.

Además de la variabilidad genética, en el estudio multivariable se ha podido comprobar cómo las condiciones ambientales participaron en la obtención de las diferentes concentraciones de compuestos fenólicos en la pared celular, afectando en un 45.75 %. También, la interacción entre variedad y añada influyó significativamente en la obtención de nuestros resultados (35.85 %).

4.4.3 Lignina

El contenido de lignina mostró algunas diferencias entre Monastrell y las nuevas variedades dependiendo del año como se puede observar en la **Tabla 4.2**. Nuestros resultados muestran cómo los valores analizados de lignina representaron el 50 % de la

composición de la pared celular, siendo así el componente más abundante en todas las variedades.

En 2018, Monastrell (578.7 mg de pared celular g⁻¹) presentó los valores más altos junto con MS10 (570.5 mg de pared celular g⁻¹). El resto de variedades, MC80 y MC98 obtuvieron las concentraciones más bajas con valores cercanos a 510 mg. Durante la campaña 2019 de nuevo fueron las variedades Monastrell y MS10 las que obtuvieron unas concentraciones más altas, con valores de aproximadamente 576 mg, mientras que la variedad MC80 de nuevo obtuvo los valores más bajos (516.4 mg). Por último, en la campaña 2020, Monastrell volvió a obtener la concentración más alta (607.78 mg) junto con la variedad MC98 (610.17 mg). Autores como Paladines-Quezada (2021) encontraron valores de ± 400 mg de lignina en la variedad Monastrell atendiendo a diferentes momentos de aplicación de elicitores.

La presencia de lignina se ha asociado con mecanismos de soporte mecánico, conducción de savia y defensa (Boudet, 2000) pudiendo estar relacionada la variedad Monastrell con alguna de estas características, ya que de los resultados mostrados, fue la única variedad que mostró la misma tendencia durante los tres años de estudio. En este caso, el análisis multivariable mostró una participación similar con respecto a la variedad, añadida y la interacción entre ambos.

4.4.4 Azúcares neutros

Es bien sabido que la glucosa celulósica y los ácidos urónicos representan el mayor porcentaje de azúcares en las paredes celulares de los hollejos. Nuestros resultados mostraron que la glucosa celulósica y los ácidos urónicos, junto con la lignina, fueron los principales componentes de la pared celular de la uva en nuestras variedades. A continuación se hablará de la glucosa celulósica y los ácidos urónicos. Como nuestros resultados de hemicelulosa (glucosa no celulósica) fueron valores cercanos a 0, consideramos como despreciables estos valores a la hora de tenerlos en cuenta para la determinación de parámetros en la pared celular. Del mismo modo, la glucosa total tampoco se tendrá en cuenta puesto que sería la suma de hemicelulosa (glucosa no celulósica) y glucosa celulósica.

4.4.4.1 Glucosa celulósica

Como se puede observar en la **Tabla 4.2**, no obtuvimos diferencias significativas entre las variedades en la campaña 2019. Sin embargo, si las hubieron en las campañas 2018 y 2020. Por un lado, Monastrell mostró los valores más altos de glucosa celulósica

en 2018, mientras que el resto de variedades obtuvieron una menor concentración mostrando el valor más bajo la variedad MS10 (110.2 mg). Por otro lado, en la campaña 2020, Monastrell de nuevo mostró la concentración más alta (114.75 mg) junto con las variedades MC98 y MS10. En cambio, MC80 registró el valor más bajo (93.15 mg).

Las cantidades de glucosa celulósica se han correlacionado con la rigidez de la firmeza de las paredes celulares (Rosli et al., 2004) y esto puede deberse a la estructura de la red celulosa-hemicelulosa (Vicente et al., 2007). Por lo tanto, la alta cantidad de glucosa celulósica encontrada en las paredes celulares de Monastrell durante los dos primeros años y los cruces MC98 y MS10 en el último año de estudio podría dificultar la degradación y, por lo tanto, la extracción de compuestos fenólicos de la piel durante la vinificación. Paladines-Quezada et al. (2019) también encontró un mayor contenido de celulosa en las paredes celulares de Monastrell en comparación con otras variedades como Cabernet Sauvignon y Merlot. Por el contrario, las variedades MC80, MC98 y MS10 sugerirían una estructura de pared celular menos rígida en la campaña 2018 o la variedad MC80 en la campaña 2020, pudiendo facilitar así la extracción de compuestos de interés durante el proceso de elaboración como se comprobará más adelante en la segunda parte de este capítulo.

Con respecto al análisis multivariable, la variedad volvió a tener un bajo porcentaje de significancia en la concentración de estos compuestos, mientras que la añada y la interacción entre ambos, afectó de una forma mayoritaria.

4.4.4.2 Ácidos urónicos

Con respecto a las concentraciones encontradas en los ácidos urónicos (**Tabla 4.2**), las variedades MC80 y MC98 fueron las que mayores concentraciones presentaron en la campaña 2018 con valores de hasta 307.5 y 292.5 mg, mientras que MS10 y Monastrell fueron las variedades con menor concentración (243 y 218 mg respectivamente). En la siguiente campaña de estudio, una vez más MC80 y MC98 obtuvieron las concentraciones más altas, aunque ligeramente inferiores al anterior año de estudio (287.7 y 273.8 mg). Las variedades MS10 y Monastrell obtuvieron valores muy similares (242 mg) siendo las variedades con menor concentración. Finalmente, en la última campaña de estudio, MS10 fue la variedad con mayor concentración de ácidos urónicos (258.38 mg) seguida de nuevo por MC80 (243.95 mg).

Estos resultados pueden sugerir que las diferencias encontradas entre las diferentes variedades estudiadas pueden deberse al genotipo de cada variedad y así se corrobora en el estudio multivariable, ya que en este análisis se obtuvo el mayor

porcentaje de significancia en la variedad (41.28 %). No obstante las condiciones climáticas derivadas de las diferentes añadas, también participaron en la obtención de los resultados (24.36%) así como la interacción entre los dos factores (20.94 %). Sin embargo, existen otros factores dentro de cada variedad que también pueden influir en la mayor o menor concentración de estos compuestos dentro de la pared celular como la textura de la baya (apariciencia del hollejo) o la dureza de la piel, estando estos parámetros relacionados con los índices climáticos estacionales (Riquelme y Martínez-Cutillas, 2018) o la madurez de la uva.

4.4.5 Microscopía óptica

Con el fin de poder comprender y completar el estudio de la pared celular de estas nuevas variedades, se realizó un estudio de microscopía óptica de transmisión durante el año 2019. El pericarpio consta de tres tejidos anatómicamente distintos: exocarpio, mesocarpio y endocarpio. La imagen muestra el exocarpio procedente de los hollejos frescos de los tres cruces objeto de estudio y de Monastrell (**Figura 4.1**).

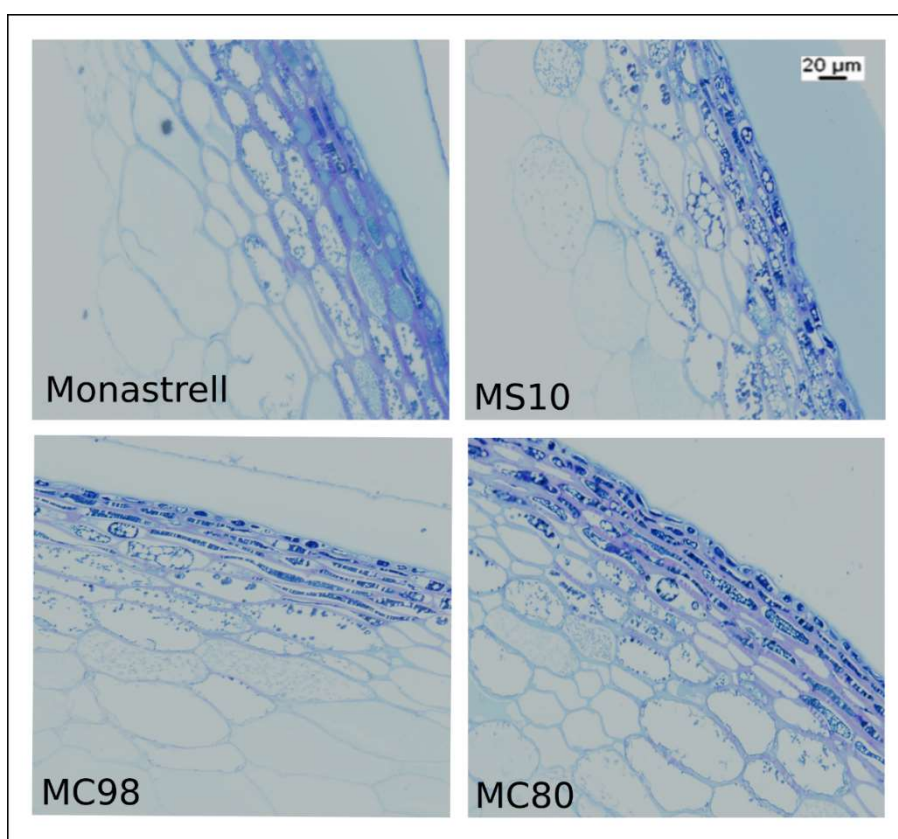


Figura 4. 1 Imágenes de microscopía óptica del exocarpio de Monastrell y las nuevas VACF.

Tal como se muestra en la **Figura 4.1**, se puede observar un alto espesor en las paredes celulares de la piel de las uvas pertenecientes a Monastrell y MC80 reforzando lo encontrado en nuestros datos analíticos sobre el contenido total de glucosa celulósica

y ácidos urónicos en estas variedades (**Tabla 4.2**). Apolinar-Valiente et al. (2017) también encontró resultados similares en el cruce H18 de Monastrell. Con respecto a Monastrell, Ortega-Regules et al. (2008) y Apolinar-Valiente et al. (2017) observaron que la uva Monastrell tenía paredes celulares más gruesas en comparación con otros cultivares como Cabernet Sauvignon, deduciendo que esta variedad parece caracterizarse genéticamente por tener una pared celular más rígida.

A pesar de que la variedad MC80 ha mostrado concentraciones altas y similares a Monastrell con respecto a la glucosa celulósica así como a la concentración de ácidos urónicos, más análisis serían necesarios sobre la pared celular de estas nuevas variedades, ya que como veremos a lo largo del capítulo, los vinos de la variedad MC80 poseen una gran cantidad de compuestos fenólicos. Una de las posibles causas podría ser que esta variedad al tener concentraciones de compuestos fenólicos muy superiores a las analizadas en Monastrell, lograrse extraer una mayor cantidad a pesar de su composición a nivel de pared celular.

Las paredes celulares claramente más delgadas se observaron en las variedades MS10 y MC98 a pesar de que como se ha comentado en el análisis multivariable, que el factor añada tuvo una gran importancia en la composición de la pared celular de las variedades. Autores como Paladines-Quezada (2021) confirma que las condiciones ambientales experimentadas en cada una de las campañas, fue determinante en la composición de las paredes celulares de la piel de uvas Monastrell. Por otro lado, es sabido que el número de capas en la piel de las bayas de uva y su tamaño son específicos del cultivo (Demir and Celik, 2004). Por lo tanto, se podría sugerir que la estructura de la pared de las variedades MS10 y MC98 facilitaría la extracción de compuestos fenólicos durante la vinificación.

PARTE 2-COMPOSICIÓN POLIFENÓLICA EN UVAS Y VINOS

4.5 Compuestos fenólicos

La composición fenólica de la uva está muy afectada por las diferencias entre variedades, condiciones ambientales y prácticas culturales llevadas a cabo durante su cultivo. Por otro lado, la cantidad encontrada de estos compuestos en los vinos también dependerá en gran medida de la tecnología enológica aplicada en bodega a las uvas vendimiadas. Además, estos compuestos contribuyen a la calidad final del vino y también aportan efectos beneficiosos para la salud humana (Flamini et al., 2013a). Así, autores como Apolinar-Valiente et al. (2021) encontraron un gran potencial entre los oligosacáridos del vino por su aporte nutricional y efecto sobre la salud humana u otros como Benbouguerra et al. (2021) que recientemente han estudiado la relación entre los estilbenos y sus efectos frente a la obesidad. Incluso se ha comprobado el potencial de subproductos del vino, como el orujo, que pueden incorporarse a las matrices alimentarias, permitiendo el desarrollo de productos saludables y tener beneficios potenciales para la salud humana (Moro et al., 2021).

Los polifenoles son metabolitos secundarios vegetales que se caracterizan por tener un anillo bencénico en el cual son sustituidos varios grupos hidroxilo (-OH), por lo que dependiendo de su estructura química, se dividirán en dos grupos, por un lado los compuestos fenólicos flavonoides (antocianos, flavonoles, flavanoles y proantocianidinas) y por otro, los no flavonoides (estilbenos y ácidos fenólicos hidroxicinámicos e hidrogenzoicos).

Estos compuestos son sintetizados a partir de la fenilalanina producida en la ruta del ácido siquímico (**Figura 4.2**). La desaminación de la fenilalanina catalizada por la enzima fenilalanina amino liasa es el primer paso de dicha ruta, así se forma el ácido cinámico que pasa a ácido p-cumárico por la acción de la enzima cinamato 4-hidroxilasa y este a su vez a p-cumaril coenzima A (Valverde García, 2014).

A continuación se produce la división de la ruta metabólica, dando lugar a dos importantes familias de compuestos fenólicos, tales como los flavonoides y los estilbenos. Seguidamente, cuatro enzimas (chalcona isomerasa, flavanona 3-hidroxilasa, dihidroflavonol 4-reductasa y antocianidin sintasa) dan lugar a la síntesis de un antociano llamado pelargonidina a partir del cual se generarán los demás antocianos. La formación de los flavanoles se genera gracias a dos enzimas, la leucoantocianidina reductasa y la antocianina reductasa dando lugar a la catequina, epicatequina y epigallocatequina, esta última ausente en semillas. Por último se producen las

antocianos se encuentra en torno a los 24°C (Belwal et al., 2020); temperaturas superiores a 35°C producirán un aumento de la frecuencia respiratoria y una disminución de la fotosíntesis en las vides, lo que conducirá a una disminución en la producción de azúcares y a una degradación e inhibición de la acumulación de ciertos metabolitos secundarios, especialmente de los antocianos (He et al., 2010). Además, la luz solar intensa podría causar quemaduras solares en las bayas expuestas, inhibiendo el desarrollo del color, especialmente en las vides cultivadas en regiones vitícolas de clima cálido (Leeuwen and Darriet, 2016) como es el caso de la Región de Murcia.

Como consecuencia del calentamiento global, en los últimos tiempos, la acumulación de azúcares en las bayas se ha visto acelerada de modo que su maduración tiene lugar durante el período más cálido. Por lo tanto, la concentración de antocianos en las uvas no llega a alcanzar su valor óptimo en el mismo momento en que lo hace la madurez tecnológica. Además, dado que la capacidad de extracción de los antocianos aumenta a lo largo del periodo de maduración, si este se ve acortado podría causar una reducción de la misma en el momento de la vendimia (Allegro et al., 2016). Estos acontecimientos se están acentuando todavía más en zonas climatológicamente áridas como el sureste español, sin embargo diferentes estrategias se están llevando a cabo para impedir el efecto del cambio climático. Estudios recientes como los de Jones et al. (2022) demuestran que existe una evidencia directa e indirecta para el desacoplamiento térmico de antocianos y azúcares en variedades tintas y que diferentes estrategias podrían gestionar la temperatura del dosel y de las bayas para reacondicionar la relación antocianos/azúcar poco después del envero. Por otro lado, programas de mejora genética como el llevado a cabo en el IMIDA, están dando lugar a variedades que a pesar de vendimiarse en un periodo muy cálido (temperaturas superiores a 35°C), poseen unas altas concentraciones de antocianos.

4.5.2 Flavonoles

En las uvas, los flavonoles se encuentran principalmente en la piel de la baya, dónde actúan como agentes protectores contra los rayos UV (De Rosso et al., 2014). En el vino, estos compuestos actúan como cofactores de copigmentación, participando así en la estabilidad del color, de modo que una baja concentración de flavonoles en los vinos dificultaría su estabilidad en el tiempo, mientras que altas concentraciones de los mismos, facilitarían estos procesos de copigmentación (Lu et al., 2022).

Además los flavonoles son fácilmente extraíbles durante el proceso de vinificación, aunque son poco solubles en agua y requieren de la presencia del etanol; también contribuyen a las sensaciones gustativas del vino, por el carácter amargo concedido por

los derivados de quercetina, mientras que compuestos como la siringetina-3-O-glucósido y la quercetina-3-O-rutinósido contribuyen a la astringencia (Casassa and Harbertson, 2014).

Con respecto al comportamiento de flavonoles frente al cambio climático, se establece que en variedades de uva cultivadas en un clima más templado, se produce un incremento en la concentración de flavonoles (Gutiérrez-Gamboa et al., 2021). Además, autores como Flamini et al. (2013) establecen que la exposición de racimos a altas temperaturas y radiación puede aumentar la síntesis de flavonoles en las uvas debido al aumento de la actividad de la enzima fenilalanina amonio liasa (PAL).

4.5.3 Proantocianidinas

Las PAs son estructuras poliméricas también conocidos como taninos condensados y que son generadas a partir de los flavonoles monoméricos. Se consideran responsables de la astringencia y el amargor del vino y pueden formar complejos poliméricos con los antocianos, mejorando de este modo el color del vino (Li and Duan, 2019) sobre todo durante el envejecimiento de los vinos tintos (Gutiérrez, 2007). Estos compuestos se encuentran principalmente en las semillas, sin embargo también se encuentran en los hollejos de las bayas, lugar de dónde se logrará extraer la mayor cantidad de PAs durante el proceso de fermentación. La síntesis de PAs de las semillas se produce después de la fructificación y alcanza su nivel máximo cerca del envero, mientras que el contenido de PAs de la piel es alto en la floración y su acumulación continúa desde el fruto establecido hasta una o dos semanas después del envero (Downey et al., 2006), por tanto el estado de madurez de la uva tendrá un efecto importante sobre el tipo y la extractabilidad de estos compuestos en el vino resultante (Allegro et al., 2021).

Las actuales condiciones climáticas también están teniendo un efecto en la síntesis de estos compuestos. Posiblemente, la biosíntesis de PAs en uvas aumentará en relación con el aumento de las temperaturas (Keller, 2020). Sin embargo, en las regiones vitícolas cálidas como la nuestra, como hemos mencionado anteriormente, el período entre el envero y el momento de la vendimia se está acortando cada vez más, y por lo tanto, el tiempo de síntesis de PAs también se verá disminuido. Por el contrario, en las regiones vitícolas más frescas, el aumento de las temperaturas podrá ayudar a mejorar la calidad del vino debido al aumento de la acumulación de PAs en las uvas (Gutiérrez-Gamboa et al., 2021).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.6 Uvas

4.6.1 Parámetros de calidad de la uva en el momento de la vendimia

A continuación, se mostrarán los resultados obtenidos para las diferentes características físico-químicas analizadas en las uvas de Monastrell y las nuevas VACF en tres campañas consecutivas (2018-2020). Es bien sabido que los parámetros físico-químicos de la uva son muy importantes en la calidad final de los vinos, y por lo tanto determinarán las principales características en las concentraciones encontradas en los compuestos fenólicos entre las diferentes variedades.

Con respecto al peso de baya analizadas durante la campaña 2018 (**Tabla 4.3**), MC98 fue la variedad con mayor peso (131.28 g), mientras que MC4 fue la variedad con menor peso de baya (96.30 g). Las lluvias previas a las vendimia que se produjeron pudieron contribuir al peso obtenido durante este año en la variedad MC98. (**Figura 3.1** de Materiales y métodos). Destacar que durante esta campaña, Monastrell no fue la variedad con mayor peso de baya, sino que obtuvo un peso de 121.24 g. La tendencia en las siguientes campañas fue diferente, Monastrell, fue la variedad con mayor peso de baya, así, en la campaña 2019 obtuvo un valor de 125.73 g frente a los 66.75 g que obtuvo MC4. Finalmente, con respecto a la campaña 2020, Monastrell obtuvo un valor de 157.50 g frente a los 86.13 g de MC4.

Como se puede observar en las tres campañas de estudio, MC4 fue la variedad con menor tamaño de baya. Es conocido que este parámetro influye en gran medida en la composición fenólica de las uvas (Gombau et al., 2020) además proporciona información sobre la superficie de la piel/relación de volumen de baya, lo que puede ser útil en el proceso de vinificación (Apolinar-Valiente et al., 2015a). La variedad Monastrell es comúnmente conocida por tener un tamaño de baya mayor al de otras variedades tales como Cabernet Sauvignon o Syrah (Gómez-Plaza et al., 2008; Bautista-Ortín et al., 2016) y de este modo, al tener una mayor proporción de pulpa, esto podría verse reflejado en la dilución de los compuestos de interés. Todas nuestras nuevas variedades se caracterizaron por tener un tamaño de baya más pequeño que Monastrell (excepto MC98 durante el primer año), lo que sugiere que los vinos elaborados con ellas se caracterizarán por tener una mayor concentración de compuestos fenólicos como se verá más adelante.

Sin embargo hay que estudiar con detenimiento el efecto que puede tener el peso de baya sobre la calidad de la uva. Así, Gil Cortiella et al. (2020) indicó que el tamaño de baya per se no podría tomarse como un parámetro de la calidad de la uva. En nuestro caso si es cierto que en general, las nuevas variedades mostraron un tamaño inferior a Monastrell, sin embargo, la variedad MC4 a pesar de tener el menor peso, no es la que mostrará una mayor calidad como veremos en los siguientes apartados.

El grado Baumé (°Bé) fue otro de los parámetros de calidad analizados en las uvas. Para realizar un estudio exhaustivo sobre la maduración de estas nuevas variedades, se decidió optimizar los momentos de vendimia de las mismas. Desde el punto de vista enológico, cada vez más, interesa vendimiarse antes de que se produzcan las lluvias torrenciales propias de nuestra zona que ocurren durante los meses de septiembre y octubre y que cada vez son más recurrentes. De este modo, se conseguiría evitar destrozos en las parcelas o incluso evitar el deterioro de la propia uva por aparición de ciertas enfermedades fúngicas. Con el objetivo de estipular el momento óptimo de maduración de las VACF, se vendimiaron en las tres campañas en momentos diferentes.

En la campaña 2018, MS10 fue la variedad que obtuvo el mayor °Bé, con un valor de 14.45 °Bé, a pesar de haber sido la primera en ser vendimiada (**Figura 3.1** de Materiales y métodos), frente a los 12.49 °Bé obtenidos por la variedad Monastrell vendimiada a principios de octubre. En cuanto al resto de variedades, destacar el valor obtenido por la variedad MC4 (11.94 °Bé) que se vendimió el 12 de septiembre con una completa madurez fenólica y tecnológica.

Durante la campaña 2019, los valores de °Bé obtenidos para todas las nuevas variedades fueron inferiores a las del año 2018, ya que se vendimiaron en fechas más tempranas que la primera campaña. Así, una vez más, la variedad MS10 mostró el valor más alto aun siendo vendimiada de nuevo la primera (12.97 °Bé). Sin embargo, la variedad Monastrell se vendimió con un grado similar al del año 2018 a pesar de haberse vendimiado con una semana de antelación con respecto a la primera campaña. El resto de variedades obtuvieron valores inferiores a MS10 o Monastrell, destacando el bajo valor obtenido de nuevo por la variedad MC4 (9.90 °Bé) que se vendimió este año el 4 de septiembre.

Finalmente, en la campaña 2020, las nuevas variedades obtuvieron valores de °Bé superiores o similares a los obtenidos en el primer año de estudio, aun siendo todas vendimiadas en agosto o a primeros de septiembre. En este caso, la variedad MC98 fue

la que obtuvo el mayor °Bé (14.47) en comparación con la variedad MC4 que obtuvo de nuevo el menor °Bé (11.88). Monastrell este año obtuvo un valor de 13.14 °Bé

Como se puede observar, tras los estudios realizados durante varios años (aunque en esta Tesis solo se muestran 3 años de estudio), los ciclos de maduración de estas variedades difieren en comparación al de la variedad Monastrell, siendo las variedades estudiadas más tempranas que esta última. El hecho de que las nuevas variedades tengan diferentes momentos de vendimia, permitiría hacer una vendimia escalonada y sin solapamientos, algo que resultaría muy interesante desde el punto de vista enológico.

Tras los estudios realizados podríamos concluir que la variedad MS10, se caracteriza por tener su momento óptimo de vendimia en fechas cercanas a la última semana de agosto llegando a vendimiarse hasta 40 días antes que Monastrell como es el caso de la campaña 2020 (**Figura 3.2** de Materiales y métodos); la variedad MC4, lo tendría sobre la primera semana de septiembre. Seguidamente a mitad de septiembre, se vendimiarán las variedades MC98 y MC80. Por último, la variedad Monastrell es la más tardía, llegando incluso a vendimiarse en octubre, lo que pone muchas veces en riesgo el que sufra episodios de lluvias u otras inclemencias meteorológicas como se ha comentado anteriormente.

Además de buscar el momento óptimo de vendimia, también hay que hacer alguna consideración con respecto a las condiciones climáticas ocurridas durante los diferentes años de estudio para poder evaluar como pudieron afectar al °Bé obtenido. Como se puede observar en la **Figura 3.1** de Materiales y métodos, durante la campaña 2018, tuvieron lugar algunas precipitaciones los días previos a la vendimia de las variedades MC80, MC98 y MC4, concretamente 22.4 litros de acuerdo a los datos recogidos en SIAM. Además, a estas lluvias se les suman las ocurridas el 15-16 y 26-27 de septiembre (56.9 litros) pudiendo afectar estos hechos al °Bé de Monastrell, variedad que se vendimió el 1 de octubre.

En relación a las condiciones climáticas de la campaña siguiente (2019), es necesario también tener en cuenta algunos apuntes. Los días previos a la vendimia de la variedad MS10 llovieron 22.6 litros (**Figura 3.1** de Materiales y métodos), aunque las precipitaciones más importantes tuvieron lugar en el mes de septiembre, concretamente llovieron 143 litros, cayendo el 13 de septiembre 64 litros en un día. De este modo, se puede justificar la importancia de obtener variedades que puedan vendimiarse más tempranamente, ya que estas precipitaciones pudieron tener repercusión en la calidad de la uva de la variedad Monastrell (última variedad en ser vendimiada, concretamente

el 25 de septiembre), pudiendo por ejemplo participar en la aparición de enfermedades o incluso en el engordamiento de las bayas, diluyendo así los compuestos de interés, bajando el grado alcohólico o llegando a perder la cosecha por la aparición de granizo.

Por último, en la campaña 2020, las precipitaciones no fueron importantes, de hecho en agosto fueron casi ausentes y en septiembre únicamente se recogieron 5.3 litros (**Figura 3.2** de Materiales y métodos), valor insignificante para la viña.

La acidez total es otro parámetro de calidad, de especial interés en estas zonas climatológicamente áridas, ya que por lo general, tiende a disminuir durante el proceso de maduración y más rápidamente con las altas temperaturas. De acuerdo a las condiciones climáticas producidas en nuestra zona, como se puede observar en las **Figuras 3.1 y 3.2** de Materiales y métodos, fueron varios los días que se superaron los 35 °C durante los años de estudio, pudiendo afectar este hecho al metabolismo de la planta. Como se puede observar en la **Tabla 4.3**, durante el año 2018 la acidez total fue superior en todas las nuevas variedades (rango entre 3.76 g/L para MC4 y 5.29 g/L para MS10) en comparación con el valor que obtuvo la variedad Monastrell (2.97 g/L). Sin embargo, en la campaña 2019, Monastrell obtuvo una concentración similar de acidez a las nuevas variedades, alcanzando valores de 5.13 g/L. No obstante las variedades MC98 y MS10 obtuvieron valores superiores a ésta (5.40 y 5.50 g/L). Finalmente, durante la campaña 2020, la acidez de las variedades fue inferior a las campañas anteriores, y de este modo Monastrell obtuvo el valor más bajo (2.33 g/L) frente a la variedad MS10, la cual obtuvo el valor más alto (4.29 g/L). Estos resultados estarían directamente relacionados con el momento de vendimia de las variedades así como por las diferentes diferencias climatológicas existentes entre las diferentes campañas (Gil-Muñoz et al., 2021).

El pH se encuentra directamente relacionado con el valor de acidez encontrado en las uvas. Tal como se puede observar en la **Tabla 4.3**, la variedad MS10 que fue la que presentó mayor acidez y por tanto la que obtuvo también el pH más bajo (3.68) en la campaña 2018. Este parámetro es muy importante desde el punto de vista enológico ya que pH no excesivamente altos indican una mayor estabilidad microbiana en los vinos elaborados. Durante esta misma campaña, las variedades MC98 y Monastrell fueron las que presentaron un pH más alto, 3.99 y 3.95 respectivamente. Por lo general, en la campaña 2019, los pH fueron ligeramente inferiores a la campaña anterior, ya que las variedades se vendimiaron más tempranamente como se ha comentado anteriormente. Finalmente, durante la campaña 2020 se produjo un ligero incremento del pH al volver a vendimiar las variedades con un grado de madurez mayor. Así, Monastrell y MC98

volvieron a ser las variedades con el pH más alto, 4.11 y 4.15 respectivamente, mientras que MS10 obtuvo un valor de 3.70, demostrando así su buena adaptación a nuestro clima cálido.

En relación al ácido tartárico, durante las campañas 2018 y 2019 se obtuvieron concentraciones similares para Monastrell y las nuevas variedades, destacando los 5.29 y 5.28 g/L en las variedades MC98 y MS10 durante la campaña 2018, o los 5.17 y 5.54 g/L de MS10 y MC4 en la campaña 2019. Sin embargo, en la campaña 2020 no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas para las diferentes variedades de uva.

Con respecto a las concentraciones analizadas de ácido málico, destacar que es un parámetro que está directamente relacionado con la acidez total de las uvas, así, MS10 fue la variedad que mayor ácido málico obtuvo en las tres campañas de estudio, y además fue la variedad con la mayor acidez total. Por ejemplo, esta variedad llegó a alcanzar valores de 3.55 g/L durante la campaña 2019 frente a los 1.17 g/L analizados en la variedad Monastrell. Por otra parte, Monastrell fue la variedad con menor ácido málico en las tres campañas de estudio. Esto nos lleva a concluir una vez más la posible adaptación de estas nuevas variedades a las condiciones climáticas actuales de nuestra zona.

		Monastrell	MC80	MC98	MS10	MC4	p-value
2018	Peso 100 bayas (g)	121.24b ± 1.75	116.03c ± 1.46	131.28a ± 1.02	100.82d ± 1.16	96.30e ± 1.84	***
	°Bé	12.49d ± 0.04	13.31c ± 0.04	13.88b ± 0.05	14.45a ± 0.00	11.94e ± 0.00	***
	Acidez total* (g/L)	2.91e ± 0.04	4.46c ± 0.06	4.75b ± 0.02	5.29a ± 0.02	3.76d ± 0.02	***
	pH	3.95b ± 0.01	3.82c ± 0.01	3.99a ± 0.01	3.68e ± 0.01	3.77d ± 0.00	***
	Ácido tartárico (g/L)	4.65bc ± 0.07	4.49c ± 0.21	5.29a ± 0.16	5.28a ± 0.04	4.82b ± 0.07	**
	Ácido málico (g/L)	1.07d ± 0.03	1.75c ± 0.04	2.60a ± 0.08	2.30b ± 0.07	1.65c ± 0.03	***
2019	Peso 100 bayas (g)	125.73a ± 2.45	96.23b ± 3.16	93.12b ± 1.59	96.16b ± 1.65	66.75c ± 1.05	***
	°Bé	12.56b ± 0.00	11.72c ± 0.04	11.50d ± 0.04	12.97a ± 0.04	9.90e ± 0.04	***
	Acidez total* (g/L)	5.13b ± 0.04	4.99b ± 0.07	5.50a ± 0.06	5.40b ± 0.04	4.49d ± 0.06	***
	pH	3.64d ± 0.01	3.69c ± 0.00	3.83a ± 0.00	3.70b ± 0.00	3.65d ± 0.00	***
	Ácido tartárico (g/L)	4.84bc ± 0.18	4.30d ± 0.08	4.32cd ± 0.08	5.17ab ± 0.41	5.54a ± 0.01	**
	Ácido málico (g/L)	1.17e ± 0.00	1.72d ± 0.01	3.13b ± 0.06	3.55a ± 0.07	1.94c ± 0.02	***
2020	Peso 100 bayas (g)	157.50a ± 0.71	97.06c ± 1.50	114.77b ± 1.09	99.16c ± 1.63	86.13d ± 1.61	***
	°Bé	13.14c ± 0.04	13.61b ± 0.00	14.47a ± 0.04	13.00c ± 0.16	11.88d ± 0.04	***
	Acidez total* (g/L)	2.33e ± 0.11	3.81b ± 0.13	3.46c ± 0.11	4.29a ± 0.08	2.59d ± 0.02	***
	pH	4.11a ± 0.03	3.96b ± 0.02	4.15a ± 0.00	3.70c ± 0.01	3.92b ± 0.00	***
	Ácido tartárico (g/L)	4.46 ± 0.33	4.89 ± 0.40	4.33 ± 0.46	4.29 ± 0.20	4.24 ± 0.03	ns
	Ácido málico (g/L)	1.32c ± 0.19	1.67b ± 0.04	2.73a ± 0.07	2.56a ± 0.01	1.72b ± 0.00	***

Tabla 4. 3 Características físico-químicas para las uvas de Monastrell y VACF durante las campañas 2018, 2019 y 2020. Los datos representan las medias ± desviación estándar. Abreviaturas: ¹ Acidez total expresada en g/L de ácido tartárico. Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas de acuerdo al test de LSD (p<0.05). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** (p < 0,001), 99%** (p < 0,01) y 95%* (p < 0,05).

4.6.2 Compuestos fenólicos analizados por HPLC

4.6.2.1 Antocianos

En la **Tabla 4.4** se muestran los resultados obtenidos para los compuestos antociánicos analizados en Monastrell y las nuevas VACF durante los tres años de estudio. Además la concentración de los antocianos individuales analizados se muestran en tres tablas (**Tabla 7.1, Tabla 7.2 y Tabla 7.3**) del Capítulo 8: ANEXOS de la presente Tesis Doctoral.

Con respecto a la suma total de antocianos, durante los años 2018 y 2019 se obtuvieron concentraciones superiores a las obtenidas durante el último año de estudio. Como establece Paladines-Quezada (2021), esta menor concentración pudo deberse a las condiciones climáticas ocurridas durante el año 2020. Según la **Figura 3.2** de Materiales y métodos, en el año 2020 hubo 13 días con temperaturas superiores a 35 ° C durante el mes de agosto, frente a los 7 días en la campaña 2018 o los 11 días durante la campaña 2019 pudiendo afectar a la síntesis de antocianos durante el período de maduración de estas variedades.

Por otro lado, durante el año 2018 la mayor concentración de antocianos la obtuvo la variedad MS10, en el año 2019 lo hizo la variedad MC98 junto con la variedad MS10 y en el último año de estudio, la obtuvo la variedad MC80 junto con MS10. Es remarcable el hecho de que en todas las añadas estudiadas, todas las variedades excepto MC4 obtuvieron concentraciones superiores a Monastrell. Sin embargo, aunque la variedad Monastrell obtuvo concentraciones similares a las obtenidas por otros autores en esta misma variedad (Moreno-Pérez, 2013; Paladines-Quezada, 2021), estos valores fueron tres veces inferiores a los obtenidos por ejemplo en MS10.

En relación al porcentaje de antocianos acilados, durante los tres años de estudio se siguió la misma tendencia, las nuevas VACF obtuvieron porcentajes de antocianos acilados muy superiores a los obtenidos por Monastrell; así fue la variedad MC4 la que obtuvo los porcentajes más altos (50.33%, 56.94% y 57.23%), triplicando prácticamente el valor obtenido por Monastrell (18.55%, 15.08% y 21.64%) durante los años 2018, 2019 y 2020. Los antocianos acilados tienen más estabilizadas sus formas coloreadas que los no acilados, teniendo especial importancia a nivel enológico ya que interviene en los procesos de estabilización del color del vino como la copigmentación intramolecular (Moreno-Pérez et al., 2013).

Como era de esperar, lo contrario ocurrió para el porcentaje de antocianos no acilados, donde fue Monastrell, la variedad que obtuvo los mayores porcentajes

alcanzando así 81.45 % en la campaña 2018, 84.92 % en la campaña del año 2019, y 78.36 % en la campaña del año 2020. Todas las nuevas variedades mostraron porcentajes muy inferiores a los obtenidos por Monastrell, destacando la variedad MC4 por tener el menor porcentaje, pudiéndose establecer que las nuevas variedades tuvieron el mismo comportamiento durante los tres años de estudio y por tanto un perfil antocianico diferente al de la variedad Monastrell.

Dentro de los antocianos no acilados nos encontramos con las formas dihidroxiladas (Di-OH) (cianidina y peonidina) y las formas trihidroxiladas (Tri-OH) (delfinidina, petunidina y malvidina). Desde el punto de vista enológico, los compuestos trihidroxilados también tienen especial importancia en la estabilidad del color (Koyama et al., 2018), en cambio los dihidroxilados tienen una menor contribución a esta estabilización.

En la campaña 2018 y 2019, la variedad Monastrell fue la que presentó un mayor porcentaje de antocianos Tri-OH y Di-OH (63.05 % - 18.40 % en 2018 y 68.56 % - 16.36 % en 2019) frente a MC4 que fue la variedad con menor porcentaje de ambos tipos de compuestos (46.43 % - 3.24 % en 2018 y 42.17 - 0.89 % en 2019). Con respecto a la campaña 2020, Monastrell junto con MC80 y MC98 tuvieron una media del 53 % de antocianos Tri-OH frente al 40 % analizado en la variedad MC4. Una posible explicación a estos resultados podría ser las condiciones climáticas sufridas en esta añada, en la que hubo ausencia de precipitaciones. Finalmente, con respecto al porcentaje de antocianos Di-OH en la campaña 2020, Monastrell volvió a presentar el mayor porcentaje de estos compuestos (24.63 %) y MC4 el que menos (2.41 %).

Las formas glucosiladas de los antocianos pueden estar aciladas por diferentes ácidos orgánicos, tales como el ácido acético o el ácido cumárico, dando lugar a los antocianos acetilados o cumarilados. Bien es sabido que un mayor porcentaje de antocianos acetilados (acetatos) proporcionará una mayor estabilidad al color del vino, ya que el grupo ácido que tienen unido es capaz de proteger, mediante impedimento estérico, a las moléculas de antocianos frente a reacciones de hidratación (Moreno-Pérez, 2013). En la campaña 2018, Monastrell obtuvo únicamente una concentración de 889 µg/g frente el 11225 µg/g de MS10, es decir, estaríamos hablando de un incremento del 92 %. En la campaña 2019, la variedad Monastrell también mostró una baja concentración de acetatos al igual que en la campaña 2020, mientras que las variedades MC80 y MC98 alcanzaron valores superiores a 10000 µg/g en las campañas 2019 y 2020.

En relación al porcentaje de antocianos cumarilados (cumaratos), las variedades MS10 y MC98 presentaron las mayores concentraciones de estos compuestos en la campaña 2018 (10557 y 5451 $\mu\text{g/g}$ respectivamente). Con respecto a la campaña 2019 y 2020, de nuevo fue la variedad MS10 la que mostró los valores más altos en comparación al resto de variedades, aunque hay que señalar que MC80 obtuvo una concentración de cumaratos inferior a Monastrell en la campaña 2018.

En último lugar, la **Tabla 4.4** muestra un análisis multifactorial realizado para los diferentes parámetros medidos de antocianos en el que se tuvo en cuenta los factores variedad, añada y sus interacciones. Tal y como se puede observar, la variedad resultó ser el factor de variación predominante para todos los parámetros analizados (antocianos totales, acilados, no acilados, Tri-OH, Di-OH, acetatos y cumaratos) obteniéndose en todos ellos valores superiores al 70 % de la variabilidad y llegando incluso hasta obtener un valor del 94.6 % en el caso de los acetatos. Aunque también existieron diferencias significativas en la añada y en la interacción variedad/añada, los valores correspondientes al porcentaje relativo a la variabilidad explicada no fueron tan altos como los obtenidos en el factor variedad. Estos resultados, sugieren la importancia que tienen la caracterización genética que tienen estas nuevas variedades pudiendo utilizar los parámetros analizados como posibles marcadores quimiotaxonómicos de las mismas (Gil-Muñoz et al., 2021).

		Ant. Totales ¹	% Acilados	% No acilados	% Tri-OH ²	% Di-OH ³	Acetatos ⁴	Cumaratos ⁵
2018	Monastrell	26604d ± 433	18.55e ± 0.74	81.45a ± 0.74	63.05a ± 0.89	18.40a ± 0.40	889.06d ± 35.02	3998.23c ± 229.06
	MC80	39007c ± 2715	27.73d ± 2.48	72.27b ± 2.48	57.00bc ± 4.54	15.27b ± 2.06	7592.72c ± 126.54	3151.58d ± 140.45
	MC98	52020b ± 1116	30.54c ± 0.26	69.46c ± 0.26	60.16ab ± 0.67	9.30d ± 0.52	10252.87b ± 199.71	5451.20b ± 70.42
	MS10	66464a ± 2512	33.35b ± 0.52	66.65d ± 0.52	54.49c ± 0.24	12.15c ± 0.29	11225.40a ± 587.64	10557.56a ± 553.57
	MC4	25510d ± 520	50.33a ± 0.94	49.67e ± 0.94	46.43d ± 1.19	3.24e ± 0.26	6835.96c ± 788.51	5866.47b ± 663.99
	p-value	***	***	***	***	***	***	***
2019	Monastrell	30185c ± 1870	15.08d ± 0.47	84.92a ± 0.47	68.56a ± 1.40	16.36a ± 1.76	874.14d ± 52.03	3397.24d ± 151.34
	MC80	47025b ± 3266	33.87c ± 0.44	66.13b ± 0.44	61.22b ± 0.22	4.91c ± 0.26	10355.93a ± 604.82	5128.71cd ± 565.24
	MC98	60841a ± 3417	35.23c ± 0.71	64.77b ± 0.71	60.21b ± 0.52	4.56c ± 0.22	11582.78a ± 584.55	8861.36b ± 601.23
	MS10	54925a ± 2747	39.68b ± 2.24	60.32c ± 2.24	52.83c ± 1.16	7.49b ± 1.09	7651.19b ± 342.13	12424.19a ± 551.55
	MC4	22657d ± 5206	56.94a ± 3.92	43.06d ± 3.92	42.17d ± 3.77	0.89d ± 0.15	6005.67c ± 1378.16	6532.67c ± 1930.56
	p-value	***	***	***	***	***	***	***
2020	Monastrell	30098b ± 3552	21.64d ± 1.78	78.36a ± 1.78	53.73b ± 1.08	24.63a ± 2.64	1537.10c ± 103.34	4580.56b ± 154.65
	MC80	45061a ± 2647	40.70c ± 0.81	59.30b ± 0.81	53.43b ± 0.31	5.87b ± 0.57	12372.65a ± 629.70	5472.62b ± 89.42
	MC98	35319b ± 3165	38.84c ± 0.63	61.16b ± 0.63	55.71a ± 0.66	5.45bc ± 0.04	7772.67b ± 668.52	5241.09b ± 421.49
	MS10	43826a ± 5312	52.16b ± 0.60	47.84c ± 0.60	44.25c ± 0.38	3.59cd ± 0.24	8039.16b ± 828.21	13703.77a ± 1633.06
	MC4	23224c ± 1601	57.23a ± 1.44	42.77d ± 1.44	40.36d ± 1.42	2.41d ± 0.07	1537.10c ± 103.34	4580.56b ± 154.65
	p-value	***	***	***	***	***	***	***
Análisis Multifactorial								
Variedad (V)		74,4 ***	84,7 ***	84,7 ***	71,8 ***	75,6 ***	94,6 ***	75,7 ***
Añada (A)		5,8 ***	10,2 ***	10,2 ***	18,0 ***	8,9 ***	3,1 ***	10,6 ***
V X A		16,4 ***	4,0 ***	4,0 ***	6,9 ***	13,8 ***	2,1 ***	11,4 ***

Tabla 4. 4 Caracterización antociánica mediante HPLC de las uvas de Monastrell y nuevas VACF durante las campañas 2018, 2019 y 2020.

Abreviaturas: ¹(Ant. Totales) Antocianos totales expresados en (µg/g Hollejo), ²(Tri-OH) porcentaje de antocianos trihidroxilados, ³(Di-OH) porcentaje de antocianos dihidroxilados, ⁴ Acetatos expresados en µg/g hollejo, y ⁵ Cumaratos expresados en µg/g hollejo. Los datos representan las medias ± desviación estándar. Diferentes letras indican diferencias significativas según el test LSD (p<0.05). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** (p < 0,001), 99%** (p< 0,01) y 95%* (p< 0,05). Los valores del análisis multifactorial están expresados en porcentaje.

4.6.2.2. Flavonoles

En la **Tabla 4.5**, se muestran los principales resultados en relación a la concentración de flavonoles analizados en las uvas de Monastrell y las nuevas VACF durante las campañas 2018, 2019 y 2020. También se muestran las concentraciones individuales de los flavonoles en la **Tabla 7.4** del Capítulo 8: ANEXOS de la presente Tesis.

Tal y como se observa en la **Tabla 4.5**, se han analizado los flavonoles totales, los flavonoles Mono-OH (monohidroxilados) como el kampferol, los flavonoles Di-OH (dihidroxilados) como la quercetina e isoramnetina y los compuestos Tri-OH (trihidroxilados) como la mirecitina, laricitrina y siringetina.

		Flavonoles Totales	¹ Mono-OH	² DI-OH	³ TRI-OH
2018	Monastrell	971.08b ± 44.67	26.33b ± 5.58	390.29b ± 20.81	554.46b ± 22.51
	MC80	541.07d ± 77.49	6.99c ± 2.77	182.53c ± 13.28	351.54c ± 61.56
	MC98	781.09c ± 73.36	20.67b ± 2.10	241.44c ± 46.48	518.98b ± 27.52
	MS10	2383.58a ± 151.67	72.88a ± 6.51	921.21a ± 70.83	1389.49a ± 77.26
	MC4	569.90d ± 41.42	11.37c ± 1.21	216.42c ± 15.76	342.12c ± 32.23
	p-value	***	***	***	***
2019	Monastrell	1101.39ab ± 62.78	26.18a ± 8.73	484.49a ± 23.85	590.72b ± 31.64
	MC80	1073.06ab ± 227.70	7.40b ± 2.11	437.33ab ± 84.50	628.33ab ± 141.79
	MC98	865.56bc ± 75.66	3.63b ± 1.03	333.84bc ± 46.05	528.10b ± 28.97
	MS10	1287.08a ± 186.80	10.15b ± 2.70	531.38a ± 93.41	745.55a ± 93.51
	MC4	608.34c ± 77.92	4.68b ± 1.08	271.16c ± 49.22	332.50c ± 30.52
	p-value	**	***	**	**
2020	Monastrell	1139.46bc ± 143.25	63.44b ± 12.95	375.30b ± 50.94	700.72bc ± 80.60
	MC80	1279.85b ± 131.70	56.68b ± 8.97	405.98b ± 60.28	817.19ab ± 63.04
	MC98	919.81c ± 32.46	46.79b ± 8.67	287.16b ± 16.25	585.87c ± 16.49
	MS10	1743.89a ± 382.03	111.14a ± 39.57	691.37a ± 157.31	941.38a ± 186.09
	MC4	989.49bc ± 64.81	43.14b ± 2.03	318.24b ± 18.45	628.11c ± 45.54
	p-value	**	*	***	**
Análisis multifactorial					
	Variedad	63.24 ***	27.51 ***	69.75 ***	56.94 ***
	Añada	4.06 ***	50.14 ***	0.32 *	6.85 ***
	V X A	26.23 ***	13.18 ***	22.83 ***	30.51 ***

Tabla 4. 5 Caracterización de flavonoles (µg/g hollejo) mediante HPLC de las uvas de Monastrell y nuevas VACF durante las campañas 2018, 2019 y 2020. Abreviaturas: ¹Mono-OH: Flavonoles monohidroxilados, ²Di-OH: Flavonoles dihidroxilados, ³Tri-OH: Flavonoles trihidroxilados. Los datos representan las medias ± desviación estándar. Diferentes letras indican diferencias significativas según el test LSD (p<0.05). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** (p < 0,001), 99%** (p < 0,01) y 95%* (p < 0,05). Los valores del análisis multifactorial están expresados en porcentaje.

La campaña 2018 destacó por las altas concentraciones encontradas en la variedad MS10, alcanzando unos valores de 2283 µg/g hollejo de flavonoles totales, frente a los 541 µg/g hollejo obtenidos en MC80 o los 569.90 µg/g hollejo obtenidos en MC4, que fueron las variedades que obtuvieron los valores más bajos. La variedad Monastrell obtuvo una concentración superior al resto de nuevas variedades (MC80, MC98 y MC4), llegando a los 971 µg/g hollejo. Con respecto a los compuestos Mono, Di y Tri-OH, MS10 siguió destacando por su alta concentración, mientras que MC80 lo hizo por ser la variedad con las concentraciones más bajas de todos estos compuestos. Otros autores como Ruiz-García et al. (2013) encontraron un 85 % menos de flavonoles en diferentes clones de Monastrell en comparación a nuestros valores, sugiriendo que además del factor variedad, el factor clon también puede ser un factor determinante en la variabilidad encontrada.

En relación a la campaña 2019, la variedad MS10 volvió a ser la variedad que destacó por sus altas concentraciones en flavonoles (1287 µg/g hollejo) que fueron superiores al resto de variedades, sin embargo, MC4 fue la variedad con la concentración más bajas junto con MC98. Estas diferencias interanuales pueden deberse al hecho de que en 2019 se llevó a cabo una vendimia más temprana. Así, Monastrell obtuvo una concentración (1101 µg/g hollejo) bastante similar a la obtenida por MS10 y similar a la campaña anterior. Autores como Moreno-Pérez (2013) encontraron en la variedad Monastrell cultivada en diferentes zonas (Cañada del judío, Albatana, Montealegre y Chaparral) o Chen et al. (2020) en la variedad Cabernet Sauvignon valores muy similares a los encontrados por nosotros.

Finalmente, en la campaña 2020, MS10 volvió a ser la variedad con mayor concentración de flavonoles, destacando también por su alta concentración en compuestos Mono, Di y Tri-OH. Por otro lado, como ya ocurrió en las añadas anteriores, MC4 junto con MC98 fueron las variedades con menor concentración de estos compuestos. Como se comentó al inicio de este capítulo, las altas concentraciones de flavonoles favorecerán el proceso de copigmentación durante la elaboración del vino, dándole una mayor estabilidad al color en los vinos tintos jóvenes.

Por último se realizó un análisis multifactorial para comprobar que efecto tenía la variedad, la añada o la interacción entre ambos sobre los resultados obtenidos para este tipo de compuestos fenólicos. Los resultados mostraron como la variedad fue el factor predominante en el caso de los flavonoles totales, los Di-OH y los Tri-OH con porcentajes de 63.20 %, 69.75 % y 56.94 % respectivamente. Estos resultados confirmaron lo obtenido por otros autores como Barcia et al. (2014) quienes consideran

que el perfil de los flavonoles es una característica intrínseca de la variedad. Sin embargo, para los compuestos Mono-OH, fue el factor añadida el que más influyó al tener un alto porcentaje (63,20 %), aunque la interacción variedad/añada también tuvo (26,23 %) una importancia relativa, pudiendo influir en cierto modo en la concentración obtenida para estos compuestos en las diferentes variedades.

4.6.2.3 Proantocianidinas

Los principales parámetros cromatográficos para el análisis de PAs, tanto en los hollejos como en las semillas de Monastrell y las nuevas VACF se muestran en la **Tabla 4.6 y 4.7**. En esta sección, se hablará de la concentración total de PAs, del grado medio de polimerización (gMP), el porcentaje de galoilación (GAL), así como de las concentraciones totales de dos compuestos importantes, la epigallocatequina (EGC) y la epicatequina-3-orto-galato (EPI-GAL).

Además en la **Tabla 7.5** del Capítulo 8: ANEXOS se muestran las concentraciones individuales de PAs presentes en los hollejos y en la **Tabla 7.6** las concentraciones individuales de las PAs analizadas en las semillas.

4.6.2.3.1 Parámetros relacionados con las proantocianidinas en los hollejos

De acuerdo a los resultados obtenidos (**Tabla 4.6**), en la campaña 2018, MC80 fue la variedad que una mayor concentración de PAs en los hollejos de la uva, mientras que Monastrell; MS10 y MC4 obtuvieron 50 % menos de PAs totales. En la campaña 2019, al vendimiar antes las nuevas variedades, esto dio lugar a la obtención de una mayor cantidad de PAs que el año anterior, así MC80, MC98 y MS10 obtuvieron diferencias significativas con respecto a la variedad Monastrell. Además autores como Paladines-Quezada (2021) y Hernández-Jiménez et al. (2009) también constataron una mayor concentración de PAs en uvas más inmaduras. Finalmente, en la campaña 2020, MC80 y MC98 fueron las variedades con las mayores concentraciones de PAs, obteniendo valores que duplicaban a los obtenidos por la variedad Monastrell, MS10 y MC4.

Los resultados obtenidos en la variedad Monastrell son los esperados, puesto que otros autores encontraron valores similares en esta variedad. Por ejemplo, Paladines-Quezada (2021) encontró concentraciones de entre 6000 y 7000 µg/g hollejo en uvas Monastrell cultivadas en la zona de Jumilla o Moreno-Pérez (2013) quien mostró una concentración de 8600 µg/g hollejo en uvas de Monastrell cultivadas en la Cañada del Judío. Sin embargo, otros autores como Hernández-Jiménez et al. (2009) encontraron valores inferiores en esta misma variedad (2000 µg/g hollejo) cultivada en en zona de

Cehegín. Con respecto a las nuevas variedades, destacar las altas concentraciones obtenidas en nuestros resultados, ya que otros autores como Hernández-Jiménez et al., (2009) también analizaron concentraciones de PAs en hollejos en varios cruces de Monastrell x Syrah y los resultados mostrados apenas superaron los 10000 µg/g hollejo.

Otro parámetro analizado fue el gMP, para este parámetro, en la campaña 2018, Monastrell y MC4 fueron las variedades que alcanzaron los valores más altos (24.99 y 25.51 respectivamente) en comparación con el valor mostrado por MS10, que fue la variedad con el valor más bajo (14.88). Este parámetro representa la relación molar entre la suma de todas las unidades flavan-3-ol obtenidas por floroglucinólisis y la suma de las unidades terminales. El gMP es un parámetro que junto con el % GAL, juegan un papel importante en el carácter astringente de los vinos (Lisjak et al., 2020), siendo necesario llegar a un equilibrio entre ellos para que los vinos sean considerados de calidad. Con respecto a la campaña 2019, contrariamente a lo que ocurrió en la anterior añada, Monastrell obtuvo el menor gMP (6.95) y MC80 fue la variedad que obtuvo el valor más alto (23.99). Finalmente, en la campaña 2020 las variedades MC80 y MC4 fueron las que obtuvieron los valores más altos de gMP y la variedad MC98 la que mostró el valor más bajo.

El % GAL está relacionado con la cantidad de unidades galoiladas presentes en el hollejo. En la campaña del año 2018, Monastrell junto con la variedad MS10 obtuvieron los mayores porcentajes, 2.5 % aproximadamente. Sin embargo, este porcentaje se vio incrementado en la campaña 2019, sobre todo en la variedad Monastrell, la cual alcanzó un valor de 9.19 % en contraposición a las nuevas variedades. Es evidente que las condiciones climáticas de ese año, afectaron a los valores obtenidos, como veremos más adelante en el análisis multifactorial realizado. Finalmente, en la campaña 2020, los porcentajes volvieron a ser menores que los obtenidos en las añadas anteriores, alcanzando el mayor porcentaje la variedad MS10 (2.05 %), mientras que la variedad MC4 junto con Monastrell, obtuvieron los menores porcentajes 0.87 y 0.89 % respectivamente.

		¹ PAs. Totales	² gMP	³ % GAL	⁴ EGC μ M	⁵ EPI-GAL μ M
2018	Monastrell	10777c \pm 381	24.99a \pm 2.66	2.33a \pm 0.11	834.25d \pm 186.77	67.36bc \pm 11.30
	MC80	19346a \pm 1880	20.64ab \pm 2.11	1.78b \pm 0.01	3156.06a \pm 83.80	117.90a \pm 1.88
	MC98	16660b \pm 1253	18.35bc \pm 1.62	1.70b \pm 0.24	2282.43b \pm 55.18	93.62ab \pm 14.31
	MS10	10477c \pm 1940	14.88c \pm 1.73	2.74a \pm 0.44	1375.11c \pm 169.01	94.47ab \pm 24.18
	MC4	11249c \pm 349	25.51a \pm 4.53	1.76b \pm 0.34	1246.08c \pm 77.20	59.36c \pm 14.57
	p-value	***	**	**	***	**
2019	Monastrell	9047b \pm 790	6.95d \pm 0.53	9.19a \pm 0.12	584.49c \pm 91.07	243.86a \pm 7.31
	MC80	21541a \pm 3688	23.99a \pm 4.49	3.08b \pm 0.77	3109.34a \pm 377.53	199.24b \pm 32.97
	MC98	19501a \pm 2810	16.22b \pm 1.73	1.67c \pm 0.30	1760.87b \pm 402.17	71.64c \pm 2.06
	MS10	22541a \pm 3583	13.71bc \pm 0.96	1.87c \pm 0.05	1602.40b \pm 121.21	94.93c \pm 5.61
	MC4	7080b \pm 388	10.34cd \pm 2.88	1.53c \pm 0.18	366.17c \pm 83.52	20.19d \pm 3.21
	p-value	***	***	***	***	***
2020	Monastrell	8445b \pm 1051	16.83b \pm 1.65	0.89c \pm 0.03	898.06b \pm 165.10	31.41c \pm 4.62
	MC80	18196a \pm 581	22.39a \pm 0.66	1.72b \pm 0.07	2728.24a \pm 180.95	94.78a \pm 6.36
	MC98	19435a \pm 2580	14.07b \pm 1.58	1.02c \pm 0.20	2515.02a \pm 314.21	66.73b \pm 12.82
	MS10	8579b \pm 381	15.85b \pm 1.01	2.05a \pm 0.30	1091.97b \pm 19.92	58.02b \pm 9.19
	MC4	10506b \pm 712	20.91a \pm 2.60	0.87c \pm 0.08	955.30b \pm 188.34	26.17c \pm 1.30
	p-value	***	***	***	***	***
Análisis Multifactorial						
	Variedad	60.71 ***	23.06 ***	25.87 ***	88.48 ***	33.58 ***
	Añada	5.27 ***	23.83 ***	20.96 ***	1.78 ***	23.17 ***
	V X A	26.26 ***	41.07 ***	51.7 ***	6.41 ***	40.00 ***

Tabla 4. 6 Caracterización de proantocianidinas mediante HPLC en hollejos de Monastrell y las nuevas VACF durante las campañas 2018, 2019 y 2020. Abreviaturas: ¹ (PAs.Totales) Concentración de proantocianidinas totales expresados en μ g/g hollejo, ² (gMP) grado medio de polimerización, ³ (% GAL) porcentaje de galoilación, ⁴ (EGC) concentración de epigallocatequina de extensión expresada en micromoles, ⁵ (EPI-GAL) concentración de epicatequina-3-orto-galato de extensión expresada en micromoles. Los datos representan las medias \pm desviación estándar. Diferentes letras indican diferencias significativas según el test LSD ($p < 0.05$). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** ($p < 0,001$), 99%** ($p < 0,01$) y 95%* ($p < 0,05$). Los valores del análisis multifactorial están expresados en porcentaje.

Con respecto a las concentraciones EGC, un compuesto que solo encontramos en el hollejo, todas las nuevas variedades presentaron concentraciones superiores a Monastrell, llegando incluso a triplicarla, como fue el caso de MC80 con una concentración de 3156 μM . La presencia de la subunidad trihidroxilada flavan-3-ol, epigallocatequina, puede reducir la percepción gruesa de astringencia (McRae et al., 2013) y además estudios sobre la clasificación de la calidad de los vinos tintos jóvenes han indicado que cuanto mayores sean las proporciones de subunidades de PAs derivados de la piel en el vino, mayor será la percepción de calidad (Gil-Muñoz et al., 2017a). Con respecto a los valores obtenidos durante la campaña 2019, las nuevas VACF volvieron a sobrepasar los valores encontrados en Monastrell, exceptuando la variedad MC4 que obtuvo valores inferiores. MC80 fue de nuevo la variedad con mayor concentración, y lo mismo ocurrió en la campaña 2020.

Estos resultados sugieren, que estamos ante unas variedades que no solo se caracterizan por tener grandes cantidades de PAs, sino que además estaríamos hablando de variedades con grandes habilidades enológicas para la obtención de vinos de calidad.

Finalmente, es bien sabido que la EPI-GAL está en una mayor concentración en las semillas que en las pieles (He et al., 2008), de modo que este compuesto también aportará, en mayor o menor medida, trazas de astringencia en el vino. En la campaña 2018, MC80 alcanzó la mayor concentración (117.90 μM) de este compuesto al igual que ocurrió en el año 2020 (94.78 μM). En cambio en 2019, fue la variedad Monastrell la que obtuvo una mayor concentración de este compuesto (243.86 μM). Los resultados sugieren que el adelanto de la fecha vendimia supuso una disminución en la concentración de este compuesto en las nuevas variedades. En los tres años de estudio la menor concentración de EPI-GAL se encontró en la variedad MC4.

Finalmente, el análisis multivariable mostró como la variedad afectó un 60.71 % a la concentración total de PAs, sin embargo, la concentración de EGC tuvo un efecto todavía mayor en la variedad, alcanzando un 88.48 %. Por otro lado, el gMP, % GAL y la concentración de EPI-GAL estuvo más influenciada por la interacción entre añada y variedad (40-50 %).

4.6.2.3.2 Parámetros relacionados con las proantocianidinas en las semillas

La **Tabla 4.7** muestra los principales resultados obtenidos en la cuantificación de PAs en las semillas de Monastrell y las nuevas variedades. Destacar, que en las semillas

no hay presencia del compuesto EGC ya que éste solo se encuentra presente en los hollejos de las uvas como ya se ha mencionado anteriormente.

Con respecto a la concentración total de PAs analizadas en las semillas, durante la campaña 2018 las variedades MC80, MC98 y MC4 destacaron por sus altas concentraciones que rondaron los 49000 µg/g frente a los 30000 µg/g obtenidos en Monastrell. Durante la campaña 2019 la tendencia fue la misma, y todas las nuevas VACF obtuvieron unas concentraciones que oscilaron entre los 49000 y 51000 µg/g frente a los 41600 µg/g encontrados en Monastrell. Finalmente, en la campaña 2020, la variedad MC80 fue la que destacó por su mayor concentración de estos compuestos (52400 µg/g). Sin embargo, la variedad Monastrell no solo fue la variedad con la menor concentración sino que además, sus valores fueron la mitad de los obtenidos en el año anterior pero más similares a los obtenidos en el primer año de estudio. A pesar de estos resultados, otros autores han encontrado concentraciones inferiores en semillas de Monastrell, concretamente Moreno-Pérez (2013) obtuvo concentraciones de 20000 µg/g al igual que los resultados mostrados por Hernández-Jiménez et al. (2009) en esta misma variedad. No obstante, nuestros resultados fueron similares a los encontrados por Paladines-Quezada (2021) en donde una Monastrell ubicada en una finca comercial de Jumilla alcanzó los 47000 µg/g.

En relación al gMP durante el primer y el tercer año de estudio, las variedades Monastrell y MC4 fueron las que destacaron por tener los valores más altos (entre 6-8), en cambio en la campaña del año 2019 solo fue la variedad MC4. Por otro lado, las variedades MC80, MC98 y MS10 obtuvieron un valor medio de 5.5 en las tres campañas de estudio.

Siguiendo con los parámetros analizados, las variedades Monastrell, MC80 Y MS10 fueron las que tuvieron los valores más altos con respecto al % GAL durante el año 2018, mientras que las variedades MC98 y MC4 fueron las que obtuvieron el porcentaje más bajo. Con respecto a la campaña 2019, fueron solo las variedades Monastrell y MC80 las que obtuvieron los mayores porcentajes, y en el último año, solo Monastrell presentó el mayor % GAL (15.81 %), mientras que la variedad MC4 fue la que lo obtuvo el valor más bajo (10.98 %).

El último parámetro analizado fue la EPI-GAL, que como se ha comentado anteriormente, sus concentraciones son superiores en las semillas que en los hollejos. De este modo, en las campañas 2018, la variedad MC80 fue la que alcanzó una mayor concentración (2129 µM), mientras que la variedad Monastrell fue la que obtuvo las concentraciones más bajas (983 µM). En la campaña 2019, la variedad MC80 volvió a

destacar por su alta concentración en EPI-GAL, llegando hasta los 2287 μM , sin embargo, durante este año, las variedades MS10 y MC4 fueron las que obtuvieron una menor concentración ($\pm 1000 \mu\text{M}$). Por último, durante la campaña 2020 la respuesta fue diferente, en este caso fue la variedad MS10 la que obtuvo una mayor concentración de este compuesto (1926 μM), mientras que Monastrell obtuvo la menor concentración (1098 μM).

Finalmente, el análisis multifactorial mostró como el factor añada afectó con porcentajes de entre 50 y 59 % a todos los parámetros estudiados en las PAs de las semillas (PAs totales, gMP, % GAL y EPI-GAL). Sin embargo, cabe destacar, el porcentaje obtenido en la interacción variedad por añada (41.23 %) con respecto a la concentración de EPI-GAL pudiendo esto afectar a los resultados obtenidos..

		¹ PAs. Totales	² gMP	³ % GAL	⁴ EPI-GAL μM
2018	Monastrell	30066c \pm 1205	7.28a \pm 0.77	14.94a \pm 0.63	983.21d \pm 165.01
	MC80	49511a \pm 2370	5.89b \pm 0.18	15.09a \pm 1.05	2129.50a \pm 170.14
	MC98	45803a \pm 2464	5.83b \pm 0.80	11.21b \pm 0.17	1420.09c \pm 46.96
	MS10	38289b \pm 2568	5.28b \pm 0.65	16.36a \pm 1.33	1873.92b \pm 24.36
	MC4	49316a \pm 7966	7.89a \pm 0.69	11.95b \pm 0.35	1314.84c \pm 9.64
	p-value	***	**	***	***
2019	Monastrell	41656b \pm 4806	5.94b \pm 0.57	14.07a \pm 0.65	1485.33b \pm 187.48
	MC80	49876a \pm 3661	5.07c \pm 0.30	14.29a \pm 0.76	2287.14a \pm 145.91
	MC98	51568a \pm 2318	5.18c \pm 0.20	10.15b \pm 0.57	1466.75b \pm 68.39
	MS10	51690a \pm 3265	5.79b \pm 0.17	11.18b \pm 0.75	1010.92c \pm 182.04
	MC4	49023a \pm 2776	6.86a \pm 0.25	11.03b \pm 0.16	1099.22c \pm 57.22
	p-value	*	***	***	***
2020	Monastrell	28573c \pm 4878	6.82a \pm 0.29	15.81a \pm 0.77	1098.72c \pm 154.38
	MC80	52403a \pm 2576	5.28b \pm 0.25	13.73b \pm 0.40	1503.88b \pm 108.32
	MC98	42209b \pm 4485	5.82b \pm 0.35	13.30b \pm 0.24	1707.61ab \pm 197.64
	MS10	41982b \pm 5380	5.49b \pm 0.17	14.33b \pm 0.10	1926.62a \pm 250.77
	MC4	47415ab \pm 5622	6.55a \pm 0.47	10.98c \pm 0.95	1144.81c \pm 145.32
	p-value	**	***	***	***
Análisis Multifactorial					
	Variedad	56.36 ***	59.55 ***	55,93 ***	49.98 ***
	Añada	13.35 ***	9.53 ***	14,97 ***	0.66 ***
	V X A	12.65 **	12.87 ***	21,26 ***	41.23 ***

Tabla 4. 7 Caracterización de proantocianidinas mediante HPLC en semillas de Monastrell y las nuevas VACF durante las campañas 2018, 2019 y 2020. Abreviaturas: ¹ (PAs. Totales) Concentración de proantocianidinas totales expresados en $\mu\text{g/g}$ semilla, ² (gMP) grado medio de polimerización, ³ (GAL) porcentaje de galoilación, ⁴ (EPI-GAL) concentración de epicatequina-3-orto-galato de extensión expresada en micromoles. Los datos representan las medias \pm desviación estándar. Diferentes letras indican diferencias significativas según el test LSD ($p < 0.05$). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** ($p < 0,001$), 99%** ($p < 0,01$) y 95%* ($p < 0,05$). Los valores del análisis multifactorial están expresados en porcentaje.

4.6.2.3.3 Distribución de masas moleculares de proantocianidinas en hollejos y semillas.

Tras el estudio de PAs en hollejos y semillas de uva en Monastrell y las nuevas variedades mediante floroglucinolisis, se realizó un análisis de masas moleculares mediante cromatografía de permeación en gel (GPC), el cual es un método de separación basado en el tamaño y, por lo tanto, la masa molecular de los analitos está determinada por su tiempo de elución en relación con los estándares de masa molecular apropiados. Es fundamental que los analitos no interactúen con la fase estacionaria de la columna, o se producirán errores en la determinación de la masa molecular (Bindon et al., 2010). En las gráficas se puede observar el perfil de proantocianidinas poliméricas (eluídas entre 10-12 min), oligoméricas (eluídas entre 12 y 14 min) y monoméricas (eluídas entre 14 y 16 min).

En la **Figura 4.3** se pueden observar los diferentes perfiles de Monastrell y las nuevas variedades en los hollejos y semillas estudiados durante las tres campañas consecutivas. Los perfiles de los años 2019 y 2020 se encuentran mejor definidos que los del 2018. No obstante, con respecto al análisis de masas moleculares realizado en los hollejos, se pudo observar como la mayor área correspondió a la fracción de las PAs monoméricas en las tres campañas de estudio, siendo por tanto estos compuestos los predominantes.

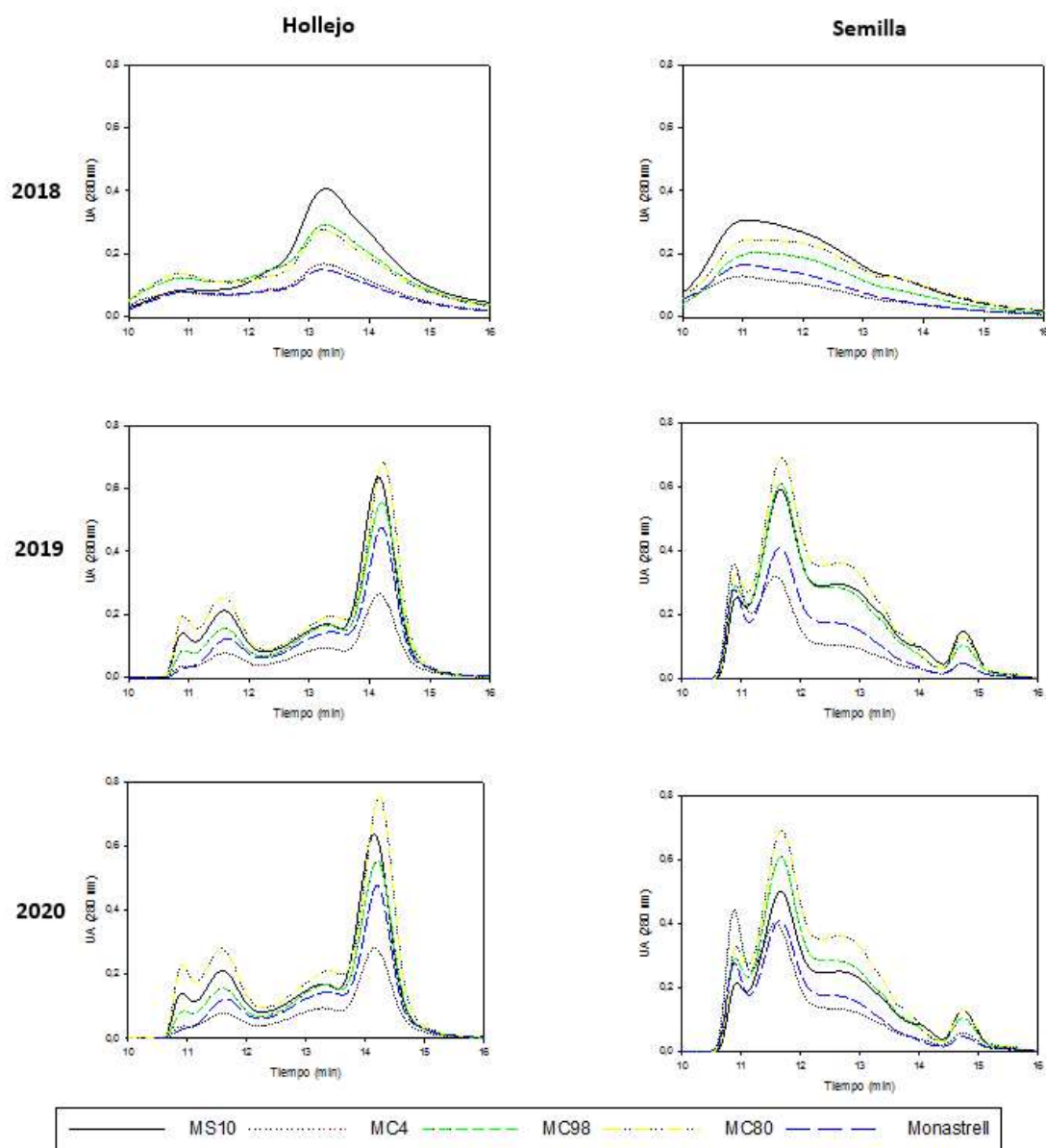


Figura 4. 3 Distribución de masas moleculares de las proantocianidinas de hollejos y semillas en Monastrell y las nuevas VACF durante las campañas 2018, 2019 y 2020.

Así, en la campaña 2018, la variedad MS10 fue la que presentó las mayores áreas seguida de las variedades MC98 y MC80, mientras que las variedades MC4 y Monastrell obtuvieron una menor área total. Estos resultados no coinciden con los anteriormente comentados en la **Tabla 4.6**, ya que según los resultados obtenidos por los análisis de fluoroglucinólisis, la variedad MC80 debería ser la que mayor área presentara. Sin embargo, según autores como Jiménez-Martínez et al. (2019) o Bautista-Ortín et al. (2014) establecieron que hay ciertos taninos que no pueden ser despolimerizados, y por lo tanto no pueden cuantificarse con el método de la fluoroglucinólisis. Además, Gil Cortiella et al. (2020) también encontró contradicciones cuando comparó los resultados

de GPC con los valores obtenidos en floroglucínólisis, en la variedad Carménère, afirmando que hay ocasiones en el que las variedades presentan una mayor cantidad de polímeros complejos que no pueden hidrolizarse, y no pueden por tanto conducir a aductos simples y cuantificables después de dicha hidrólisis, y en consecuencia no se pueden observar en el análisis de floroglucínólisis. En la siguiente campaña (2019), las variedades MC80 y MS10 obtuvieron la mayor área en la fracción de PAs monoméricas, oligoméricas y poliméricas coincidiendo los resultados con los anteriormente comentados en la **Tabla 4.6**. Por otro lado, destacar que la variedad Monastrell presentó una mayor área que la variedad MC4. Finalmente, en la campaña 2020, de nuevo las variedades MC80 y MS10 volvieron a presentar las mayores áreas, seguidas de la variedad Monastrell y MC4 fue de nuevo la que presentó el área menor.

También se realizó el análisis de masas moleculares en PAs analizadas en las semillas. En este caso, la fracción predominante fue la correspondiente a las PAs oligoliméricas. Con respecto a las variedades, de igual forma que en los hollejos, la variedad MS10 fue la que obtuvo una mayor área durante la campaña 2018, seguida de MC80, MC98, Monastrell y MC4. En relación a la campaña 2019, la variedad MC80 fue la que destacó con por su mayor área seguida de MS10 y MC98, las cuales presentaron áreas similares. Por otro lado, Monastrell y MC4 fueron las variedades con menor área. Finalmente, durante la campaña 2020 se obtuvieron los mismos resultados que en la campaña 2019.

4.6.3 Análisis de componentes principales en las uvas

Tras el estudio exhaustivo realizado sobre la caracterización fenólica en la uva de Monastrell y las nuevas VACF, se realizó un análisis de componentes principales (ACP) para comprobar si se podían diferenciar las variedades con los resultados obtenidos. Los datos utilizados en este análisis corresponden con los siguientes parámetros analizados durante las tres campañas de estudio: antocianos (Ant) (Antocianos, Tri-OH, Di-OH, acetatos y cumaratos), flavonoles (Flav) (Flavonoles, Mono-OH, Di-OH y Tri-OH), proantocianidinas en los hollejos (H) (PAs, gMP, %GAL, EGC y EPI-GAL) y proantocianidinas en las semillas (S) (PAs, gMP, %GAL, EPI-GAL).

Se obtuvieron 18 componentes principales de los cuales el primero explicó el 31.87 % de la varianza, y el segundo el 24.15 %, sumando entre ellos el 56.02 %. Cinco de estos componentes tuvieron eigenvalores mayores o iguales a 1.

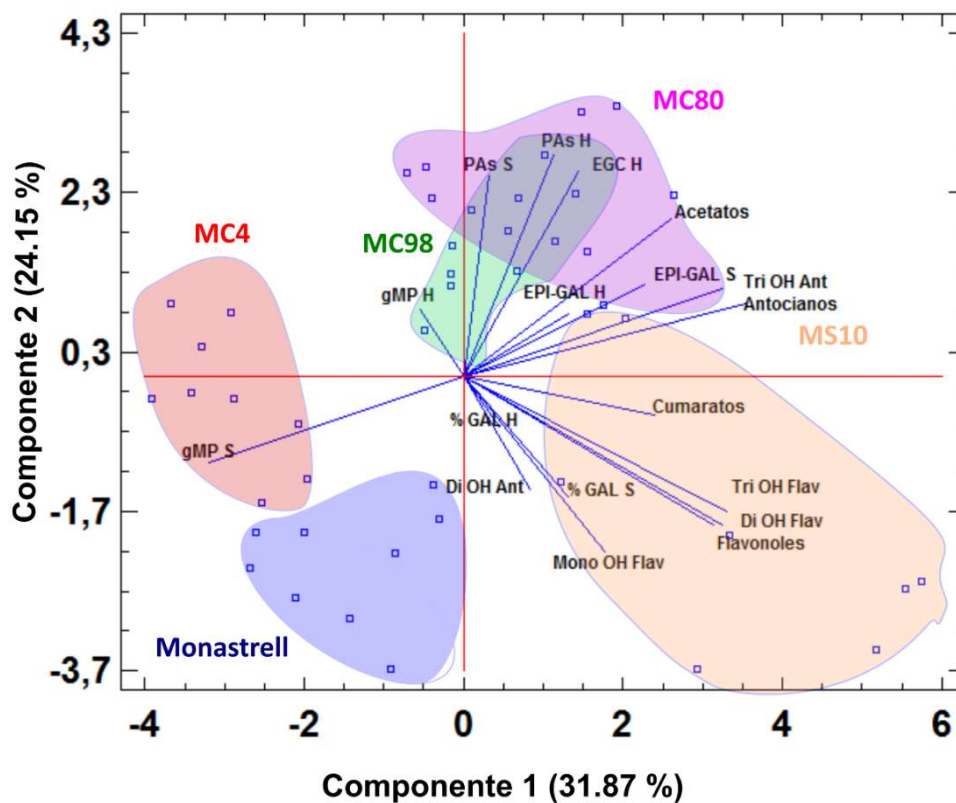


Figura 4. 4 Análisis de componentes principales en uvas de Monastrell y las nuevas VACF durante las campañas 2018, 2019 y 2020.

Como se puede observar en la **Figura 4.4**, la separación entre variedades con respecto al componente 1, fue mucho más significativa que la separación en el componente 2. Las proyecciones generadas mostraron una clara diferenciación entre todas las variedades, excepto en las variedades MC98 y MC80 en las que existió cierto solapamiento.

Por un lado, podemos observar como las variedades de uva Monastrell y MC4 están situadas en la parte negativa de la componente 1, siendo por tanto la variedad MC4 la más parecida a la variedad Monastrell. Por otra parte, en la parte positiva de la componente 1 se encuentran situadas las variedades MS10, MC98 y MC80, estando más alejadas de Monastrell y siendo por tanto más diferentes a ésta.

Así mismo, se analizó la aportación de cada variable en la proyección de los componentes principales. En el caso de las variedades MC4 y Monastrell se puede observar como gMP de las semillas tuvo una gran influencia en la proyección generada en estas dos variedades. Estos resultados confirman lo anteriormente comentado en el apartado **4.6.2.3.2** de este capítulo.

Por otra parte, con respecto a las variedades MC98 y MC80, la similitud que se ha encontrado a lo largo del capítulo con respecto a las mismas, también se puede observar en la **Figura 4.4** del ACP. Aunque parece ser que la variedad MC98 se encontró más influida por el gMP de los hollejos, también mostró ciertas similitudes con la variedad MC80 viéndose influenciada ambas variedades por las variables EGC, acetatos así como por la EPI-GAL tanto de semillas como de hollejos. Estos resultados también coinciden con los anteriormente comentados, sobre todo en las campañas 2018 y 2020.

Finalmente, la variedad MS10, su proyección se vio claramente influenciada por la concentración de flavonoles, tanto Mono, Di como Tri-OH, el % GAL tanto de hollejo como de semilla, y los antocianos del tipo cumarato como también se ha podido observar en los anteriores apartados comentados en este capítulo.

4.7 Vino

4.7.1 Parámetros físico-químicos en los vinos

La **Tabla 4.8** muestra los principales parámetros físico-químicos analizados en los vinos de Monastrell y las nuevas VACF al final de fermentación alcohólica.

Como se puede observar con respecto al grado alcohólico de los vinos, Monastrell alcanzó la misma graduación alcohólica durante las tres campañas objeto de estudio, obteniendo una media de 13.71 % v/v. Sin embargo, la decisión de vendimiar antes o después las nuevas variedades, hizo que su comportamiento fuera diferente en las tres campañas de estudio. En general, se puede observar como la graduación alcohólica de las nuevas variedades en la campaña 2019 fue inferior a la campaña 2018 y 2020, ya que en esta campaña fue en la que se vendimió más tempranamente. Concretamente, durante la campaña 2018, la variedad MS10 alcanzó un mayor grado alcohólico (14.41 %) a pesar de ser la variedad que primero se vendimó, mientras que MC4 fue la variedad con menor grado alcohólico (11.66 %). Durante la campaña 2019, Monastrell fue la variedad con mayor grado (13.70 %) mientras que otras variedades como MC4 llegó a obtener hasta cuatro grados menos, obteniendo únicamente una graduación alcohólica de 9.65 %. Finalmente, en la campaña 2020, la variedad con mayor grado fue MC98, alcanzando una graduación alcohólica de 14.39 %. Y una vez más MC4 fue la variedad con menor grado alcohólico (11.45 %). Como se ha podido observar a lo largo de esta Tesis Doctoral, las concentraciones de compuestos fenólicos en esta variedad son similares a Monastrell, pero el alcohol acumulado en sus vinos es mucho menor que el obtenido en vinos de Monastrell, a pesar de completar tanto la madurez fenólica como

la tecnológica, por tanto como esta variedad sería una buena candidata para la elaboración de vinos de baja graduación alcohólica.

En relación a la acidez total obtenida en los vinos durante las tres campañas de estudio, hemos de decir que tanto en los vinos de Monastrell como en el de las nuevas VACF, ésta fue corregida con ácido tartárico al comienzo de la elaboración. Por tanto, cómo se puede observar en la **Tabla 4.8**, durante la campaña 2018 los valores para todos los vinos estuvieron en torno a 8 g/L y no se obtuvieron diferencias significativas entre las variedades, en la campaña 2019, los valores oscilaron entre 6.6 y 8.6, mientras que en la campaña 2020 los valores rondaban los 7 g/L, exceptuando en el caso de la variedad MC98 que apenas superó los 4.53 g/L. El motivo de este último resultado, se debe a que cuando se analizó la acidez de los vinos, la variedad MC98 ya había realizado espontáneamente la fermentación maloláctica y por lo tanto su acidez total era mucho menor al resto de las variedades. Como los valores de pH están directamente relacionados con la acidez total, estos rondaron valores entre 3.3 y 3.4 durante las tres campañas de estudio, exceptuando de nuevo el valor alcanzado por la variedad MC98 en la campaña 2020 que obtuvo un valor de 3.94 debido a su falta de acidez en los vinos.

Otro de los parámetros que determinan la calidad o sanidad de un vino es la acidez volátil, ya que cuando se observan incrementos en este parámetro se puede considerar como un indicador del deterioro del vino (Godden et al., 2015). Durante la campaña 2018, las nuevas variedades obtuvieron una media de 0.38 g/L, exceptuando la variedad MC4 que fue la variedad que obtuvo la menor acidez volátil (0.26 g/L), en cambio Monastrell fue la variedad que obtuvo los valores más altos, alcanzando un valor de 0.52 g/L. No obstante, estos valores se encuentran dentro de los valores normales establecidos por la OIV que permite concentraciones de hasta 1,2 g/L de ácido acético en vinos tintos. Como se puede observar en la **Tabla 4.8** las concentraciones obtenidas en la campaña 2019 fueron muy similares a los anteriores (2018). Finalmente, en la campaña 2020 estas concentraciones fueron algo inferiores, destacando el valor obtenido por la variedad MC80 (0,20 g/L).

		Monastrell	MC80	MC98	MS10	MC4	p-value
2018	Grado Alcohólico % (v/v)	13.58c ± 0.00	12.96d ± 0.00	13.80b ± 0.01	14.41a ± 0.02	11.66e ± 0.00	***
	Acidez total* (g/L)	8.23 ± 0.01	8.30 ± 0.16	8.56 ± 0.14	8.56 ± 0.11	8.39 ± 0.13	ns
	pH	3.36c ± 0.01	3.43b ± 0.01	3.60a ± 0.01	3.41b ± 0.01	3.33c ± 0.01	***
	Acidez volátil ** (g/L)	0.52a ± 0.01	0.34c ± 0.01	0.40b ± 0.01	0.42b ± 0.01	0.26d ± 0.01	***
2019	Grado Alcohólico % (v/v)	13.70a ± 0.03	11.56c ± 0.05	11.39d ± 0.02	12.14b ± 0.01	9.65e ± 0.04	***
	Acidez total (g/L)	6.99d ± 0.02	7.74b ± 0.06	7.38c ± 0.01	8.61a ± 0.01	6.62e ± 0.01	***
	pH	3.43b ± 0.01	3.31cd ± 0.01	3.54a ± 0.05	3.25d ± 0.01	3.37bc ± 0.04	***
	Acidez volátil (g/L)	0.52a ± 0.01	0.36c ± 0.01	0.41b ± 0.01	0.42b ± 0.01	0.30d ± 0.01	***
2020	Grado Alcohólico % (v/v)	13.84b ± 0.01	13.16c ± 0.01	14.39a ± 0.01	12.54d ± 0.00	11.45e ± 0.00	***
	Acidez total (g/L)	7.14b ± 0.01	7.03b ± 0.12	4.53d ± 0.04	7.71a ± 0.04	6.22c ± 0.01	***
	pH	3.34e ± 0.01	3.48b ± 0.01	3.94a ± 0.01	3.42d ± 0.01	3.44c ± 0.01	***
	Acidez volátil (g/L)	0.37b ± 0.01	0.20e ± 0.00	0.52a ± 0.01	0.23d ± 0.00	0.32c ± 0.01	***

Tabla 4. 8 Características físico-químicas para los vinos de Monastrell y los de las nuevas VACF durante las campañas 2018, 2019 y 2020. * Acidez total expresada en g/L de ácido tartárico. ** Acidez volátil expresada como g/L de ácido acético. Los datos representan las medias ± desviación estándar. Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas de acuerdo al test de LSD ($p < 0.05$). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** ($p < 0,001$), 99%** ($p < 0,01$) y 95%* ($p < 0,05$).

4.7.2 Características espectrofotométricas de los vinos

Los parámetros cromáticos y fenólicos son también indicativos de la calidad del vino. En este apartado se abordará la respuesta de las diferentes variedades en los vinos elaborados y analizados al final de la fermentación alcohólica. Se estudiará el índice de polifenoles totales (IPT) junto con los antocianos y proantocianidinas totales (PAs). Además, se estudiarán los parámetros cromáticos del vino como la intensidad de color (IC) y los parámetros CIELAB. Finalmente se estudiará la capacidad antioxidante (CA) de los vinos elaborados.

4.7.2.1 Parámetros fenólicos del vino

4.7.2.1.1 Índice de polifenoles totales

Los análisis espectrofotométricos en la composición fenólica del vino, generan una visión global de las características fenólicas de los vinos. En la **Figura 4.5** se puede observar los diferentes valores para el índice de polifenoles totales (IPT) en los vinos de Monastrell y los de las nuevas VACF durante las tres campañas de estudio.

Los resultados obtenidos para los diferentes vinos analizados, mostraron en general como las nuevas variedades MC80, MC98 y MS10 duplicaron los valores obtenidos por Monastrell. En cambio, la variedad MC4 obtuvo durante las tres campañas unas concentraciones similares y además muy parecidas a las obtenidas por Monastrell.

Concretamente, en la campaña 2018, MS10 mostró los valores más altos para los IPT. Los valores obtenidos para este parámetro durante la campaña 2019 fueron muy similares a los obtenidos en la campaña anterior, aunque disminuyeron ligeramente. Finalmente, durante la campaña 2020 la cantidad de IPT de los vinos procedentes de MC80, MC98 y MS10 se vieron altamente incrementadas, llegando hasta incluso triplicar a los valores obtenidos por Monastrell, como fue el caso de los vinos de la variedad MC98. Sin embargo, valores normales de IPT encontrados por otros autores para la variedad Monastrell también se encuentran en torno al valor 40 (Paladines-Quezada, 2021; Anaya et al., 2022; Pérez-Porrás et al., 2022), siendo por tanto similares a los mostrados en nuestros resultados.

Por los resultados obtenidos, es algo evidente que el genotipo de estas variedades es el factor clave y determinante en estos valores. Aun así, podemos observar diferencias debido a las variaciones interanuales que como hemos visto en la primera parte de este capítulo, también provocaron diferencias en la estructura de sus paredes,

celulares, contribuyendo a una mayor o menor liberación de compuestos fenólicos durante el proceso de elaboración.

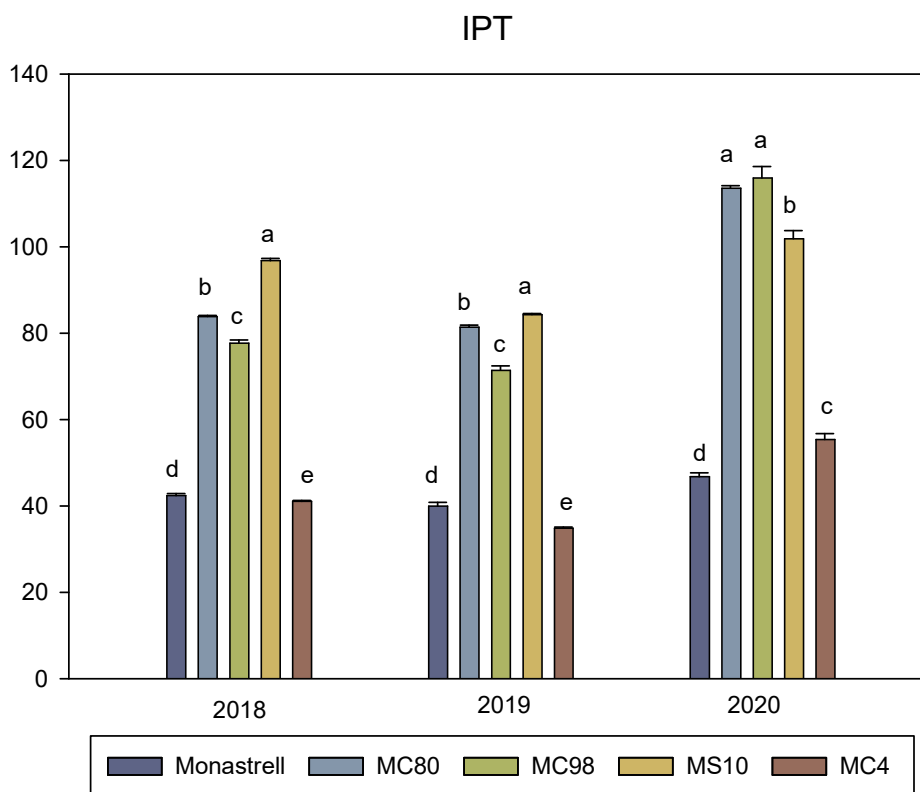


Figura 4. 5 Índice de polifenoles totales en los vinos de Monastrell y los de las nuevas VACF durante las campañas 2018, 2019 y 2020. Diferentes letras indican diferencias significativas según el test LSD ($p < 0.05$).

4.7.2.1.2 Antocianos totales

La **Figura 4.6** muestra los resultados obtenidos en el análisis de antocianos totales medidos con un equipo multiparamétrico para los diferentes vinos de Monastrell y las nuevas VACF durante las tres campañas de estudio.

Antocianos

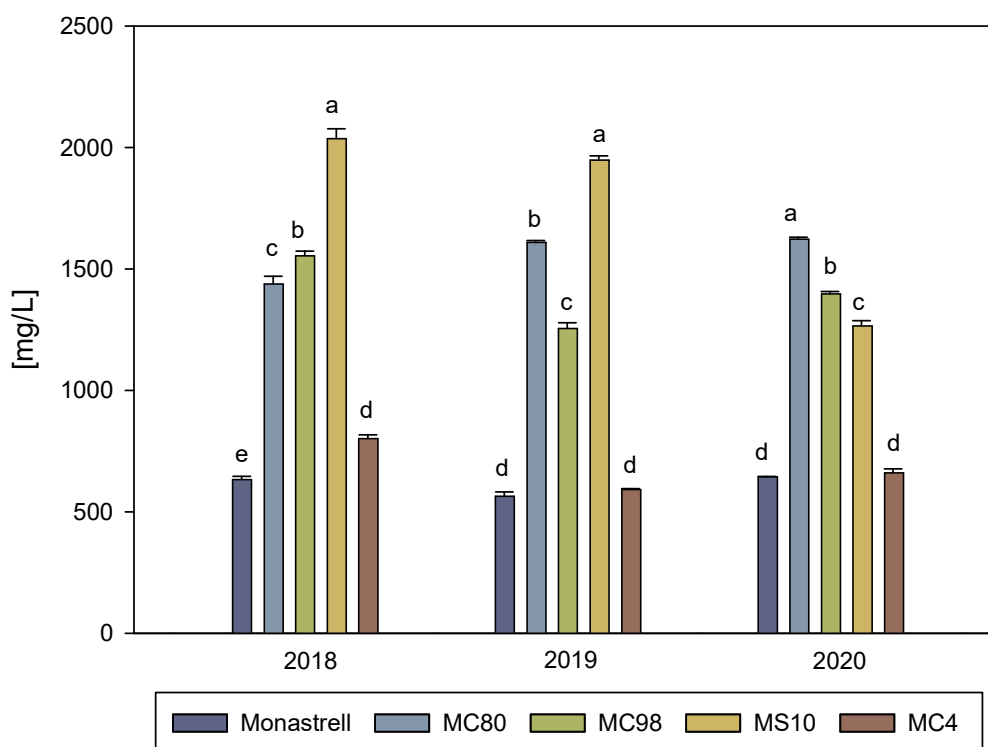


Figura 4. 6 Antocianos totales en los vinos de Monastrell y las nuevas VACF durante las campañas 2018, 2019 y 2020. Diferentes letras indican diferencias significativas según el test LSD ($p < 0.05$).

En general, los resultados mostraron, una vez más, altas concentraciones de antocianos en los vinos de las variedades MC80, MC98 y MS10. Además, los vinos de Monastrell y MC4 mostraron unas concentraciones inferiores y bastante similares entre ellas. De este modo, en la campaña 2018, Monastrell obtuvo la concentración más baja de antocianos (632 mg/L). Sin embargo, el vino de la variedad MS10 logró alcanzar la mayor concentración, superando los 2000 mg/L. Esto podría ser debido a lo comentado anteriormente en la primera parte de este capítulo (**apartado 4.4.4.1**), ya que se consideró a la variedad MS10 con una pared celular menos rígida en esta campaña junto con las variedades MC80 y MC98, por tener bajas concentraciones de glucosa celulósica. La concentración de antocianos depende de la variedad, pero también es sabido que la mayor o menor extracción en vino de esos compuestos, dependerá de los ligandos que se encuentren los antocianos a los azúcares presentes en las paredes celulares (Biswas et al., 2020). Además otros autores como Bautista-Ortín et al. (2016) sugieren que los antocianos juegan un papel importante en la capacidad de extracción de taninos, ya que existe una competencia por los sitios de adsorción en la pared celular entre ambos tipos de compuestos, favoreciendo así la extracción de taninos en el vino.

Por otro lado, los vinos de las variedades como MC80 o MC98 también destacaron por sus altas concentraciones en estos compuestos, mostrando valores en torno a 1500 mg/L. Sin embargo, la variedad MC4, obtuvo una concentración de 800 mg/L resultando ser más similar a la variedad Monastrell.

Con respecto a la campaña 2019, los resultados fueron muy similares a los de la campaña anterior, los vinos de Monastrell y MC4 obtuvieron una media de 577 mg/L de antocianos entre ambos. Con respecto al resto de nuevas variedades, una vez más el vino de MS10 destacó por su alta concentración, alcanzando los 1949 mg/L, siendo por tanto, la variedad con mayor carga antociánica al igual que ocurría en la uva. En relación a las demás variedades (MC80, MC98) sus vinos siguieron superando los 1200 mg/L, es decir, duplicaron los valores obtenidos en los vinos de la variedad Monastrell. Pero hay que remarcar el hecho de que la variedad MC98 fue la que obtuvo la mayor concentración de antocianos en el hollejo, sin embargo, no ha sido la que mayor cantidad ha mostrado en sus vinos. Una explicación a este hecho podría tener que ver con la estructura de su pared celular, ya que durante esta añada, tuvo una mayor concentración de proteínas y ácidos urónicos, posiblemente afectando esto a su extractabilidad.

Finalmente, en la campaña 2020, los vinos de Monastrell y la variedad MC4 mostraron la misma tendencia que las campañas anteriores. En cambio, los vinos de la variedad MC80 fueron los que destacaron por su alta concentración, aunque bastante similar a las concentraciones analizadas en las campañas anteriores (1623 mg/L), siendo esta variedad la que también obtuvo una mayor concentración en la uva. Sin embargo, en esta ocasión la concentración de antocianos en el vino de MS10 disminuyó considerablemente con respecto a lo obtenido en las campañas anteriores, alcanzando en este caso tan solo 1266 mg/L. Esto podría ser debido a diversas causas, una de ellas sería a la climatología sufrida durante este año. Bien es cierto que la media de temperaturas durante los 10 días previos a la vendimia de MS10 fue de 35°C (**Figura 3.2** de Materiales y métodos) pudiéndose verse afectada la síntesis de antocianos en la ruta fenilpropanoide, ya que como hemos visto previamente, la concentración de estos compuestos disminuyó en esta variedad con respecto a los años previos (**Tabla 4.4**). Finalmente, otra posible causa podría ser la composición de su pared celular, la cual pudiera haber impedido la liberación máxima de los compuestos antociánicos, durante el proceso de maceración, ya que como se vió en la primera parte de este capítulo, la variedad MS10 presentó las mayores concentraciones de glucosa celulósica y ácidos urónicos en esta campaña de estudio.

4.7.2.1.3 Proantocianidinas totales

Las altas concentraciones comentadas en el apartado anterior de antocianos encontradas en los vinos de las nuevas VACF, necesitarían formar complejos fenólicos con las PAs presentes, con el fin de formar complejos poliméricos estables de color en el tiempo como se comentó anteriormente.

Los resultados obtenidos muestran en la **Figura 4.7**, grandes diferencias significativas entre los vinos de las nuevas VACF y los de la variedad Monastrell. De este modo, durante la campaña 2018, los vinos de las variedades MC80 y MC98 alcanzaron las mayores concentraciones de PAs con valores que rondaron los 1700 mg/L al igual que ocurría en las uvas, sin embargo aunque los vinos de las variedades Monastrell y MC4 mantuvieron la tendencia ya observada en el análisis de los antocianos siendo las variedades con las concentraciones más bajas de PAs, no ocurrió lo mismo con los vinos de la variedad MS10 que obtuvieron concentraciones menores de PAs que otras VACF. La posible explicación a este hecho es que tal como vimos en la **Tabla 4.4**, ésta es una variedad que a pesar de tener una alta concentración de antocianos, no la tiene en PAs, de hecho durante este año, su concentración fue muy similar a la obtenida por la variedad Monastrell.

Con respecto a la campaña 2019, los vinos de Monastrell obtuvieron una concentración de 687 mg/L, mientras que en este año de estudio, los vinos de la variedad MC4 obtuvieron la concentración más baja (467 mg/L) de todas las variedades estudiadas. De nuevo los vinos de las variedades MC80 y MC98 obtuvieron las concentraciones más altas que fueron muy similares a las obtenidas en la campaña anterior, sin embargo, los valores en los vinos de MS10 disminuyeron hasta los 1165 mg/L, corroborando que aun siendo una variedad con alto contenido en antocianos, no lo era en PAs.

Finalmente, en la última campaña de estudio, la concentración de PAs obtenidas en los vinos de la variedad Monastrell aumentó ligeramente hasta ser más similares a los de las nuevas VACF, cuyas concentraciones se vieron disminuidas en comparación a las campañas anteriores, exceptuando en el de la variedad MC98, el cual destacó por obtener una mayor concentración de PAs durante esta última campaña de estudio.

Las diferencias observadas en la concentración de PAs extraídas en el vino en las diferentes campañas se podrían atribuir al grado de maduración alcanzado en la uva comentado en los apartados anteriores (**4.6.2.3.1** y **4.6.2.3.2**) de PAs en hollejos y semillas. Autores como Busse-Valverde et al. (2010) estudiaron que la variabilidad

encontrada en la concentración de PAs era más evidente cuando no se producía una maduración completa en las uvas. Además, es necesario tener en cuenta que la difusión de PAs de la uva al vino depende también de la competencia que tienen estos compuestos con los antocianos presentes en las paredes celulares de la uva (Bautista-Ortín et al., 2016). No obstante, las concentraciones encontradas en los vinos analizados están dentro de los rangos encontrados en otros estudios. Concretamente concentraciones que oscilan los 500 mg/L y 1000 mg/L para la variedad Monastrell (Moreno-Pérez, 2013; Ruiz-García et al., 2013a; Paladines-Quezada, 2021; Martínez-Moreno et al., 2022).

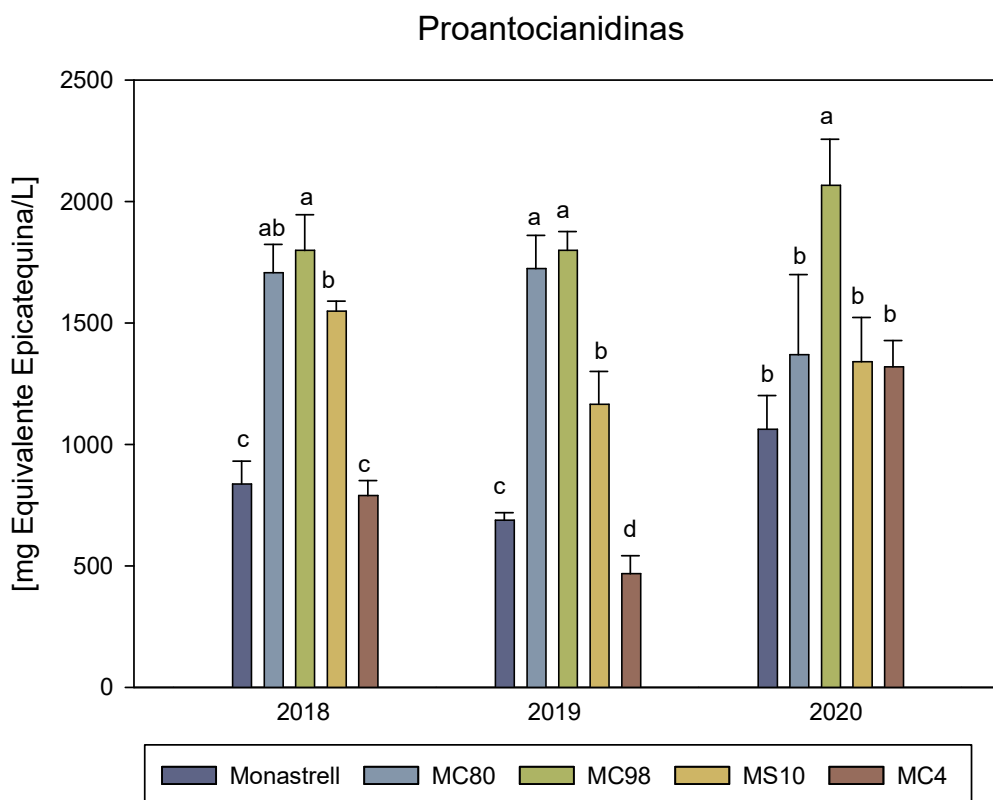


Figura 4. 7 Proantocianidinas totales en los vinos de Monastrell y los de las nuevas VACF durante las campañas 2018, 2019 y 2020. Diferentes letras indican diferencias significativas según el test LSD ($p < 0.05$).

4.7.2.2 Parámetros cromáticos del vino. Intensidad de color y parámetros CIELAB

Las características cromáticas determinarán uno de los principales parámetros de calidad en los vinos, el color. Como se puede observar en la **Tabla 4.9** los resultados

obtenidos mostraron grandes diferencias entre los vinos de las nuevas variedades y los de Monastrell, las cuales serán detalladas a continuación.

En las uvas tintas, la intensidad del color de los vinos se correlaciona positivamente con la concentración de antocianos (Suriano et al., 2016), por lo tanto, los resultados espectrofotométricos anteriormente comentados, se encuentran totalmente relacionados con los resultados obtenidos al analizar este parámetro. Como se puede ver en la **Tabla 4.9**, la media de IC que mostraron los vinos de Monastrell en las tres campañas de estudio fue de 15 puntos de color. Otros autores como Paladines-Quezada (2021) y Moreno-Pérez (2013) también han encontrado valores similares con respecto a la IC en la variedad Monastrell. Con respecto a los vinos de la variedad MC4, mostró una IC en las campañas 2018 y 2020, algo superior a los vinos de Monastrell y algo inferior en la campaña 2019. En relación al resto de nuevas variedades, la IC mostrada en sus vinos, duplicaba, triplicaba en incluso cuadruplicada, como fue el caso de los vinos de MS10, los valores obtenidos en los vinos de Monastrell.

En la siguiente figura (**Figura 4.8**) se puede apreciar perfectamente las distintas IC que mostraron los vinos de Monastrell y los de las nuevas VACF remarcándose las increíbles diferencias visuales de color que presentan estas nuevas variedades con respecto a la variedad Monastrell.



Figura 4. 8 Fotografía de los vinos de Monastrell y los de las nuevas VACF.

También estudiamos los valores obtenidos para los diferentes parámetros CIELAB en los vinos: L^* , a^* , b^* , C^* y H^* , aunque es bien sabido que para estudiar el color de un vino no se pueden tener en cuenta estos parámetros de manera individual y si no de manera conjunta como postuló Iñiguez et al. (1995). Además según el tratado de la OIV 1/2006 (OIV, 2006), el color de un vino debe ser descrito mediante 3 atributos o

cualidades específicas de la sensación visual: tonalidad, luminosidad y cromatismo, y por tanto un único parámetro no es determinante del mismo.

Por tanto, en referencia a los parámetros CIELAB, de acuerdo a Zhang et al. (2018), L^* indica la luminosidad de los vinos, indicando así que los vinos con mucho color, tendrán bajos valores de L^* , es decir, mide la claridad de un vino y va desde valores de 0 (negro) a 100 (blanco). Según los resultados obtenidos, los vinos de Monastrell fueron los que alcanzaron los valores más altos de L^* durante los tres años de estudio, con valor medio de 13. Así mismo, con respecto a los vinos de las nuevas variedades, MC4 fue la variedad que obtuvo valores más similares a Monastrell, con valor medio de 9 en las tres campañas. Por otro lado, los vinos de MS10 obtuvieron los valores más bajos de L^* durante la campaña 2018 (0.69), y la campaña 2019 (1.11). Sin embargo, aunque en la campaña 2020 también obtuvo un valor bajo (1.22), los vinos con el valor más bajo fueron los de la variedad MC98 (0.50). Diversos autores establecen que cuando los valores de L^* son más cercanos a 0, mucho más intensos y oscuros son los vinos, (Pinto et al., 2022; Alexandre-Tudo et al., 2017) y esto es algo que se hemos podido corroborar en la **Figura 4.8**. Además, Socha et al. (2015) encontraron resultados similares a los nuestros en variedades híbridas polacas, en donde los vinos con menor valor L^* se correspondieron con los vinos más oscuros e intensos.

	Monastrell	MC80	MC98	MS10	MC4	p-value	
2018	¹ IC	15.61e ± 0.24	41.77b ± 0.02	38.68c ± 0.20	60.57a ± 0.37	19.94d ± 0.05	***
	L*	12.53a ± 0.91	1.68c ± 0.11	1.62c ± 0.13	0.69d ± 0.02	8.08b ± 0.47	***
	a*	44.48a ± 1.36	12.17c ± 0.79	11.75c ± 0.94	5.10d ± 0.19	38.63b ± 0.76	***
	b*	21.58a ± 1.56	2.89c ± 0.19	2.80c ± 0.22	1.20d ± 0.05	13.93b ± 0.80	***
	C*	49.44a ± 1.91	12.51c ± 0.81	12.08c ± 0.96	5.23d ± 0.20	41.07b ± 0.98	***
	H*	25.85a ± 0.92	13.36c ± 0.00	13.38c ± 0.00	13.20c ± 0.00	19.81b ± 0.69	***
2019	IC	15.71d ± 0.18	44.88b ± 0.08	32.73c ± 0.68	59.11a ± 0.07	14.90e ± 0.14	***
	L*	14.46a ± 0.06	2.12d ± 0.05	2.74c ± 0.04	1.11e ± 0.02	13.58b ± 0.19	***
	a*	46.84a ± 0.14	15.31d ± 0.35	19.47c ± 0.27	8.10e ± 0.11	45.60b ± 0.25	***
	b*	24.88a ± 0.10	3.66d ± 0.08	4.72c ± 0.07	1.92e ± 0.03	23.31b ± 0.33	***
	C*	53.04a ± 0.17	15.74d ± 0.36	20.03c ± 0.28	8.33e ± 0.11	51.21b ± 0.37	***
	H*	27.98a ± 0.03	13.43d ± 0.01	13.63c ± 0.01	13.29d ± 0.01	27.06b ± 0.20	***
2020	IC	15.05e ± 0.07	49.90b ± 0.19	44.25c ± 0.05	54.79a ± 0.42	21.24d ± 0.05	***
	L*	14.18a ± 0.07	1.38c ± 0.02	0.05e ± 0.01	1.22d ± 0.04	6.53b ± 0.06	***
	a*	46.86a ± 0.08	10.03c ± 0.16	7.40e ± 0.01	8.89d ± 0.28	35.77b ± 0.14	***
	b*	24.41a ± 0.11	2.37c ± 0.04	0.09e ± 0.01	2.10d ± 0.07	11.26b ± 0.11	***
	C*	52.84a ± 0.12	10.31c ± 0.17	0.41e ± 0.01	9.13d ± 0.29	37.50b ± 0.17	***
	H*	27.52a ± 0.06	13.30c ± 0.01	13.24c ± 0.00	13.27c ± 0.00	17.47b ± 0.09	***

Tabla 4. 9 Parámetros cromáticos del vino: intensidad de color y parámetros CIELAB en los vinos de Monastrell y los de las nuevas VACF. Abreviaturas: ¹IC; Intensidad de color. Los datos representan las medias ± desviación estándar. Diferentes letras indican diferencias significativas según el test LSD (p<0.05). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** (p < 0,001), 99%** (p< 0,01) y 95%* (p< 0,05).

Es bien sabido, que el parámetro a* se encuentra relacionado con el color rojo y vinos que expresan juventud, mientras que el parámetro b* lo está con el color amarillo y por tanto con vinos envejecidos. Nuestros resultados mostraron que los vinos de Monastrell presentaron los valores más altos para el parámetro a*, con una media de 45 entre las tres campañas, estando relacionado este valor con tonalidades más rojas. En la campaña 2018, los vinos de las nuevas variedades obtuvieron valores comprendidos entre 11 y 13, correspondiendo a colores más rojo-azulados, sin embargo, los vinos de la variedad MS10, fueron los que presentaron el valor más bajo del parámetro a*. Esta misma tendencia también se vio reflejada en los resultados obtenidos en la campaña 2019 y en la campaña 2020 pero en este último año de estudio, los vinos de la variedad MC98 fueron los que obtuvieron el valor más bajo del parámetro a*.

Con respecto al parámetro b*, de acuerdo a Aleixandre-Tudo et al., (2017), valores mayores a 0 indican colores amarillos, mientras que valores menores a 0 indican colores más azulados. Así los vinos de las variedades MC4 y Monastrell fueron las que

mostraron los valores más altos con un valor medio de 23 en la variedad Monastrell y de 15 en la variedad MC4, mientras que en los vinos de las nuevas variedades los obtuvieron valores inferiores a 5 en las tres campañas de estudio. Estos resultados indican que los vinos de las variedades MC80, MC98 y MS10, mostraron un color más azulado que los vinos elaborados con las variedades de Monastrell y MC4. Además, autores como de Castilhos et al. (2016), afirman que cuanto más alto es el valor b^* , menor es el contenido de antocianos en los vinos elaborados, y esta afirmación coincide con los resultados que hemos encontrado en los vinos de Monastrell y MC4.

El parámetro C^* o cromaticidad se calcula como $(a^{*2}+b^{*2})^{1/2}$ y el cual hace referencia a la saturación de color, indicando la distancia desde el eje gris acromático central del espacio de color. Con respecto a la campaña 2018, los vinos de Monastrell y MC4 alcanzaron los valores más altos, con unos valores de 49.44 y 41.07 respectivamente. Los vinos de las nuevas variedades obtuvieron valores comprendidos entre 12-13, aunque el vino de la variedad MS10 mostró el valor más bajo (5.23). En la campaña 2019, aunque los vinos de Monastrell y MC4 obtuvieron valores similares (53 y 51), las nuevas variedades mostraron valores que oscilaron en un rango más amplio que la anterior campaña (15-24) y una vez más el vino de la variedad MS10 mostró los valores más bajos (8.33). Otros autores como Moreno-Pérez (2013) encontraron valores similares en la variedad Monastrell, de modo que se establece que valores más altos de C^* coinciden con tonalidades más desplazadas hacia los amarillos (mayor b^*).

Finalmente, el parámetro H^* , hace referencia al tono. En la campaña 2018, los vinos de Monastrell y MC4 obtuvieron valores de 25.85 y 19.81 respectivamente. Mientras que los vinos de las demás variedades no mostraron diferencias significativas entre ellas, mostrando un valor medio de 13. En la campaña 2019, tanto los vinos de Monastrell como MC4 alcanzaron un valor de 27, en cambio en los vinos de las nuevas variedades, nuevamente alcanzaron un valor de 13. Lo mismo ocurrió en la campaña 2020, excepto para los vinos de MC4, que esta vez mostró un valor de 17.47. Por tanto, como se ha podido comprobar los vinos de las nuevas VACF (excepto MC4) al mostrar valores de tono inferiores, estarían indicando una menor oxidación de los mismos y por tanto una mayor calidad. Otros autores como Moreno-Pérez (2013) y Martínez-Moreno et al. (2021) también han encontrado valores similares a los encontrados por nosotros con respecto al parámetro H^* en vinos de Monastrell.

4.7.2.3 Capacidad antioxidante

En la **Figura 4.9** se puede observar la capacidad antioxidante (CA) de los vinos de Monastrell y los de las nuevas variedades en las tres campañas de estudio.

En general, se puede observar como la CA en los vinos elaborados durante la campaña 2018, fue ligeramente inferior a la de las campañas 2019 y 2020, quizás esto podría ser debido a la obtención de una menor concentración de IPT durante el año 2018 sobre todo en las variedades MC80 y MC98, como se vio en el apartado 4.7.2.1.1 de este capítulo. Por un lado, en la campaña 2018, los vinos de la variedad MC80 fueron los que presentaron la CA más alta, seguida de los de las variedades MC98 y MS10. Los vinos de la variedad MC4, fueron los que mostraron una CA más baja, junto con los vinos de la variedad Monastrell. Esto resulta lógico a la vista de los resultados mostrados hasta ahora en sus vinos, puesto que en los vinos de las variedades MC80, MC98 y MS10 fueron donde mayor concentración de compuestos fenólicos encontramos, ya que como es sabido, estos compuestos inhiben procesos de oxidación en los vinos gracias a su CA (Kheir et al., 2013).

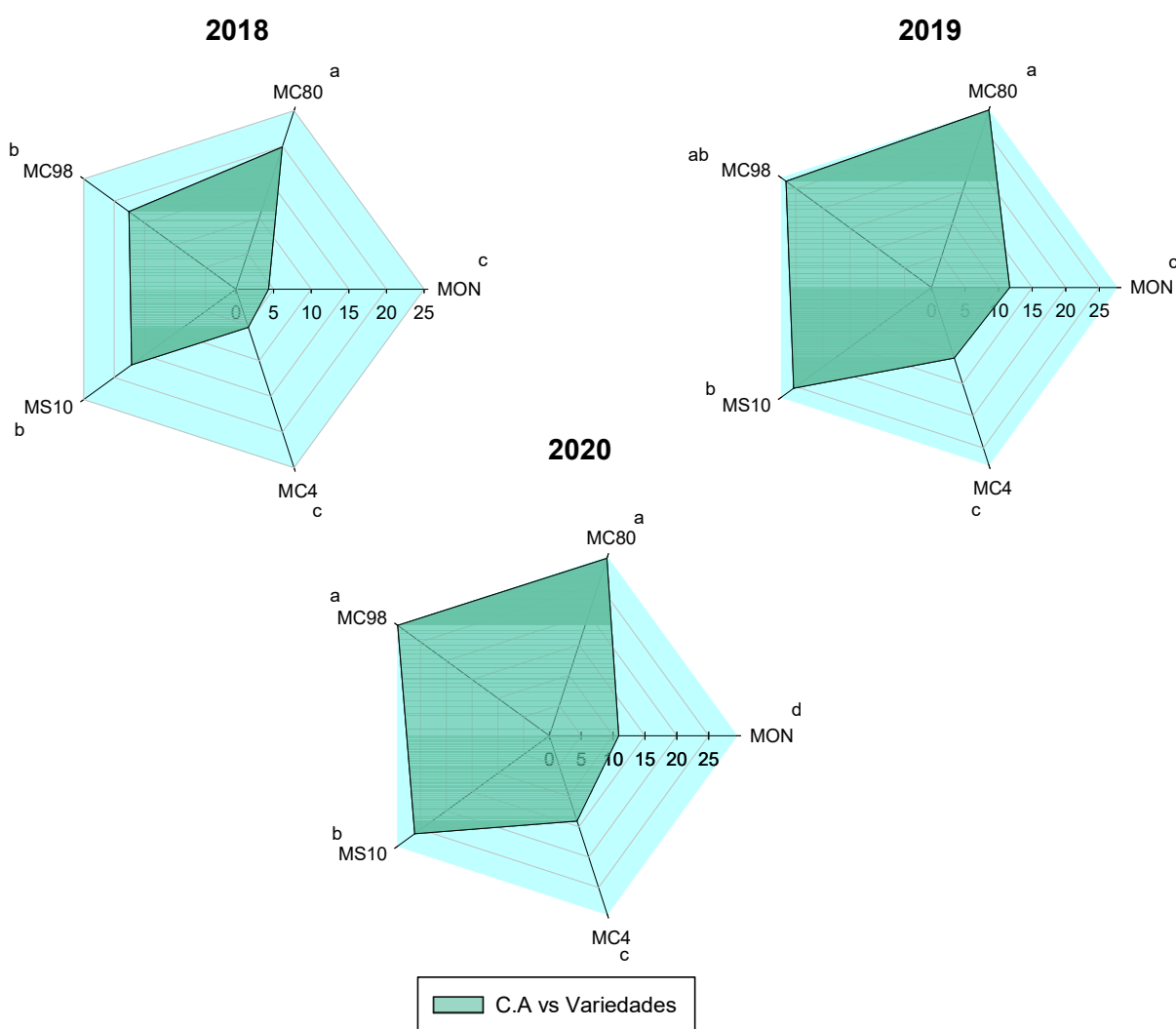


Figura 4. 9 Capacidad antioxidante de los vinos de Monastrell y los de las nuevas VACF durante 2018, 2019 y 2020. Diferentes letras indican diferencias significativas según el test LSD ($p < 0.05$). Unidades de medición: Capacidad Antioxidante Equivalente Trolox (TEAC).

Durante la campaña 2019, se observó un incremento de las capacidades antioxidantes de los vinos de estas tres variedades MC80, MC98 y MS10. Así, la variedad MC80 alcanzó hasta los 30 TEAC mostrando otra vez la mayor CA, seguida de MC98 y MS10. Las variedades MC4 y Monastrell, se caracterizaron de nuevo por tener las concentraciones más bajas, con valores de apenas 10 TEAC. Es evidente que la menor CA de las variedades de Monastrell y MC4 se debe exclusivamente a su menor concentración en compuestos fenólicos como se está mostrando a lo largo del capítulo.

Finalmente, la campaña 2020 tuvo ciertas similitudes con la campaña anterior campaña. Los vinos de las variedades MC80 y MC98 destacaron por su alta CA, seguidos de los de las variedades MS10, MC4 y finalmente por los de Monastrell.

4.7.3 Compuestos fenólicos analizados por HPLC

4.7.3.1 Antocianos

A continuación en la **Tabla 4.10** se muestran los principales resultados obtenidos para el análisis del perfil antociánico en los vinos de Monastrell y las nuevas VACF mediante cromatografía líquida. Además en las tablas del ubicadas en el Capítulo 8: ANEXOS (**Tabla 7.7**, **Tabla 7.8** y **Tabla 7.9**) se muestran las concentraciones de antocianos individuales en los vinos. En comparación con los antocianos analizados en las uvas, en el caso de los vinos hay que añadir tres compuestos más, los cuales se engloban en el grupo de las vitisinas (vitisina A, vitisina B y acetil-vitisina-A). La formación de estos compuestos ocurre durante la fermentación alcohólica a través de la reacción de la malvidina-3-O-glucósido con ácido pirúvico o con acetaldehído (Portu et al., 2015).

En la campaña 2018 los vinos de la variedad Monastrell mostraron el menor contenido de antocianos totales, tal y como ya ocurrió en las uvas de esta variedad (**Tabla 4.4**). Los valores encontrados en Monastrell (500 mg/L) fueron los esperados según autores como Budic-Leto et al. (2009) o Burns et al. (2002) ya que las concentraciones típicas de antocianos en vinos tintos jóvenes son de alrededor de 500 mg/l, sin embargo en algunos casos pueden ser superiores a 2000 mg/l (He et al., 2012). En cambio, los vinos de la variedad MC98 obtuvieron concentraciones triplicadas con respecto a las obtenidas en los vinos de Monastrell, alcanzando de este modo valores de 1726 mg/L. Los vinos de la variedad MC80 obtuvieron una concentración bastante similar a la obtenida por los vinos de MC98, concretamente 1601 mg/L y los vinos de la variedad MS10, valores algo inferiores a estos (1454.81 mg/L). Estos resultados resultaron ser discrepantes con los obtenidos mediante el método espectrofotométrico,

dónde la mayor concentración fue obtenida en los vinos de la variedad MS10, seguida por los vinos de las variedades MC98 y MC80. Esto podría deberse a que en los análisis por cromatografía líquida solamente se identifican los antocianos monoméricos, mientras que en el análisis espectrofotométrico se obtiene un cómputo global de todos los antocianos presentes en el vino. Aún así se mantiene la tendencia de concentraciones superiores en los vinos de las nuevas variedades. Por otro lado, los vinos de la variedad MC4 obtuvieron una concentración algo superior a Monastrell, alcanzando los 833 mg/L.

Con respecto a la campaña 2019, los vinos de la variedad Monastrell y MC4 obtuvieron concentraciones bastante similares (672 y 664 respectivamente), mientras que en esta campaña, los vinos de MS10 destacaron por su alta concentración en antocianos (2428 mg/L), es decir, incrementaron su concentración un 72 % con respecto a los vinos de variedad Monastrell, al igual que ocurrió en los análisis de antocianos en uvas, dónde MS10 y MC98 obtuvieron las mayores concentraciones. Estos resultados indicarían también la alta extractabilidad de estos compuestos durante el proceso de vinificación, siendo también coincidente con lo mostrado en el apartado relativo a las imágenes de Microcopia óptica (**Figura 4.1**), donde se pudo observar, como esta variedad junto con MC98 mostraron las paredes celulares más delgadas.

Una vez más, en la campaña 2020, las concentraciones de antocianos encontradas en los vinos de Monastrell fueron las menores (541 mg/L) seguidas por las encontradas en los vinos de la variedad MC4 (586 mg/L). En cambio, los vinos de la variedad MC80 fueron los que obtuvieron las concentraciones más altas, del mismo modo que ocurrió en las uvas. Estos resultados podrían confirmar, que las menores concentraciones de glucosa celulósica analizadas en MC80 durante la campaña 2020, permitiera una mayor liberación de antocianos en esta variedad por una posible mayor debilidad en la pared celular. Por último señalar, que tanto en la campaña de 2019 como en la de 2020 se obtuvieron resultados similares a los obtenidos por el método espectrofotométrico

En relación al porcentaje de antocianos acilados, los resultados obtenidos fueron muy similares durante las tres campañas de estudio. De este modo, en la campaña 2018 los vinos de la variedad Monastrell fueron los que obtuvieron el menor porcentaje (18 %), mientras que tal y como ocurrió en las uvas, los vinos de MC4 fueron los que mayores porcentajes presentaron, alcanzando el 34.86 %. Los vinos de las demás VACF obtuvieron unos porcentajes similares, mostrando valores en torno al 30 %. Esta misma tendencia ocurrió en las siguientes campañas, 2019 y en la campaña 2020, aunque en este último año de estudio, los porcentajes fueron ligeramente superiores

para todas las variedades. Los resultados de este estudio también están en concordancia con los de Gómez-Plaza et al. (2008) quienes también encontraron porcentajes similares a las nuestras en relación a los antocianos acilados en vinos de Monastrell y en híbridos de Monastrell x Cabernet.

Como ya se explicó anteriormente en el apartado de antocianos en uvas, las variedades que tienen el menor porcentaje de antocianos acilados, son las que tendrán mayor porcentaje de antocianos no acilados, y por lo tanto, dará lugar a compuestos que den menor estabilidad de color en los vinos con el paso del tiempo. Así, por un lado, en la campaña 2018, los vinos de Monastrell obtuvieron un mayor porcentaje de antocianos no acilados (78.61 %) (**Tabla 4.10**) y los vinos de la variedades MC4, fueron los que obtuvieron un menor porcentaje, es decir, un 61.74 %. Los vinos de las demás VACF mostraron porcentajes en torno al 65 %. Por otro lado, en la campaña 2019, los vinos de Monastrell volvieron a presentar los mayores porcentajes (82.86 %) con respecto a las demás variedades y de nuevo los vinos de MC4 presentaron el porcentaje más bajo (59.37 %). Esta misma tendencia tuvo lugar en la campaña 2020. Estos valores de antocianos no acilados también se han encontrado en la variedad Monastrell de acuerdo a los resultados mostrados por Moreno-Pérez (2013).

En relación a los compuestos Tri-OH, estos se encontraron en una mayor proporción que los Di-OH (**Tabla 4.10**). La concentración de compuestos Tri-OH para las campañas 2018 y 2019 en los vinos de la variedad Monastrell, osciló en torno al 74.5 % como media de las dos campañas. Mientras que en la campaña 2020, esta variedad obtuvo un porcentaje de 63.52 %. Con respecto a la variedad con menor porcentaje de compuestos Tri-OH en sus vinos, fue MC4 durante las tres campañas consecutivas con porcentajes de 61.25 %, 55.09 % y 49 % respectivamente.

Atendiendo a los porcentajes obtenidos de compuestos Di-OH, destacar que las campañas 2019 y 2020 se obtuvieron unas concentraciones ligeramente superiores a las analizadas en la campaña 2018. Así, mientras que los vinos de Monastrell obtuvieron los valores más altos en la campaña 2018 con un 2.14 % junto con el 2.02% en los vinos de la variedad MC80, durante las siguientes campañas 2019 y 2020, Monastrell alcanzó unos porcentajes de 9.20 % y 10.98 % respectivamente. Los valores más bajos fueron los obtenidos por los vinos de la variedad MC4 en las campañas 2018 y 2020 con un porcentaje de 0.49 % y un 2.18 %. Sin embargo, en la campaña 2019 fue la variedad MC98 la que obtuvo el porcentaje más bajo con un 3.29 %. Es notable destacar, que aunque MC4 y Monastrell en principio son parecidas en cuanto a la cantidad de

antocianos totales, se han mostrado diferentes en cuanto a su perfil antociánico, una característica que podría ser interesante desde el punto de vista enológico.

Siguiendo con el análisis antociánico del vino, hablaremos de tres grandes grupos que se encuentran dentro del perfil antociánico en el vino (acetatos, cumaratos y vitisinas) como se puede observar en la **Tabla 4.10**.

Así, con respecto a la concentración de acetatos analizados durante la campaña 2018, los vinos de Monastrell únicamente obtuvieron un valor de 37.92 mg/L mientras que en los vinos de las nuevas variedades como MC80 o MC98 se alcanzaron contenidos de casi 10 veces más (335 mg/L). En cambio, los vinos de la variedad MC4 fueron los que obtuvieron la concentración más baja entre las VACF (216.67 mg/L). Es importante destacar, que en esta variedad, estaríamos hablando de una concentración seis veces superior a la obtenida en los vinos de Monastrell, aun teniendo un momento de vendimia diferente a la variedad Monastrell y con unas características tecnológicas diferentes, como es su baja graduación alcohólica. Con respecto a la campaña 2019, los vinos de Monastrell obtuvieron una concentración similar a la campaña anterior (40.09 mg/L), mientras que la mayor concentración esta vez se encontró en los vinos de la variedad MS10 con un valor de 469.81 mg/L. Finalmente, en la campaña 2020, de nuevo, los vinos de la variedad MC80 mostró las concentraciones más altas (486.07 mg/L), mientras que los vinos de Monastrell presentaron las más bajas (56.40 mg/L). Como se puede observar, estas nuevas variedades incrementaron la concentración de acetatos entre 4 y 10 veces en comparación a la obtenida en los vinos de Monastrell. Los valores analizados en nuestra variedad Monastrell durante las tres campañas de estudio son correspondidos con los valores encontrados por otros autores en esta misma variedad (Moreno-Pérez, 2013).

		Ant. Totales ¹ (mg/L)	% Acilados	% No acilados	% Tri OH ²	% Di OH ³	Acetatos (mg/L)	Cumaratos (mg/L)	Vitisinas (mg/L)
2018	Monastrell	548.42e ± 4.47	18.37c ± 0.63	78.61a ± 0.47	76.47a ± 0.46	2.14a ± 0.02	37.92d ± 1.23	61.84c ± 3.25	16.54e ± 0.75
	MC80	1601.39b ± 35.91	29.14b ± 0.62	65.90b ± 0.79	63.88b ± 0.88	2.02a ± 0.10	335.41a ± 10.20	126.83b ± 11.34	79.37b ± 4.80
	MC98	1726.70a ± 17.73	30.02b ± 0.71	64.13c ± 0.63	62.65c ± 0.61	1.49c ± 0.02	335.35a ± 17.23	177.60a ± 0.74	100.93a ± 0.54
	MS10	1454.81c ± 78.36	30.22b ± 0.56	65.08bc ± 0.52	63.24bc ± 0.58	1.84b ± 0.12	302.52b ± 25.56	129.70b ± 5.86	68.23c ± 2.69
	MC4	833.03d ± 13.75	34.86a ± 0.44	61.74d ± 0.53	61.25d ± 0.57	0.49d ± 0.04	216.67c ± 2.79	71.77c ± 5.67	28.33d ± 1.28
	p-value	***	***	***	***	***	***	***	***
2019	Monastrell	672.93d ± 16.97	15.73d ± 1.58	82.86a ± 1.91	73.65a ± 1.85	9.20a ± 0.07	40.09e ± 8.03	65.39c ± 4.48	9.56e ± 2.49
	MC80	1874.88b ± 23.37	34.86bc ± 0.51	61.68bc ± 0.59	56.90bc ± 0.54	4.78c ± 0.23	456.94b ± 7.04	191.75b ± 10.29	64.87b ± 2.47
	MC98	878.97c ± 13.93	36.37b ± 0.92	59.84cd ± 0.97	56.55bc ± 0.86	3.29e ± 0.11	257.04c ± 5.36	60.82c ± 6.91	33.28c ± 0.97
	MS10	2428.96a ± 8.35	33.48c ± 0.31	63.24b ± 0.28	57.04b ± 0.64	6.21b ± 0.36	469.81a ± 8.90	336.61a ± 0.82	79.59a ± 1.30
	MC4	664.32d ± 17.73	38.68a ± 0.58	59.37d ± 0.64	55.09c ± 0.48	4.28d ± 0.16	198.10d ± 4.12	59.05c ± 3.10	13.03d ± 0.69
	p-value	***	***	***	***	***	***	***	***
2020	Monastrell	541.78e ± 2.03	23.15e ± 0.20	74.50a ± 0.25	63.52a ± 0.23	10.98a ± 0.09	56.40e ± 1.15	65.77d ± 0.39	12.70c ± 0.46
	MC80	1641.54a ± 20.79	44.15b ± 0.14	54.26d ± 0.21	50.07d ± 0.40	4.19c ± 0.20	486.07a ± 5.88	220.51a ± 4.63	26.09b ± 1.78
	MC98	1053.87c ± 3.32	42.95c ± 0.20	55.97c ± 0.19	52.68c ± 0.16	3.29d ± 0.03	296.51c ± 1.33	146.24c ± 2.49	11.39cd ± 0.23
	MS10	1462.95b ± 42.70	35.69d ± 1.06	60.00b ± 1.22	55.21b ± 1.22	4.79b ± 0.01	342.24b ± 10.64	167.38b ± 18.11	63.10a ± 4.25
	MC4	586.01d ± 6.94	47.41a ± 0.46	51.19e ± 0.48	49.00d ± 0.49	2.18e ± 0.01	191.93d ± 2.04	79.36d ± 3.36	8.26d ± 0.24
	p-value	***	***	***	***	***	***	***	***
Análisis Multifactorial									
	Variedad	76.62 ***	70.97 ***	79.77 ***	58.71 ***	42.43 ***	89.29 ***	57.96 ***	54.81 ***
	Añada	3.36 ***	23.61 ***	16.08 ***	37.78 ***	39.94 ***	1.34 ***	2.65 ***	21.20 ***
	V X A	19.86 ***	4.99 ***	3.6 ***	2.80 ***	17.47 ***	9.05 ***	38.81 ***	23.65 ***

Tabla 4. 10 Caracterización antociánica mediante HPLC de los vinos de Monastrell y los de las nuevas VACF durante las campañas 2018, 2019 y 2020. Abreviaturas: ¹Antocianos totales, ²(Tri-OH): compuestos trihidroxilados, ³(Di-OH): compuestos dihidroxilados. Los datos representan las medias ± desviación estándar. Diferentes letras indican diferencias significativas según el test LSD (p<0.05). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** (p < 0,001), 99%** (p < 0,01) y 95%* (p < 0,05). Los valores del análisis multifactorial están expresados en porcentaje.

También se analizó la concentración de cumaratos en los vinos elaborados al igual que se hizo en las uvas. En la campaña 2018, los vinos de Monastrell obtuvieron las concentraciones más bajas (61.84 mg/L) junto con los vinos de MC4 que obtuvieron una concentración muy similar 71.77 mg/L. Estos valores son similares a los encontrados en la variedad Monastrell por otros autores (Gil-Muñoz et al., 2021). Con respecto a la concentración más alta analizada en cumaratos, fueron encontradas en los vinos de MC98 con valores de 177.60 mg/L, triplicando a los obtenidos en los vinos de Monastrell. En la campaña 2019, una vez más los vinos de Monastrell destacaron por su baja concentración (65 mg/L). Es necesario remarcar que durante esta campaña, la concentración de estos compuestos en los vinos de MS10 se vio muy incrementada llegando a alcanzar los 336.61 mg/L, concentración que quintuplicaría los valores encontrados en los vinos de Monastrell. Frente a estos resultados no se ha podido encontrar información suficiente para poder justificar este incremento de antocianos tan marcado en una campaña y en esta variedad en concreto. Finalmente, en la campaña 2020, la concentración de los vinos de Monastrell fue de 65.77 mg/L frente a los 220.51 mg/L analizados en los vinos de MC80, que fueron los que mostraron los valores más altos.

La formación de vitisinas ocurre durante la fermentación alcohólica, normalmente cuando la concentración de ácido pirúvico es más elevada (He et al., 2012b). En general, las concentraciones de vitisinas en nuestros resultados fueron ligeramente menores que las concentraciones analizadas de acetatos y cumaratos. Así, en la campaña 2018, los vinos de Monastrell tuvieron una concentración de 16.54 mg/L y muy similar a la obtenida por los vinos de la variedad MC4, con una concentración de 28.33 mg/L. Sin embargo, los vinos de la variedad MC98 destacaron por mostrar la concentración más alta, incrementándola en 5 veces a la obtenida en los vinos de Monastrell (100.93 mg/L). En la campaña 2019, los vinos de Monastrell y MC4 de nuevo obtuvieron las menores concentraciones con unos valores de 9.56 y 13.06 mg/L respectivamente, mientras que los vinos de la variedad MS10 alcanzó la concentración más alta con un valor de 79.59 mg/L. Finalmente, en la última campaña, de nuevo los vinos de MS10 alcanzaron la mayor concentración de vitisinas (63.10 mg/L) mientras que los vinos de Monastrell únicamente obtuvo una concentración de 12.70 mg/L. Las concentraciones de vitisinas encontradas en los vinos, pueden venir afectadas por la variedad, o por ciertos parámetros de la fermentación tales como un bajo pH, un alto contenido de ácido pirúvico y una baja temperatura de fermentación. Además, hay otros factores a tener en cuenta como la cepa de levadura usada o el contenido de dióxido de azufre presente en los vinos (He et al., 2012b). La investigadora Moreno-Pérez (2013) también encontró

valores muy similares a los nuestros en relación a la variedad Monastrell cultivada en la Cañada del Judío o en Albatana. Esta misma investigadora encontró concentraciones superiores de vitisinas (50 mg/L) en vinos de Cabernet Sauvignon, sin embargo, estas concentraciones se encuentran lejos de lo encontrado en alguna de las nuevas VACF.

Finalmente se realizó un análisis multivariable (**Tabla 4.10**) con el fin de poder interpretar mejor nuestros resultados. La información recogida muestra como los parámetros de antocianos totales, % antocianos acilados, % antocianos no acilados y concentración de acetatos estuvieron marcados fuertemente por el factor variedad. La cuantificación de estos parámetros tiene por tanto, un factor genético muy importante ya que la variabilidad explicada por este factor superó el 70 %, llegando hasta el 89.29 % en el caso de los antocianos acetilados. No obstante, con respecto a la concentración total de antocianos, la interacción entre variedad y añada (V x A) afectó en un 19.86 %, pudiendo ser la explicación a ciertas diferencias encontradas entre las campañas, sobre todo en los valores de las variedades que presentaron unas mayores concentraciones. Por otro lado, aunque el factor variedad tuvo un peso importante (± 55 %) en los parámetros como los antocianos Tri-OH, cumaratos y vitisinas, el factor añada también fue determinante en la obtención de las diferentes concentraciones obtenidas en estos compuestos, pudiendo estos resultados justificar lo obtenido en las diferentes campañas. Finalmente, el parámetro más variable podría decirse que fue el correspondiente a los antocianos Di-OH ya que el factor variedad explicó un 42.43 %, de la variabilidad, la añada un 39.94 % y la interacción entre ambos (V x A) un 17.47 %.

Por último decir que los resultados obtenidos en la caracterización antociánica de los vinos de VACF, reafirman por tanto que su perfil antociánico es característico de cada variedad. Además, el perfil antociánico, o huella dactilar de la uva, ha sido utilizado por muchos autores para diferenciar a las variedades y para identificar su autenticidad (Zhao et al., 2010) como ya se mencionó anteriormente, y en este caso es evidente que nosotros, en las nuevas variedades, podríamos utilizar esta herramienta.

4.7.3.2 Flavonoles

En la **Tabla 4.11** se muestran los principales resultados relativos a los flavonoles analizados en los vinos de Monastrell y las nuevas VACF. Como establece Romero et al. (2022), los flavonoles junto con los antocianos son componentes importantes en la determinación del estilo y la calidad del vino, ya que los flavonoles pueden conjugarse con los antocianos, en un proceso llamado copigmentación, que refuerza la estabilidad a largo plazo del color y las propiedades nutraceuticas de los vinos.

Al igual que hicimos con las uvas, hemos analizado los flavonoles totales, los flavonoles Mono-OH (monohidroxilados) como el kampferol, los flavonoles Di-OH (dihidroxilados) como la quercetina e isoramnetina y los compuestos Tri-OH (trihidroxilados), mirecitina, laricitrina y siringetina. Las concentraciones individuales se muestran en las tablas (**Tabla 7.10, Tabla 7.11 y Tabla 7.12**) ubicadas en Capítulo 8: ANEXOS.

		Flavonoles totales (mg/L)	¹ Mono-OH (mg/L)	² Di-OH (mg/L)	³ Tri-OH (mg/L)
2018	Monastrell	25.67d ± 1.64	2.28b ± 1.03	13.92d ± 2.79	9.47b ± 3.47
	MC80	55.52b ± 0.74	3.20a ± 0.20	33.88b ± 0.39	18.44a ± 0.17
	MC98	48.34c ± 1.59	2.20b ± 0.25	27.26c ± 0.83	18.88a ± 0.52
	MS10	78.08a ± 3.08	0.50c ± 0.02	67.20a ± 2.64	10.38b ± 0.43
	MC4	22.61d ± 0.47	1.18c ± 0.12	10.11e ± 0.32	11.33b ± 0.13
	p-value	***	***	***	***
2019	Monastrell	33.80c ± 0.05	0.21b ± 0.02	19.58d ± 0.06	14.02d ± 0.07
	MC80	83.84b ± 0.33	0.30a ± 0.03	49.33b ± 0.14	34.21b ± 0.34
	MC98	31.19d ± 1.17	nd	14.49e ± 0.03	16.77c ± 1.21
	MS10	145.23a ± 0.44	0.32a ± 0.05	93.33a ± 0.05	51.58a ± 0.52
	MC4	34.14c ± 0.13	nd	20.33c ± 0.06	13.83d ± 0.28
	p-value	***	***	***	***
2020	Monastrell	41.53e ± 0.22	0.51d ± 0.05	28.90e ± 0.11	12.12e ± 0.10
	MC80	112.77b ± 0.28	1.06b ± 0.05	74.09b ± 0.09	37.62b ± 0.17
	MC98	72.18c ± 0.07	0.77c ± 0.02	48.73c ± 0.06	22.68c ± 0.02
	MS10	201.85a ± 0.40	1.49a ± 0.05	143.60a ± 0.29	56.76a ± 0.11
	MC4	57.96d ± 0.02	0.49d ± 0.01	40.51d ± 0.06	16.96d ± 0.04
	p-value	***	***	***	***
Análisis Multivariable					
	Variedad	68.79 ***	11.60 ***	72.78 ***	51.11 ***
	Añada	19.03 ***	55.03 ***	19.76 ***	21.18 ***
	V X A	12.15 ***	27.39 ***	7.39 ***	27.40 ***

Tabla 4. 11 Caracterización de flavonoles (mg/L) mediante HPLC de los vinos de Monastrell y los de las nuevas VACF durante las campañas 2018-2019 y 2020. Abreviaturas: ¹Mono-OH: Flavonoles monohidroxilados, ²Di-OH: Flavonoles dihidroxilados, ³Tri-OH: Flavonoles trihidroxilados. Los datos representan las medias ± desviación estándar. Diferentes letras indican diferencias significativas según el test LSD (p<0.05). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** (p < 0,001), 99%** (p < 0,01) y 95%* (p < 0,05). Los valores del análisis multifactorial están expresados en porcentaje.

De este modo, tal y como se observa en la **Tabla 4.11**, durante las tres campañas de estudio la variedad MS10 fue la que presentó la mayor concentración de flavonoles totales, coincidiendo además con los resultados obtenidos en las uvas, y también con la mayor cantidad de antocianos en los vinos. Concretamente en la campaña 2020, el vino de MS10 quintuplicó al de Monastrell en relación a la concentración de flavonoles, alcanzando los 201.85 mg/L. Esta concentración de flavonoles en la variedad MS10 se acerca a las altas concentraciones encontradas en el té negro, el cual se caracteriza por tener concentraciones de 500 mg/L (Crozier et al., 2009), contribuyendo así a los

beneficios antioxidantes que tiene para la salud humana. La tendencia con respecto a las variedades con menor concentración fue similar a los resultados anteriormente comentados, y por tanto Monastrell, junto con la variedad MC4 obtuvieron las concentraciones más bajas, exceptuando a la campaña 2019, ya que fue la variedad MC98 la que presentó una menor concentración de flavonoles, concretamente 31.19 mg/L. Además es necesario comentar, que esta variedad no se caracterizó por tener una concentración alta de flavonoles, ya que las variedades que destacaron fueron únicamente MS10 y MC80. Autores como Flamini et al, (2013b) remarcan que los factores agronómicos y ambientales también afectan principalmente la cantidad y al perfil de flavonoles en la uva. En particular, la biosíntesis de flavonoles en los tejidos vegetales está muy influenciada por la luz solar. Por lo tanto estos incrementos durante las añadas, podrían estar directamente relacionados con los factores ambientales, ya que tal y como se recoge en la estación meteorológica de la Finca Experimental (SIAM), las horas de sol durante el mes de agosto se incrementaron con respecto al transcurso de las campañas, es decir, 336 horas de sol en 2018, 352 horas en el año 2019 y 356 h en la campaña 2020.

Con respecto a la concentración de compuestos Mono-OH se encontraron concentraciones inferiores a las de Di-OH y Tri-OH. De este modo, en la campaña 2018, los vinos de la variedad con mayor concentración de compuestos Mono-OH fue MC80 (3.20 mg/L) y los vinos de las variedades MS10 y MC4 los que obtuvieron las concentraciones más bajas (0.50 mg/L). Durante la siguiente campaña, las concentraciones fueron muy inferiores a las obtenidas durante el primer año, además en las variedades MC98 y MC4 no se detectaron estos compuestos. Sin embargo, los vinos de MC80 fueron los que de nuevo, obtuvieron la concentración más alta (0.30 mg/L) junto con los vinos de la variedad MS10, aunque en éstos, la concentración fue muy inferior a la de la campaña anterior. Por último, en la campaña 2020, fueron los vinos de la variedad MS10 los que presentaron la concentración más alta, con una concentración de 1.49 mg/L seguida de los vinos de MC80 con 1.06 mg/L frente a MC4 y Monastrell (0.49 y 0.51) que fueron las variedades cuyos vinos mostraron las cantidades más bajas.

Con respecto a los flavonoles Di-OH (**Tabla 4.11**), destacar que de las tres campañas de estudio, fueron los vinos de la variedad MS10 los que destacaron por mostrar las concentraciones más altas al igual que ocurría con los flavonoles totales. Además estas concentraciones fueron incrementándose con las distintas añadas. Con respecto a las concentraciones más bajas, los resultados fueron diferentes según el año de estudio, aunque también coincide con lo observado para las concentraciones de

flavonoles totales. De este modo, en la campaña 2018, los vinos de la variedad MC4 fueron los que mostraron una menor concentración de compuestos Di OH obtuvo (10.11 mg/L). En la campaña 2019 fueron los vinos de la variedad MC98 con 14.49 mg/L mientras que los vinos de la variedad Monastrell lo fueron en la campaña 2020 (28.90 mg/L).

Finalmente, se estudió la composición de compuestos Tri OH. En relación a la campaña 2018, los vinos de las variedades MC80 y MC98 fueron los que presentaron las concentraciones más altas, el resto de vinos (Monastrell, MS10 y MC4) obtuvieron los valores más bajos. Las concentraciones mostradas en la campaña 2019 al igual que en 2020 se vieron ligeramente incrementadas, así los vinos de MS10 alcanzaron las concentraciones más altas mientras que los vinos de MC4 y Monastrell presentaron las concentraciones más bajas en 2019 y los vinos de Monastrell en el año 2020.

En el análisis multivariable realizado (**Tabla 4.11**), se puede observar, cómo el factor variedad fue el que más influyó en los resultados obtenidos para la concentración total de flavonoles (69.79 %), al igual que ocurrió para los flavonoles Di-OH (72.78 %) y Tri-OH (51.11 %). Todos estos resultados pondrían de manifiesto la influencia que tiene el factor hereditario de estos compuestos en las nuevas variedades. En cambio los flavonoles Mono-OH se vieron más afectados por la añada (55.03 %) como también ocurrió en el caso de la uva. Esto podría explicar la disminución en las concentraciones encontradas durante la campaña 2019, en la que ni siquiera pudieron ser detectados en los vinos de las variedades MC98 y MC4. Todos estos resultados pondrían de manifiesto la influencia que de nuevo tiene el factor hereditario sobre estos compuestos en las variedades. Finalmente, señalar que las interacciones V x A también tuvieron un papel significativo en todos los parámetros medidos, de modo que aunque la variedad es importante, también los factores ambientales influyeron en los resultados obtenidos en cada una de las añadas estudiadas. Así, autores como Flamini et al. (2013a), llegaron a la conclusión de que el contenido total y el patrón de flavonoles es muy variable entre los genotipos y también puede ser modulado en cierta medida por factores bióticos y abióticos.

4.7.3.3 Parámetros relacionados con las proantocianidinas

Los resultados en relación al perfil tánico de los vinos de Monastrell y las nuevas variedades se muestran en la **Tabla 4.12**. Por lo general, se siguen varias tendencias para cada uno de los parámetros analizados, PAs totales, gMP, % GAL, así como las concentraciones de EGC y de EPI-GAL, los cuales se estudiarán a continuación.

Además las concentraciones individuales de los diferentes compuestos analizados se presentan en la **Tabla 7.11** del Capítulo 8: ANEXOS de la presente Tesis Doctoral.

Con respecto a la concentración de PAs totales en los vinos de las nuevas variedades, durante los tres años de estudio, los vinos de MC80 destacaron por tener las concentraciones más altas de PAs, concretamente con unas concentraciones de 1788, 1761 y 2348 mg/L respectivamente coincidiendo con lo encontrado en sus uvas. Pero en cambio, estos resultados no se corresponden del todo con los analizados en el apartado **4.7.2.1.3** de los análisis realizados por el método de la metilcelulosa, ya que fue la variedad MC98 la que destacó por sus altas concentraciones. La justificación de este hecho se puede relacionar con lo encontrado en la literatura. Así como se comentó anteriormente en el apartado de uvas, Gil Cortiella et al. (2020) explicó que el desajuste entre los métodos utilizados para los análisis de proantocianidinas, parece indicar que las diferencias entre métodos es debido a que hay ocasiones en que las variedades contienen mayores cantidades de proantocianidinas complejas no hidrolizables, mientras que la cantidad total de proantocianidinas estimada para las técnicas no hidrolíticas es casi la misma para los vinos de ambos orígenes. Sin embargo, en nuestros resultados observamos como los vinos que obtuvieron las concentraciones más bajas por el método por cromatografía se corresponden con los encontrados cuando utilizamos el método de la metilcelulosa. Así por ejemplo, volvemos a observar como los vinos de Monastrell y los de MC4 presentaron un 70% menos de concentración tánica en comparación con los vinos de MC80. Cabe por tanto destacar de nuevo, la similitud encontrada entre los vinos de Monastrell y MC4 para este parámetro.

Como se puede observar en la **Tabla 4.12**, las concentraciones mostradas durante la campaña 2020 fueron ligeramente superiores en comparación a las encontradas en los años previos. Algunos vinos, como los procedentes de las variedades MC80, MC98 y MS10 presentaron valores realmente altos de PAs, lo que quizá nos podría llevar a pensar que esto se puede traducir en vinos sensorialmente ásperos y astringentes. No obstante, por un lado, de acuerdo a Gómez-Plaza et al. (2016) vinos con alto contenido en PAs podrán estabilizar su color al reaccionar con los antocianos dando lugar a compuestos poliméricos más estables. Además, por otro lado, hay que tener en cuenta que la mayoría de los vinos con un alto contenido en PAs son destinados a un proceso de crianza. Esto permite suavizar el carácter astringente de los vinos, por lo que este atributo no siempre es considerado como una sensación negativa, sino que se ha encontrado que influye positivamente en la evaluación de la calidad del sabor (ataque, evolución y persistencia) y calidad global (Sáenz-Navajas et al., 2011).

En relación al gMP, los vinos de las VACF también siguieron una tendencia clara durante los años de estudio. Por ejemplo, los vinos de la variedad MC98 fueron los que obtuvieron un mayor gMP durante las tres campañas de estudio. En cambio los valores más bajos fueron obtenidos por los vinos de MS10 y MC4 en las campañas 2018 y 2019, mientras que en la campaña 2020 fue obtenido por el vino de MC80. De acuerdo a Gómez-Plaza et al. (2016) cuanto mayor sea el valor del gMP, mayor será el precio asignado a los vinos, por lo que siguiendo esta pauta, el vino de MC98 podría ser una buena opción como vino comercial, aunque es bien sabido que el gMP también tiene en los vinos un impacto importante en su carácter seco astringente (Arapitsas et al., 2021). Por otro lado, de acuerdo a Paladines-Quezada (2021) los valores bajos de gMP pueden atribuirse a una mayor proporción liberada de las semillas, como es el caso de las variedades MS10 y MC4 en las tres campañas de estudio, mientras que valores más altos de gMP, puede atribuirse a una mayor concentración de PAs provenientes de las pieles, como se puede observar en la variedad MC98. Futuros estudios de extractabilidad serían necesarios para poder confirmar estas afirmaciones.

El % GAL se muestra en la **Tabla 4.12**, y como se puede observar los porcentajes obtenidos durante la campaña 2018 fueron superiores a las de 2019 y estos a su vez fueron superiores a los obtenidos en 2020. Sin embargo se mantuvo cierta tendencia todos los años de estudio, así los vinos de la variedad MS10 mostraron los mayores porcentajes de este parámetro, siendo indicativo de la presencia de compuestos como la EPI-GAL en una concentración significativa. Tanto en la campaña 2018 como en la campaña 2019, los vinos de las variedades MC80 y MC98 fueron las que presentaron los menores porcentajes, con una media de 13 % en la campaña 2018 y de 6 % en la del 2019. Finalmente en la campaña 2020, fueron los vinos de la variedad MC98 los que obtuvieron un menor porcentaje. Con respecto a la variedad Monastrell y MC4, durante las tres campañas de estudio fueron las segundas variedades con mayores %GAL obtenidos tras la variedad MS10.

		PA. Totales ¹	% gPM ²	% GAL ³	EGC μM ⁴	EPI-GAL μM ⁵
2018	Monastrell	448.56d \pm 29.68	3.03c \pm 0.08	23.60b \pm 1.04	210.89d \pm 15.12	322.36e \pm 24.33
	MC80	1788.01a \pm 142.96	3.76b \pm 0.04	13.07c \pm 0.68	1517.54a \pm 131.42	742.22b \pm 30.42
	MC98	1431.05b \pm 25.95	4.45a \pm 0.08	13.94c \pm 0.55	1208.54b \pm 49.22	632.09c \pm 13.31
	MS10	1121.15c \pm 39.89	2.23d \pm 0.01	37.18a \pm 0.30	490.88c \pm 21.70	1194.42a \pm 39.02
	MC4	380.91d \pm 12.98	2.19d \pm 0.03	36.55a \pm 0.51	151.76d \pm 7.06	400.23d \pm 9.28
	p-value	***	***	***	***	***
2019	Monastrell	459.14d \pm 9.30	4.08c \pm 0.22	7.85bc \pm 1.63	237.40d \pm 7.28	118.53d \pm 25.12
	MC80	1761.96a \pm 51.71	5.60b \pm 0.06	6.73c \pm 0.40	1831.62a \pm 47.45	388.12b \pm 11.22
	MC98	1411.66b \pm 161.41	6.95a \pm 0.10	6.34c \pm 0.32	1287.81b \pm 149.80	294.72c \pm 41.74
	MS10	860.54c \pm 36.42	3.40d \pm 0.09	17.31a \pm 0.93	471.71c \pm 12.68	467.37a \pm 42.61
	MC4	316.24d \pm 40.22	2.84e \pm 0.14	9.77b \pm 1.34	139.47d \pm 25.03	99.48d \pm 1.98
	p-value	***	***	***	***	***
2020	Monastrell	800.36d \pm 27.14	5.06b \pm 0.06	2.80bc \pm 0.14	990.26c \pm 40.46	150.73c \pm 4.84
	MC80	2348.45a \pm 275.75	4.39d \pm 0.15	3.07b \pm 0.65	4784.84a \pm 645.72	475.17a \pm 67.85
	MC98	1777.70b \pm 167.75	5.98a \pm 0.19	2.45c \pm 0.14	2381.46b \pm 229.80	232.88b \pm 11.71
	MS10	1096.26c \pm 104.95	4.86bc \pm 0.18	4.65a \pm 0.20	1244.67c \pm 106.88	270.95b \pm 16.18
	MC4	710.56d \pm 15.82	4.79c \pm 0.04	2.67bc \pm 0.11	850.60c \pm 19.36	127.58c \pm 3.94
	p-value	***	***	***	***	***
Análisis Multifactorial						
	Variedad	88.57 ***	46.01 ***	18.45 ***	56.83 ***	39.27 ***
	Añada	7.59 ***	36.76 ***	66.13 ***	27.46 ***	44.04 ***
	V X A	1.76 ***	16.72 ***	15.12 ***	13.99 ***	15.97 ***

Tabla 4. 12 Caracterización de PAs mediante HPLC en vinos de Monastrell y los de las nuevas VACF durante las campañas 2018, 2019 y 2020. Abreviaturas: ¹ Concentración de proantocianidinas totales expresados en mg/L, ² (gMP) grado medio de polimerización, ³ (% GAL) porcentaje de galoilación, ⁴ (EGC μM) concentración de epigallocatequina de extensión expresada en micromoles, ⁵ (EPI-GAL) concentración de epicatequina-3-orto-galato de extensión expresada en micromoles. Los datos representan las medias \pm desviación estándar. Diferentes letras indican diferencias significativas según el test LSD ($p < 0.05$). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** ($p < 0,001$), 99%** ($p < 0,01$) y 95%* ($p < 0,05$). Los valores del análisis multifactorial están expresados en porcentaje.

Como se comentó en el apartado anterior de PAs en uvas, las subunidades de EGC, proporcionan el carácter de suavidad a los vinos. De acuerdo a nuestros resultados y como hemos visto anteriormente, los vinos de la variedad MC80 fueron los que mayor concentración de PAs tuvieron en las tres campañas, pudiendo tener así un gran carácter tánico, además, esta variedad fue también la que mayor concentración de EGC presentó, alcanzando valores de 1517, 1831 y 4784 μM en las campañas de 2018, 2019 y 2020, destacando así sus altas concentraciones, sobre todo en el último año de estudio. Seguida a esta variedad, fueron los vinos de MC98 y MS10 los que también presentaron altas concentraciones en este compuesto. Finalmente, los vinos de Monastrell y MC4 destacaron por sus bajas concentraciones en EGC con una media de 200 y 100 μM respectivamente para las campañas de 2018 y 2019, o la media de 920 μM entre las dos variedades para la campaña del 2020.

En relación al compuesto EPI-GAL, en la campaña 2018, los vinos de la variedad MS10 alcanzaron la mayor concentración (1194 μM) en comparación con el resto de variedades. Los vinos de Monastrell, obtuvieron la concentración más baja (322 μM) junto con los de la variedad MC4 (400 μM). En la campaña 2019, los vinos de MS10 volvieron a tener la concentración más alta, sin embargo esta fue la mitad que la obtenida en la campaña anterior (467 μM) siendo más interesante desde el punto de vista organoléptico, ya que la EPI-GAL es un compuesto que podría participar en la sensación de amargor. En esta campaña, de nuevo los vinos de MC4 obtuvieron la concentración más baja (99.48 μM) junto con los de Monastrell (118 μM). Una posible explicación para los altos valores encontrados en la variedad MS10 durante la campaña 2018 y 2019, podría ser el mayor % GAL obtenido en los vinos de esta variedad. Finalmente, en la campaña 2020, los vinos de MC80 fueron los que presentaron las concentraciones más altas con valores de 475 μM con respecto a los vinos de MC4 y Monastrell, con unas concentraciones de 127 μM y 150 μM respectivamente.

Por último, el análisis multifactorial, mostró como el factor variedad fue el más importante en la concentración total de PAs, explicando un 88.5 % de la variabilidad de los resultados encontrados. Destacar también que el factor añada tuvo una gran importancia a la hora de explicar la variabilidad en el % GAL, pudiendo así justificar las diferencias obtenidas en las tres campañas para este parámetro. La EGC se vio influida en un 56.83 % por el factor variedad, también tuvo especial importancia la afectación del factor añada (27.46 %) y la interacción entre ambos (13.99 %). Finalmente, destacar que para el gMP así como para el compuesto EPI-GAL, tanto la variedad como la añada, influyeron de manera similar en los resultados obtenidos.

4.7.3.4 Distribución de masas moleculares de proantocianidinas en los vinos

Tras realizar los análisis de PAs en los vinos mediante floroglucinólisis, se realizó un análisis de masas moleculares en los vinos elaborados. En la **Figura 4.10** se observan los perfiles obtenidos durante el año 2018, mucho menos definidos que en el caso de los años 2019 y 2020, de igual modo como ocurrió en el análisis de masas moleculares en las PAs de las uvas.

En los perfiles de los vinos elaborados, la fracción correspondiente a las PAs monoméricas es la que presentó la mayor área al igual que ocurría en los hollejos, esto podría sugerir que las PAs que se encuentran presentes en los vinos, corresponderían en una mayor proporción a los hollejos que a las semillas.

Con respecto a las variedades, del mismo modo que ocurrió en el análisis de uvas durante la campaña 2018, los vinos de la variedad que mayor área tuvo fueron los de MS10, seguidos de los de MC98 y MC80, mientras que las áreas de los vinos de las variedades Monastrell y MC4 fueron las más pequeñas, siendo estos resultados coincidentes con los obtenidos en el análisis de PAs por floroglucinólisis (**Tabla 4.12**).

En relación a la campaña 2019, se puede apreciar un perfil mucho más definido, en dónde se observa como la fracción monomérica fue mayor que la polimérica y la oligomérica. Concretamente, los vinos de la variedad MC80 obtuvieron la mayor área con respecto a la fracción monomérica tal y como muestran los resultados anteriormente comentados (**Tabla 4.12**). En cambio, la variedad con menor área fue la correspondiente a los vinos de MC4. Estos mismos resultados se obtuvieron en la campaña 2020, aunque en este último año las áreas totales de las distintas fracciones obtenidas por los vinos de la variedad MC80 fueron muy superiores a las obtenidas por el resto de variedades, sobre todo en la fracción oligomérica.

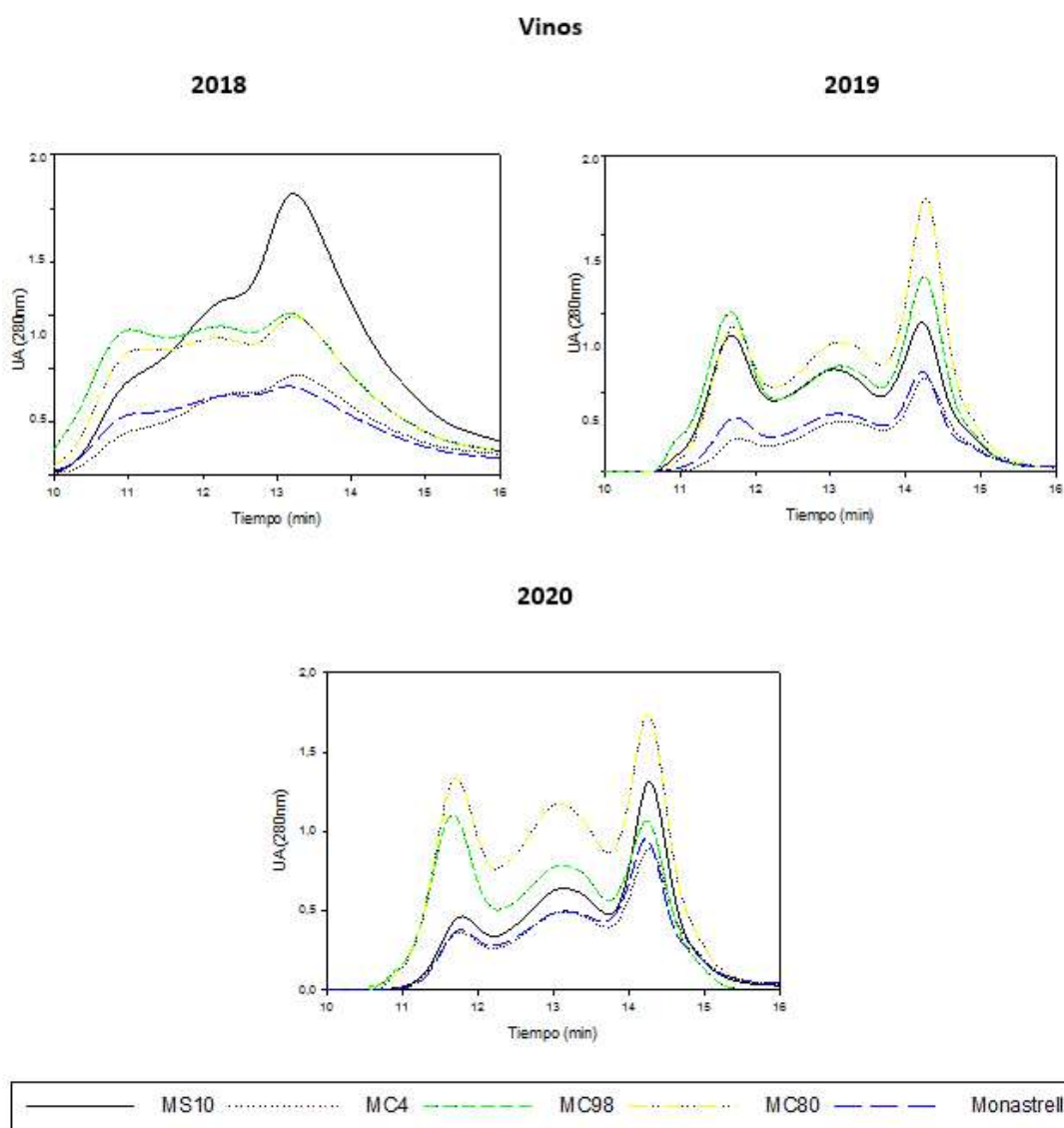


Figura 4. 10 Distribución de masas moleculares de las proantocianidinas de los vinos de Monastrell y de las nuevas VCAF durante las campañas 2018, 2019 y 2020.

4.7.4 Análisis de componentes principales

Del mismo modo que se realizó en las uvas, tras la caracterización fenólica de los vinos, se decidió realizar un análisis de componentes principales para estudiar si los vinos de las nuevas VACF y la variedad Monastrell podían diferenciarse en función de los parámetros de composición fenólica (**Figura 4.11**). Los parámetros utilizados para llevar a cabo dicho análisis fueron; análisis espectrofotométricos como el IPT, antocianos* y PAs, así como el IC y H* analizados como parámetros cromáticos. Con respecto a los análisis realizados por HPLC, los cuales engloban los siguientes parámetros: a los antocianos [antocianos (como antocianos totales), % acilados, % no

acilados, trihidroxilados (Tri OH Ant), dihidroxilados (Di OH Ant), cumaratos, acetatos y vitisinas], flavonoles [flavonoles (como flavonoles totales), monohidroxilados (Mono OH Flav), dihidroxilados (Di OH Flav) y trihidroxilados (Tri OH Flav)] así como los componentes correspondientes a las proantocianidinas [proantocianidinas totales (PAs), gMP, % GAL, EGC y EPI-GAL].

Se obtuvieron 23 componentes principales de los cuales el componente 1 explicó el 48.80 % de la varianza, y el componente 2 el 17.46 %, sumando entre ellos el 66.26 %. Cinco de estos componentes tuvieron eigenvalores mayores o iguales a 1.

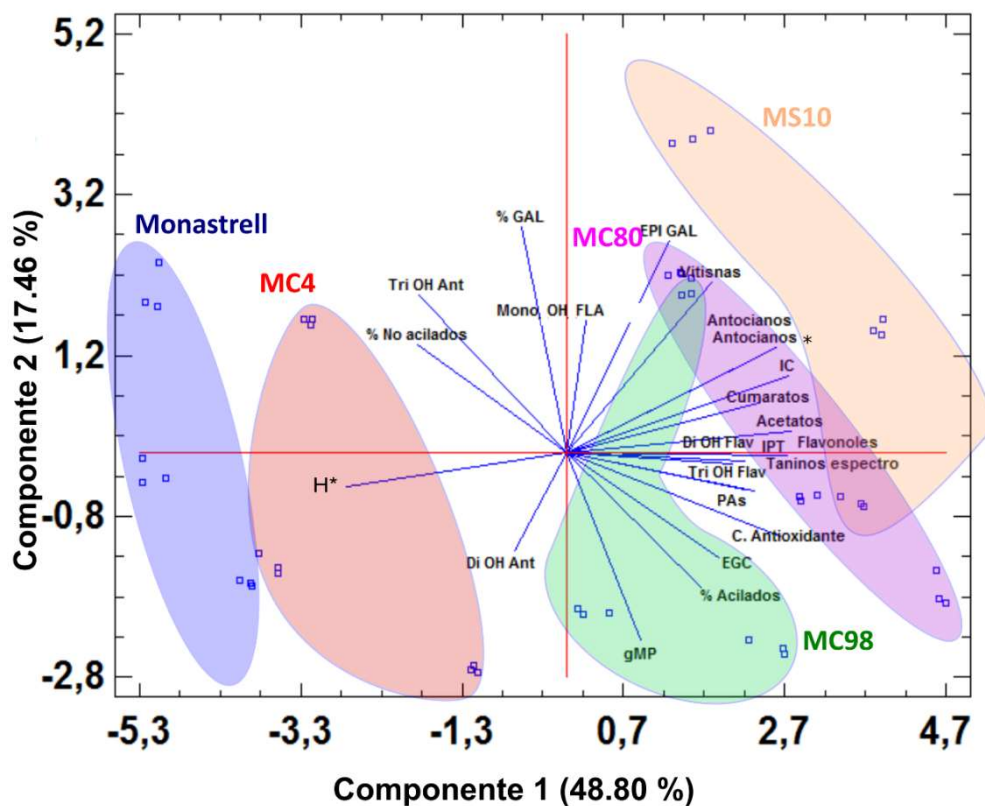


Figura 4. 11 Análisis de componentes principales en vinos de Monastrell y en los de las nuevas VCAF durante las campañas 2018, 2019 y 2020.

Esta técnica multivariable nos permitirá apreciar cuanto de similares o diferentes son los vinos de las diferentes variedades, según estén más o menos separadas en el plano definido por el componente principal 1 y 2. Además podremos dilucidar qué parámetros son los que están determinando en esta separación.

Como se puede observar en la **Figura 4.11**, hay una perfecta separación en los vinos de las nuevas variedades con respecto a los de la variedad Monastrell, siendo esta muy evidente a largo del componente 1. Por un lado, el vino de Monastrell y el de

la variedad MC4 se encuentran situados en la zona negativa del componente 1, de igual forma que ocurrió cuando se llevó a cabo el análisis de uvas. Por otro lado, se puede observar como los vinos de las variedades MS10, MC80 y MC98 se encuentran situados en la parte positiva del componente 1, encontrándose por tanto más alejados de los vinos de las variedades Monastrell y MC4. Esto sería indicativo de una mayor diferenciación con respecto a los vinos del resto de VACF en cuanto a su composición fenólica, como ya se podido observar a lo largo de este capítulo.

En cuanto a los parámetros que determinaron esta separación podemos ver como en el caso de los vinos de Monastrell y MC4 fueron los parámetros; H* y los antocianos no acilados, tanto los Di-OH como los Tri-OH. Estos resultados corresponden con los comentados en el anterior apartado (**4.7.3.1 Antocianos**).

Con respecto a los vinos del resto de variedades, en los de la variedad MC98 el parámetro que más influyó fue el gMP, junto con las vitisinas. Estos resultados son coincidentes con lo mostrado a lo largo del capítulo, donde se mostró como los vinos de esta variedad mostraron los valores más altos de gMP así como la alta concentración de vitisinas encontradas el año 2018.

Para los vinos de la variedad MC80, se vio influenciada por un gran número de parámetros, tales como los antocianos totales y PAs, tanto los medidos por cromatografía líquida como los obtenidos mediante espectrofotometría, los cumaratos y la IC, justificando así, como los vinos de esta variedad obtuvieron altos valores en todos los parámetros mencionados en las diferentes campañas estudiadas.

Por último, los vinos de la variedad MS10 se muestran en la parte más extrema de la gráfica, y se caracterizaron por las altas concentraciones de EPI-GAL tal y como se ha estudiado anteriormente, así como la alta concentración de antocianos totales sobre todo por las analizadas durante las campañas 2018 y 2019 y, además por las altas concentraciones de flavonoles.

4.7.5 Análisis sensorial

Tras la fermentación alcohólica, los vinos realizaron la fermentación maloláctica, y tras un mes en reposo, se realizó una cata descriptiva en todos ellos, con el fin de estudiar sus principales características sensoriales. Es necesario señalar que únicamente se van a mostrar datos correspondientes a las campañas 2019 y 2020 ya que es cuando se comenzó a realizar estos estudios.

La **Figura 4.12 A y B**, muestran los diferentes atributos organolépticos que se estudiaron en los vinos elaborados: el color, la intensidad aromática, la calidad gustativa, la persistencia y armonía global. Para ello, el panel de catadores entrenado de la Estación Enológica de Jumilla rellenaron una Ficha Técnica Descriptiva aprobada por el Consejo Regulador de la Denominación de Origen Jumilla (ver **Figura 3.3** de Materiales y métodos), en dónde se puntuaron los vinos correspondientes. La puntuación máxima para el parámetro color y la intensidad aromática fue de 10 puntos; de 22 puntos para la calidad gustativa, de 8 puntos para la persistencia y finalmente de 11 puntos para la armonía.

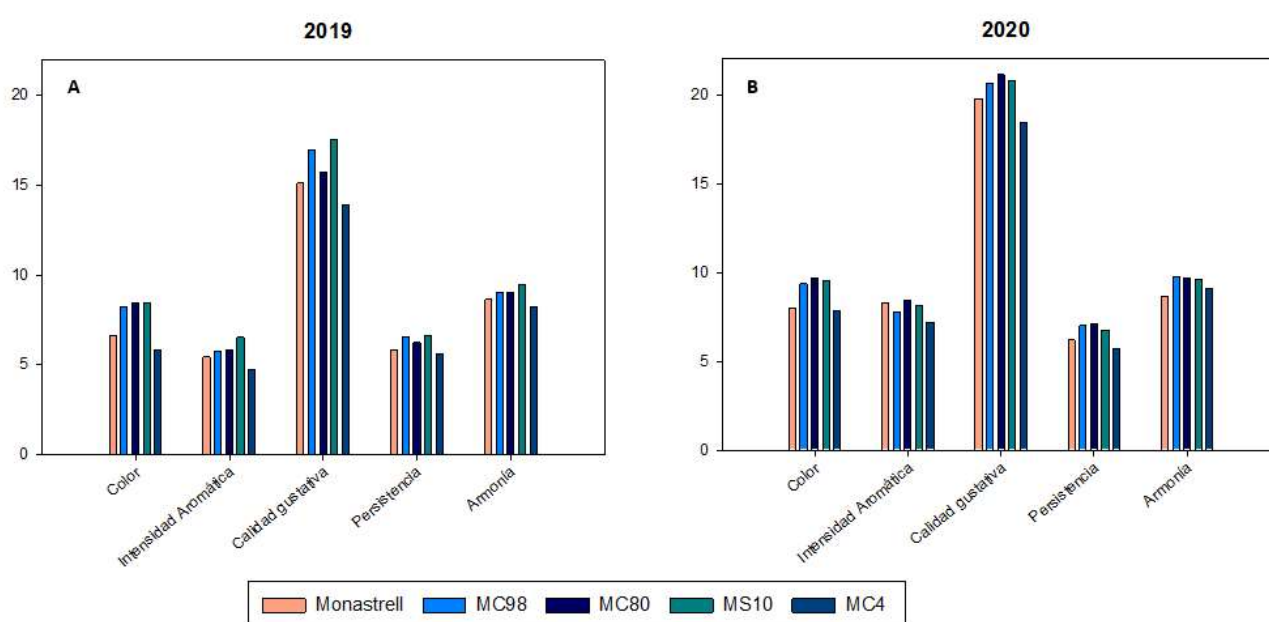


Figura 4. 12 Perfil sensorial de los vinos de Monastrell y los de las nuevas VACF durante las campañas 2019 (A) y 2020 (B).

Como se puede observar en la **Figura 4.12 A y B** con respecto al parámetro color, se muestra cómo los catadores apreciaron las diferencias en la intensidad de color anteriormente comentadas, es decir, en ambas campañas, los vinos de las variedades MC98, MC80 y MS10 (con una media de 9 puntos) destacaron sobre los de la variedad Monastrell (7.3 puntos) en este parámetro mientras que los de la variedad MC4 (6.8 puntos) fue catalogada como una variedad más similar a la variedad Monastrell, e incluso con menor intensidad en la campaña 2019 (**Figura 4.12 A**).

En relación a la intensidad aromática de los vinos, las preferencias de los catadores fueron más marcadas en la campaña 2019 que en la campaña 2020. Por un lado en la campaña 2019, la variedad que se valoró con una puntuación más alta fue MS10 (6.5

puntos), seguida de MC80 y MC98, y por último, y con valores menores que Monastrell, se encontró la variedad MC4 (4.7 puntos). Por otro lado, en la campaña 2020, los catadores encontraron bastantes similitudes entre los vinos de Monastrell y las nuevas VACF, excepto para el vino de MC4 que fue valorado con una puntuación inferior.

Con respecto a la calidad gustativa también se pudieron apreciar diferencias. Como se puede observar en la **Figura 4.12 A**, con respecto al año 2019, los catadores prefirieron los vinos de las nuevas VACF, en primer lugar MS10 (17.5 puntos) seguido de MC98, así como también MC80. A estas les siguió Monastrell y por último MC4 (13.9 puntos). Atendiendo a la campaña 2020 (**Figura 4.12 B**), destacaron los vinos de la variedad MC80 (21.08 puntos), seguidos de los de las variedades MC98 y MS10. A estos, les siguieron los de las variedades Monastrell y MC4 con valores de 19.7 y 18.4 puntos respectivamente. Destacar las consideraciones de los catadores con respecto a los vinos de la variedad MC4, puesto que a pesar de ser una variedad que sería apta para la elaboración de vinos de baja graduación alcohólica, los catadores prefirieron los vinos de Monastrell por encontrarlos más estructurados y con más cuerpo.

La persistencia de un vino proporciona información sobre su calidad. Vinos largos y duraderos en boca y retro-nasales se consideran vinos de mayor calidad que otros, caracterizados por un paso ligero en boca. De este modo, en ambas campañas (**Figura 4.12 A y B**), los vinos de las variedades MC98, MC80 y MS10 se consideraron como los más persistentes en comparación con los de las variedades de Monastrell y MC4.

Finalmente, la armonía es la apreciación global que el catador tiene sobre el vino. Se consideran vinos armoniosos y complejos aquellos que cumplen una serie de requisitos. Para ello debe existir un buen equilibrio entre la acidez, el alcohol y el aroma de un vino. En la campaña 2019, los vinos de la variedad MS10 fueron los que obtuvieron una ligera mayor puntuación, mientras que en la campaña 2020, los vinos de las variedades MC80, MC98 y MS10 fueron los que más destacaron (media de 9 puntos), mientras que los de Monastrell y MC4 mostraron una apreciación similar. En la campaña 2020, MC80 y MC98 alcanzaron los 9.7 puntos, siendo las variedades más cercanas a 11, Monastrell en cambio alcanzó los 8.6 puntos.

En la campaña de 2020 también se decidió comenzar a profundizar en los aromas que estas nuevas variedades presentan. Por ello, en la siguiente figura (**Figura 4.13**), se muestra un gráfico de araña en dónde los catadores distinguieron entre varios grupos aromáticos, como fruta fresca, fruta madura, especiado, químico, herbáceo y floral.

Como se puede observar, los vinos de la variedad Monastrell destacaron por sus aromas a fruta fresca. Por el contrario, los catadores consideraron que los vinos de las

nuevas variedades tenían aromas que recordaban a fruta madura. Los vinos de la variedad MC80 también se caracterizaron por tener aromas florales así como los de la variedad MS10, estos mismos también fueron catalogados por tener ciertos aromas químicos y herbáceos. Los vinos de la variedad MC98, destacaron por sus aromas especiados. Finalmente, los vinos de la variedad MC4 se consideraron como los menos afrutados, florales y herbáceos, sin embargo también destacaron por sus aromas especiados.

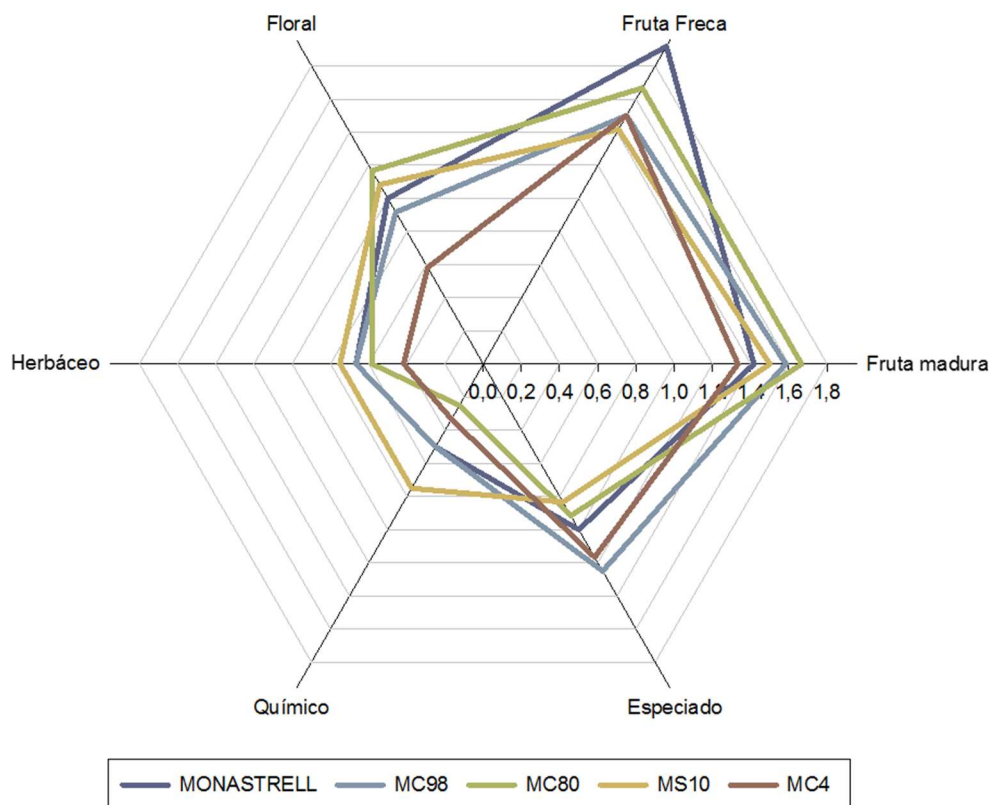


Figura 4. 13 Grupos aromáticos en los vinos de Monastrell y en los de las nuevas VACF durante la campaña 2020.

CAPÍTULO 5

CARACTERIZACIÓN DE NUEVAS VARIETADES CON BAJA GRADUACIÓN ALCOHÓLICA (VBGA)



CAPÍTULO 5: CARACTERIZACIÓN DE NUEVAS VARIEDADES CON BAJA GRADUACIÓN ALCOHÓLICA (VBGA)

5.1 Técnicas vitivinícolas para la obtención de vinos de baja graduación alcohólica

La viticultura murciana se enfrenta a un gran reto, mejorar la calidad de los vinos adaptándolos a las nuevas preferencias del consumidor, el cual está demandando vinos con una menor graduación alcohólica y una mayor frescura. Además, cada vez se está luchando más por permanecer en un mercado internacional altamente competitivo, ya que las ventas al extranjero suponen más del 85 % en los ingresos de muchas de las bodegas. Para conseguir este reto, es necesario encontrar un perfecto equilibrio entre la graduación alcohólica y la composición fenólica de los vinos.

En los últimos años, el contenido en alcohol de los vinos de Monastrell en nuestra zona, ha ido incrementándose paulatinamente hasta alcanzar los 15 % (v/v) o incluso más. Existen por tanto claras evidencias de que es necesario encontrar alternativas para ofertar a los consumidores vinos con un menor contenido alcohólico. De este modo, también se produce una clara tendencia hacia una vida más saludable y de bienestar con una gran concienciación sobre el consumo de alcohol. Además, existen políticas cada vez más restrictivas sobre las bebidas alcohólicas, así como un aumento de los impuestos sobre las bebidas con un mayor grado alcohólico. Por todo lo anteriormente comentado, es necesario utilizar alguna alternativa que nos permita alcanzar este objetivo. Actualmente, existen varias estrategias para disminuir el contenido de alcohol en los vinos, las cuales pueden provenir de diferentes acciones a nivel vitícola, en la viña, o a nivel enológico, ya en la bodega.

5.1.1 Estrategias vitícolas

5.1.1.1 Aclareo de racimos y doble vendimia

Una de las prácticas vitícolas que se utiliza para la regularización del contenido de alcohol en los vinos es el aclareo de racimos de uva inmadura. Esta técnica se denominaría doble vendimia y consistiría en vendimiar los racimos aclareados al comienzo del envero con la finalidad de obtener un mosto muy ácido y astringente con valores en torno a 17.8 g/L de acidez total, pH 2.64 y un 5 % de alcohol. Seguidamente, este mosto se conserva y se congela hasta la recolección de la uva en su momento de madurez óptimo, momento en el que se mezclarán ambos mostos para poder rebajar el contenido en azúcar (Kontoudakis et al., 2011; Palliotti et al., 2014) y obtener así vinos menos alcohólicos.

Así, Martínez-Moreno et al. (2022) propone la elaboración de vinos obtenidos a partir de uvas de la variedad Monastrell maduras (vendimia tardía) con un vino obtenido de uvas vendimiadas en una época más temprana, para conseguir de este modo un grado alcohólico más próximo al demandado por el consumidor y sus resultados han mostrado cómo el vino obtenido por la mezcla de vino procedente de uvas verdes y vino de uvas completamente maduras alcanzó un menor un grado alcohólico y mejoró los parámetros físicoquímicos de los vinos, aumentando sobre todo los niveles de acidez total. Además se incrementaron los parámetros de IPT, antocianos y PAs en el vino resultante de esta doble vendimia.

5.1.1.2 Poda tardía

Por otra parte, pueden llevarse a cabo técnicas vitícolas que retrasen el ciclo fenológico de la vid, haciendo coincidir la maduración con periodos más frescos. La técnica de poda tardía propone retrasar la tradicional poda invernal hasta la primavera con el objetivo de equilibrar la madurez tecnológica y fenólica de la uva y además, minimizar los daños por heladas tardías. Dicha técnica resultó por ejemplo eficaz en retrasar el ciclo fenológico de la vid y por tanto desplazar los procesos de maduración hacia periodos de temperaturas más suaves en variedades como Bobal y Tempranillo (Buesa et al., 2017). Sin embargo, en la variedad Tempranillo redujo ligeramente la producción y la fertilidad de las cepas al año siguiente. Es por lo tanto importante testar su eficacia y sus posible efectos en la variedad Monastrell antes de recomendar su empleo a escala comercial (Pérez-Álvarez et al., 2022).

5.1.1.3 Uso de portainjertos

Actualmente también se están llevando a cabo estudios sobre el uso de diferentes portainjertos en la variedad Monastrell cuyo objetivo es cuantificar su efecto sobre la maduración de la uva así como sobre la eficiencia en el uso de los recursos externos (fundamentalmente agua). Algunos portainjertos inducen a una fenología y maduración más tempranas, mientras que otros inducen un ciclo más largo (Gastón Gutiérrez-Gamboa et al., 2020).

Por tanto hoy en día se está llevando a cabo una búsqueda exhaustiva para conseguir aquellos portainjertos que puedan ser más adecuados par la obtencion de uva con menor concentración de azúcares y por tanto apta para proporcionar vinos menos alcohólicos. De este modo autores cómo Parra et al. (2022) explica los resultados obtenidos en un ensayo de campo en el que la variedad 'Monastrell' ha sido injertada

en varios portainjertos, incluyendo algunos de los más comúnmente empleados (110R, SO4, 1103P) como nuevas obtenciones (M1, M4, RG3 y RG8).

5.1.1.4 Uso de anti-transpirantes

La alta y directa insolación sobre las uvas produce un incremento del azúcar en las bayas. Por tanto, en la actualidad se están llevando a cabo estudios sobre la aplicación de anti-transpirantes en el momento de envero con el objetivo de limitar la actividad fotosintética de las plantas y así poder reducir la acumulación de azúcares en las bayas (Di Vaio et al., 2020).

5.1.1.5 Mejora genética

Con el objetivo de evitar el desfase entre la madurez fenólica y tecnológica, también se están llevando a cabo en el IMIDA, una selección de variedades apirenas tintas obtenidas a partir de su programa de mejora genética. La obtención de estas nuevas variedades con un alto potencial fenólico en sus pieles y sin pepitas nos permitiría el poder practicar una vendimia más temprana que se traduciría en vinos menos alcohólicos y con sabores menos vegetales y astringentes.

Otra línea de investigación novedosa en el mundo vitivinícola que se está llevando dentro de este programa de mejora genética, se basa en la selección de nuevas variedades, las cuales gracias a su genotipicidad consiguen ser variedades que maduran con un bajo contenido de azúcares pero con una alta concentración de compuestos fenólicos. Estas variedades serán estudiadas en este capítulo.

5.1.2. Estrategias enológicas

5.1.2.1 Adición de agua

Una de estas estrategias podría ser la adición de agua al mosto, aunque es necesario destacar que esta práctica solo se permite en algunos países, como en Australia, únicamente para facilitar la fermentación (Teng et al., 2020) y reducir el contenido en alcohol; en Sudáfrica, dónde la adición de agua es permitida para la incorporación de aditivos sin modificar la composición del vino, o en Estados Unidos (excepto en California) con el fin de reducir la acidez del vino (Teng et al., 2020). Evidentemente, la adición de agua conlleva a una dilución de los azúcares en el mosto, pero también de todos los compuestos de interés, viéndose por tanto afectada la calidad final del vino.

El resto del sector enológico no considera apta la adición de agua puesto que se considera una práctica ilegal ya que es catalogado como un fraude que es perseguido por las distintas administraciones públicas.

5.1.2.2 Mezcla de mostos con diferente concentración en azúcares

Una práctica que si estaría permitida en el sector, es la mezcla de mostos con distinta cantidad de azúcares. Si el enólogo considera adecuado la mezcla de un mosto más concentrado con otro de menor concentración, se podría obtener un vino de menor graduación alcohólica de una manera natural y legal.

5.1.2.3 Uso de enzimas

El uso de la enzima glucosa oxidasa es capaz de rebajar el contenido de azúcar en el mosto. La fermentación del mosto resultante produce vinos con hasta el 1.8-2 % más bajo en concentraciones de etanol (Kornecky et al., 2020), sin embargo, hay que tener cierta precaución a la hora de utilizarlas, puesto que los niveles de ácido glucónico se incrementan cuando se utiliza esta estrategia. En la actualidad, esta práctica tampoco está autorizada en todos los países.

5.1.2.4 Uso de levaduras *Sacharomyces* y no-*Sacharomyces*

La selección de levaduras es otra estrategia para conseguir un menor contenido de alcohol. Existen diferentes cepas de *Saccharomyces cerevisiae* seleccionadas por ser bajas productoras de etanol. Recientemente se están realizando estudios sobre la adición de *Sacharomyces cerevisiae* y no-*Saccharomyces* (García et al., 2020), y los resultados indican que la co-inoculación de estas levaduras puede utilizarse como estrategia para reducir los niveles de etanol en los vinos, manteniendo al mismo tiempo la tipicidad vinícola de la zona. Entre las no-*Sacharomyces* que se están utilizando estarían: *Torulaspota delbrueckii* que es la más estudiada y con mayor disponibilidad a nivel comercial (Benito, 2018) o *Metschnikowia spp* muy apreciada por su papel en la liberación de aromas además de reducir el grado alcohólico (Varela et al., 2015).

5.1.2.5 Aplicación de ultrasonidos de alta potencia

Cuando las uvas no se encuentran maduras fenólicamente, con la ayuda de un equipo ultrasónico se consigue una aceleración de la extracción de compuestos fenólicos de las uvas mediante el fenómeno de la cavitación. Este fenómeno ocurre cuando se aplican ultrasonidos de alta energía en un líquido que posea propiedades elásticas. La expansión de las moléculas del líquido, por la fuerza de los ultrasonidos,

crea burbujas o cavidades que colapsan (implosionan) generando presiones locales capaces de alterar la estructura de los tejidos vegetales y favorecer así la extracción de los compuestos intracelulares (Bautista-Ortín et al., 2017b). Esta técnica podría, pues, facilitar la extracción de compuestos fenólicos de uvas vendimiadas con menor cantidad de azúcar pero que todavía no han alcanzado la madurez fenólica, sin necesidad de extender la maceración en bodega y por tanto, sin que se produzca la extracción significativa de taninos de semilla.

Es una novedosa técnica aprobada recientemente por la OIV, y sobre la cual se están realizando numerosos estudios con la variedad Monastrell en la Universidad de Murcia (Bautista-Ortín et al., 2017; Pérez-Porras et al., 2022). Tiene un procesamiento relativamente de bajo costo, ecológico y no térmico, por tanto se considera una tecnología novedosa.

5.1.2.6 Utilización de columnas de conos rotatorios

La columna de conos rotatorios es una técnica de separación utilizada en la industria alimentaria principalmente para la recuperación de aromas. Sin embargo, hoy en día existen propuestas para mejorar la competitividad de la desalcoholización del vino utilizando esta técnica, aumentando así el rendimiento y la comerciabilidad tanto del producto desalcoholizado como del destilado excedente (Huerta-Pérez y Pérez-Correa, 2018).

El sistema de columnas de conos rotatorios está compuesto por un eje vertical giratorio y conos empaquetados verticalmente que giran alternadamente y son fijos. El método implica un proceso de dos etapas para reducir el contenido de alcohol de los vinos terminados. El vino pasa a través del sistema en la primera etapa a una baja presión al vacío (0,04 atm) y temperatura (alrededor de 28 °C) para recuperar aromas volátiles del vino en aproximadamente el 1 % del volumen total del producto, mientras que en la segunda etapa el vino se desaromatiza a una presión de vacío ligeramente más alta y temperatura de alrededor de 38 °C para eliminar el alcohol. El vino desalcoholizado se elabora combinando los aromas de vino recuperados con la porción desalcoholizada y desaromatizada (Sam et al., 2021; Schmidtke et al., 2012).

5.1.2.7 Utilización de ósmosis inversa

La ósmosis inversa es una de las técnicas más utilizadas hoy en día para la obtención de vinos de menor grado alcohólico (Delrot et al., 2020). El vino es bombeado desde el depósito a una serie de membranas de ósmosis inversa, después, el permeado

pasa por una membrana donde el etanol se vaporiza, se difunde a través de ella y se condensa. El permeado y el retenido son recirculados en el depósito de vino (Unterkofler et al., 2020).

Así autores como Gil et al. (2013), utilizando esta técnica, no mostraron diferencias a nivel estadísticamente significativo en el pH, IC, IPT, concentración de PAs y gMP entre vinos control y vinos parcialmente desalcoholizados, encontrando solo diferencias importantes en el contenido de alcohol. Únicamente encontraron algunas diferencias muy leves en la acidez, los antocianos, los parámetros CIELAB y los polisacáridos. Por lo tanto, parece que la ósmosis inversa puede ser un procedimiento útil para compensar el exceso de contenido de etanol en los vinos tintos, ya que altera poco su composición y las características sensoriales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación vamos a mostrar los resultados obtenidos para las nuevas variedades destinadas a la obtención de vinos de baja graduación alcohólica (VBGA): T4, T11, T75, T81 y T82.

5.2 Uvas

5.2.1 Parámetros de calidad en la uva en el momento de la vendimia

Los resultados obtenidos para los diferentes parámetros físico-químicos (peso medio de 100 bayas, °Bé, acidez total, pH, ácido tartárico y ácido málico) se recogen en la **Tabla 5.1**. En este estudio, que se llevó a cabo durante las campañas 2020 y 2021, ya que fueron los dos primeros años en los que se obtuvo producción por primera vez, caracterizado así todos estos parámetros en las nuevas variedades y se ha comparado con la variedad Monastrell.

		Monastrell	T4	T11	T75	T81	T82	p-value
2020	Peso 100 bayas (g)	157.50a ± 0.71	106.30c ± 0.71	124.98b ± 0.02	-	60.65e ± 0.35	77.54d ± 0.64	***
	°Bé	13.14b ± 0.04	13.34a ± 0.0	12.26c ± 0.03	-	11.62d ± 0.04	12.28c ± 0.0	***
	Acidez total (g/L) ¹	2.33c ± 0.11	4.65b ± 0.17	4.91ab ± 0.11	-	5.12a ± 0.06	4.68b ± 0.0	***
	pH	4.11a ± 0.03	3.80c ± 0.01	3.80c ± 0.02	-	3.76c ± 0.01	3.86b ± 0.02	***
	Ácido Tartárico (g/L)	4.46ab ± 0.33	3.87bc ± 0.17	3.52c ± 0.51	-	4.50ab ± 0.42	4.96a ± 0.06	*
	Ácido málico (g/L)	1.32c ± 0.19	3.09a ± 0.01	2.96a ± 0.10	-	2.31b ± 0.11	2.37b ± 0.12	***
2021	Peso 100 bayas (g)	180.75a ± 1.06	113.93c ± 0.10	133.44b ± 2.03	94.13d ± 0.52	75.56f ± 0.78	88.64e ± 0.91	***
	°Bé	13.17b ± 0.0	12.73d ± 0.0	13.97a ± 0.04	13.14b ± 0.04	12.07e ± 0.08	12.95c ± 0.0	***
	Acidez total (g/L)	2.40d ± 0.08	4.27a ± 0.03	3.86c ± 0.02	4.15ab ± 0.02	3.98bc ± 0.15	3.98bc ± 0.05	***
	pH	4.03c ± 0.02	3.96d ± 0.02	4.13b ± 0.01	4.02c ± 0.01	4.11b ± 0.01	4.20a ± 0.01	***
	Ácido Tartárico (g/L)	4.93b ± 0.2	4.50c ± 0.05	4.86b ± 0.17	4.61bc ± 0.19	5.59a ± 0.05	5.52a ± 0.08	***
	Ácido málico (g/L)	1.46c ± 0.06	2.76a ± 0.25	2.21b ± 0.16	2.14b ± 0.14	2.25b ± 0.15	1.90b ± 0.13	**

Tabla 5. 1 Características físico-químicas para Monastrell y las nuevas VBGA durante las campañas 2020 y 2021. ¹ Acidez total expresada en g/L de ácido tartárico. Los datos representan las medias ± desviación estándar. Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas de acuerdo al test de LSD ($p < 0.05$). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** ($p < 0,001$), 99%** ($p < 0,01$) y 95%* ($p < 0,05$).

Tal como se muestra en la tabla, existe una ausencia de datos para la variedad T75 durante la campaña 2020. Esto se debió a que esta variedad obtuvo muy poca producción durante este año (primer año de vendimia), y por lo tanto se tomó la decisión de utilizar la escasa cantidad de uva recolectada para la elaboración del vino correspondiente, así como para poder realizar los análisis al final de la fermentación alcohólica.

Respecto al tamaño de baya, los resultados mostraron que el peso medio de 100 bayas fue inferior en la campaña 2020 que en la campaña 2021. La justificación de estos resultados se debe a que en la campaña de 2020, fue la primera en la que las VBGA obtuvieron producción, esto junto al hecho de que las uvas fueron vendimiadas más tempranamente que en la campaña 2021 (ver **Figura 3.2** de Materiales y métodos), hizo que el tamaño del grano fuera inferior. Sin embargo, en la variedad Monastrell el incremento de peso del año 2020 (157.50 g) al 2021 (180.75 g) se debió a otros factores adicionales, tales como las precipitaciones previas que tuvieron lugar al momento de vendimia. Por un lado, en el mes de septiembre del año 2020, se registraron 5.3 mm frente a los 16.9 mm registrados en 2021 (ver **Figura 3.2** de Materiales y métodos). Autores como Yang et al. (2022) o Van Leeuwen et al. (2018) mantienen la hipótesis de un incremento en el peso de baya con precipitaciones precedentes al momento de la vendimia. Otros autores como Paladines-Quezada (2021) también consideran este incremento de peso en la variedad Monastrell como un factor importante en relación a las precipitaciones.

Tal y como se ha mencionado previamente, los resultados mostrados corresponden a las dos primeras producciones de estas variedades, lo cual explica el hecho de que las vendimias se llevaron a cabo en momentos diferentes, siendo en el año 2020 más temprana que en el año 2021, ya que el objetivo era comenzar a determinar el momento óptimo de maduración de las mismas. Así se puede observar en la **Tabla 5.1** cómo la gran mayoría de las nuevas VBGA mostraron un menor °Bé con respecto a la variedad Monastrell. Concretamente, en la campaña 2020 Monastrell se vendimió con 13.14 °Bé. También, la variedad T4 alcanzó un grado similar a Monastrell (13.34 °Bé) siendo esta variedad la que obtuvo el valor más alto. Por el contrario, las demás variedades obtuvieron un menor grado que Monastrell. Así, la variedad T81 se vendimió con 11.62 °Bé es decir, 1.52 °Bé menos que Monastrell, mientras que las variedades T11 y T82 obtuvieron un grado similar, 12.26 °Bé y 12.28 °Bé respectivamente. Por otro lado, en la campaña 2021 los grados fueron ligeramente superiores con respecto la campaña anterior, sin embargo la variedad Monastrell se vendimió con 13.17 °Bé, y las variedades T75 (13.14 °Bé) y T11 (13.97 °Bé) obtuvieron valores similares a ésta o superiores. El

resto de variedades, T4, T81 y T82 siguieron vendimiándose con concentraciones de azúcares inferiores a Monastrell.

Un parámetro ampliamente estudiado para conocer la calidad de las uvas es la acidez total. La acidez es una característica importante en la calidad de las bayas de uva, ya que induce las propiedades sensoriales de los vinos, a su estabilidad química y microbiológica, así como al potencial de envejecimiento (Gomès et al., 2021). Los resultados obtenidos mostraron (**Tabla 5.1**) cómo la acidez total fue mayor en las uvas de la campaña 2020 que en la del año 2021. Esto se atribuye al hecho de que la uva se encontraba menos madura en el primer año de estudio que en el segundo. Todas las nuevas variedades obtuvieron valores cercanos e incluso superiores a 4 g/L en acidez total. Sin embargo, Monastrell fue la variedad que menor valor mostró, obteniendo una media de tan solo 2.17 g/L entre las dos campañas. Los resultados encontrados en estas nuevas variedades son prometedores, ya que es bien sabido lo difícil que es conseguir una acidez media-alta en zonas climatológicamente áridas como es el caso de la Región de Murcia, cada vez más afectadas por las consecuencias del cambio climático.

Otro parámetro importante a tener en consideración es la concentración de ácido tartárico presente en las uvas. El ácido tartárico se sintetiza principalmente entre la floración y el envero en las hojas y en la pulpa de las bayas. En general, todas las variedades analizadas, incluso Monastrell, consiguieron unas concentraciones superiores a 4 g/L de ácido tartárico en ambas campañas (**Tabla 5.1**). Destacar la concentración obtenida en las variedades T82 y T81 que fueron las que mayores diferencias significativas presentaron en los dos años de estudio con respecto a la variedad Monastrell. Este hecho se podría justificar debido al tamaño de baya de estas dos variedades, ya que fueron las que obtuvieron un menor tamaño haciendo por tanto que, los ácidos estuvieran más concentrados. De acuerdo a Gutiérrez-Gamboa et al. (2021), una disminución de la concentración de tartrato se atribuye principalmente al efecto de dilución causado por la expansión de la baya, además después del envero, el contenido de tartrato por baya suele ser estable debido a su insensibilidad a la luz y la temperatura.

El ácido málico también es un ácido orgánico de gran importancia en la calidad final de la uva y del vino. Los resultados obtenidos (**Tabla 5.1**) muestran como Monastrell es la variedad con menor concentración de ácido málico (1,4 g/L) en ambas campañas. En cambio, las nuevas variedades duplicaron la concentración obtenida en Monastrell, obteniéndose las mayores concentraciones en la variedad T4 en los dos años de estudio. La acumulación de ácido málico en las uvas ocurre principalmente antes del

envero, y el rango de temperatura óptimo para la acumulación es entre 20 y 25 °C; pero cuando las temperaturas son superiores a 38 °C, la síntesis de ácido málico disminuye enormemente (Keller, 2020). Es necesario destacar que estas variedades experimentaron valores superiores a los 35 °C (ver **Figura 3.2** de Materiales y métodos), y aun así la cantidad de ácido málico obtenida fue muy superior a la obtenida por Monastrell, remarcando de este modo la adaptación de estas variedades a las condiciones climáticas de nuestra zona.

Finalmente, los análisis de pH de la uva muestran cómo Monastrell obtuvo valores de pH 4 en ambas campañas y sin embargo las nuevas variedades obtuvieron valores cercanos a pH 3.6 en la campaña 2020 y valores superiores a pH 4 en el año 2021. Estos resultados indican como el momento de vendimia elegido es crucial en la calidad final de los vinos elaborados ya que es bien sabido que valores superiores a 4 indican una menor estabilidad microbiana en los vinos elaborados. En las regiones vitícolas cálidas, como la nuestra, el aumento de las temperaturas puede resultar en uvas con bajos niveles de ácido tartárico y altos niveles de pH y K⁺. Debido a esto, el proceso de vinificación puede volverse más costoso ya que un mosto con baja acidez requiere la corrección con ácido tartárico para equilibrar el alto nivel de azúcar y mejorar la estabilidad microbiana (Keller, 2020).

5.2.2 Compuestos fenólicos analizados por HPLC

5.2.2.1 Antocianos

En la **Figura 5.1** se muestran los resultados obtenidos para los antocianos totales analizados en uvas de Monastrell y las nuevas VBGA en las campañas 2020 y 2021. Los antocianos totales que aparecen en la **Figura 5.1**, corresponden a la suma total de los antocianos y cuyas concentraciones individuales se presentan en las tablas (**Tabla 7.14** y **Tabla 7.15**) ubicadas en el Capítulo 8: ANEXOS de la presente Tesis Doctoral.

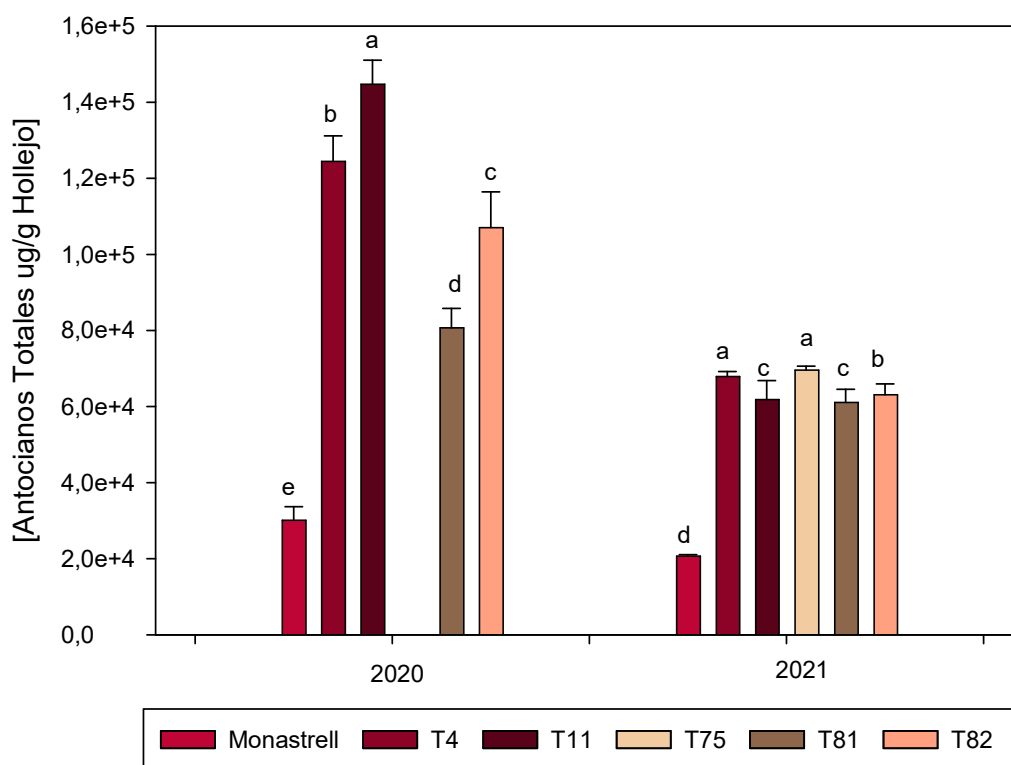


Figura 5. 1 Antocianos totales medidos por HPLC en las uvas de Monastrell y las nuevas VBGA expresadas en μg de hollejo. Diferentes letras indican diferencias significativas según el test LSD ($p < 0.05$).

Como se puede observar en la **Figura 5.1**, la concentración de antocianos en la variedad Monastrell fue similar en las dos campañas de estudio ($\pm 25.300 \mu\text{g/g}$ hollejo). Con respecto a las VBGA, todas superaron la concentración antociánica obtenida en la variedad Monastrell durante las dos campañas estudiadas. Sin embargo, es importante destacar que la concentración analizada en estas variedades durante la campaña 2020, fue muy superior a la analizada en 2021. La justificación de este hecho se debe a la gran calidad que suelen tener las variedades en el primer año de producción junto con el momento en el que se realizó la vendimia. Es bien sabido que la concentración de antocianos depende principalmente de la variedad de uva (Paissoni et al., 2020) aunque otros factores pueden influir tales como las condiciones climáticas, producciones, prácticas agronómicas o características edafológicas. Sin embargo, las grandes diferencias encontradas en la concentración de antocianos entre Monastrell y las VBGA se deben principalmente a la variedad propiamente dicha. Estos resultados son prometedores, pues tenemos en nuestras manos, un material vegetal único que nos permite obtener uvas con una alta concentración de antocianos, en una zona

climáticamente seca y árida, sin que tengan una alta acumulación de azúcares para conseguirlo.

Así mismo, las concentraciones oscilaron entre 30098 y 144818 $\mu\text{g/g}$ hollejo para la campaña 2020, mientras que en el año 2021, las concentraciones oscilaron entre 20683 y 69588 $\mu\text{g/g}$ hollejo. Concretamente, en la campaña 2020 la variedad Monastrell obtuvo una concentración de 30098 $\mu\text{g/g}$ hollejo frente a los 144818 que alcanzó la variedad T11 o bien los 124500 que alcanzó la variedad T4. Por otro lado, en la campaña 2021, a pesar de que las concentraciones disminuyeron considerablemente como se ha comentado anteriormente, las nuevas variedades alcanzaron más de 60000 $\mu\text{g/g}$ hollejo, es decir, más del triple que lo encontrado en Monastrell (20600 $\mu\text{g/g}$ hollejo).

Con respecto al porcentaje de antocianos acilados y no acilados, los resultados obtenidos se muestran en la **Figura 5.2**. Algunos antocianos se encuentran unidos con ácidos orgánicos aromáticos o alifáticos como el ácido acrílico, ácido cumárico, ácido cafeico, ácido malónico, ácido láctico, ácido acético, succínico, ácido tartárico, ácido glutárico por enlaces éster y se conoce como acilación de antocianinas (Vidana Gamage et al., 2022). Como se puede observar en la **Figura 5.2**, la acilación de antocianos se vio incrementada en todas las VBGA con respecto a Monastrell tanto en la campaña 2020 (**A**) como en la del año 2021 (**B**). Monastrell mostró un nivel de antocianos acilados del 20 %, mientras que las VBGA consiguieron duplicar este porcentaje, alcanzando valores superiores al 40 %. Las variedades T81 y T82 fueron las que mayor porcentaje presentaron en ambos años de estudio. Este incremento en la acilación de estas nuevas variedades es una cuestión importante a tener en cuenta, ya que la acilación hace que las antocianinas sean más estables en soluciones acuosas a través de la copigmentación intramolecular, protegiendo el cromóforo del catión flavylum del ataque nucleófilo del agua y generando un obstáculo estérico (De Trizio and Manna, 2016).

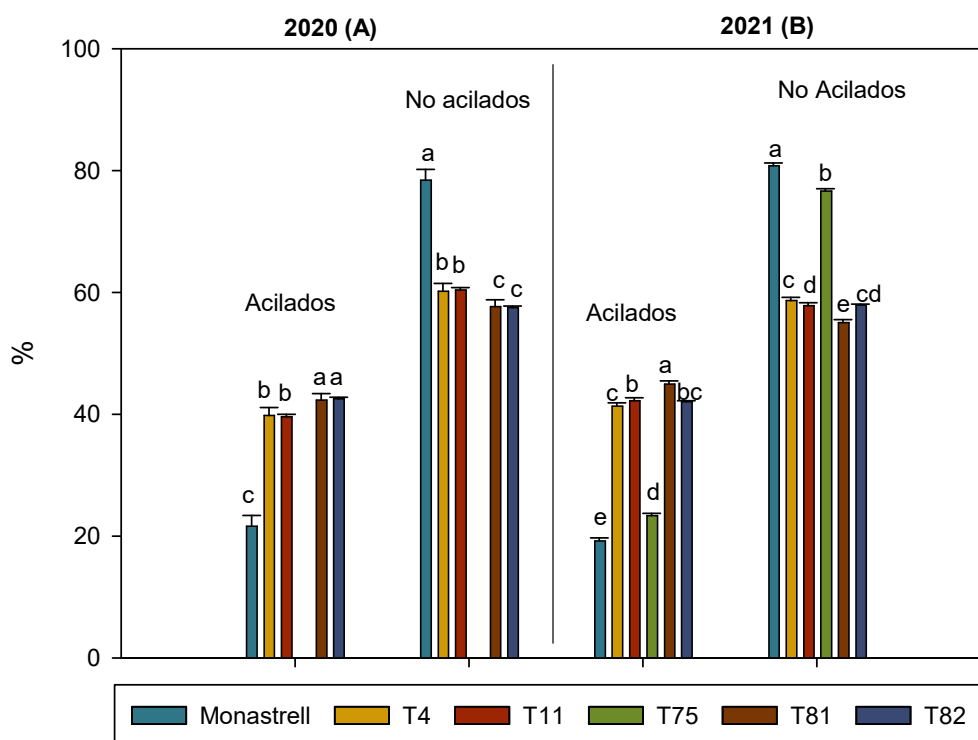


Figura 5. 2 Porcentaje de antocianos acilados y no acilados en uvas de Monastrell y las nuevas VBGA. (A) Campaña 2020. (B) Campaña 2021. Diferentes letras indican diferencias significativas según el test LSD ($p < 0.05$).

Por otro lado, los antocianos no acilados carecen de estos grupos alifáticos o de ácidos aromáticos conectados a ellos. Por tanto, se conoce la naturaleza inestable de las antocianinas no aciladas en comparación con las antocianinas aciladas. El número de grupos de azúcares también afecta la estabilidad de las antocianinas no aciladas (Vidana Gamage et al., 2022). De acuerdo a la **Figura 5.2**, Monastrell alcanzó un porcentaje de 80 % en antocianos no acilados, en comparación al 60 % obtenido por las nuevas variedades en ambas campañas de estudio (**A y B**). Por tanto, los resultados confirmaron, una mejora a nivel de perfil antociánico en las uvas de las nuevas VBGA.

Finalmente, en la **Figura 5.3** se muestran los resultados obtenidos para las concentraciones de antocianos acilados con ácido acético (acetatos) y los acilados con el ácido cumárico (cumaratos). En relación a la concentración de acetatos, los valores mostrados para las VBGA fueron mucho mayores que los obtenidos en Monastrell en las dos campañas de estudio (**A y B**). Monastrell obtuvo una media de 1150 $\mu\text{g/g}$ de hollejo entre los dos años de estudio, mientras que las VBGA consiguieron triplicar o cuadruplicar incluso los valores de Monastrell. De este modo, en la campaña 2020, fue la variedad T11 la que obtuvo las concentraciones más altas de estos compuestos en comparación con las demás variedades, alcanzando valores de 4200 $\mu\text{g/g}$ hollejo (**Figura 5.3-A**). Con respecto a la campaña 2021, como era de esperar y del mismo

modo que ha ocurrido en los anteriores análisis de antocianos, las concentraciones de este tipo de antocianos se vieron disminuidas en las nuevas variedades, aunque siguieron siendo superiores a las obtenidas en Monastrell. Durante esta campaña, fueron las variedades T81 y T82 las que obtuvieron las concentraciones más altas de acetatos, alcanzando valores en torno a 2200 $\mu\text{g/g}$ hollejo (**Figura 5.3-B**).

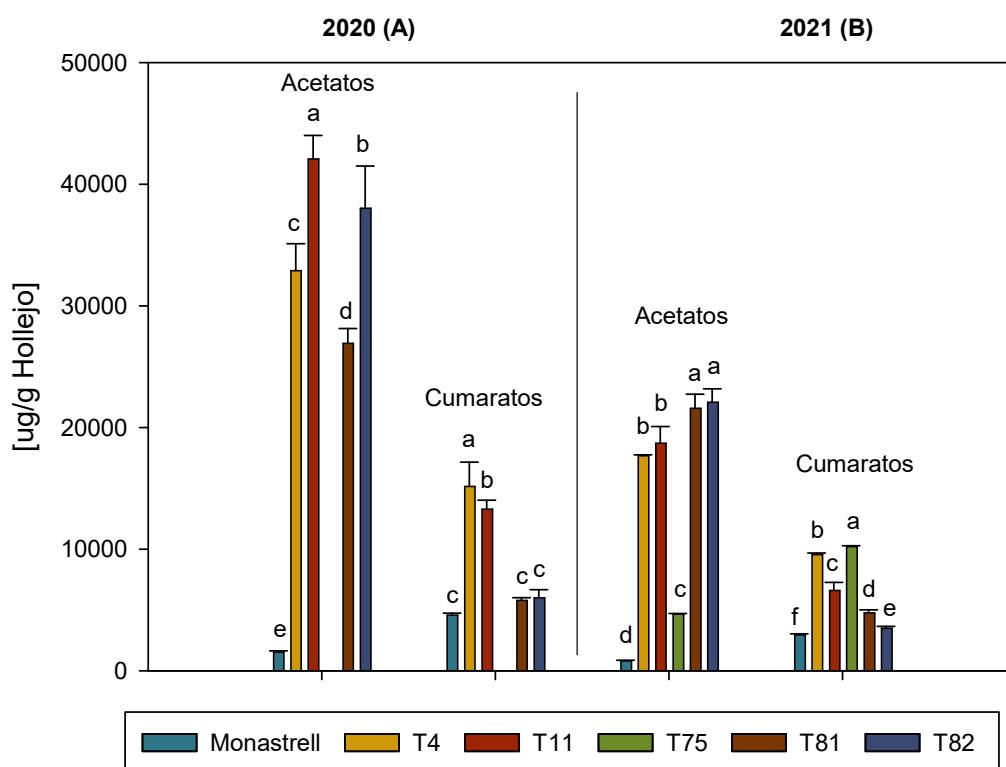


Figura 5. 3 Acetatos y cumaratos presentes en Monastrell y las nuevas VBGA. (A) Campaña 2020. (B) Campaña 2021. Diferentes letras indican diferencias significativas según el test LSD ($p < 0.05$).

Finalmente, los niveles de cumaratos antocianicos también tuvieron una variación importante entre las variedades objeto de estudio. Monastrell obtuvo una media de 3500 $\mu\text{g/g}$ de hollejo entre las dos campañas. Por un lado, en la campaña 2020 (**Figura 5.3-A**), T4 fue la variedad que alcanzó la concentración más alta de estos compuestos (15164 $\mu\text{g/g}$ hollejo) mientras que T81 y T82 (6000 $\mu\text{g/g}$ hollejo) obtuvieron unas concentraciones ligeramente superiores a Monastrell. En referencia a la campaña 2021 (**Figura 5.3-B**), T75 obtuvo la concentración más alta de cumaratos (10200 $\mu\text{g/g}$ hollejo), seguido de T4 (6600 $\mu\text{g/g}$ hollejo), y una vez más T81 y T82 (4100 $\mu\text{g/g}$ hollejo) obtuvieron concentraciones más cercanas a Monastrell. Estos resultados son significativos ya que es conocido que los derivados de cumaroil-glucósidos, pueden ser

más reactivos y, en consecuencia, más involucrados en la formación de pigmentos derivados que otros antocianos (Gil-Muñoz et al., 2021), contribuyendo así a la estabilidad del color de los vinos en el tiempo.

5.2.2.2 Flavonoles

En la **Figura 5.4**, se recogen las concentraciones totales de flavonoles analizadas en uvas de Monastrell y VBGA en las campañas 2020 y 2021. Los flavonoles individuales se muestran en la **Tabla 7.16** del Capítulo 8: ANEXOS.

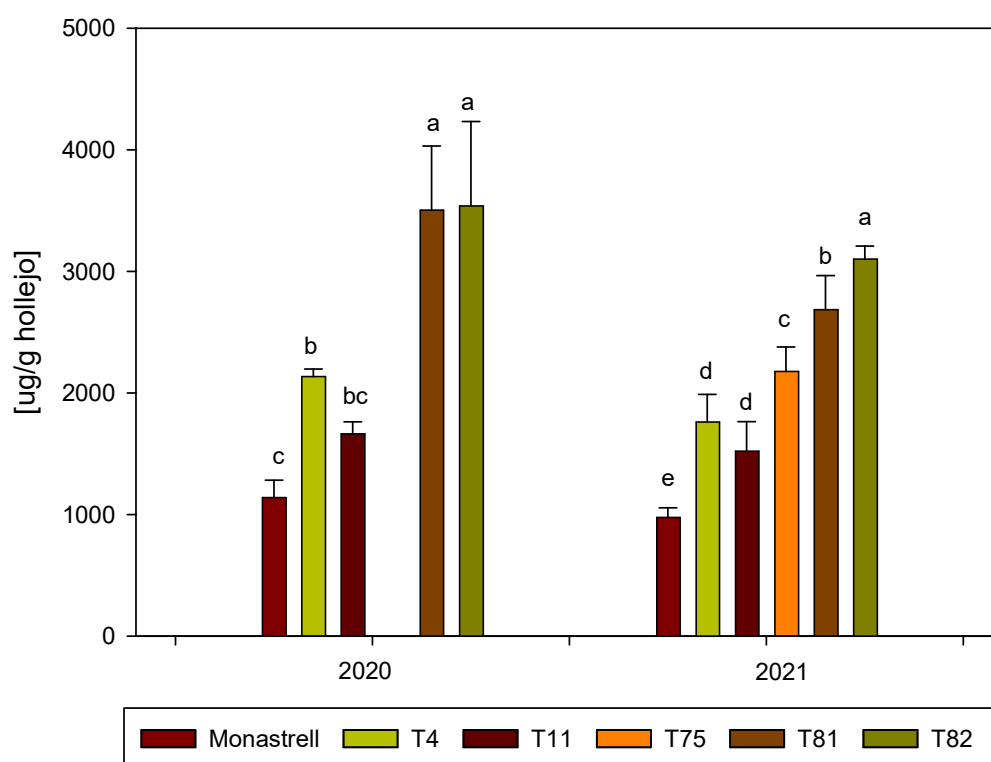


Figura 5. 4 Flavonoles totales en uva de Monastrell y en las nuevas VBGA en las campañas 2020 y 2021. Diferentes letras indican diferencias significativas según el test LSD ($p < 0.05$).

Los flavonoles se encuentran únicamente en el hollejo y su principal función es proteger al fruto de la radiación solar. De esta forma, cuando la exposición solar es mayor, la concentración de estos compuestos se incrementa (Nogales Bueno, 2017).

Como se puede observar en la **Figura 5.4**, en la campaña 2020 se obtuvieron concentraciones superiores de flavonoles en todas las VBGA en comparación con lo obtenido en la variedad Monastrell ($\pm 1000 \mu\text{g/g}$ hollejo), obteniendo las mayores concentraciones las variedades T81 ($2600 \mu\text{g/g}$ hollejo) y T82 ($3100 \mu\text{g/g}$ hollejo). Esta

misma tendencia ocurrió en la campaña 2021 aunque como ocurría con otros parámetros medidos, las concentraciones fueron algo inferiores a las obtenidas durante el primer año.

Estas diferencias interanuales pueden ser explicadas por el hecho de que además de tener en cuenta el atraso de la vendimia en el segundo año, se añade que la biosíntesis de flavonoles depende en mayor medida de la exposición a la radiación solar de las bayas, favoreciendo de este modo la acumulación de flavonoles al aumentar las horas de exposición (Jiménez et al., 2009). De este modo, durante el periodo comprendido entre el envero y el momento de vendimia durante el primer año, hubo 356 horas de sol, mientras que durante el segundo año, en el mismo periodo, hubo 312 horas de sol de acuerdo a los resultados obtenidos por la estación meteorológica SIAM. Autores como Flamini et al. (2013) afirman que normalmente la cantidad total de flavonoles en las uvas varía desde 1 a 80 mg/Kg de baya fresca, recogiendo únicamente datos de algunas especies silvestres de *Vitis* que contienen cantidades mucho más altas de flavonoles que los cultivares de *Vitis vinifera* como *Vitis palmate* (124 mg/Kg) y *Vitis riparia* (111 mg/Kg). Sin embargo, haciendo la conversión de unidades en las variedades presentadas en este estudio a mg/kg de uva, se llega a alcanzar valores de hasta 331 mg/kg de uva en variedades como T82 en la campaña 2020 o 257 mg/kg en la campaña 2021, concentraciones muy superiores a las encontradas en la bibliografía.

Finalmente con los resultados obtenidos de la concentración de flavonoles, se mantiene la hipótesis de adaptación de estas nuevas variedades a nuestra zona ya que presentan un buen comportamiento ante condiciones climáticas secas y áridas, siendo una alternativa para poder seguir obteniendo uvas de calidad.

5.2.2.3 Proantocianidinas

A continuación se mostrarán los resultados más relevantes con respecto a la concentración de PAs en hollejos y semillas analizados mediante HPLC en las uvas de Monastrell y las nuevas VBGA. En primer lugar se mostrarán los resultados obtenidos para la concentración total de PAs analizadas en hollejos y semillas de estas mismas variedades en la **Figura 5.5**. Además también se mostrarán los resultados obtenidos para el gMP, el % GAL, la concentración de EGC y la concentración de EPI-GAL de los hollejos de Monastrell y VBGA en la **Tabla 5.2**. Por otro lado, estos mismos parámetros, a excepción de la EGC se muestran en la **Tabla 5.3** para las semillas.

5.2.2.3.1 Proantocianidinas totales

En la **Figura 5.5-A** y **5.5-B** se muestran las concentraciones de PAs totales en los hollejos y las semillas respectivamente, en estas nuevas variedades junto con la variedad Monastrell durante los dos años de estudio (2020 y 2021). Por otro lado se muestran la composición de los compuestos individuales en hollejos y semillas en las tablas (**Tabla 7.17** y **Tabla 7.18**) del Capítulo 8: ANEXOS.

Los análisis de PAs en las pieles de las bayas de Monastrell, muestran una concentración de 8845 $\mu\text{g/g}$ hollejo en la campaña 2020 mientras que en la campaña 2021 se redujo hasta 3587 $\mu\text{g/g}$ hollejo (**Figura 5.5-A**). Estas concentraciones analizadas en Monastrell, son acordes a los resultados encontrados por otros investigadores en esta variedad de uva (Ruiz-García et al., 2013; Ortega-Regules et al., 2008; Nogales Bueno, 2017). Esta reducción del 60% de las PAs totales también se vio reflejada en las VBGA de la campaña 2020 a la del 2021, sobre todo en las variedades T4, T11 y T82. Quizás esta disminución puede ser debida al atraso del momento de vendimia en la campaña 2021 en las nuevas VBGA. Además como se estudió en el **Capítulo 4** y como establece el autor Allegro et al. (2021), las modificaciones que se producen en la pared celular del hollejo y la pulpa desde el envero hasta el momento de la vendimia tienen importantes implicaciones tecnológicas, ya que la pared celular interactúa con los compuestos fenólicos, en particular con las PAs, modulando así su capacidad de extracción y su precipitación durante el proceso de vinificación.

Individualmente, en la campaña 2020, la variedad T11 destacó ser la variedad que obtuvo las concentraciones más altas, superando de este modo los 25000 $\mu\text{g/g}$ hollejo. Por otro lado, T81 fue la variedad que obtuvo la concentración de proantocianidinas más similar a Monastrell. Sin embargo, T81 sufrió un ligero incremento en la campaña 2021 de un 13 %. En el año de estudio 2021, todas las VBGA obtuvieron valores superiores a la variedad Monastrell. De nuevo destacó la variedad T11 por sus valores cercanos 15000 $\mu\text{g/g}$ hollejo obteniendo las concentraciones más altas. El resto de VBGA no mostraron diferencias significativas entre ellas.

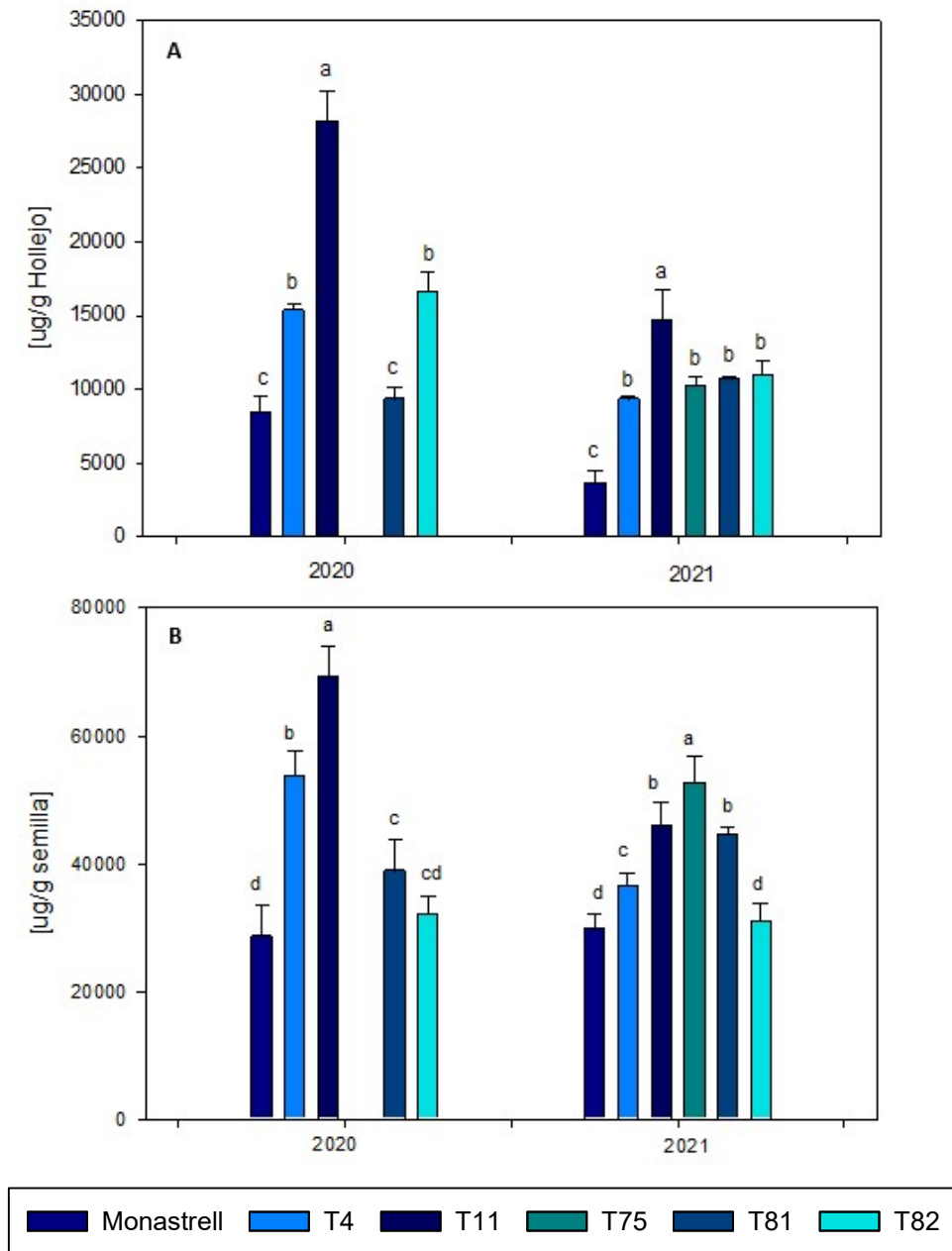


Figura 5.5 Concentración total de proantocianidinas en hollejos y semillas de Monastrell y las nuevas VBGA. (A) Campaña 2020. (B) Campaña 2021. Diferentes letras indican diferencias significativas según el test LSD ($p < 0.05$).

La **Figura 5.5-B** muestra los valores obtenidos para la concentración de PAs en las semillas de Monastrell y VBGA. Como se puede observar, estos valores fueron muy superiores a los encontrados en los hollejos, resultados que coinciden con los encontrados en la bibliografía (Teixeira et al., 2013). En relación a los resultados obtenidos en nuestro estudio, Monastrell alcanzó 29.000 $\mu\text{g/g}$ semilla como media de ambas campañas. En cambio, variedades como T11 en la campaña 2020 o T75 en

2021, duplicaron la concentración obtenida en Monastrell. Por contra, T82 obtuvo una concentración similar a la obtenida por Monastrell en la campaña 2021, 30865 µg/ g semilla. Desde el punto de vista organoléptico, este valor es importante ya que las proantocianidinas encontradas en las semillas, tienen una sensación más astringente en boca (Arapitsas et al., 2021).

5.2.2.3.2 Parámetros relacionados con las proantocianidinas

De acuerdo a Vidal et al. (2004), el carácter astringente o "seco" se correlaciona positivamente con el gMP y % GAL, mientras que la presencia de EGC, un compuesto solo presente en el hollejo de la uva, tienden a disminuir la percepción tánica. Además, es bien sabido que las semillas contienen una mayor concentración de taninos que la piel y una mayor proporción de unidades galoladas, mientras que los taninos de la piel tienen un gMP más alto que los taninos de las semillas (Gil-Muñoz et al., 2017a) como veremos a continuación.

En las **Tabla 5.2** y **5.3** se recogen los datos más significantes en cuanto a los parámetros relacionados con estos caracteres organolépticos en hollejos y semillas respectivamente, como son el gMP, % GAL, y concentración de EGC y EPI-GAL. Además los resultados de los compuestos individuales en hollejos y semillas se muestran en las tablas, **Tabla 7.16** y **Tabla 7.17** del Capítulo 8: ANEXOS de esta Tesis Doctoral.

5.2.2.3.2.1 Hollejos

Atendiendo a los resultados de la campaña 2020, Monastrell obtuvo el mayor gMP (16.83) en los hollejos en comparación con el obtenido por las nuevas VBGA siendo la variedad T4 la que obtuvo el valor más bajo (10.40) (**Tabla 5.2**). Con respecto al % GAL, las variedades T81 y T82 mostraron los niveles más altos (1.66 y 1.81 respectivamente), mientras que la variedad T4 obtuvo el valor más bajo (0.61).

Sin embargo, en el año 2021, la tendencia fue diferente. Durante esta campaña, la variedad T81 obtuvo el valor más alto en cuanto al gMP (21.30), mientras que T82 fue la variedad con menor gMP (10.92). Con respecto al % GAL, T4 volvió a obtener el menor valor (0.58 %), mientras que la variedad T75 fue la que obtuvo el porcentaje más alto (2.88 %).

Otro parámetro a tener en cuenta es la concentración de EGC presente, este es un compuesto que solo aparece en el hollejo y está correlacionado con taninos de calidad que dan suavidad a los vinos (Hernández-Hierro et al., 2012) consiguiendo así una

disminución en la sensación de astringencia, como ya se ha comentado previamente. En cuanto a nuestros resultados, Monastrell obtuvo valores de 898 μM en la campaña 2020 y 303 μM en la campaña 2021 (**Tabla 5.2**), sin embargo, las nuevas variedades consiguieron multiplicar los valores encontrados en Monastrell en ambas campañas de estudio. Por tanto, las altas concentraciones encontradas en las nuevas variedades con valores que superan los 2000 μM en la campaña 2020 y los 1300 μM en la campaña 2021, sugieren la gran capacidad de aportar taninos más suaves, menos astringentes, a los vinos que se elaboren con ellas.

No obstante, la sensación de astringencia dependerá también de otros factores tales como las proteínas salivares. Mientras que el amargor es un sabor mediado por receptores sensoriales, la astringencia se considera una sensación táctil resultante de la precipitación de proteínas salivales y que conduce a una pérdida de lubricación bucal (Vidal et al., 2004). Amargor y astringencia son dos términos sensoriales de crucial importancia para describir las propiedades organolépticas del vino.

Por último, en la **Tabla 5.2** se muestran los resultados obtenidos para la concentración de EPI-GAL, compuesto que también tiene cierta relación con la astringencia en los vinos elaborados (Gombau et al., 2020). Sin embargo, este compuesto se encuentra en baja concentración en los hollejos estando presente en mayor concentración en las semillas.

5.2.2.3.2.2 Semillas

Respecto a los parámetros analizados en las semillas, los resultados se muestran en la **Tabla 5.3**.

El gMP es un parámetro que suele tener un valor inferior en semillas que en el hollejo. Nuestros resultados mostraron como Monastrell fue la variedad que obtuvo el mayor gMP tanto en el año 2020 como en el 2021, alcanzando valores de 6.82 y 5.68 respectivamente. Por otro lado, todas las VBGA obtuvieron un valor medio de 5.8 en el año 2020, mientras que en la campaña 2021 los resultados fueron diferentes, T75 fue la variedad que menor valor obtuvo 4.51, y T4 junto con T82 las variedades que obtuvieron los valores más altos, 5.13 y 5.14 respectivamente. Es bien sabido que la mayor sensación de astringencia es proporcionada por las PAs de las semillas, por lo que según los resultados obtenidos, Monastrell sería la variedad con mayor sensación de astringencia.

En relación al % GAL, los valores encontrados en las semillas suelen ser superiores a los encontrados en los hollejos, y esto se debe a la mayor presencia del compuesto

EPI-GAL (Moreno-Pérez, 2013), en comparación a su presencia en los hollejos. Los resultados muestran (**Tabla 5.3**) como en la campaña 2020, la variedad T81 alcanzó el mayor % GAL (18.1) y en cambio la variedad T82 fue la que mostró el porcentaje más bajo (13.03). Del mismo modo, esta tendencia se repitió en la campaña 2021, aunque en esta ocasión, la variedad T75 también obtuvo un porcentaje alto de galoilación (18.21). Como se ha comentado previamente, estos valores estarían correlacionados con la concentración en EPI-GAL que muestren las semillas, así fueron las variedades T11 y T4 las que obtuvieron las mayores concentraciones en ambas campañas de estudio, y Monastrell junto con la variedad T82 las que mostraron las concentraciones más bajas, y T81 también en la campaña 2021.

A pesar de los resultados obtenidos en el análisis proantociánico de uvas, se tendrá que observar los resultados obtenidos en los vinos, para ver qué características organolépticas proporcionarán este tipo de compuestos, ya que la extractabilidad de los compuestos en el vino no tiene por qué ser igual para todas las variedades.

	Monastrell	T4	T11	T75	T81	T82	p-value
2020-HOLLEJO							
gMP¹	16.83a ± 1.65	10.40b ± 2.49	12.20b ± 0.93	-	11.42b ± 1.50	12.10b ± 1.02	**
% GAL²	0.89b ± 0.03	0.61c ± 0.05	0.93b ± 0.05	-	1.66a ± 0.22	1.81a ± 0.17	***
EGC μM³	898d ± 165.10	2026bc ± 70.86	4048a ± 115.36	-	1946 ± 205.74	2261 ± 225.92	***
EPI-GAL μM⁴	31.41c ± 4.62	21.65c ± 2.89	85.73a ± 5.88	-	64.17b ± 3.71	96.06a ± 14.79	***
2021-HOLLEJO							
gMP	14.59b ± 0.34	18.90a ± 2.09	13.35bc ± 0.35	14.47b ± 1.10	21.30a ± 3.25	10.92c ± 1.12	***
% GAL	1.15c ± 0.05	0.58d ± 0.05	1.04c ± 0.11	2.88a ± 0.03	1.11c ± 0.03	1.45b ± 0.15	***
EGC μM	303d ± 67.31	1612 ± 89.24	2552a ± 311.13	1361.99bc ± 72.15	1422bc ± 98.71	1313c ± 108.68	***
EPI-GAL μM	15.94e ± 2.20	15.95e ± 0.58	62.36b 14.70	86.16a ± 5.13	30.81d ± 1.52	48.45c ± 7.42	***

Tabla 5. 2 Parámetros relacionados con las proantocianidinas en los hollejos de Monastrell y las nuevas VBGA durante las campañas 2020 y 2021. Abreviaturas: ¹ (gMP) grado medio de polimerización, ² (% GAL) porcentaje de galoilación, ³ (EGC) concentración de epigallocatequina de extensión expresada en micromoles, ⁴ (EPI-GAL) concentración de epicatequina-3-orto-galato de extensión expresada en micromoles. Los datos representan las medias ± desviación estándar. Diferentes letras indican diferencias significativas según el test LSD (p<0.05). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** (p < 0,001), 99%** (p< 0,01) y 95%* (p< 0,05).

	Monastrell	T4	T11	T75	T81	T82	p-value
2020-SEMILLA							
gMP¹	6.82a ± 0.29	5.81b ± 0.40	6.16b ± 0.49	-	5.85b ± 0.26	6.04b ± 0.27	*
%GAL²	15.81c ± 0.77	14.99c ± 0.25	16.83b ± 0.32	-	18.01a ± 0.65	13.03d ± 0.17	***
EPI-GAL μM³	1098c ± 154.38	1758b ± 128.51	2193a ± 133,88	-	2014a ± 26.65	1104c ± 42,89	***
2021-SEMILLA							
gMP	5.68a ± 0.64	5.13b ± 0.13	4.67bc ± 0.14	4.51c ± 0.04	4.80bc ± 0.11	5.14b ± 0.14	**
%GAL	14.58d ± 0.37	15.13d ± 0.79	16.17c ± 0.32	18.21a ± 0.16	17.07b ± 0.48	13.57e ± 0.21	***
EPI-GAL μM	1223c ± 135.47	1988a ± 90.85	2104a ± 109.66	1684b ± 59.90	782d ± 63.49	1139c ± 122.68	***

Tabla 5. 3 Parámetros relacionados con las proantocianidinas en las semillas de Monastrell y las nuevas VBGA durante las campañas 2020 y 2021. Abreviaturas: ¹ (gMP) grado medio de polimerización, ² (% GAL) porcentaje de galoilación, ³ (EPI-GAL) concentración de epicatequina-3-orto-galato de extensión expresada en micromoles. Los datos representan las medias ± desviación estándar. Diferentes letras indican diferencias significativas según el test LSD (p<0.05). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** (p < 0,001), 99%** (p< 0,01) y 95%* (p< 0,05).

5.3 Vinos

5.3.1 Parámetros físico-químicos en los vinos

En la **Tabla 5.4** se recogen los principales parámetros de calidad (grado alcohólico, acidez total, pH, acidez volátil, ácido tartárico y ácido málico) para los vinos elaborados con Monastrell y las nuevas VBGA.

Como se puede observar, las diferencias más destacadas en los resultados obtenidos, se encuentran en el grado alcohólico obtenido por las nuevas variedades. En la campaña 2020, Monastrell obtuvo una graduación alcohólica de 13.84 % (v/v) mientras que todos los cruces obtuvieron una menor graduación, siendo las variedades T75, T81 y T82 con valores de 10.56, 10.38 o 10.55 % (v/v) respectivamente las que obtuvieron los valores más bajos. Concretamente los vinos de la variedad T81, obtuvieron un 46 % menos de alcohol, algo difícil de conseguir con cualquiera de las técnicas mencionadas en la introducción, preservándose además la calidad fenólica de estos vinos, como veremos a continuación. Por otro lado, durante la siguiente añada, el contenido en alcohol obtenido en los vinos de las nuevas VBGA fue superior, pero esto fue debido al hecho de que la vendimia se retrasó con el fin de determinar el momento óptimo de maduración de las mismas. Es importante remarcar, que a pesar de obtener estas graduaciones en los vinos elaborados, los resultados que hemos visto a lo largo de los apartados anteriores demuestran que estamos hablando de variedades con alto potencial fenólico en sus uvas.

Con respecto a los análisis de acidez total de los vinos elaborados durante los dos años de estudio, mostraron un valor medio de 7 g/L. Analizando estos resultados, debemos considerar la corrección de acidez con ácido tartárico que se realizó al comienzo de la elaboración. En cuanto a los valores de pH, en zonas climáticas como la nuestra, es necesario trabajar con valores de pH en torno a 3.6 para intentar evitar problemas en la estabilidad del vino.

La acidez volátil en los vinos analizados no sobrepasaron los niveles permitidos en la legislación de la OIV (1.2 g/L). No obstante, los valores de la campaña 2020 fueron ligeramente superiores a los de la campaña 2021. La justificación de este hecho se debe a la poca producción obtenida durante el primer año de estudio. Cuando las elaboraciones son microvinificaciones, los vinos evolucionan más rápido y dan lugar a una acidez volátil mayor.

	Monastrell	T4	T11	T75	T81	T82	p-value
2020							
Alcohol % (v/v)	13.84a ± 0.01	12.51b ± 0.0	11.39c ± 0.01	10.56d ± 0.0	10.38e ± 0.0	10.55d ± 0.0	***
A. Total (g/L)¹	7.14c ± 0.01	6.34e ± 0.01	5.90f ± 0.02	8.25b ± 0.03	8.80a ± 0.01	6.47d ± 0.08	***
pH	3.34e ± 0.01	3.68b ± 0.0	3.81a ± 0.0	3.54d ± 0.0	3.29f ± 0.0	3.62c ± 0.01	***
A. Volátil (g/L)²	0.37e ± 0.01	0.45d ± 0.0	0.54c ± 0.0	0.79a ± 0.0	0.36e ± 0.01	0.72b ± 0.02	***
2021							
Alcohol % (v/v)	13.96a ± 0.01	13.09c ± 0.01	13.71b ± 0.01	12.94d ± 0.01	11.77f ± 0.01	12.89e ± 0.0	***
A. Total (g/L)	7.25a ± 0.11	6.94b ± 0.06	6.88b ± 0.01	6.88b ± 0.09	7.14a ± 0.0	5.82c ± 0.04	***
pH	3.38d ± 0.02	3.63b ± 0.01	3.74a ± 0.01	3.62b ± 0.01	3.49c ± 0.0	3.74a ± 0.01	***
A. Volátil (g/L)	0.46a ± 0.0	0.26d ± 0.01	0.25d ± 0.0	0.29c ± 0.01	0.36b ± 0.0	0.22e ± 0.01	***

Tabla 5. 4 Características físico-químicas para los vinos de Monastrell y las nuevas VBGA durante las campañas 2020 y 2021. Abreviaturas: ¹ (A. Total) Acidez total expresada en g/L de ácido tartárico. ² (A. Volátil) Acidez Volátil expresada como g/L de ácido acético. Los datos representan las medias ± desviación estándar. Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas de acuerdo al test de LSD (p<0.05). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** (p < 0,001), 99%** (p< 0,01) y 95%* (p< 0,05).

5.3.2 Parámetros espectrofotométricos de los vinos

Al finalizar la fermentación alcohólica, se determinaron varios parámetros espectrofotométricos en los vinos, entre los que se incluyen parámetros fenólicos IPT, antocianos y PAs. Además se analizaron parámetros cromáticos del vino, como la IC y los parámetros CIELAB. Por último se analizó la CA.

La composición de polifenoles analizados por espectrofotometría se muestra en la **Figura 5.6** dónde se puede observar el IPT, en la **Figura 5.7** los antocianos totales y en la **Figura 5.8** la concentración de PAs totales, durante las campañas 2020 y 2021 para los vinos de Monastrell y los de las nuevas VBGA.

5.3.2.1 Parámetros fenólicos del vino

5.3.2.1.1 Índice de polifenoles totales

En relación a los resultados obtenidos, los IPT fueron muy superiores en todos los vinos de las nuevas variedades en comparación con el valor obtenido en los vinos de Monastrell en ambos años de estudio (**Figura 5.6**). El valor medio de IPT para Monastrell fue de 40 en ambas años, mientras que los vinos procedentes de las nuevas variedades superaron los 80 puntos en ambas campañas de estudio.

Entre todas las nuevas variedades habría que destacar los vinos procedentes de la variedad T82 que fueron los que obtuvieron los valores más altos en ambos años. Los valores encontrados en Monastrell coinciden con los encontrados en otros estudios de esta variedad en zonas climatológicamente áridas como Jumilla (Lara Fernández, 2013). En cambio, otros autores como Martínez-Moreno et al. (2022) han conseguido valores óptimos de IPT (± 60) en vinos de la variedad Monastrell con 12 % (v/v) de alcohol. Por otro lado, Pérez-Álvarez et al. (2022), utilizando la poda tardía consiguió reducir 0.7 % el alcohol de vinos de Monastrell y obtuvo valores de IPT (40) similares a los obtenidos en los vinos analizados por nosotros

Sin embargo, los valores analizados en las VBGA son muy superiores a las concentraciones esperadas en un clima como éste, mostrando así su capacidad de adaptación a las nuevas condiciones climáticas de nuestra zona. Así por ejemplo, el vino de nuestras VBGA que tenía un grado alcohólico de 10.5 % (v/v) no solo superó con creces los niveles de IPT que podemos encontrar en la bibliografía para vinos con similar graduación, si no lo mostrado por los vinos de la variedad Monastrell.

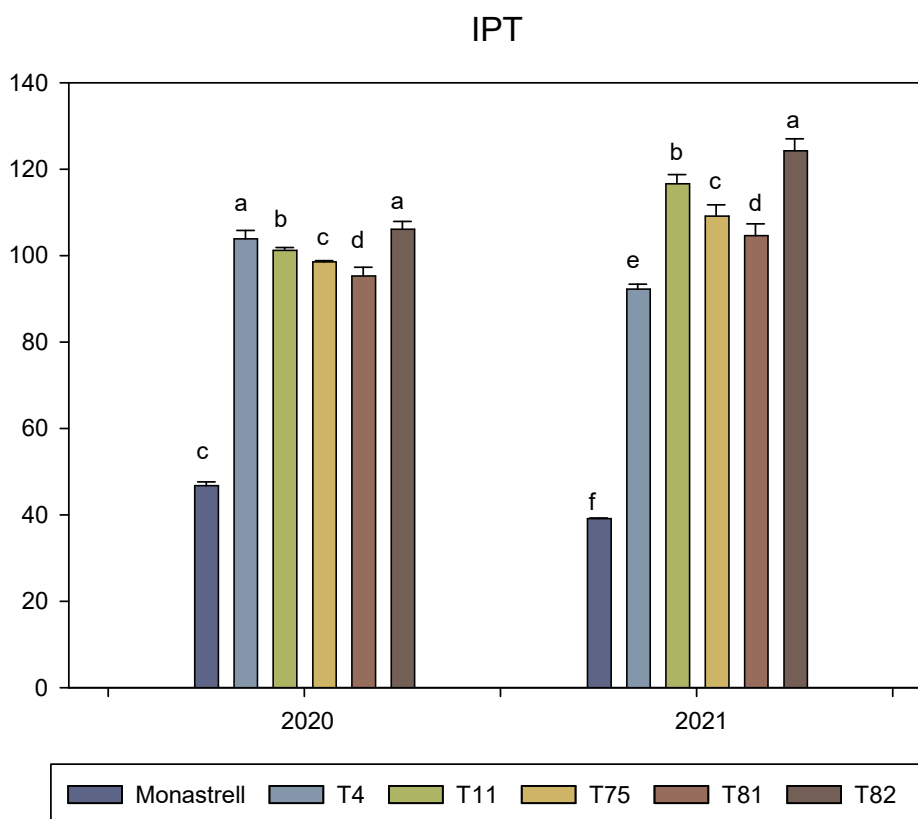


Figura 5. 6 Índice de polifenoles totales en Monastrell y nuevas VBGA durante las campañas 2020 y 2021. Diferentes letras indican diferencias significativas según el test LSD ($p < 0.05$).

5.3.2.1.2 Antocianos totales

Con respecto a la **Figura 5.7** se puede observar los valores medios de antocianos para los vinos de la variedad Monastrell en ambas campañas (± 500 mg/L) frente a los 1000 mg/L obtenidos en los vinos de las VBGA en la campaña 2020 o los más de 2000 mg/L mostrados en la campaña 2021. Sin embargo, los resultados comentados en el **apartado 5.2.2.1** de antocianos en uva de este capítulo, correspondían con una mayor concentración de antocianos en la campaña 2020, al contrario de lo ocurrido con los vinos analizados. La justificación de este hecho, podría deberse al estado de madurez de las uvas. Según la **Tabla 5.1** de este capítulo, la cual corresponde con los parámetros físico-químicos de calidad de la uva, mostraron un mayor estado de madurez las VBGA en la campaña 2021. De este modo, la pared celular de la uva podría encontrarse más debilitada que en la campaña 2020, pudiendo así liberarse una mayor cantidad de compuestos fenólicos durante el proceso de elaboración de los vinos (Moreno-Olivares et al., 2022). Con respecto a lo encontrado por otros autores, Martínez-Moreno et al. (2022) han conseguido aumentar en un 35 % los antocianos en estudios donde se aplicó

la doble vendimia en la variedad Monastrell, aún así, estos resultados son distantes a lo obtenidos en los vinos de las VBGA.

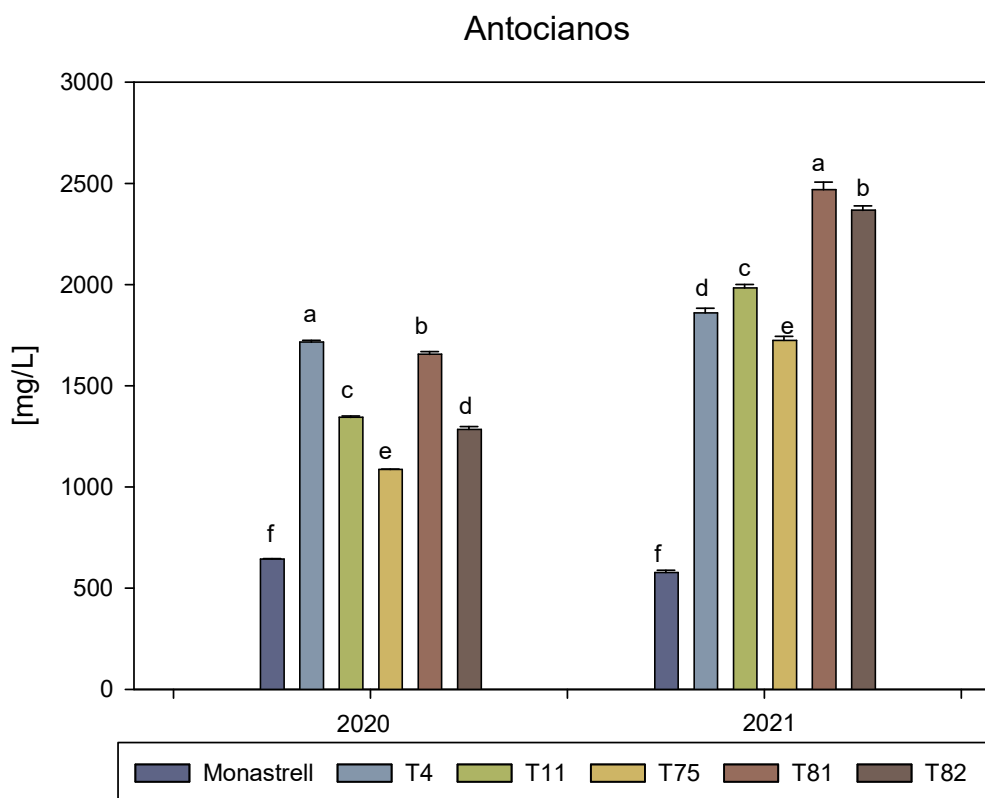


Figura 5. 7 Antocianos totales en los vinos de Monastrell y en los de las nuevas VBGA durante las campañas 2020 y 2021. Diferentes letras indican diferencias significativas según el test LSD ($p < 0.05$).

5.3.2.1.3 Proantocianidinas totales

Finalmente, otro de los parámetros analizados en la composición fenólica, fueron las PAs totales medidas mediante la técnica de la metilcelulosa. Los resultados muestran (**Figura 5.8**) como la concentración media en los vinos de Monastrell fue de 1000 mg equivalentes de epicatequina/L, valores que coinciden por los encontrados por otros autores en esta variedad (Gómez-Plaza et al., 2016; Bautista-Ortín et al., 2016). En cambio, en los vinos procedentes de nuestras nuevas variedades, encontramos valores que van de 2149 mg equivalentes de epicatequina/L en T75 durante la campaña 2020 o los 1891 de la campaña del 2021. Sin embargo en los vinos procedentes de T81 se obtuvieron valores más similares a los obtenidos en los vinos de Monastrell, 1496 mg en el año 2020 o los 1500 mg obtenidos en esta variedad junto con los vinos de las variedades T4 y T11 en 2021.

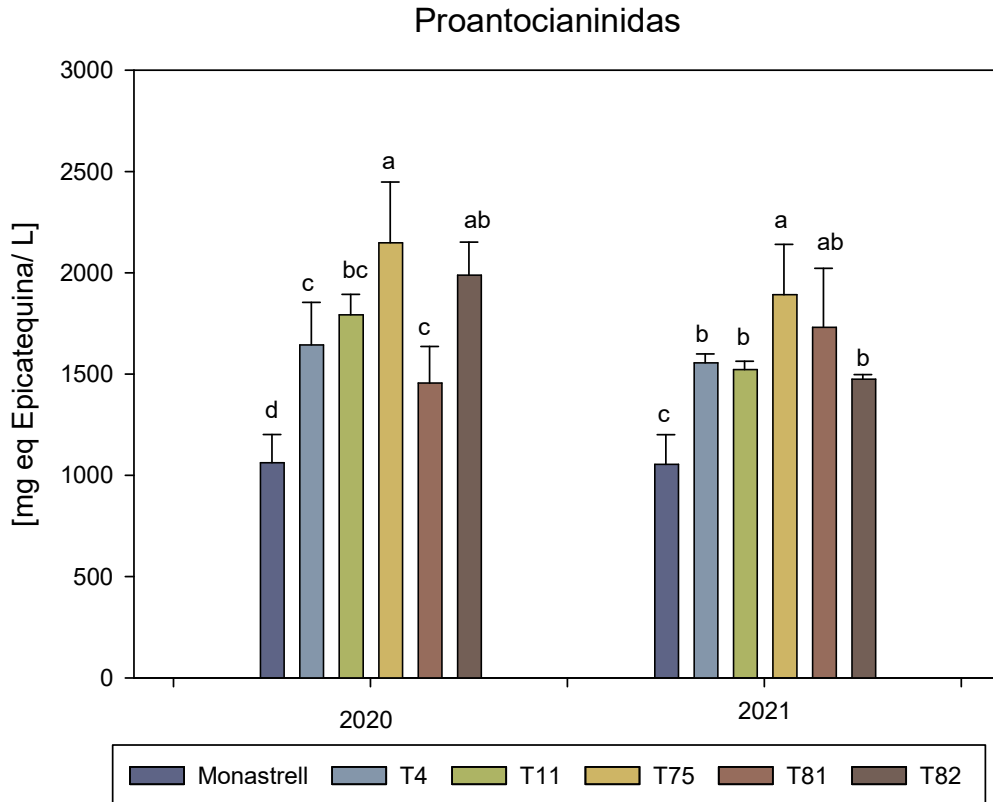


Figura 5. 8 Proantocianinidas totales en los vinos de Monastrell y en los de las nuevas VBGA durante las campañas 2020 y 2021. Diferentes letras indican diferencias significativas según el test LSD ($p < 0.05$).

5.3.2.2 Parámetros cromáticos del vino: intensidad de color y parámetros CIELAB

La **Tabla 5.5** muestra las características de IC así como las características colorimétricas de los vinos de Monastrell y VBGA. Como es lógico, la alta concentración de antocianos obtenida en los vinos, se vio reflejada en el parámetro IC. En ambas campañas, la tendencia seguida fue la misma, hubieron variedades que duplicaron (T75), triplicaron (T4, T11, T82) e incluso cuadruplicaron (T81) los valores obtenidos en los vinos de Monastrell, que no logró superar los 15 puntos de color. En la **Figura 5.9** se puede ver una comparativa visual de los colores obtenidos por todos los vinos al final de fermentación alcohólica, en la cual se puede observar las diferencias de color entre ellos, en donde Monastrell presentó la intensidad más baja. En cambio, T81 junto con T82 fueron las variedades con mayor intensidad de color. En conclusión, podrían entonces considerarse los vinos T81 y T82 de “capa alta”, los de las variedades T4, T11 y T75 de “capa media” y los de Monastrell de “capa baja”.



Figura 5. 9 Fotografía de los vinos de Monastrell y los de las nuevas VBGA.

En cuanto a los parámetros CIELAB; (**Tabla 5.5**), se puede observar como los vinos de Monastrell presentaron los valores más altos con respecto el parámetro L^* , teniendo una media de 13.5 frente al rango de valores entre los 0.5 y 1 de media que presentaron los vinos de las nuevas variedades, siguiendo de este modo la misma tendencia que ocurrió en el anterior capítulo con las nuevas VACF.

Siguiendo con los parámetros cromáticos analizados, en nuestros resultados observamos valores de a^* de 45 para los vinos de Monastrell durante las dos campañas estudiadas, que dentro del espectro tridimensional correspondería a los colores rojos. En relación a la campaña 2020, los vinos de las variedades T81 y T82 fueron las que presentaron valores más bajos de a^* , con unos valores de 2.42 y 1.22 respectivamente, es decir, colores con reflejos más azulados. En la campaña 2021 también estas dos variedades fueron las que obtuvieron los valores más bajos, 2.33 y 1.96 respectivamente. Con respecto al parámetro b^* , en las dos campañas de estudio, los vinos de Monastrell obtuvieron los valores más altos con una media de 23.32, correspondiente a la zona “amarilla”. Con respecto a las nuevas variedades, todos sus vinos obtuvieron valores inferiores a 2, es decir, tonos más verdosos. En general, los vinos de las nuevas variedades tienen valores de L^* , a^* y b^* mucho más bajos que la variedad Monastrell, participando todos juntos en la tonalidad e intensidad de color de estos vinos.

En relación al parámetro C^* , destacar que aumenta a medida que aumentan los valores de a^* y b^* ; así los vinos de Monastrell obtuvieron un valor medio de 50 entre las dos campañas de estudio con respecto al parámetro C^* . Atendiendo a las nuevas

variedades, los vinos de T82 fueron los que obtuvieron los valores más bajos tanto en el año 2020 (1.25) como en el año 2021 (2.01).

El parámetro H^* como se comentó en el anterior capítulo, refleja el tono de color y como se puede observar (**Tabla 5.5**), el valor medio en los vinos de la variedad Monastrell durante las dos campañas fue de 20, mientras que el valor medio en los vinos de las nuevas variedades fue de 13, siguiendo la misma tendencia durante los dos años de estudio.

En definitiva, las marcadas diferencias que existen entre los vinos de la variedad Monastrell y los de las nuevas VBGA con respecto al conjunto de parámetros CIELAB, hacen notables las características cromáticas de estas nuevas variedades.

		Monastrell	T4	T11	T75	T81	T82	p-value
2020	IC	15.05f ± 0.07	49.80c ± 0.18	45.73d ± 0.10	39.96e ± 0.07	62.45a ± 0.05	55.84b ± 0.19	***
	L*	14.18a ± 0.07	0.99c ± 0.02	0.31d ± 0.01	1.52b ± 0.03	0.33d ± 0.01	0.16e ± 0.01	***
	a*	46.86a ± 0.08	7.19c ± 0.14	2.30d ± 0.06	10.94b ± 0.16	2.42d ± 0.07	1.22e ± 0.02	***
	b*	24.41a ± 0.11	1.70c ± 0.04	0.54d ± 0.02	2.62b ± 0.04	0.57d ± 0.02	0.28e ± 0.01	***
	C*	52.84a ± 0.12	7.39c ± 0.15	2.37d ± 0.06	11.25b ± 0.17	2.49d ± 0.08	1.25e ± 0.02	***
	H*	27.52a ± 0.06	13.27c ± 0.01	13.21d ± 0.01	13.47b ± 0.0	13.14e ± 0.0	13.05f ± 0.01	***
2021	IC	15.11e ± 0.06	47.31d ± 0.28	50.69c ± 0.34	47.26d ± 0.28	64.99a ± 0.08	58.73b ± 0.23	***
	L*	13.00a ± 0.0	0.84b ± 0.01	0.58d ± 0.01	0.70c ± 0.01	0.31e ± 0.01	0.26f ± 0.01	***
	a*	45.46a ± 0.01	6.15b ± 0.08	4.24d ± 0.02	5.11c ± 0.06	2.33e ± 0.03	1.96f ± 0.03	***
	b*	22.23a ± 0.01	1.45b ± 0.02	1.00d ± 0.01	1.21c ± 0.02	0.54e ± 0.01	0.45f ± 0.01	***
	C*	50.61a ± 0.01	6.31b ± 0.09	4.35d ± 0.03	5.25c ± 0.06	2.39e ± 0.03	2.01f ± 0.03	***
	H*	26.06a ± 0.0	13.25c ± 0.0	13.19d ± 0.0	13.26b ± 0.0	13.06e ± 0.0	13.06e ± 0.01	***

Tabla 5. 5 Parámetros cromáticos del vino: intensidad de color y parámetros CIELAB en los vinos de Monastrell y los de las nuevas VBGA. Los datos representan las medias ± desviación estándar. Diferentes letras indican diferencias significativas según el test LSD ($p < 0.05$). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** ($p < 0,001$), 99%** ($p < 0,01$) y 95%* ($p < 0,05$).

5.3.2.3 Capacidad antioxidante de los vinos

En la **Figura 5.10** se muestran los resultados obtenidos para el estudio de la CA de estos vinos. Los estudios revelan grandes diferencias significativas en los valores obtenidos en los vinos de las nuevas VBGA en comparación a los obtenidos en los vinos de la variedad Monastrell. Estos resultados eran predecibles ya que en los apartados anteriores se ha podido comprobar la gran concentración fenólica de estas nuevas variedades a pesar de su menor grado alcohólico.

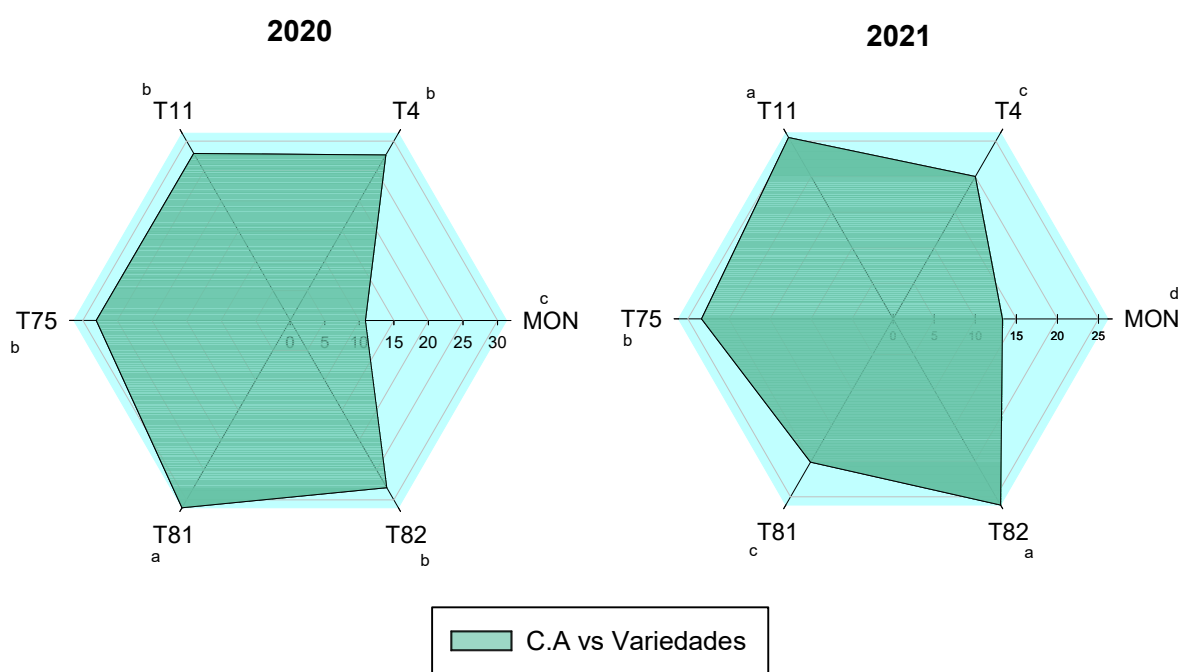


Figura 5. 10 Capacidad antioxidante de los vinos de Monastrell y los de las nuevas VBGA. Diferentes letras indican diferencias significativas según el test LSD ($p < 0.05$). Unidades de medición: Capacidad Antioxidante Equivalente Trolox (TEAC).

Como se puede observar en la **Figura 5.10**, en la campaña 2020 los vinos de Monastrell mostraron los valores más bajos en la CA (10.88 unidades TEAC), mientras que los vinos de las nuevas variedades superaron con creces estos valores, 27 TEAC (T4, T11, T75 y T82) e incluso alcanzando valores de 31.29 en los vinos de la variedad T81. Por otro lado, de acuerdo a los resultados obtenidos en la campaña 2021, los vinos de Monastrell volvieron a ser los vinos con menor capacidad antioxidante (13.31 TEAC). Con respecto a los vinos de las nuevas VBGA, durante este año, mostraron valores de CA algo inferiores a los de la campaña anterior, seguramente debido a su mayor grado

de maduración, aunque los vinos de las variedades, T11 y T82 obtuvieron los valores más altos, 25.48 y 26.11 respectivamente.

5.3.3 Compuestos fenólicos analizados por HPLC

5.3.3.1 Antocianos

De igual forma que en las uvas, la concentración de antocianos totales en los vinos corresponde a la suma total de antocianos no acilados y acilados. En la **Figura 5.11** se pueden observar las concentraciones obtenidas para los antocianos totales, mientras que las concentraciones individuales de antocianos en los vinos de Monastrell y las VBGA se presentan en las tablas (**Tabla 7.19** y **Tabla 7.20**) del Capítulo 8: ANEXOS de la presente Tesis Doctoral.

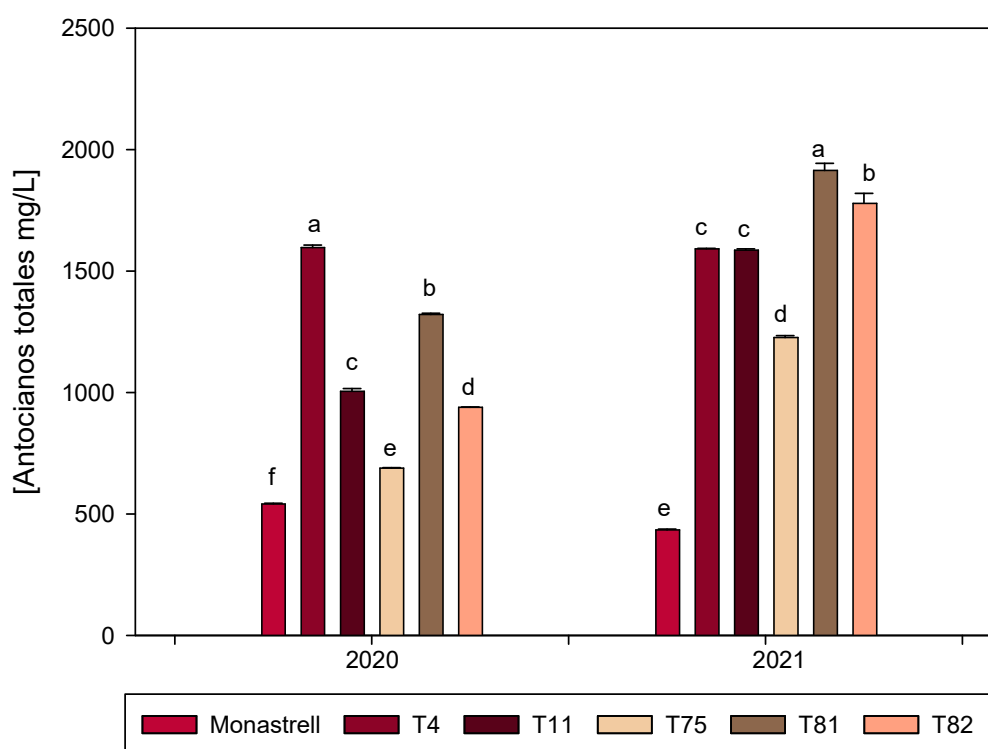


Figura 5. 11 Concentración total de antocianos en vinos de Monastrell y en los de las nuevas VBGA. Diferentes letras indican diferencias significativas según el test LSD ($p < 0.05$).

A simple vista, se puede observar (**Figura 5.11**) como la concentración de antocianos de los vinos de Monastrell fue inferior a la obtenida en los vinos de las VBGA durante los dos años de estudio, mostrando de este modo los vinos de Monastrell, una concentración media entre las dos campañas de 500 mg/L. Atendiendo a las

concentraciones de antocianos encontradas en los vinos de las nuevas VBGA, se puede observar un ligero incremento, sobre todo en los vinos de las variedades T11, T75, T81 y T82 procedentes de la campaña 2021 con respecto a la de 2020. Como se ha explicado en el anterior **apartado 5.2.2.1**, este incremento en la concentración de antocianos podría estar justificado por el grado de madurez que tenían las variedades en el momento de su recolección. Al estar las uvas más maduras en el año 2021 en el momento de la vendimia, la pared celular del hollejo se encontraría más debilitada y por tanto la liberación de estos compuestos se vería facilitada durante el proceso de maceración de los vinos.

Si hacemos referencia a cada una de las campañas por separado, los resultados obtenidos muestran como en la campaña 2020, los vinos de la variedad T4 fueron la que alcanzaron las concentraciones más altas de antocianos (1597 mg/L), seguida de los vinos de la variedad T81 que también obtuvo altas concentraciones de estos compuestos (1321 mg/L). Por otro lado, en la campaña 2021 y como se ha comentado anteriormente, estas concentraciones se vieron incrementadas. Así, los vinos de las variedades T81 y T82 fueron las que obtuvieron los valores más altos, obteniendo 1914 y 1799 mg/L de antocianos respectivamente, mostrando así grandes diferencias significativas con respecto a la variedad Monastrell. Estos resultados fueron muy significativos ya que es conocido que los antocianos tienen fuertes propiedades antioxidantes y contribuyen a las características sensoriales y organolépticas de los vinos (Gil-Muñoz et al., 2018).

Siguiendo con el estudio del perfil antociánico, los resultados obtenidos para el porcentaje de compuestos acilados y no acilados se muestra en la **Figura 5.12**.

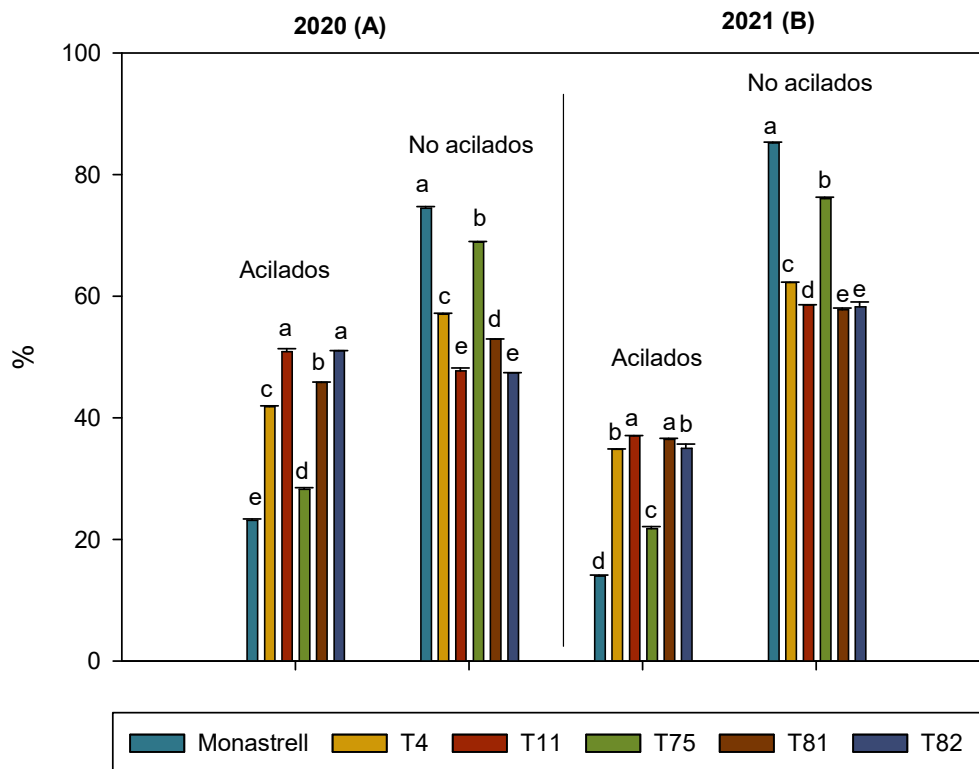


Figura 5. 12 Porcentaje de antocianos acilados y no acilados en vinos de Monastrell y en los de las nuevas VBGA. (A) Campaña 2020. (B) Campaña 2021. Diferentes letras indican diferencias significativas según el test LSD ($p < 0.05$).

En relación al porcentaje de acilación en los vinos de las VBGA, destacar que fue superior al porcentaje encontrado en los vinos de la variedad Monastrell en las dos campañas de estudio, siendo este incremento un 20 % superior. En la campaña 2020, los vinos procedentes de las variedades T11 y T82 fueron las que obtuvieron el mayor porcentaje de acilación 50.94 y 51.05 % respectivamente, mientras que el vino de la variedad T75 fue el que obtuvo el valor más bajo (28.26 %). En la campaña 2021, el porcentaje de compuestos acilados fue algo inferior a la campaña 2020, seguramente por el grado de madurez de la uva. Aun así, la tendencia fue la misma, siendo los vinos de la variedad T11 los que presentaron el mayor porcentaje (37.03 %) junto con los vinos de la variedad T81 en esta campaña (36.45 %). Como se ha comentado en el apartado anterior **5.4.1**, en relación a la composición antocianica analizada en las uvas de estas variedades, el tener un mayor porcentaje de compuestos acilados, indicaría una mayor estabilidad en el tiempo en el color de los vinos elaborados.

Como se explicó además en el apartado anterior, el porcentaje de antocianos no acilados correspondería con la proporción de antocianos menos estables en el tiempo. Como se puede observar en la **Figura 5.12** los vinos de Monastrell obtuvieron el

porcentaje más alto de antocianos no acilados con un valor medio de 79.5 % para los dos años de estudio. Estos resultados son característicos en esta variedad tal y como muestran otros autores (Paladines-Quezada, 2021; Gil-Muñoz et al., 2021). Con respecto a las nuevas variedades, los vinos de la variedad T75 también presentaron valores similares a los encontrados en Monastrell con un valor de 72.5 %. En relación a las demás variedades, presentaron valores inferiores, siendo los vinos de las variedades T11 y T82 las que obtuvieron los porcentajes más bajos durante la campaña 2020 con un valor medio de 58 % mientras que en la campaña 2021, fueron los vinos de las variedades T81 y T82 las que obtuvieron los porcentajes más bajos (57.79 y 58.30 %) junto con la variedad T11 (58 %).

En cuanto a la concentración de compuestos acilados, se analizaron los compuestos que pertenecen al grupo de acetatos y cumaratos, de igual forma que se analizó en las uvas. Además se analizó otro grupo de compuestos que fueron las vitisinas.

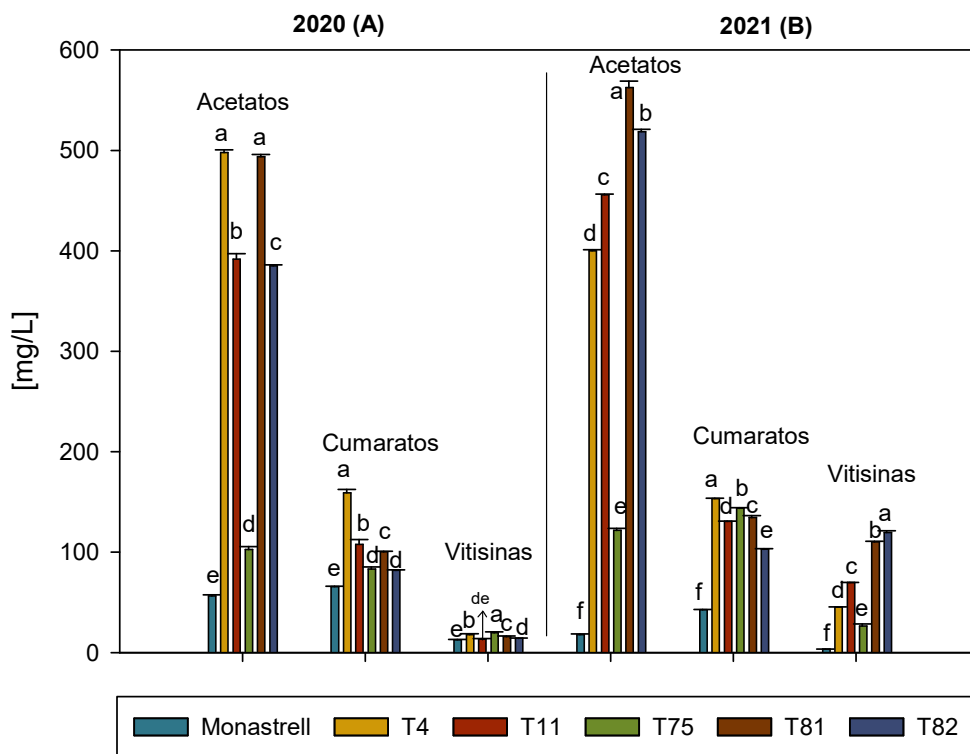


Figura 5. 13 Acetatos, cumaratos y vitisinas presentes en los vinos de Monastrell y en los de las nuevas VBGA. (A) Campaña 2020. (B) Campaña 2021. Diferentes letras indican diferencias significativas según el test LSD ($p < 0.05$).

Tal como se muestra en la **Figura 5.13**, la concentración de acetatos en los vinos la variedad Monastrell fue de nuevo muy inferior a los valores encontrados en los vinos de

las VBGA. Durante la campaña 2020, los vinos de Monastrell mostraron una concentración de 56 mg/L sin embargo en los vinos de algunas nuevas variedades estos valores se multiplicaron por siete, alcanzando concentraciones de 498 y 494 mg/L en los vinos de las variedades T4 y T81 respectivamente. En cambio, en los vinos de la variedad T75 se encontraron concentraciones muy similares a la de los vinos de Monastrell.

Por otro lado, en la campaña 2021, en los vinos de Monastrell, la concentración de acetatos disminuyó un 32 % en comparación a los resultados obtenidos por esta variedad en la campaña 2020. Con respecto a las nuevas variedades, los vinos de las variedades T81 y T82 obtuvieron las concentraciones más altas de estos compuestos, incrementando sus valores hasta 562 mg/L y 519 mg/L respectivamente. De nuevo, los vinos de la variedad T75 tuvieron un comportamiento similar a la campaña anterior mostrando una concentración de 122 mg/L.

Con respecto a la concentración de cumaratos analizados, encontramos que los vinos de Monastrell tuvieron una concentración superior de estos compuestos con respecto a lo obtenido en los acetatos, así en 2020 mostraron una concentración de 67 mg/L mientras que en la campaña 2021 fue de 43 mg/L. Estos resultados coinciden con lo mostrado por otros autores en estudios llevados a cabo con esta variedad (Moreno-Pérez, 2013; Paladines-Quezada et al., 2019). Sin embargo, los vinos de las nuevas VBGA presentaron unos valores más bajos de cumaratos que de acetatos, aunque como se puede observar en la **Figura 5.13**, no todas las VBGA siguieron esta tendencia. Los vinos de la variedad T75 se comportaron de manera similar a los de la variedad Monastrell, alcanzando una mayor concentración de cumaratos que de acetatos, presentando así ciertas similitudes en estas dos variedades, pudiendo considerarse genéticamente más parecida a su progenitora. Atendiendo a los resultados obtenidos para las demás VBGA, tanto en la campaña 2020 como en la de 2021, los vinos de la variedad T4 fueron los que presentaron las concentraciones más altas de cumaratos alcanzando valores de 159 mg/L y 153 mg/L respectivamente. Es por tanto evidente que el perfil antociánico está fuertemente vinculado a la herencia genética de cada variedad (Romero-Cascales et al., 2005).

Por último, hay que hacer referencia a las vitisinas analizadas en los vinos. Los resultados obtenidos para la campaña 2020 en los vinos de Monastrell y VBGA fueron menores que los obtenidos en la campaña 2021 (**Figura 5.13**). En la campaña 2020, los vinos de la variedad Monastrell fueron los que menor concentración de vitisinas obtuvieron (12.70 mg/L) mientras que los vinos de la variedad T75 alcanzaron la mayor

concentración de estos compuestos (19.66 mg/L). Sin embargo, en la siguiente campaña, 2021, la concentración de vitisinas en los vinos de Monastrell disminuyó considerablemente hasta los 3.34 mg/L. En cambio los valores de vitisinas se vieron incrementados en los vinos de las nuevas VBGA, siendo los vinos procedentes de T82 y T81 los que alcanzaron las mayores concentraciones, 110 y 119 mg/L respectivamente, siendo 100 veces superiores a los valores obtenidos en Monastrell. La presencia de las vitisinas en los vinos es muy importante desde el punto de vista organoléptico, ya que es notable un cambio de color de un vino tinto joven con toques de púrpura y azul, a vinos tintos envejecidos con tonos más anaranjados o marrones. Los pigmentos de las vitisinas, son más estables que los antocianos monoméricos y, por lo tanto, son importantes para el color del vino tinto a largo plazo, representando el 50 % del color durante el primer año y aumentando en proporción con el tiempo (Unterkofler et al., 2020; Arapitsas et al., 2012).

5.3.3.2 Flavonoles

Los flavonoles desempeñan un papel importante en la copigmentación del vino junto con las antocianinas, son marcadores útiles en la taxonomía de la uva y se consideran compuestos bioactivos de uva/vino de posible importancia para la salud y la nutrición humana (Flamini et al., 2013b).

Así, se determinó la concentración total de flavonoles en los vinos de Monastrell y las nuevas VBGA durante las dos campañas estudiadas (**Figura 5.14**). Las concentraciones individuales de estos compuestos se muestran en las tablas (**Tabla 7.21**, **Tabla 7.22** y **Tabla 7.23**) del Capítulo 8: ANEXOS de la presente Tesis Doctoral.

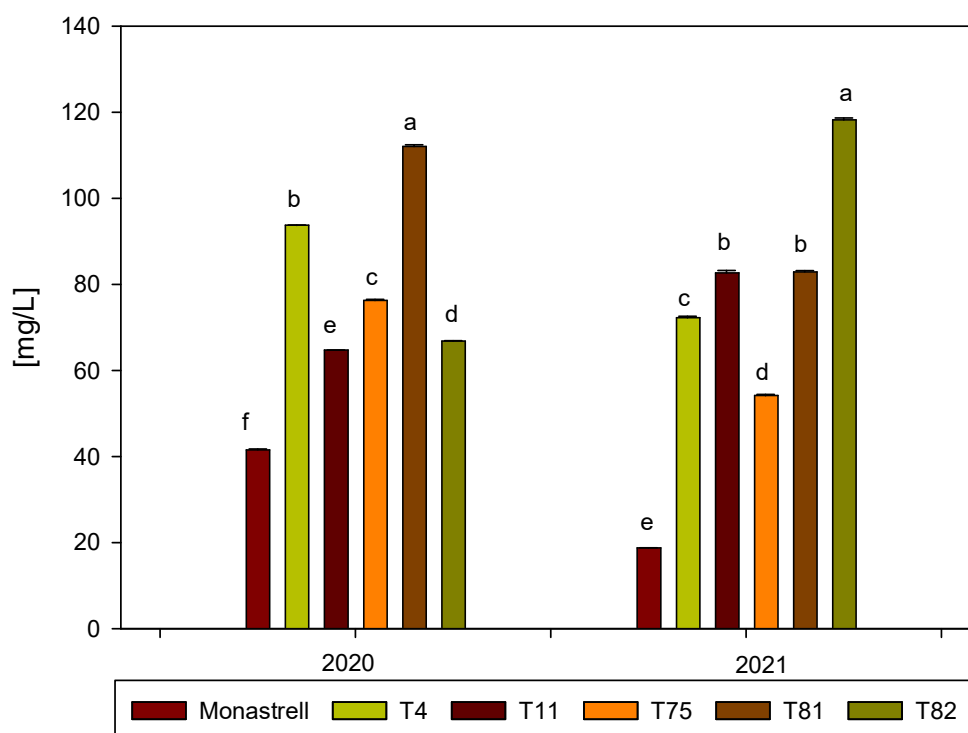


Figura 5. 14 Composición de flavonoles en los vinos de Monastrell y en los de las nuevas VBGA en las campañas 2020 y 2021. Diferentes letras indican diferencias significativas según el test LSD ($p < 0.05$).

Según los resultados obtenidos (**Figura 5.14**), los vinos de Monastrell obtuvieron una concentración inferior de flavonoles en comparación con la obtenida en los vinos procedentes de VBGA en las dos campañas de estudio. A pesar de ello, el comportamiento observado en los vinos de estas nuevas variedades fue diferente según el año de estudio. Durante el año 2020, los vinos de Monastrell obtuvieron valores de 41.43 mg/L mientras que los vinos procedentes de las variedades T4 y T81 obtuvieron las mayores concentraciones de estos compuestos, 93 y 112 mg/L respectivamente. Sin embargo, durante la campaña siguiente fue el vino de la variedad T82 quien incrementó considerablemente la concentración en flavonoles en comparación con la obtenida por los vinos de Monastrell, alcanzando los 118 mg/L frente a los 18.75 mg/L de Monastrell. El contenido total y el patrón de flavonoles es muy variable entre los genotipos y también puede ser modulado en cierta medida por factores bióticos y abióticos (Flamini et al., 2013b).

5.3.3.3 Proantocianidinas

5.3.3.3.1 Proantocianidinas totales

Las PAs analizadas en los vinos elaborados son las mismas que en la piel de la uva. Los resultados de los compuestos individuales se muestran en la **Tabla 7.24** del Capítulo 8: ANEXOS. A continuación, se expone las concentraciones totales de PAs en los vinos de Monastrell y VBGA durante las campañas 2020 y 2021 (**Figura 5.15**).

Los resultados en ambas campañas muestran diferencias significativas para la concentración de PAs entre las diferentes variedades estudiadas. Así, durante el primer año, los vinos de Monastrell mostraron una concentración de 800 mg/L mientras que los vinos de la variedad T11 alcanzaron las concentraciones más altas (2786 mg/L) superando a Monastrell en un 71 %. En ese año de estudio, los vinos procedentes de la variedad T81 fueron los que obtuvieron la concentración más baja (1000 mg/L) entre las VBGA. Estos resultados serían coincidentes con los encontrados en el hollejo de la uva, indicando una mayor cesión de los compuestos procedentes de la piel durante el proceso de elaboración del vino.

Por otro lado, en la campaña 2021, los vinos de Monastrell disminuyeron su concentración en PAs a la mitad (433 mg/L), mientras que los vinos de la variedad T11 siguieron destacando por su alta concentración en PAs (2751 mg/L). Del mismo modo los vinos de la variedad T81 fueron los que obtuvieron la menor concentración de PAs (1100 mg/L) entre las VBGA. Las diferencias encontradas en la extracción de PAs de los vinos podrían ser debido a diversos factores tales como el tamaño de baya, el grado de madurez de la uva, el grado medio de polimerización, extractabilidad de la uva o unidades de epigallocatequina (Teng et al., 2020), sin embargo dados los resultados obtenidos, los diferentes genotipos estudiados así como su capacidad a la adaptación a las condiciones climáticas podrían ser los responsables de las mismas.

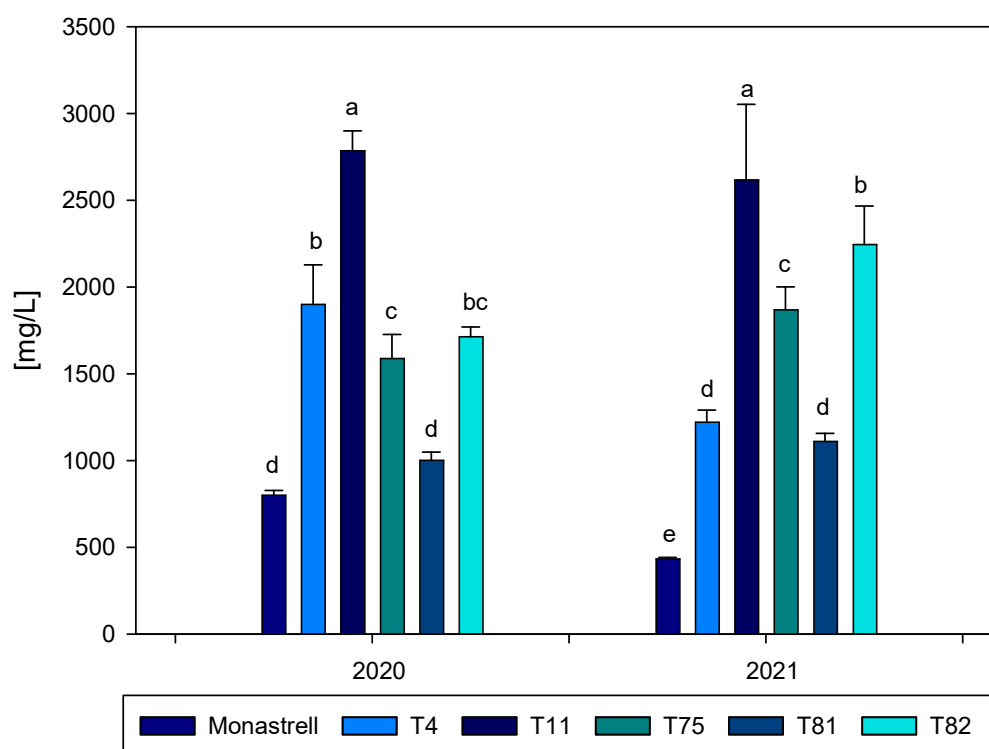


Figura 5. 15 Concentración total de proantocianidinas en vinos de Monastrell y los de las nuevas VBGA durante las campañas 2020 y la campaña 2021. Diferentes letras indican diferencias significativas según el test LSD ($p < 0.05$).

5.3.3.3.2 Parámetros relacionados con las proantocianidinas

La **Tabla 5.6** recoge los resultados principales relativos al gMP, el % GAL y las concentraciones de EGC (μM) y de EPI-GAL.

Con respecto a los resultados obtenidos durante la campaña 2020, los vinos de Monastrell y de la variedad T4 obtuvieron los valores más altos de gMP (5) y los vinos procedentes de la variedad T81 el valor más bajo (3.46). En relación al % GAL, los vinos procedentes de T75, obtuvieron el porcentaje más alto (4.29) en comparación con los vinos de las demás variedades. De igual forma que ocurrió en los hollejos de las uvas, las concentraciones de EGC obtenida en los vinos de las nuevas variedades mostraron grandes diferencias significativas en comparación a la concentración encontrada en la variedad Monastrell ($990 \mu\text{M}$). De este modo, los vinos de T11 alcanzaron valores de $4068 \mu\text{M}$ y los de T4 valores de $3417 \mu\text{M}$, aportando así a los vinos un carácter más suave y con menor astringencia (Valverde García, 2014). En cambio los vinos de T81 obtuvieron los valores más bajos de este compuesto ($1228 \mu\text{M}$). En esta campaña y en

vista a los resultados obtenidos, la variedad T75 podría ser la más astringente y seca por su mayor porcentaje de galoilación (4.29 %) o incluso por las características que podría aportar la concentración de EPI-GAL (362 μM), aunque la variedad T11 también mostró altas concentraciones de este compuesto (406 μM).

Con respecto a la campaña 2021 los resultados una vez más, fueron similares a los encontrados en los hollejos de las uvas. En este caso, los vinos que presentaron un mayor gMP, fueron los de las variedades T81 (6.77) y T11 (6.24). Sin embargo el mayor % GAL lo tuvieron los vinos de la variedad T11 (5.42 %), por contra los vinos que obtuvieron los valores más bajos para este parámetro fueron aquellos procedentes de la variedad T81 con 2.18 %. Comparando los vinos de las nuevas variedades con los de Monastrell, podemos observar como estos últimos obtuvieron un gMP de 5.17 así como % GAL de 3.53. Estos resultados junto con el valor más bajo de EGC (414 μM) podrían sugerir cierta sensación de astringencia en los vinos de Monastrell. Por otro lado, los vinos procedentes de las variedades T11 y T82 obtuvieron las concentraciones más altas de EGC, (5113 μM y 5137 μM) respectivamente. Finalmente, los vinos de Monastrell obtuvieron en esta campaña el valor más bajo de EPI-GAL (102 μM) y en cambio los vinos de T75 los valores más altos (455 μM).

	Monastrell	T4	T11	T75	T81	T82	p-value
2020							
gMP¹	5.06a ± 0.06	5.05a ± 0.15	4.33b ± 0.03	3.80c ± 0.04	3.46d ± 0.13	4.98a ± 0.17	***
%GAL²	2.80c ± 0.14	2.75c ± 0.42	2.72c ± 0.09	4.29a ± 0.13	3.83b ± 0.16	2.96c ± 0.33	***
EGC μM³	990d ± 40.46	3417b ± 301.01	4068a ± 152.97	2317c ± 163.47	1228d ± 85.56	2401c ± 107.58	***
EPI-GAL μM⁴	150e ± 4.84	275c ± 15.41	406a ± 27.06	362b ± 23.30	204d ± 11.20	271c ± 29.37	***
2021							
gMP	5.17c ± 0.02	6.24ab ± 0.03	3.66d ± 0.06	5.60bc ± 0.05	6.77a ± 0.20	5.76bc ± 1.20	***
%GAL	3.53bc ± 0.10	1.88d ± 0.08	5.42a ± 0.45	3.66b ± 0.09	2.18cd ± 0.31	3.53bc ± 1.93	**
EGC μM	414c ± 30.99	2873b ± 153.83	5113 a ± 267.86	4380a ± 319.46	3305b ± 135.94	5137a ± 179.63	***
EPI-GAL μM	102d ± 2.73	153d ± 14.29	370ab ± 75.60	455a ± 39.80	160bc ± 18.50	342a ± 4.16	***

Tabla 5. 6 Parámetros relacionados con las proantocianidinas en vinos de Monastrell y en las nuevas VBGA durante las campañas 2020 y 2021. Abreviaturas: ¹ (gMP) grado medio de polimerización, ² (% GAL) porcentaje de galoilación, ³ (EGC μM) concentración de epigallocatequina de extensión expresada en micromoles, ⁴ (EPI-GAL) concentración de epicatequina-3-orto-galato de extensión expresada en micromoles. Los datos representan las medias ± desviación estándar. Diferentes letras indican diferencias significativas según el test LSD (p<0.05). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** (p < 0,001), 99%** (p< 0,01) y 95%* (p< 0,05).

5.3.3.4 Distribución de masas moleculares de las proantocianidinas de los hollejos, semillas y vinos

Una vez estudiado los resultados obtenidos para el análisis de PAs por el método de la floroglucinólisis, se estudió la distribución de las masas moleculares de las mismas por cromatografía de exclusión por tamaño en hollejos, semillas y vinos al final de la fermentación alcohólica.

En la **Figura 5.16** se puede observar el perfil de los hollejos y semillas analizado en Monastrell y las diferentes VBGA durante las dos campañas de estudio. En referencia a los resultados obtenidos para las masas moleculares de PAs en los hollejos, se puede observar una respuesta más definida para la campaña 2021 que para la campaña de 2020 (**Figura 5.16**). No obstante, en ambas campañas las gráficas correspondiente a los hollejos presentaron una mayor fracción de las PAs monoméricas frente a las poliméricas u oligoméricas. En la campaña 2020, fueron las variedades T4, T11 y T81 las que presentaron áreas mayores en comparación con la mostrada por Monastrell que presentó la menor área. Por otro lado, en la campaña 2021, todas las nuevas variedades presentaron mayores áreas que Monastrell, destacando sobre todo la variedad T82.

Cuando analizamos la distribución de las masas moleculares de las PAs en las semillas, se puede observar en la **Figura 5.16**, cómo la fracción predominante en este caso fue la fracción correspondiente a las PAs poliméricas. Por otro lado las fracciones oligoméricas y monoméricas se encontraron en mucha menor proporción. En relación a las variedades, Monastrell presentó en ambas campañas las áreas más pequeñas, mientras que acorde a los resultados anteriormente comentados, T11 fue la variedad que presentó las mayores áreas durante la campaña 2020 y también lo hizo en 2021 junto con T75.

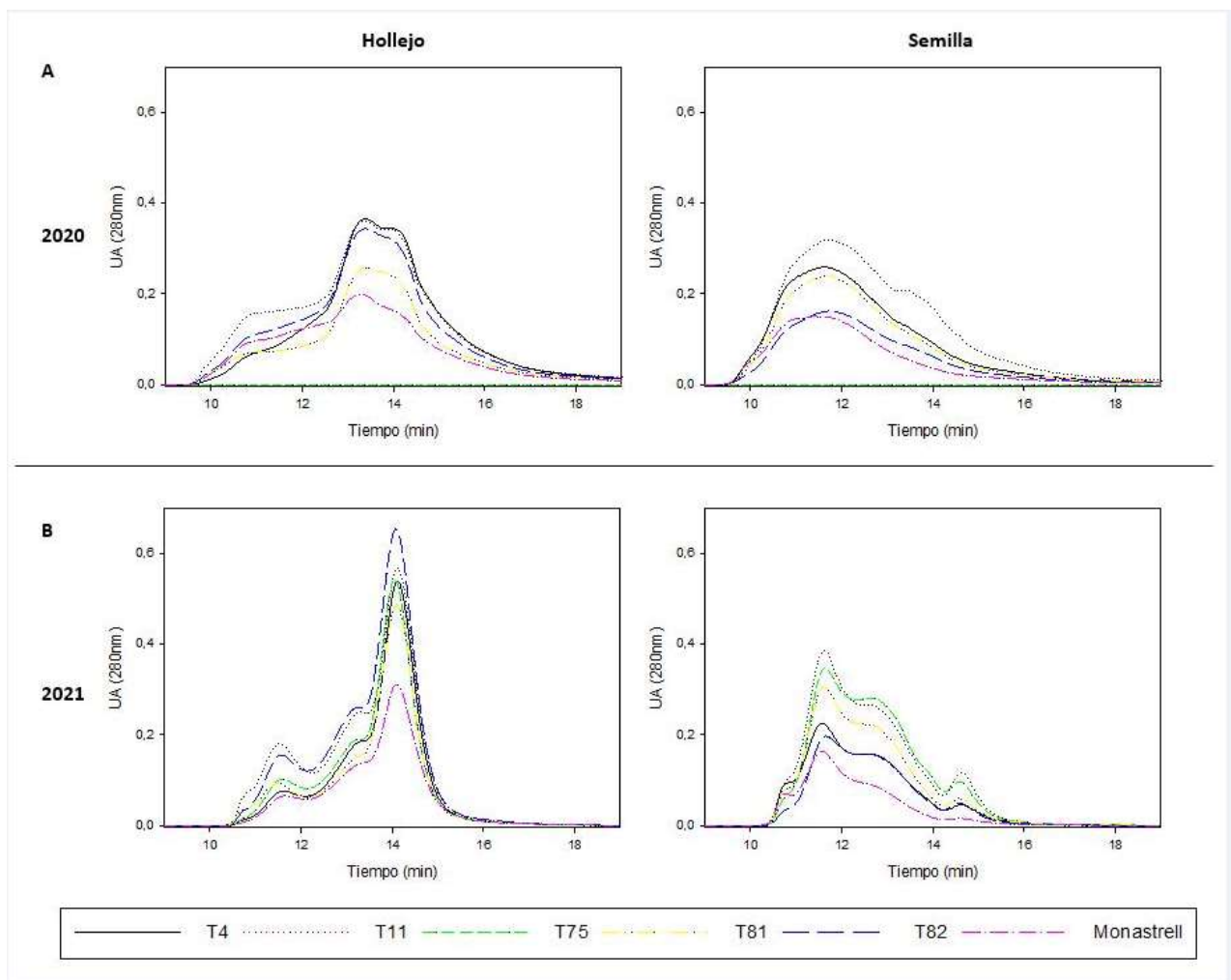


Figura 5. 16 Distribución de masas moleculares de las proantocianidinas de hollejos y semillas en Monastrell y las nuevas VBGA durante las campañas 2020 y 2021.

En cuanto a los vinos analizados al final de fermentación alcohólica, los resultados muestran una perfecta separación de los perfiles para las campañas 2020 y 2021 (**Figura 5.17**). Durante las dos campañas, las PAs monoméricas fue la fracción predominante, seguida de la fracción oligomérica. En cambio, la fracción polimérica fue distinta para las diferentes campañas.

Tal y como se puede observar (**Figura 5.17**), el área que se encuentra bajo el perfil de los vinos de las variedades, fue mayor para la campaña 2020 que para el año 2021, resultados que coinciden con los anteriormente comentados en el análisis de PAs por floroglucinólisis. Estas mayores áreas se observaron sobre todo en los vinos de las variedades de Monastrell, T4, T11, T75 y T81. Sin embargo, el área fue mayor para los vinos de T82 en la campaña 2021, coincidiendo con los resultados de floroglucinólisis obtenidos para los vinos de esta variedad. Por otro lado, hemos de destacar como los vinos de Monastrell fueron los que mostraron la menor área en ambas campañas de

estudio. Además, de acuerdo a la **Tabla 5.6** del anterior apartado, el perfil monomérico (última elución) de los vinos de T4 y T11 disminuyó en la campaña 2021 con respecto a la del 2020.

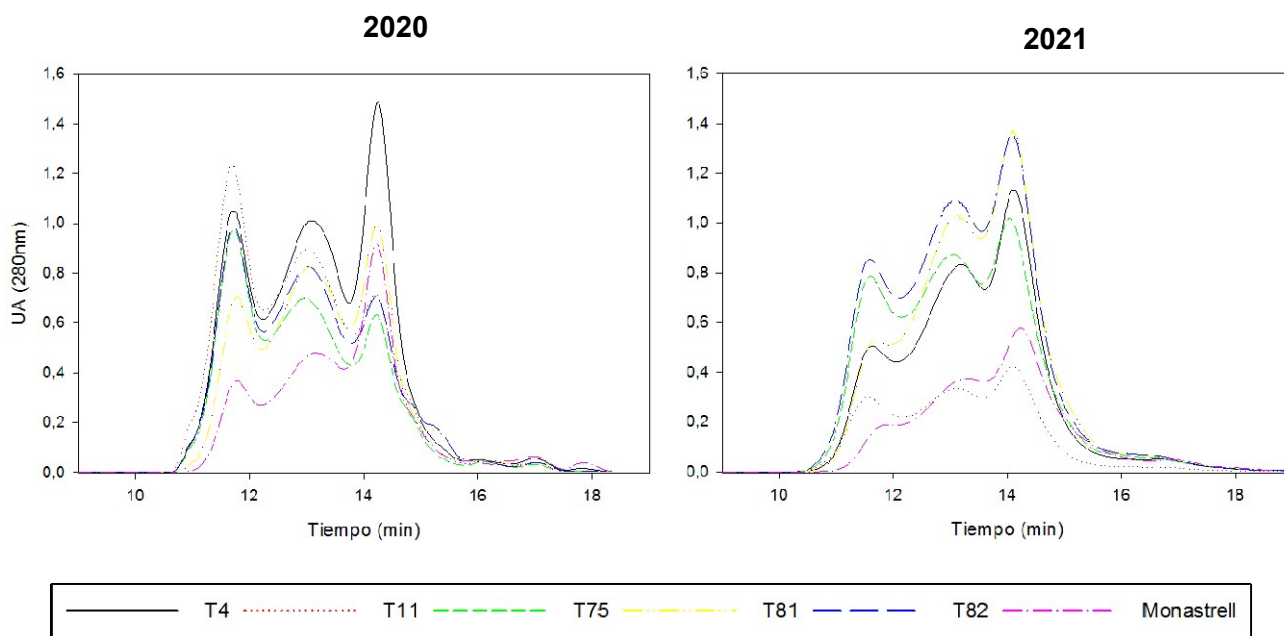


Figura 5. 17 Distribución de masas moleculares de las proantocianidinas de los vinos de Monastrell y de las nuevas VBGA durante las campañas 2020 y 2021.

5.4 Análisis discriminante

Para completar los resultados sobre las nuevas VBGA, se realizó un análisis discriminante con el objetivo de comprobar si las variables medidas permitían clasificar nuestras muestras en función de la variedad. Para llevarlo a cabo, se utilizaron todas las variables estudiadas de composición fenólica tanto en la uva como en el vino, tanto las variables comentadas a lo largo de este capítulo con respecto a los compuestos antocianínicos (acilados, no acilados, cumaratos, acetatos, vitisinas) y los flavonoles (Mono-OH, Di-OH, Tri-OH), así como las variables que se presentan en el Capítulo 8: ANEXOS de la presente Tesis Doctoral correspondiente a las concentraciones de compuestos individuales que forman parte de las PAs.

5.4.1 Análisis discriminante en uvas

En el análisis discriminante llevado a cabo en la uva, se obtuvieron 5 funciones discriminantes con un *p-valor* inferior a 0,05, siendo estadísticamente significantes con

un intervalo de confianza del 95 %. La primera función explicó el 70.10 % de la varianza, mientras que la segunda función explicó el 18.94 % (**Figura 5.18**).

Como se puede observar en la **Figura 5.18**, existe una clara separación de las muestras en función de las variedades. En general se pueden observar tres grandes grupos. Por un lado se encuentran las variedades T11, T4, T81 y T82 en la zona superior izquierda de la figura, sugiriendo así una mayor similitud entre esas variedades. Por otro lado, en el margen superior derecho de la figura se encuentra la variedad T75, corroborando los resultados obtenidos a lo largo de este capítulo. Esta variedad ha resultado ser la más diferente en comparación con el resto de variedades. Además, las diferencias analizadas en el capítulo con respecto a la variedad Monastrell, la cual posee una menor carga polifenólica, la sitúa lejos de las nuevas VBGA, quedando aislada en el centro y margen inferior de la Función 1 y en la parte negativa de la Función 2.

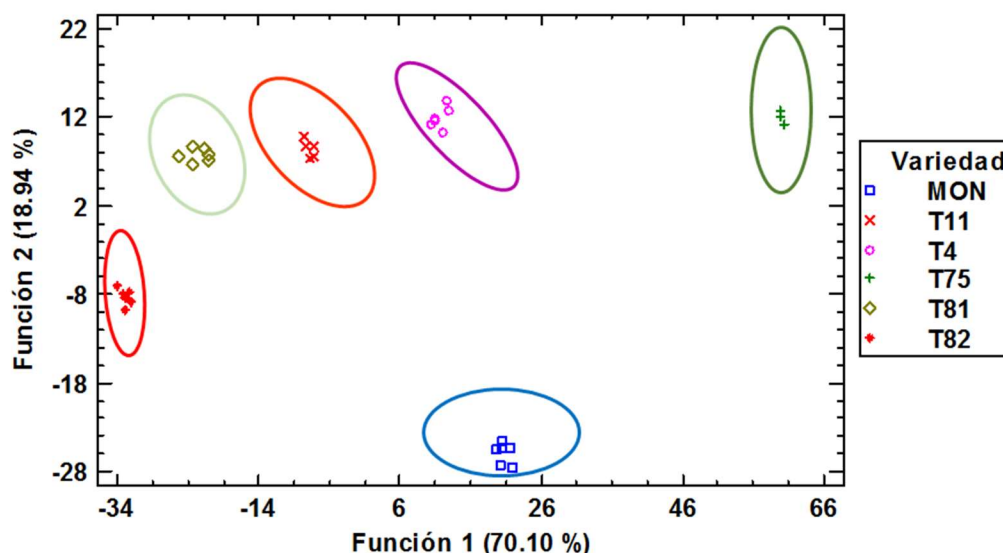


Figura 5. 18 Gráfico de dispersión de análisis discriminante en uvas de Monastrell y las nuevas VBGA durante las campañas 2020 y 2021.

Los coeficientes de discriminación se muestran en la **Tabla 7.25** del Capítulo 8: ANEXOS de la presente Tesis Doctoral. La magnitud de los coeficientes permite determinar cómo se utilizan las variables para discriminar entre grupos. Las variables con mayor poder discriminante, para la Función 1 y Función 2, resultaron ser los antocianos acetatos, cumaratos y la EGC.

5.4.2 Análisis discriminante en vinos

También se realizó un análisis discriminante para estudiar el comportamiento de las diferentes variedades en los vinos elaborados. Los resultados más relevantes obtenidos se pueden observar en la **Figura 5.19**.

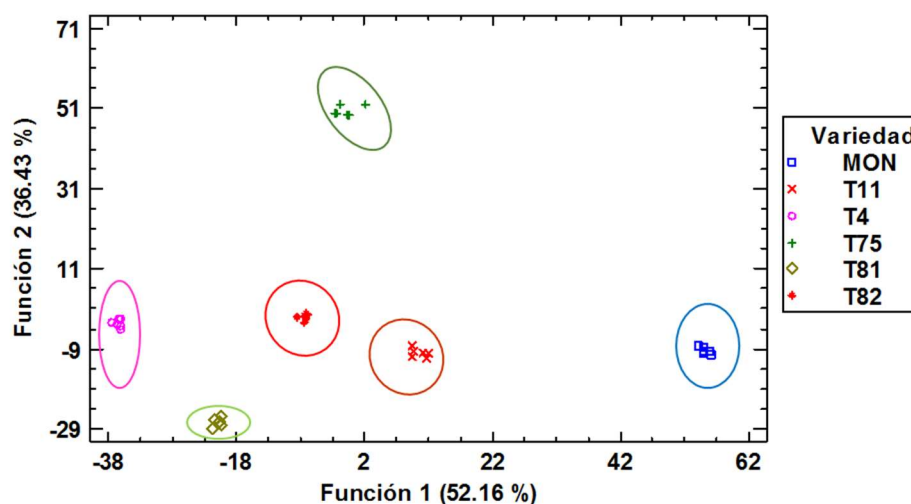


Figura 5. 19 Gráfico de dispersión de análisis discriminante en vinos de Monastrell y en las nuevas VBGA durante las campañas 2020 y 2021.

De las 15 variables predictoras que fueron introducidas, cinco funciones discriminantes obtuvieron valores $p < 0,05$ y fueron estadísticamente significativas con un nivel de confianza del 95,0 %. La función número 1 explicó el 52.16 % de la varianza, mientras que la función número 2, explicó el 36.43 %. Tal como ocurría en el caso de la uva, podemos observar en la **Figura 5.19** tres grupos bien diferenciados, por un lado los vinos de Monastrell, por otro lado los vinos correspondientes a las variedad T75 y por otro lado los vinos correspondientes al resto de variedades.

Como se puede observar en la **Figura 5.19**, los vinos de Monastrell fueron los más diferentes en comparación con el resto de vinos de las VBGA. De modo que dada su menor concentración fenólica, están situados en la parte derecha de la gráfica. Por otro lado, de nuevo los vinos de las variedades T4, T11, T81 y T82 se encuentran agrupados en el parte izquierda inferior de la figura, correspondiendo a la parte negativa de la Función 2, mientras que los procedentes de la variedad T75 están situados en la parte positiva de dicha función mostrando una mayor diferencia con respecto al resto de las

nuevas variedades. Los resultados obtenidos en los vinos son similares a los obtenidos en las uvas, habiendo en ambos casos una perfecta separación de todas las variedades.

En cuanto a los coeficientes de discriminación, (**Tabla 7.26** del Capítulo 8: ANEXOS), en la Función 1, las variables que más contribuyeron a su discriminación fueron las vitisinas, seguidas de los antocianos acetatos y epicatequina de extensión. En cuanto a la Función 2, que explica también un alto porcentaje del análisis, destacaron como variables más discriminatorias los antocianos acilados y los flavonoles trihidroxilados.

CAPÍTULO 6

OBTENCIÓN DE NUEVAS VARIEDADES BLANCAS (VB) ADAPTADAS AL CLIMA DEL SURESTE ESPAÑOL



CAPÍTULO 6: OBTENCIÓN DE NUEVAS VARIEDADES BLANCAS (VB) ADAPTADAS AL CLIMA DEL SURESTE ESPAÑOL

6.1 Variedades blancas en la Región de Murcia

La Región de Murcia no es conocida por la elaboración de vinos blancos, si no como se ha comentado a lo largo de los capítulos anteriores, por la elaboración de vinos tintos, sobre todo con la variedad Monastrell, que es la variedad autóctona de nuestra zona. Sin embargo, gracias a la gran diversidad climática existente en España, con la diferenciación de ciertos microclimas, es posible la plantación de diversas variedades blancas para la elaboración de vinos de calidad. La variedad Airén es la variedad blanca más cultivada en España, siendo la principal variedad en las Denominaciones de Origen de Vinos de Madrid y la Mancha, además también es cultivada en la Región de Murcia. Esta variedad se encuentra cultivada en ésta área de cultivo con un porcentaje menor al 10 %, y se caracteriza por presentar un aroma ligero y por tener un carácter afrutado medio (Gonzalez-Viñas et al., 1996).

Otras variedades cultivadas en nuestra zona aunque aún en proporciones más bajas son: Macabeo (0.4%); Sauvignon Blanc (0.1%); Chardonnay (0.08%), Moscatel de grano menudo (0.03%); Verdejo y Pedro Ximénez (0.03%) y Malvasía (0.02%). Estas variedades dan lugar a unos vinos con unas características sensoriales peculiares. Así, la variedad Macabeo expresa en nuestra zona vinos con recuerdos a cítricos, sotobosque y frutos secos y además se utiliza para la elaboración de vinos blancos jóvenes de acidez media junto con otras variedades blancas. La variedad Sauvignon Blanc tiene aromas más tropicales y cítricos, además cuando es cultivada en una zona cálida como la nuestra, puede llegar a presentar vinos frescos, en dónde en los últimos años se están elaborando vinos monovarietales 100 % Sauvignon Blanc, ya que esta variedad se utiliza para realizar elaboraciones junto con otras variedades blancas. Por otro lado, los vinos elaborados con la variedad Chardonnay dan lugar a vinos que recuerdan a bollería y mantequilla, proporcionando así vinos suaves, dulces y con poca acidez. Con la variedad Moscatel de grano menudo se elaboran vinos dulces, con recuerdos a flores y miel, siguiendo una línea totalmente distinta a los vinos blancos secos. La variedad Verdejo, presenta aromas menos afrutados aunque con ciertos matices cítricos y minerales. La variedad Pedro Ximénez no se suele utilizar en la zona para vinos dulces, se utiliza para elaborar vinos tranquilos, a menudo aportando características a otras variedades de uva como la Airén que se caracterizan por ser vinos con poca acidez. Finalmente, se elaboran algunos vinos con la variedad Malvasía

aunque suele ir acompañando también a otras variedades blancas, aportando así aromas a albaricoques, grosellas y melocotón (Jumilla, n.d.).

6.2 Parámetros de calidad en los vinos blancos

En la obtención de vinos blancos de calidad, es necesario partir de uvas que presenten una composición de parámetros óptima, en este sentido, el manejo de la viña, así como el momento óptimo de vendimia juegan un papel fundamental (Rolle et al. 2022), de hecho la base de las características del vino está intrínsecamente relacionada con la calidad de la uva. Sin embargo, a lo largo de las décadas, el concepto de calidad de la uva ha ido evolucionando, destacando su carácter multidisciplinar, ya que la misma "calidad deseada" podría corresponder incluso a patrones de composición sorprendentemente diferentes (Poni et al., 2018). En particular, la "calidad" de la uva blanca en la vendimia se deriva del balance positivo de varios metabolitos primarios y secundarios: azúcares, ácidos orgánicos, sustancias nitrogenadas y minerales, polifenoles y compuestos aromáticos y así como sus precursores. Junto a estos factores químicos cualitativos de las uvas, recientemente, muchos estudios también han llamado la atención sobre la importancia que tiene en la calidad de la uva, las características físicas de la misma, y más específicamente sobre las sus propiedades mecánicas concretamente la dureza y el espesor de la misma (Rolle et al., 2012).

Además de las premisas anteriormente comentadas, son varios los factores a tener en cuenta en la obtención de un vino blanco de calidad, tales como la variedad de uva, el momento de vendimia, las características físico-químicas de la uva en el momento de la vendimia o el tipo de vino a vinificar.

La elección de la variedad de uva deberá hacerse con la consideración de diferentes aspectos. Por un lado, la zona geográfica va a ser determinante en la elección de una variedad u otra, ya que no todas las variedades se expresan de la forma más adecuada en diferentes zonas geográficas. Además, factores ambientales (topográficos, agropedológicos, climáticos, etc.), generalmente descrito por el término francés "terroir", influyen en la composición y calidad de la uva y el vino (Coelho et al., 2009). También, la acumulación de los metabolitos primarios y secundarios anteriormente comentados, se encuentran influenciados por la respuesta de la vid a las condiciones de cultivo y a tratamientos particulares como resultado de la interacción entre las características genéticas, las condiciones ambientales y las prácticas culturales (Poni et al., 2018).

El momento de vendimia es otro parámetro importante necesario a tener en cuenta para asegurar las mejores características organolépticas de un vino. Por ejemplo, el

grado de madurez decidirá el contenido de alcohol en los vinos elaborados, un parámetro de gran importancia desde un punto de vista sensorial ya que vinos blancos con un alto contenido en alcohol tiene numerosas consecuencias organolépticas, incluyendo una disminución de la frescura de los vinos y un cambio en la percepción del bouquet del vino (Asproudi et al., 2018). También es bien sabido que las variaciones relacionadas con el cambio climático durante la maduración de la uva pueden modificar la percepción sensorial de los vinos, de modo directo como resultado de la formación de compuestos caracterizados por notas de fruta madura o reducción en notas florales y frescas (Bautista-Ortín et al., 2017a) o indirectamente a través de la modificación del perfil aromático debido al incremento de alcohol (Apolinar-Valiente et al., 2017). Aunque los mejores vinos en muchas regiones han sido elaborados en los años calurosos, la proyección de incremento de temperaturas y la variabilidad del clima durante las próximas décadas podría amenazar la ventaja competitiva en algunas regiones (Apolinar-Valiente et al., 2015a) incluida la Región de Murcia.

Siguiendo con los parámetros de calidad en uva blanca, a pesar de que casi nunca son objeto de seguimiento directo durante la maduración, los aminoácidos, péptidos y proteínas contribuyen significativamente a la calidad del vino porque afectan también a su sabor, claridad y estabilidad. Uno de los problemas que pueden aparecer en los vinos blancos es la formación de turbidez. Este es un fenómeno complejo que involucra coloides de diferentes orígenes, como las proteínas, compuestos fenólicos de alto peso molecular o factores no proteicos, como iones de sulfato, fuerza iónica del vino, ácidos orgánicos y variaciones de pH (Colangelo et al., 2018).

Otro de los parámetros necesarios a tener en cuenta es la acidez. La acidez determinará la frescura de los vinos elaborados, teniendo un papel muy importante en la calidad final del vino, y que además irá ligado totalmente al pH, estableciendo así un perfecto equilibrio entre ambos parámetros. Además, como establece Gomès et al. (2021) la capacidad para mantener una buena acidez en las bayas incluso a altas temperaturas es una expectativa clave para una variedad adaptada al cambio climático. Concretamente, y como se estudiará más adelante, es necesario hacer especial interés en las concentraciones de ácido málico que tienen las variedades de uva blanca, ya que desde el punto de vista enológico, determinarán en mayor medida, la frescura del vino elaborado (Vicente et al., 2021).

Por último y no menos importante, los compuestos volátiles son los que consiguen diferenciar variedades únicas y exclusivas en cualquier parte del mundo. El aroma es un contribuyente clave para la percepción de las características de calidad del vino

blanco, incluida la tipicidad sensorial, la diversidad percibida y la preferencia general del consumidor (Rolle et al., 2021). La composición aromática de un vino, es el primer parámetro organoléptico (junto con el color) que el consumidor va a tener en cuenta. Por tanto, vinos muy expresivos y aromáticos despertarán el interés del catador, mientras que vinos planos y poco aromáticos, tendrán un alto porcentaje de ser rechazados por el consumidor. Autores como Gómez García-Carpintero et al. (2012) o Arcari et al. (2017) remarcan entre los muchos factores que contribuyen a la tipicidad y calidad del vino, al aroma como probablemente, la característica organoléptica más importante, siendo un atributo clave para los consumidores. Además la composición aromática también permite la discriminación de los vinos en términos de autenticidad, gracias a los marcadores primarios de aroma presentes en las uvas. Estos aspectos son aún más relevantes para una enología varietal (es decir, la vinificación de una sola variedad de uva, que a menudo es expresión de un territorio determinado). De hecho, la tipicidad geográfica se está explotando cada vez más con el objetivo de aumentar el valor económico de los vinos que tienen características aromáticas distintivas y reconocibles (Rolle et al., 2021).

6.3 Nuevas variedades blancas

Como causa del cambio climático, los viñedos necesitan adaptarse a las nuevas condiciones ambientales, y una de las estrategias que se está siguiendo en el IMIDA, es el desarrollo de nuevas VB procedentes de Monastrell mediante cruzamientos dirigidos con otras variedades (Cabernet Sauvignon, Tempranillo y Verdejo). Aunque el principal objetivo fue estudiar el contenido fenólico de nuevas variedades tintas como se comentó en el Capítulo 2, surgieron estas nuevas variedades blancas, a las cuales se decidió hacer un estudio exhaustivo para conocer sus características organolépticas. Además el interés de registrar estas nuevas VB, también apareció por la actual escasez de VB en zonas como la Región de Murcia, que además puedan proporcionar caracteres frescos de acuerdo a los actuales gustos del consumidor. Dichos genotipos han sido seleccionados por haber sido capaces de dar lugar a vinos blancos de calidad, con una alta acidez y una buena composición aromática.

En base a la problemática anteriormente comentada, no solo en la Región de Murcia se comenzó esta permanente lucha por conseguir variedades blancas adaptadas a las nuevas condiciones, si no que otros países pertenecientes al mundo vitivinícola, también comenzaron a estudiar nuevos cruzamientos. Por ejemplo, los productores de vinos de Burdeos en Francia, ya han autorizado dos nuevas variedades blancas para vinos “Bordeaux Appellation d’Origine Controlée” y “Bordeaux Supérieur” tales como Petit

Manseng y Lillorila (Chardonnay x Barroco). Sin embargo, los productores únicamente pueden añadir en la mezcla final del vino elaborado, un 10 % de alguna de estas variedades, y además los nombres de las nuevas variedades de uva no pueden aparecer todavía en la etiqueta (Chiapparino, 2021).

Otras variedades blancas que se están estudiando en Francia son Voltis, la cual procede del cruce de Villaris x Mtp 3159-2-12, y da lugar a vinos que son fragantes y persistentes con una acidez alta. También se está trabajando con la variedad Floréal que se caracteriza por ser muy resistente a las condiciones climáticas. Es por tanto, que estaríamos hablando de variedades con una contribución muy importante dirigida a un cambio en los vinos blancos de la región suroeste de Francia (Pasquier et al., 2021).

La Universidad de Davis en California (Estados Unidos) también ha desarrollado dos nuevas variedades blancas. Estas variedades son Caminante blanc (Cabernet Sauvignon x Chardonnay x Carignane) y Ambulo blanc (Cabernet Sauvignon x Carignane x Chardonnay), y son variedades que ya se están implantado en diversas zonas del mundo. Por ejemplo, en Italia estas dos nuevas variedades ya han sido plantadas y se está estudiando su comportamiento por autores como Bavaresco y Squeri (2022) quienes establecen que el uso de las mismas puede mejorar el nivel de resistencia a enfermedades del sistema vitícola, así como originar un vino de excelente calidad.

Por otra parte, desde 1920, Alemania también ejecuta programas continuos de mejoramiento de la vid en variedades blancas como Phoenix, Orion, Merzling, Solaris, Saphira entre otras muchas. Esta continuidad fue la clave del éxito y condujo a varias nuevas variedades en el mercado, los llamados PIWI cuyas siglas alemanas significan “Variedades resistentes a enfermedades fúngicas”, resistentes a plagas, como el *oídio* y el *mildiú*. Sin embargo, en la actualidad también se presta especial atención a su calidad (Töpfer y Trapp, 2022).

Finalmente, en relación al uso de nuevas variedades, es necesario reconocer que esta innovación tiene que ser compartida y aceptada por todos los profesionales de la cadena vitivinícola (incluidos los consumidores) y es aquí donde el papel de la educación se vuelve crucial para que sea eficaz junto con un compromiso de recursos y tiempo, ya que también es necesario enfatizar el consumo de vino como un hecho cultural y una forma de vida (Bavaresco y Squeri, 2022).

6.4 El aroma del vino

El aroma de un vino es una de las características organolépticas más importantes en la calidad final del mismo y su análisis requiere el estudio de los compuestos volátiles. Más de 1000 compuestos volátiles con diferentes polaridades, volátiles e impacto odorífico, han sido identificados en los vinos, con un amplio rango de concentraciones desde μg o ng L^{-1} hasta mg L^{-1} . Por tanto, es importante utilizar la instrumentación necesaria para su análisis, así como analizar los datos sensoriales que permitan identificar los compuestos activos de un vino en concreto. En diferentes circunstancias, un compuesto podría tener una alta concentración pero, si su umbral de percepción es grande (es decir, se necesita una muy alta concentración de este compuesto para poder detectarse por el ser humano), no contribuirá significativamente al aroma del vino. Del mismo modo, un compuesto con un bajo umbral de percepción y una alta concentración de este compuesto, probablemente dominará en el aroma de ese vino (Vilanova et al., 2013).

La intensidad y la calidad del aroma del vino son los factores más importantes en los vinos blancos y son principalmente el resultado de las características del viñedo del cual proceden (Vilanova et al., 2013). El aroma del vino puede ser clasificado en tres categorías diferentes; aromas primarios, secundarios y terciarios. Los aromas primarios provienen directamente de las uvas, y este grupo está formado principalmente por compuestos volátiles como pirazinas, monoterpenos y C13 norisoprenoides, los cuales contribuyen a las notas de vino joven y notas afrutadas. El segundo grupo es representativo de los aromas fermentativos que se forman durante la fermentación alcohólica y la maloláctica, y producen notas afrutadas y de hierbas en la fermentación alcohólica y un amplio rango de compuestos volátiles que recuerdan a productos lácteos en la fermentación maloláctica. Finalmente, los aromas terciarios, también conocidos como aromas de bouquet se generan durante el envejecimiento del vino. Durante esta etapa, los aromas afrutados de los vinos jóvenes van desapareciendo gradualmente y se desarrollan otros aromas más complejos, apareciendo así aromas de fruta más madura que muestran notas de envejecimiento así como aromas de compota y frutos secos y otros aromas que también buscan atención (Swiegers et al., 2005; Moreno-Olivares et al., 2019).

6.4.1 Compuestos aromáticos en las uvas y vinos

6.4.1.1 Ácidos grasos volátiles

Los ácidos grasos volátiles se forman principalmente por las levaduras provenientes de la biosíntesis de la acetil-CoA durante la fermentación alcohólica. Los diferentes grupos de ácidos grasos producidos son; ácidos grasos de cadena corta (< 6 carbonos), ácidos grasos saturados de cadena media (6-12 carbonos), ácidos grasos saturados de cadena larga (>12 carbonos) y ácidos grasos insaturados de cadena larga (Giménez-Bañón et al., 2022).

Los ácidos grasos son compuestos que no están asociados a la calidad del vino, sin embargo, su presencia juega un importante papel en la complejidad del aroma cuando se encuentran en concentraciones bajas (Lorenzo et al., 2008). Gran parte de estos ácidos son responsables de los aromas “verdes” en los mostos, aunque estos ácidos pueden tener un impacto más bajo en los vinos elaborados (Kotseridis y Baumes, 2000).

6.4.1.2 Alcoholes superiores

Los alcoholes superiores suelen ser los compuestos volátiles más abundantes en los vinos (Gutiérrez-Gamboa et al., 2020). Este tipo de compuestos provienen del metabolismo de los aminoácidos y azúcares de las levaduras (Waterhouse et al., 2016). Se forman principalmente durante la fermentación alcohólica y su contenido viene afectado por diversos factores, como las condiciones presentes durante la fermentación, la composición físico-química del mosto y la variedad de uva (Moreno-Olivares et al., 2020). Estos compuestos pueden ser reconocidos por su fuerte y picante olor y sabor así como por presentar ciertas notas herbáceas en los vinos. Sin embargo, la influencia positiva o negativa de los alcoholes superiores dependen del tipo de vino y su aroma (Ugliano y Henschke, 2009), así como de la cantidad presente en los mismos.

6.4.1.3 Compuestos C6

Los alcoholes C6 son un grupo común de compuestos volátiles vegetales con seis átomos de carbono que tienen un aroma "verde" característico, que recuerda a las hojas y la hierba fresca recién cortada o pueden incluso no tener un impacto en el aroma global del vino resultante, dependiendo de su concentración (Gil Cortiella et al., 2020). Se forman a partir de los correspondientes aldehídos C6, también compuestos aromáticos importantes por la acción de las enzimas alcohol deshidrogenasa (Ilc et al., 2016).

6.4.1.4 Fenoles volátiles

Los fenoles volátiles no suelen estar presentes en los vinos tintos debido a la acción inhibitoria de algunas sustancias tánicas sobre las enzimas que actúan sobre los ácidos fenólicos para la generación de los derivados vinílicos. Estos derivados vinílicos son los compuestos encargados de crear los fenoles volátiles, que son los principales fenoles presentes en los vinos blancos (Tufariello et al., 2012). La mayoría de los fenoles volátiles tienen un efecto negativo en la calidad del vino; por ejemplo, los fenoles etílicos son responsables de los olores animales y ahumados, mientras que los fenoles vinílicos se asocian con fuertes olores farmacéuticos. Sin embargo, dependiendo de las concentraciones en las que se encuentren estos compuestos, tendrán efecto positivo o negativo en los vinos como se podrá ver más adelante.

6.4.1.5 Ésteres

Los ésteres son producidos principalmente por levaduras a través del metabolismo de lípidos y el acetyl-CoA durante la fermentación, aunque algunos pueden proceder de la esterificación de alcoholes y ácidos durante la crianza del vino (Portu et al., 2015). Los ésteres son los odorantes más importantes en los vinos, ya que imparten abundantes aromas florales y frutales tropicales (Zhang et al., 2013). La producción de los diferentes ésteres en los vinos depende de varios factores de la vinificación tales como la temperatura, el tipo de levadura utilizada en la fermentación y la aireación del mosto (Perestrelo et al., 2006).

6.4.1.6 Terpenos

Los terpenos son los compuestos más ampliamente estudiados en muchas variedades de vid, donde son responsables de aromas varietales, especialmente en uvas aromáticas (Ferreira y Lopez, 2019). Sin embargo, se ha informado que el clima y las prácticas de gestión, pueden influir en la concentración final de terpenos en los vinos (Gutiérrez-Gamboa et al., 2019). Los compuestos terpénicos también pueden contribuir a mejorar la percepción de los aromas aromáticos afrutados, cítricos y florales en los vinos (Pedroza et al., 2012). Además, en la presente Tesis Doctoral, dentro de la familia aromática "Terpenos", y concretamente en el estudio aromático de las uvas, se podrá diferenciar entre los alcoholes monoterpénicos, óxidos monoterpénicos y dioles monoterpénicos.

6.4.1.7 Norisoprenoides

Los C13 norisoprenoides derivan de la degradación oxidativa de los carotenoides de la uva y contribuyen significativamente al aroma de muchas variedades de uva blanca (Rolle et al., 2021). Compuestos como los C13 norisoprenoides, pueden tener un gran impacto sensorial en los vinos y normalmente están relacionados con notas de aroma floral y de frutas exóticas (Sánchez-Palomo et al., 2019). Además, algunos investigadores han sugerido que estos compuestos también tienen un impacto indirecto en el aroma del vino al mejorar las notas afrutadas de los ésteres etílicos (Escudero et al., 2007).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En definitiva, para la confirmación de todas las características anteriormente comentadas en estas nuevas variedades, se realizó un análisis durante dos campañas consecutivas (2020 y 2021) en cuatro nuevas VB (MC189, MC69, MT103 y MV67), que han sido las que han resultado seleccionadas para comenzar su proceso de registro, por su alta calidad tanto en la uva como en los vinos elaboradas con ellas.

Al igual que en el caso de las variedades tintas seleccionadas (VACF) las cuales fueron comparadas con Monastrell, en el caso de las VB se decidió comparar con la variedad Verdejo. La variedad Verdejo representa el 5 % de las variedades blancas cultivadas en toda España. Esta variedad es comúnmente conocida por ser la principal variedad blanca de la Denominación de Origen Rueda, de Castilla y León, y se caracteriza por dar vinos blancos con una gran calidad organoléptica, diferenciada por sus típicos aromas afrutados y sabor característico (Sánchez-Palomo et al., 2015).

En resumen, el presente capítulo mostrará una caracterización aromática de las nuevas VB comparadas con la variedad Verdejo. Por un lado, se estudiará los compuestos ligados presentes en las uvas de estas variedades, y por otro lado, se atenderá a los principales compuestos volátiles presentes en los vinos elaborados.

6.5 Uvas

6.5.1 Características físico químicas en las uvas

La **Tabla 6.1** muestra las principales características físico-químicas en las uvas de las nuevas variedades blancas (VB): MC180, MC69, MT103 y MV67, durante los dos años de estudio (2020 y 2021), y de la variedad Verdejo. Como se puede observar en la **Figura 3.2** de Materiales y métodos, las variedades blancas se vendimiaron entre el 17 y 31 de agosto en ambas campañas.

Tal como se puede ver en la **Tabla 6.1**, para el parámetro peso de baya, los valores fueron diferentes en los dos años de estudio. Durante la segunda añada, los valores se vieron incrementados en todas las variedades, en comparación con los valores mostrados durante el primer año. Seguramente esto pudo ser debido en parte a las condiciones climáticas anuales sufridas durante el año 2021, así la variedad Verdejo fue la que presentó el mayor peso de baya en las dos campañas de estudio (2020 y 2021) con unos valores de 143.88 y 211.75 g respectivamente, incrementándose un 32.46 % en la campaña 2021. Sin embargo la tendencia para el resto de nuevas VB fue diferente entre los años. En la campaña 2020, la variedad MC180 fue la que obtuvo un mayor

peso (121.39 g) frente a la variedad MT103 (106.18 g) que fue la que obtuvo los valores más bajos. En cambio, en la campaña 2021, la variedad MT103 fue la que alcanzó un mayor peso (179.82 g) tras la variedad Verdejo, y MC69 fue la variedad de uva con menor peso en sus bayas (126.40 g). Como se ha visto a lo largo de los capítulos anteriores, el tamaño de baya y por tanto el peso de 100 bayas podría estar relacionado con la dilución de los compuestos de interés.

En relación al °Bé durante las dos campañas se obtuvieron valores entre 10.7 y 12.2 °Bé. Así, durante la campaña 2020 la variedad MT103 fue la que obtuvo un mayor °Bé (12.17) frente a los 10.76 °Bé que obtuvo la variedad MV67. La variedad Verdejo obtuvo un °Bé (11.19) similar a MC180 (11.16) y MC89 (11.80). En cambio, durante la campaña 2021, la variedad Verdejo fue la que obtuvo un mayor °Bé (11.97) frente a los 10.76 °Bé de las variedades MC69 y MV67. En general los grados de las diferentes variedades en ambas campañas de estudio, son las esperadas para la elaboración de vinos blancos cultivadas en zonas con estas condiciones climáticas, entre 10 y 12 °Bé, incluso en algunos casos se puede llegar a alcanzar los 13 °Bé.

Siguiendo con los parámetros de la calidad en la uva blanca, uno de los más importantes es la acidez, la cual se encuentra directamente ligada al pH de las uvas. Uno de los objetivos en la obtención de estas nuevas variedades fue conseguir variedades mejor adaptadas a las condiciones climáticas de la zona y por tanto con un grado de acidez elevado. Así durante la campaña 2020, todas las nuevas VB obtuvieron una mayor acidez que la variedad Verdejo. Concretamente, la variedad MC69 alcanzó una acidez de 8.10 g/L junto con un pH de 3.28 frente a los 5.96 g/L analizados en la variedad Verdejo con un pH de 3.40. La variedad MT103 también alcanzó una acidez de 7.11 g/L y un pH de 3.26. Sin embargo, durante la campaña 2021, únicamente la variedad MC69 con una acidez de 7.39 g/L y un pH de 3.41 superó a la variedad Verdejo, la cual obtuvo 6.52 g/L y un pH de 3.50. Una explicación a estos resultados correspondientes a la campaña 2021 podría ser el hecho de que la fecha de vendimia fue más tardía que en el primer año de estudio. En la campaña 2020 las variedades se vendimiaron entre los días 17 y 23 de agosto, mientras que en la campaña 2021 las fechas se aproximaron más a final de mes (**Figura 3.2** de Materiales y métodos). Aun así, estaríamos hablando de unos valores muy buenos de acidez para lo esperado en una zona cálida como la Región de Murcia.

Los resultados anteriormente comentados también se encuentran directamente relacionados con las concentraciones de ácido tartárico en las uvas y sobre todo, con las de ácido málico. Las variedades MT103 y MC69 podemos considerarlas como

variedades con altas concentraciones en ácido tartárico ya que en ambos años de estudio alcanzaron los mayores valores de este compuesto en comparación al resto de variedades, así MT103 alcanzó valores de 9.15 y 8.78 g/L y MC69 de 8.39 y 8.68 g/L respectivamente, intuyendo de este modo una muy buena adaptación a climas semi-áridos. Sin embargo, Verdejo obtuvo concentraciones similares al resto de variedades y alcanzó una media de 7.84 g/L de ácido tartárico entre las dos campañas.

Por último, en relación al parámetro más importante para nosotros en la calidad de las variedades blancas, el ácido málico, la variedad MC69 fue la que alcanzó las mayores concentraciones en ambas campañas. Concretamente, esta variedad obtuvo 3.68 g/L durante la campaña 2020, es decir, casi 4 g/L, un valor bastante alto comparado con el resto de variedades blancas cultivadas en esta zona ya que es bien sabido que en climas cálidos se producen uvas con una menor acidez (Lakso y Kliewer, 1975) debido a que la producción de ácido málico es una reacción muy exotérmica, y por lo tanto su síntesis se ve más favorecida con temperaturas más bajas. Durante la campaña 2021, MC69 también obtuvo la concentración más alta (2.96 g/L). Las variedades MT103 y MV67 fueron las que obtuvieron las concentraciones más bajas en ambas campañas. Hay que remarcar que los valores obtenidos por estas dos variedades fueron inferiores a 2 g/L (criterio de selección comentado en el apartado **2.5.2.1** del capítulo 2) de manera puntual, desde que se comenzó a estudiar estas variedades.

	VERDEJO	MC180	MC69	MT103	MV67	p-value
2020						
Peso 100 bayas (g)	143.88a ± 0.16	121.39b ± 0.86	119.03c ± 1.38	106.18e ± 1.16	110.97d ± 0.04	***
°Bé	11.19c ± 0.00	11.16c ± 0.04	11.80b ± 0.08	12.17a ± 0.00	10.76d ± 0.00	***
Acidez Total (g/L) *	5.96e ± 0.11	6.88c ± 0.02	8.10a ± 0.04	7.11b ± 0.04	6.42d ± 0.08	***
pH	3.40b ± 0.00	3.45a ± 0.01	3.28c ± 0.00	3.26c ± 0.00	3.42b ± 0.01	***
Ácido Tartárico (g/L)	7.78c ± 0.16	7.46c ± 0.13	8.39b ± 0.25	9.15a ± 0.25	8.61b ± 0.22	**
Ácido Málico (g/L)	2.59c ± 0.02	3.04b ± 0.05	3.68a ± 0.02	2.24d ± 0.02	1.94e ± 0.02	***
2021						
Peso 100 bayas (g)	211.75a ± 0.36	164.57c ± 0.60	126.40d ± 0.86	179.82b ± 0.11	163.66c ± 0.48	***
°Bé	11.97a ± 0.00	11.25b ± 0.00	10.76d ± 0.00	10.92c ± 0.00	10.76d ± 0.00	***
Acidez Total (g/L) *	6.52b ± 0.11	6.06c ± 0.06	7.39a ± 0.14	6.25c ± 0.02	5.39d ± 0.11	***
pH	3.50b ± 0.01	3.55a ± 0.01	3.41c ± 0.01	3.41c ± 0.01	3.58a ± 0.01	***
Ácido Tartárico (g/L)	7.91b ± 0.03	7.95b ± 0.21	8.68a ± 0.33	8.78a ± 0.19	7.43b ± 0.23	**
Ácido Málico (g/L)	2.51c ± 0.05	2.72b ± 0.11	2.96a ± 0.04	1.55e ± 0.06	1.86d ± 0.08	***

Tabla 6. 1 Características físico-químicas para Verdejo y las nuevas VB durante las campañas 2020 y 2021. Abreviaturas: ¹ Acidez total expresada en g/L de ácido tartárico. Los datos representan las medias ± desviación estándar. Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas de acuerdo al test de LSD (p<0.05). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** (p < 0,001), 99%** (p< 0,01) y 95%* (p< 0,05).

6.5.2 Compuestos aromáticos en las uvas

6.5.2.1 Análisis del aroma en la uva

En la siguiente figura (**Figura 6.1**) se muestran las concentraciones obtenidas en las uvas de las diferentes variedades, agrupadas por familias aromáticas (alcoholes monoterpénicos, óxidos y dioles monoterpénicos, C13 norisoprenoides, alcoholes, fenoles volátiles, ácidos grasos volátiles y compuestos C6). En la **Tabla 6.2** del capítulo ANEXOS se muestran también los principales compuestos individuales analizados que pertenecen a las diferentes familias aromáticas anteriormente comentadas en el apartado **6.4.1**.

Los compuestos aromáticos están presentes en las bayas de uva en forma libre y enlazados glucosídicamente. Estos últimos son compuestos inodoros conjugados con azúcares (aglicona unida directamente a un resto β -D-glucopiranosilo) y pueden sufrir hidrólisis ácida o enzimática durante el proceso de vinificación y envejecimiento, liberando importantes volátiles libres y potenciando de manera notable el aroma del vino (Gunata et al., 1985). Por tanto, muchas variedades de uva contienen principalmente precursores glucosídicos en el momento de vendimia y sus compuestos olorosos correspondientes se liberan en el vino durante el proceso de fermentación (González-Barreiro et al., 2015). Las familias aromáticas de las cuales se hablarán a continuación corresponden a las compuestos glicosilados de las uvas.

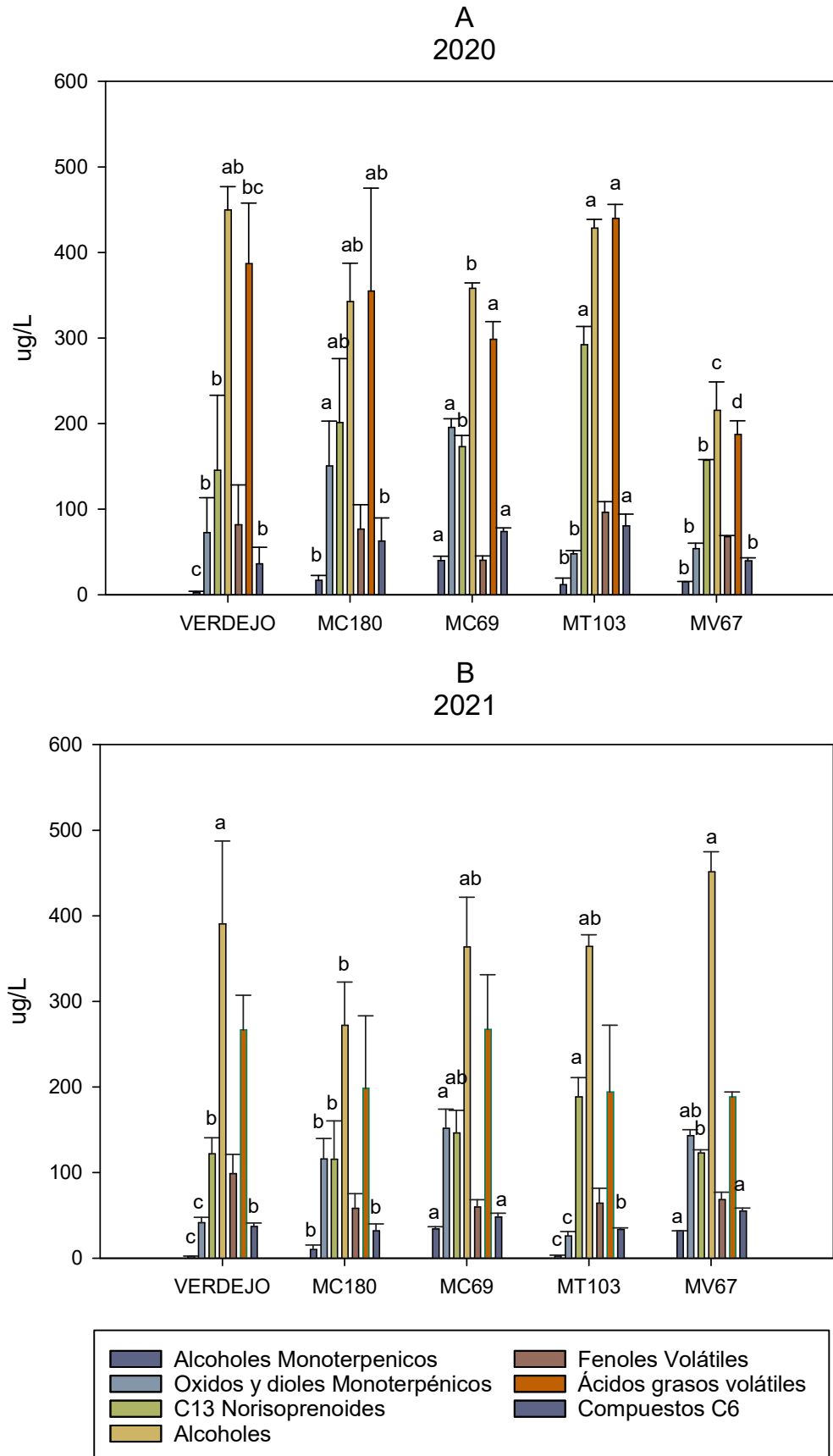


Figura 6. 1 Principales familias aromáticas en las uvas de Verdejo y nuevas VB. (A) corresponde a la campaña 2020 y (B) a la campaña 2021.

Con respecto a las concentraciones de ácidos grasos volátiles, no se obtuvieron diferencias significativas entre las variedades. En el apartado de compuestos aromáticos en vinos se hablará más detenidamente de esta fracción aromática.

Siguiendo con las familias aromáticas analizadas en las uvas, los alcoholes hacen referencia a los alcoholes superiores analizados en Verdejo y las nuevas VB. Esta familia fue la que presentó una mayor concentración con respecto a las demás familias analizadas. Al final de la maduración de las uvas, se produce un incremento en la concentración de alcoholes en las uvas, y este incremento es deseable, ya que los alcoholes generalmente no solo tienen umbrales de olor herbáceo más altos que los aldehídos relacionados, sino también porque tienen una mayor propensión a formar ésteres afrutados en presencia de ácidos carboxílicos durante la vinificación (González-Barreiro et al., 2015). Haciendo referencia a los resultados obtenidos, durante la campaña 2020 (**Figura 6.1 A**), la variedad MT103 fue la que destacó por presentar una mayor concentración. Sin embargo, en la campaña 2021 fueron las variedades Verdejo y MV67.

En la **Figura 6.1** también aparecen las concentraciones obtenidas en los compuestos C6. Los compuestos C6 se conocen por contribuir también a los aromas varietales en variedades de uva neutras (Slegers et al., 2015). La variedad MC69 se caracterizó por presentar altas concentraciones de estos compuestos en ambas campañas, junto con la variedad MT103 en la campaña 2020 y la variedad MV67 en la campaña 2021. Gutiérrez-Gamboa et al. (2020) encontró que las concentraciones de algunos de los compuestos C6 aumentaron en aquellas campañas en donde Tempranillo Blanco presentaba una mayor acidez total y una mayor concentración de ácido málico. Estos resultados se encuentran relacionados con nuestro estudio, ya que la variedad MC69 fue la que presentó mayor concentración de acidez total y ácido málico en ambas campañas, y esta variedad fue también la que obtuvo mayores concentraciones de compuestos C6.

Con respecto a la concentración de fenoles volátiles analizados en nuestro estudio, es necesario destacar que no se encontraron diferencias significativas entre las variedades en ninguna de las campañas de estudio. De acuerdo a Kheir et al. (2013), la presencia de estos compuestos en las uvas, dependerá de la concentración de ácidos fenólicos, ya que son sus precursores de los mismos. Así mismo, su presencia en los vinos, dependiendo de sus niveles de concentración, pueden considerarse como constituyentes normales o bien como la causa del deterioro de la calidad del vino.

Como se ha comentado anteriormente, dentro de la familia de los “Terpenos” se han diferenciado tres subgrupos aromáticos; alcoholes monoterpénicos, óxidos monoterpénicos y dioles monoterpénicos. Con respecto a la concentración de los alcoholes monoterpénicos se encontraron marcadas diferencias entre las variedades. La concentración de estos compuestos se mantiene estable en las primeras etapas de desarrollo de la baya y aumenta progresiva y significativamente desde el envero hasta las últimas etapas de maduración (> 20 °Brix) (Sollazzo et al., 2018) a pesar de que también existe un efecto de la variedad (Vilanova et al., 2012). Como se puede observar en la **Figura 6.1 A**, la concentración de alcoholes monoterpénicos se vio incrementada en un 93.66 % en la variedad MC69 (39.91 $\mu\text{g/L}$) con respecto a la variedad Verdejo (2.53 $\mu\text{g/L}$), obteniendo así la mayor concentración en la campaña 2020. En relación a la campaña 2021 (**Figura 6.1 B**), de nuevo la variedad MC69 junto con la variedad MV67, fueron las que obtuvieron las mayores concentraciones de estos compuestos, 34.09 y 31.85 $\mu\text{g/L}$ respectivamente. Recientemente, se propuso que la composición enantiomérica de los monoterpenos se utilizara para la diferenciación del vino en función de la variedad, la región y el estilo, mostrando un alto potencial para la autenticación del vino (Song et al., 2018). Los óxidos y dioles monoterpénicos están también muy ligados a los aromas varietales de las uvas. Las variedades con mayor concentración en estos compuestos fueron MC69 y MC180 durante la campaña 2020, alcanzando entre un 50-65 % más que el obtenido en la variedad Verdejo, mientras que en la campaña 2021, fue únicamente la variedad MC69 la que destacó por una mayor concentración, alcanzando 151.61 $\mu\text{g/L}$ frente a los 41.44 $\mu\text{g/L}$ mostrados en la variedad Verdejo. Estos resultados obtenidos en estas nuevas VB pueden ser muy prometedores ya que son concentraciones que corresponden a aromas varietales, que es lo que el consumidor busca en este tipo de vinos.

Por último, la evolución de los C13 norisoprenoides ligados siguió una tendencia similar a la de los monoterpenos durante la maduración de la uva, ya que aumentan progresivamente mientras disminuyen las formas libres (Perestrelo et al., 2018). Como se puede observar en la **Figura 6.1**, en ambas campañas (2020 y 2021) la variedad MT103 fue la que destacó por sus altas concentraciones en compuestos C13 norisoprenoides, sobre todo durante la campaña 2020 (**Figura 6.1 A**) superó en un 50 % los valores analizados en Verdejo (145.36 $\mu\text{g/L}$). Desde el punto de vista organoléptico en la calidad de la uva, es interesante la obtención de nuevas variedades con altas concentraciones de estos compuestos, ya que se consideran como compuestos activos del olor asociados con vinos de calidad (Kwasniewski et al., 2010) junto con los compuestos terpénicos anteriormente comentados.

Alcoholes Monoterpénicos	Óxidos y Dioles Monoterpénicos	C13 Norisoprenoides	Alcoholes	Fenoles Volátiles	Ácidos Grasos Volátiles	Compuestos C6
Linalool	Óxido furánico de linalool <i>cis</i>	3,4-Dihidro-3-oxo-actinidol I	1-butanol	Fenol	Ácido isobutírico	2-hexenal
OH-Trienol	Óxido furánico de linalool <i>trans</i>	3,4-Dihidro-3-oxo-actinidol II	3-penten-2-ol	4-vinil-guaicol	Ácidos 2,3 metilbutanoico	1-hexanol
Alfa-Terpineol	Óxido piránico de linalool <i>trans</i>	3,4-Dihidro-3-oxo-actinidol III	Alcohol isoamílico	4-vinilfenol	Ácido hexanoico	Z-3-hexen-1-ol
Nerol	Óxido piránico de linalool <i>cis</i>	3-OH-Damascenona	3-metil-3-buten-1-ol	Vainilina	Ácido heptanoico	Z-2-hexanol
	Diendiol I	3-OH-Damascona	2-heptanol	Metil vanilato	Ácido E 2 hexanoico	E-2-hexanol
	Diendiol II	3-OH-7,8-Dihidro-β-Ionona	3-metil-2-buten-1-ol	Acetovanilona	Ácido octanoico	
	Hidroxicitronelol	3-Oxo-α-Ionol	1-octen-3-ol	3,4 dimetoxifenol	Ácido decanoico	
	E-8-Hidroxilinalool	3-OH-7,8-Dihidro-β-Ionol	2-etil-1-hexanol	Zingerona	Ácido dodecanoico	
	Z-8-Hidroxilinalool	4-OH-7,8-Dihidro-β-Ionol	Alcohol bencílico	Alcohol 3,4,5 trimetoxibenzílico	Ácido hexadecanoico	
	Ácido geránico	3-Oxo-7,8-Dihidro-α-Ionol	Feniletanol	2,5 dihidrobenzoato de metilo		
		3-OH-7,8-Dehidro-β-Ionol	1-fenil-etanol	3,4,5 trimetoxifenol		
		Vomifoliol	β-fenil-etanol			
			Dodecanol			
			2-fenoxietanol			

Tabla 6. 2 Compuestos aromáticos analizados en las uvas agrupados por familias aromáticas.

6.5.2.2 Mapa de calor y dendograma

Se decidió realizar este estudio estadístico con el fin de buscar correlaciones entre los compuestos analizados y las nuevas VB, así como para entender la similitud aromática entre algunas de ellas. En este apartado se explicarán las interacciones de las concentraciones analizadas en los compuestos individuales durante las campañas 2020 y 2021 junto con la visualización de un dendograma y mapa de calor. Además en las tablas (**Tabla 8.27** y **Tabla 8.28**) del Capítulo 8: ANEXOS se presentan las concentraciones individuales de estos compuestos.

Los mapas de calor son omnipresentes en la literatura sobre genómica y son muy adecuados para visualizar las medidas por medio de un subconjunto de filas que representan a todas las muestras (Moreno-Olivares et al., 2020), en este caso, las nuevas VB. Con la distancia entre las variedades, se necesitan algoritmos de agrupamientos para unirlos en diferentes grupos. La distancia entre las variedades se muestran en el dendograma presente en el margen izquierdo de la **Figura 6.2**, y con la ayuda del programa estadístico R Studio se estudió el agrupamiento entre las nuevas variedades blancas con Verdejo, mostrando un coeficiente de correlación de 0.84 cuando 1 es el máximo en la distancia de matrices euclídeas. En el estudio de distancias, se pudieron observar principalmente 2 grupos (ver dendograma del margen izquierdo de la **Figura 6.2**). Por un lado, encontramos un primer grupo formado por Verdejo y la variedad MT103. Por otro lado, nos encontramos un segundo grupo formado por el conjunto de MC69, MC180 (las cuales se encuentran más cerca entre ellas) y un poco más alejada, la variedad MV67. A su vez, la variedad MC69 sería la variedad más diferente a la variedad Verdejo. Estos dos grupos conformarían la jerarquía de variedades.

En relación al mapa de calor (**Figura 6.2**) se muestra una gran cantidad de información con respecto a las interacciones existentes entre las variedades y los compuestos aromáticos individuales estudiados. Como se puede observar en la leyenda, los colores rojos muestran interacciones negativas, y los colores blancos muestran correlaciones positivas, mientras que la gama intermedia de colores hace referencia a correlaciones intermedias.

Concretamente, la variedad MT103 fue la que mostró un mayor número de correlaciones positivas, ya que se puede observar una gran cantidad de colores blancos (interacciones positivas) y azules claros (interacciones medias) en el mapa de calor. De este modo, más específicamente, los compuestos individuales que tuvieron un mayor peso en el análisis (interacciones muy positivas) en esta variedad fueron los compuestos

C13 norisoprenoides (3-OH-Damascona, 3-Oxo- α -ionol, 3-Oxo-7,8-Dihidro- β -ionol y 3-OH-7,8-Dihidro- β -ionona) caracterizados por presentar los aromas más varietales en las uvas de MT103 y que coincide con lo comentado previamente en el apartado anterior. Otros compuestos que también presentaron interacciones positivas con esta variedad, fueron los fenoles volátiles como el metil vanilato, 4-vinil-guiacol o el alcohol 3,4,5-trimetoxibenzílico caracterizados por tener aromas que recuerdan a vainilla o a su familia o aromas a clavo (Swiegers et al., 2005; Sánchez-Palomo et al., 2017). También mostró una interacción positiva con alcoholes como 1-octen-3-ol responsable de los “off-odours” (Ferreira y Lopez, 2019) o con ácidos como el ácido hexadecanoico o ácido palmítico producido por las levaduras (Robinson et al., 2014). Como se ha comentado anteriormente, esta variedad fue la que presentó mayores interacciones positivas, pero además también mostró gran cantidad de compuestos con interacciones medias como por ejemplo otros compuestos C13 norisoprenoides como el vomifoliol y el 3-OH-7,8-dehidro- β -ionol también con caracteres afrutados, alcoholes como 3-metil-2-buten-1-ol, 3-metil-3-buten-1-ol, 1 butanol, o el conocido aroma de rosas del β -fenil-etanol, y compuestos como el ácido heptanoico o el 3,4,5 trimetoxifenol. Finalmente, esta variedad presentó únicamente una correlación negativa con el óxido piránico del linalool *cis*.

El dendograma (**Figura 6.2**) también mostró ciertas similitudes entre la variedad MT103 y la variedad Verdejo. Sin embargo, en este caso las interacciones más positivas para la variedad Verdejo fueron el 1-feniletanol, el dodecanol y la zingerona, la cual recuerda a aromas dulces (Sánchez-Palomo et al., 2019). Aunque también presentó ciertas interacciones intermedias con ciertos compuestos, concretamente con el terpeno óxidofuránico de linalool *trans* (aroma varietal), fenoles volátiles como la acetovanillona y el 2,5-dihidroxibenzoato de metilo, el alcohol benzílico o los ácidos hexanoico y *E*-2-hexanoico. Como interacciones negativas, Verdejo las mostró a los compuestos varietales como el α -terpineol y nerol, los alcoholes, 2-feniletanol, 3-penten-2-ol y *E*-2-hexanol o el ácido decanoico.

La variedad más alejada a Verdejo según el dendograma de la **Figura 6.2**, fue la variedad MC69, la cual fue caracterizada por aromas muy varietales como el diendiol I, *E*-8-hidroxilinalol, óxidopiránico de linalol *trans*, linalool, o el conocido alcohol isoamílico. Esta variedad también presentó interacciones positivas con los compuestos C6 (*Z*-3-hexen-1-ol y 1 hexanol) relacionados con aromas a hierba recién cortada así como con el 2-heptanol o el ácido 2,3 dihidroxibenzoato de metilo. La variedad MC69 presentó algunas relaciones negativas con el compuesto 2,5 dihidroxibenzoato de metilo, el compuesto 3,4 dimetoxifenol o la vainillina.

La variedad MC69 también se encontró en el dendograma cercana a la variedad MC180. Ésta última, presentó correlaciones muy positivas con los compuestos varietales 7,8 hidroxilinalol, 3,4 dihidroxi-3-oxo actinidol III o el 4-OH-7,8 dihidro β -ionol. Además también participaron en estas correlaciones positivas el ácido geránico o el 3,4 dimetoxifenol. Finalmente en las interacciones negativas formaron parte los compuestos ácido octanoico y el alcohol feniletanol.

Por último, la variedad que se encontró que era más diferente al resto de nuevas VB y a la variedad Verdejo, por encontrarse asilada en el dendograma (**Figura 6.2**) fue la variedad MV67. Esta variedad presentó dos correlaciones intermedias con los compuestos varietales 3,4 dihidro-3-oxo-actinidol II y el Diendiol II, mientras que no mostró ninguna correlación positiva fuerte con ninguno de los compuestos analizados en este estudio. Además como se puede observar, aparecieron algunas interacciones negativas con compuestos como el hidroxicitronelol, los alcoholes β -feniletanol y 3-metil-2-buten-1-ol ó el ácido hexanoico.

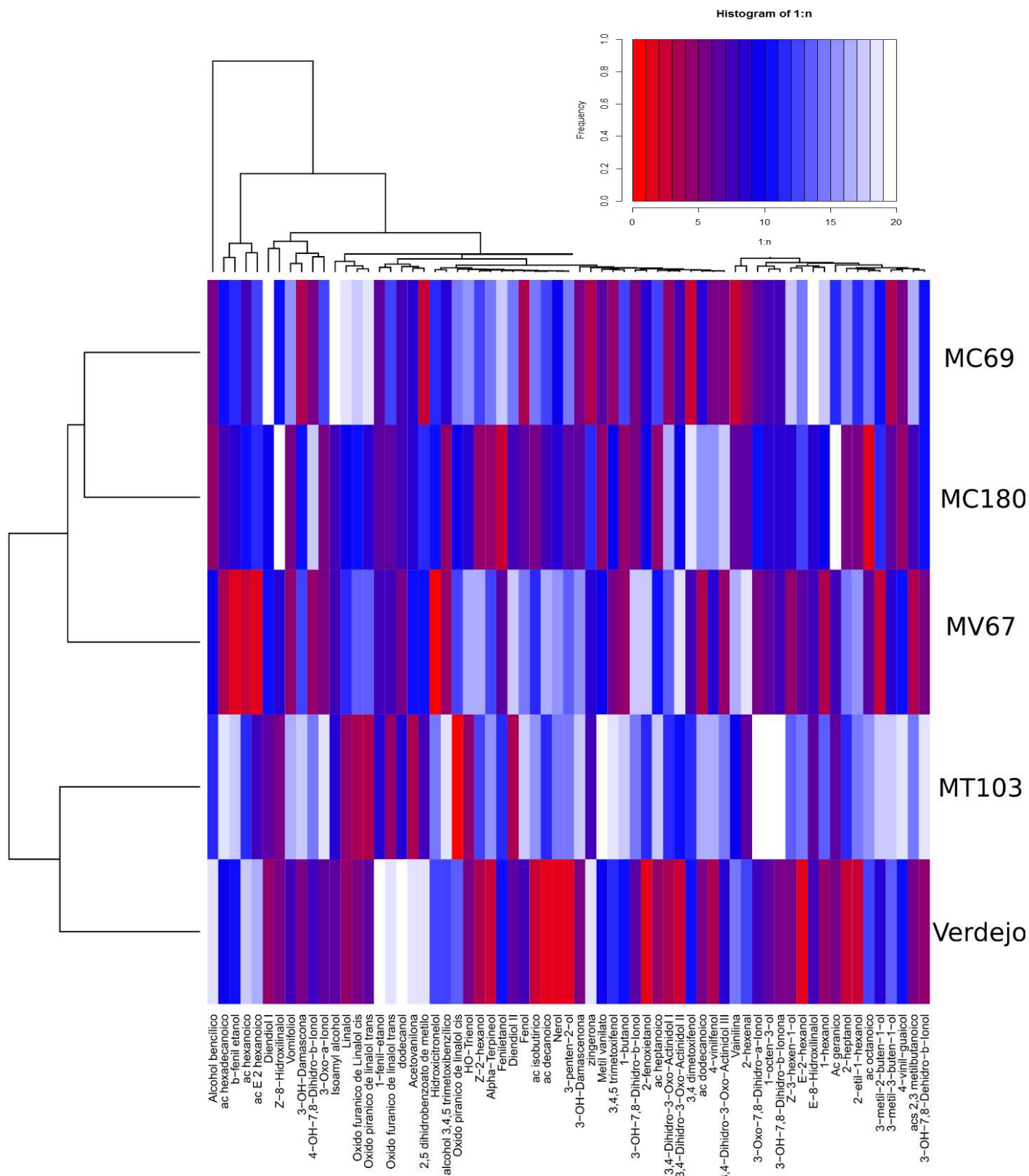


Figura 6. 2 Mapa de calor y dendrograma con los compuestos aromáticos individuales analizados en las variedades de uva Verdejo y nuevas VB durante las campañas 2020 y 2021.

6.6 Vinos

6.6.1 Características físico químicas en los vinos

En la **Tabla 6.3** aparecen los resultados con los parámetros físico-químicos analizados en los vinos al final de fermentación alcohólica.

El grado alcohólico en los vinos de las nuevas VB durante la campaña 2020 osciló entre 11-13 % v/v. Así, la variedad MT103 fue la que obtuvo una mayor graduación en sus vinos, alcanzando los 12.98 % v/v ya que fue la que se vendimió con la mayor cantidad de azúcares como se estudió anteriormente, seguida de la variedad MC69 con 12.66 % v/v. En esta campaña, la variedad Verdejo junto con la variedad MC180 fueron las que obtuvieron una menor graduación alcohólica en sus vinos. Contrariamente, en la campaña siguiente, 2021, los vinos de Verdejo fueron los que obtuvieron una mayor graduación (12.40 % v/v) mientras que los vinos de MC69 fueron los que menos graduación mostraron (11.20 % v/v).

Con respecto a la acidez total de los vinos, se corrigió hasta 6.5 g/L con ácido tartárico en ambas campañas en función del grado baumé alcanzado por cada una de las variedades. En la campaña 2020, los vinos de la variedad MT103 fueron los que mostraron una mayor acidez (7.48 g/L) frente a los vinos de Verdejo (6.28 g/L) que fueron los que mostraron el valor más bajo. Sin embargo, en la campaña 2021, los valores en general fueron inferiores a los obtenidos en el año anterior, de hecho, los vinos de la variedad Verdejo fueron los que alcanzaron la mayor acidez (6.13 g/L) frente al resto de VB, que obtuvieron valores más bajos, y en concreto los vinos de MV67 (5.50 g/L) fueron los que obtuvieron los valores más bajos. Esto se pudo explicar porque este año la uva se vendimió con una acidez más baja, seguramente por la combinación de varios factores, como las condiciones climáticas específicas de esta campaña, la fecha de vendimia de las variedades, así como la madurez tecnológica alcanzada por las propias variedades. Con respecto a los pH en los diferentes vinos, no sobrepasaron el valor 3.47 en ninguna de las campañas estudiadas.

La acidez volátil en los vinos también fueron bajas, de acuerdo a lo establecido por la legislación de la OIV (< 1.2 g/L de ácido acético). Así en la campaña 2020 no sobrepasaron los 0.48 g/L o los 0.32 g/L en la campaña 2021 ambos en la variedad MT103. Finalmente, en relación a las concentraciones de ácido málico, parámetro de calidad como se ha comentado anteriormente, la variedad MC69 fue la que mostró las concentraciones más altas en comparación con el resto de variedades en las dos campañas de estudio, alcanzando valores medios de 2.94 g/L entre los dos años.

También la variedad MC180 obtuvo altas concentraciones en los vinos elaborados (2.50 g/L). Además, de igual modo que ocurrió con el ácido málico de las uvas, las variedades MV67 y MC180 fueron las que menor concentración obtuvieron, siendo estos valores inferiores a 2 g/L. La acidez del vino, se atribuye principalmente al ácido tartárico y málico, y tiene por tanto una profunda influencia en la calidad sensorial (Pretorius y Hoj, 2005). Otros autores como Rodigues et al. (2017) han encontrado bajas concentraciones de ácido málico, valores comprendidos 0.1 y 0.6 g/L, en la variedad Chardonnay. En cambio, otros autores, al obtener concentraciones muy elevadas de ácido málico, han mostrado la necesidad de desacidificar los vinos (Benito et al., 2013) siendo ésta una práctica común en climas fríos (Slegers et al., 2017).

	VERDEJO	MC180	MV69	MT103	MV67	p-value
	2020					
Alcohol % (v/v)	11.62e ± 0.01	11.94d ± 0.01	12.66b ± 0.01	12.98a ± 0.02	12.04c ± 0.02	***
Acidez Total ¹	6.28d ± 0.11	7.05b ± 0.07	6.98b ± 0.11	7.48a ± 0.02	6.65c ± 0.11	***
pH	3.47a ± 0.01	3.36c ± 0.00	3.45b ± 0.00	3.22d ± 0.00	3.36c ± 0.01	***
Acidez Volátil ²	0.40b ± 0.02	0.34c ± 0.01	0.34c ± 0.07	0.48a ± 0.01	0.31d ± 0.02	***
Ácido Málico (g/L)	2.18b ± 0.02	2.31b ± 0.13	2.97a ± 0.06	1.77c ± 0.17	1.86c ± 0.02	***
	2021					
Alcohol % (v/v)	12.40a ± 0.01	11.93b ± 0.01	11.20e ± 0.00	11.32c ± 0.00	11.23d ± 0.02	***
Acidez Total	6.13a ± 0.02	5.73bc ± 0.11	5.61cd ± 0.07	5.86b ± 0.11	5.50d ± 0.11	**
pH	3.29c ± 0.00	3.29c ± 0.01	3.42a ± 0.00	3.20d ± 0.00	3.31b ± 0.00	***
Acidez Volátil	0.18c ± 0.01	0.29ab ± 0.02	0.30ab ± 0.01	0.32a ± 0.07	0.22bc ± 0.02	*
Ácido Málico (g/L)	2.29b ± 0.17	2.68a ± 0.02	2.91a ± 0.13	1.12d ± 0.06	1.85c ± 0.02	***

Tabla 6. 3 Características físico-químicas en los vinos de Verdejo y en los de las nuevas VB durante las campañas 2020 y 2021. Abreviaturas: ¹ Acidez total expresada en g/L de ácido tartárico. ² Acidez volátil expresada como g/L de ácido acético. Los datos representan las medias ± desviación estándar. Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas de acuerdo al test de LSD (p<0.05). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** (p < 0,001), 99%** (p< 0,01) y 95%* (p< 0,05).

6.6.2 Compuestos aromáticos en los vinos

Los compuestos aromáticos analizados en los vinos corresponden a 23 compuestos analizados cuantitativamente. En la **Tabla 6.4** y en la **Tabla 6.5** se pueden observar la concentración total expresada en mg/L del conjunto de compuestos volátiles analizados para cada una de las variedades (Verdejo y las nuevas VB) durante los dos años de estudio, 2020 y 2021.

Durante el primer año (**Tabla 6.4**), los vinos de la variedad MT103 destacaron por presentar la concentración más alta (530.93 mg/L) de compuestos volátiles totales. Esto se corresponde con lo encontrado en las uvas, donde esta variedad obtuvo las mayores concentraciones de las principales familias analizadas (**Figura 6.1**). Sin embargo, entre el resto de variedades no existieron diferencias significativas entre ellas.

Por otro lado, durante la campaña 2021, no encontramos diferencias significativas entre los vinos de las diferentes variedades en el total de compuestos aromáticos analizados (**Tabla 6.5**). Sin embargo, sí que se encontraron algunas diferencias en algunos de los compuestos individuales medidos como se verá a continuación.

Además si comparamos ambas campañas, se puede observar como el valor medio de compuestos aromáticos totales durante el año 2020 (436 mg/L) fue ligeramente superior al de la campaña 2021 (372 mg/L). Estas diferencias interanuales podrían deberse al grado de madurez de la uva, sobre todo en las variedades MT103 y MC69 en la campaña 2020, cuyos valores de madurez fueron mayores al resto de variedades, con valores de 12.17 y 11.80 °Bé respectivamente. Así, autores como Rodrigues et al. (2017) mostraron que uvas con una madurez mayor en la variedad Chardonnay, dieron lugar a vinos aromáticamente más afrutados.

6.6.2.1 Ácidos grasos volátiles

Como se puede observar en la **Tabla 6.4**, los ácidos hexanoico, octanoico, decanoico y 9-decenoico fueron identificados en los vinos elaborados. Durante la campaña 2020, el ácido octanoico fue el mayoritario de los ácidos analizados siendo este un compuesto que tiene aromas dulces y lácteos como el queso (Vilanova et al., 2017). La mayor concentración de este compuesto fue alcanzada por los vinos de la variedad MT103 llegando hasta los 24.26 mg/L y la menor concentración la mostró los vinos de la variedad MC180. El segundo compuesto en cantidad detectado fue el ácido hexanoico, destacando por sus altas concentraciones en los vinos de la variedad Verdejo (14.06 mg/L), seguido de la variedad MV67 y por último del resto de variedades

con una concentración cercana a 7.5 mg/L. Éste ácido está relacionado con aromas que recuerdan a queso, rancio o aromas grasos (Wang et al., 2017).

En relación a las concentraciones de los ácidos decanoico y 9-decenoico, fueron inferiores a los ácidos hexanoico y octanoico. De este modo, de nuevo los vinos de la variedad MT103 obtuvieron la mayor concentración de ácido decanoico (4.24 mg/L) frente a los de la variedad Verdejo, la cual obtuvo un 88 % menos. El ácido 9-decenoico no se detectó en la variedad Verdejo, pero sí en las nuevas variedades, sobre todo en las variedades MC69 y MT103 que fueron las que obtuvieron las mayores concentraciones (8.83 y 6.24 mg/L respectivamente). El ácido decanoico se caracteriza por tener aromas de cera, rancio y graso (García-Carpintero et al., 2011), mientras que el ácido 9-decenoico se relaciona con aromas grasos (Robinson et al., 2014).

Por otro lado, durante la campaña 2021 (**Tabla 6.5**), no se obtuvieron diferencias significativas con respecto al ácido octanoico, pero sí para el resto de los ácidos analizados. Así, de nuevo los vinos de la variedad Verdejo fueron los que obtuvieron una mayor concentración de ácido hexanoico, alcanzando los 17.83 mg/L, mientras que las nuevas variedades oscilaron entre los 13.69 y los 15.47 mg/L. Con respecto al ácido decanoico, los vinos de Verdejo fueron de nuevo los que menor concentración mostraron de este compuesto (0.40 mg/L) mientras que los vinos de la variedad MC180 destacaron por alcanzar valores de 2.12 mg/L. Por otro lado, es notable el hecho de que durante esta campaña, las concentraciones del ácido 9-decenoico se redujeron hasta un 99 % en comparación a la campaña 2020. Aun así se obtuvieron diferencias significativas entre las variedades, mostrando los vinos de MC180 la mayor concentración (0.13 mg/L) mientras que los vinos de Verdejo obtuvieron la menor concentración. Estos aromas que anteriormente se han comentado que tienen notas que recuerdan a rancio o queso, podrían estar camuflados por otros aromas más intensos (Palomo et al., 2007) como veremos más adelante. Además autores como Castro-Marín et al. (2018) establecen que valores < 10 mg/L de estos ácidos imparten un leve aroma y complejo a los vinos blancos, mientras que valores superiores a 20 mg/L pueden generar un impacto negativo.

6.6.2.2 Alcoholes superiores

En la **Tabla 6.4** se puede observar como en el año 2020 el compuesto 1-propanol fue el mayoritario en la variedad Verdejo (37.02 mg/L), obteniendo así un 67.5 % más que en los vinos de las variedades MC180 y MV67 (12.63 y 12.40 mg/L respectivamente). Con respecto al 2-metil-1-propanol no se encontraron diferencias

significativas entre las variedades. Estos compuestos (1-propanol y 2-metil-1-propanol) tienen aromas alcohólicos, picantes, de solvente y amargos (Zhang et al., 2015).

Siguiendo con los alcoholes analizados, el único grupo "tio" encontrado en nuestros vinos fue el 3-metil-tio-1-propanol, cuya formación surge a partir de la desaminación de la metionina (aminoácido de azufre), seguida de reacciones de descarboxilación y reducción durante la fermentación (Etschmann et al., 2008). Este compuesto destacó por tener una mayor concentración en los vinos de la variedad MC180, junto con los de la variedad MT103, con unas concentraciones de 6.79 y 6.21 mg/L, mientras que las variedades Verdejo, MC60 y MV67 obtuvieron un 63 % menos. La presencia del compuesto 3-metil-tio-1-propanol depende de la variedad de uva y tiene como descriptores a la coliflor, repollo o aromas relacionados con judías verdes cocidas, cepillo húmedo u olor verde cuando se supera su valor de actividad odorítica (OAV) (Nicolli et al., 2018).

Entre todos los alcoholes analizados, el compuesto 3-metil-1-butanol fue el que presentó las concentraciones más altas, alcanzando por ejemplo los 218.77 mg/L en la variedad MT103 o 209.51 mg/L en la variedad MC69, sin embargo, la variedad Verdejo fue la que obtuvo una menor concentración. Este compuesto contribuye a la complejidad de los vinos con aromas a notas quemadas o malteadas (Francis y Newton, 2005), sin embargo hay que tener especial atención cuando el conjunto de alcoholes aromáticos superan los 400 mg/L ya que puede tener efectos negativos en el aroma del vino (Rapp y Versini, 1995). En nuestro caso nuestras concentraciones siempre fueron inferiores a este valor, además la influencia positiva o negativa de los alcoholes superiores dependerá del tipo de vino y sus aromas (Sánchez-Palomo et al., 2015).

Por último, destacar el compuesto 2-fenil-etanol, ya que desde el punto de vista organoléptico este compuesto es de especial interés por tener un gran impacto en los vinos. Es sintetizado por la vía de Ehrlich, a través de la ruta metabólica, que produce la transaminación del aminoácido L-fenilalanina, contribuyendo así al aroma del vino con notas que recuerdan a rosas (Sánchez-Palomo et al., 2019). Los vinos de la variedad MT103 alcanzaron valores un 63 % más altos que en los de la variedad Verdejo, siendo los que mayor concentración presentaron en esta campaña. El resto de nuevas VB también obtuvieron concentraciones superiores a la variedad Verdejo.

Con respecto a los alcoholes superiores analizados en la campaña 2021 (**Tabla 6.5**) los valores obtenidos fueron en general inferiores a los obtenidos durante el primer año, sobre todo en los vinos de las variedades MT103 y MC180. Como se ha comentado al inicio de este apartado, la causa de estos resultados podría haber sido una menor

maduración de su uva durante la campaña 2021. Además, no se encontraron diferencias significativas entre las variedades para los compuestos 1-propanol y 3-metil-1-butanol durante esta campaña de estudio. Sin embargo si se encontraron algunas diferencias para el resto de compuestos. Por ejemplo, los vinos de Verdejo fueron los que presentaron la concentración más alta de 2-metil-1-propanol (43.38 mg/L), seguida de los de MC69, mientras que los vinos del resto de variedades (MC180, MT103 y MV67) obtuvieron valores un 30 % menores.

En relación al compuesto 3-metil-tio-1-propanol, y al contrario que en la campaña anterior, los vinos de la variedad Verdejo fueron los que destacaron por su concentración más alta (6.14 mg/L), mientras que el vino de la variedad MC69 fue el que obtuvo la concentración más baja de este compuesto (2.59 mg/L). De acuerdo a Pretorius y Hoj. (2005), la liberación de este compuesto depende en muchas ocasiones de las levaduras, lo que indica que las concentraciones de los tioles en el vino pueden regularse modificando la levadura, ya sea a través de un enfoque de mejoramiento tradicional o mediante ingeniería genética, o incluso que estas variaciones puedan deberse a las levaduras autóctonas de la variedad. Además, como regla general, la mayoría de los compuestos aromáticos fermentativos, como es el caso de los alcoholes, tienen altos umbrales de percepción e individualmente no contribuyen en una manera significativa al aroma distintivo de los aromas en los vinos. Sin embargo, su combinación establece la matriz básica del aroma de un vino (Belda et al., 2017).

Finalmente, en relación al compuesto aromático 2-fenil-etanol, los vinos de las variedades MT103, MV67 y MC180 junto con el de Verdejo obtuvieron una mayor concentración de 2-fenil-etanol (72.04, 69.94 y 65.90 mg/L 54.54 mg/L). Sin embargo, durante esta campaña, la variedad MC69 obtuvo la menor concentración, un 34 % menos en comparación con la campaña anterior, pudiendo deberse de nuevo al menor grado de madurez de su uva en el momento de la vendimia. Estos valores analizados en nuestros vinos son superiores a los encontrados por otros autores como por ejemplo Vilanova et al. (2010) quién mostró valores de 6.2 mg/L en la variedad Albariño o los 7.3 mg/L obtenidos por Genovese et al. (2007) en los vinos blancos de Fiano, aunque nuestros valores se encuentran dentro de los límites estipulados, es decir, entre 4 y 197 mg/L (Swiegers et al., 2005).

6.6.2.3 Compuestos C6

Los compuestos que hemos analizado en este estudio (**Tabla 6.4**) son el 1-hexanol el cual puede tener aromas que recuerdan a las verduras y a la hierba recién cortada y el compuesto Z-3-hexen-1-ol (Vilanova et al., 2010), también con aromas similares. Los

vinos de la variedad MV67 fueron los que destacaron con respecto al compuesto 1-hexanol sobre el resto de variedades, alcanzando los 3.10 mg/L, mientras que Verdejo fue el que obtuvo la menor concentración. Con respecto al compuesto Z-3-hexen-1-ol las concentraciones obtenidas fueron bajas, aunque los vinos de la variedad MC180 fueron los que obtuvieron la mayor concentración (1.57 mg/L) mientras que el resto de variedades tuvieron concentraciones entre 0.40 y 0.30 mg/L. Los alcoholes C6 pueden ser consumidos por la levadura durante la fermentación (Ilc et al., 2016) sugiriendo así que las concentraciones de estos compuestos sean menores en los vinos que en las uvas.

En la siguiente campaña de estudio (2021), como se puede observar en la **Tabla 6.5** todos los vinos de las VB obtuvieron concentraciones superiores de 1-hexanol, en comparación a la obtenida por los vinos de Verdejo, que una vez más, obtuvieron la menor concentración de este compuesto (1.11 mg/L). Además, los vinos de la variedad MC180 volvieron a presentar la mayor concentración de Z-3-hexen-1-ol (0.83 mg/L) frente a los 0.45 mg/L encontrados en la variedad Verdejo. Estos aromas se encontraron por debajo de su umbral de detección en ambas campañas, 8 mg/L para el 1 hexanol y 0.4 mg/L para el compuesto Z-3-hexen-1-ol (Vilanova et al., 2010).

6.6.2.4 Fenoles volátiles

Las concentraciones de 4-vinilguiacol analizadas en nuestros vinos fueron bajas. Con respecto a la campaña 2020 (**Tabla 6.4**), este compuesto se analizó en todas las variedades obteniendo concentraciones en un rango comprendido entre 0.25 y 0.29 mg/L, exceptuando a los vinos de la variedad MC180 en dónde no se detectó ninguna traza de este compuesto. Sin embargo, en la campaña 2021 (**Tabla 6.5**), si se detectó en todas las variedades, y concretamente en los vinos de la variedad Verdejo, se obtuvo la mayor concentración (0.46 mg/L) mientras que en el resto de nuevas VB, la media fue de 0.30 mg/L. En principio este compuesto se considera principalmente responsable de los "sabores apagados" e inducen problemas significativos que surgen en la vinificación (Pretorius y Høj, 2005). Además los fenoles volátiles pueden influir en el aroma final del vino positiva o negativamente dependiendo de sus concentraciones (Sánchez-Palomo et al., 2017). Sin embargo, otros factores contextuales como el sabor, la intensidad del color y otras pistas visuales podrían influir en la percepción del aroma (Sakai et al., 2005).

6.6.2.5 Ésteres

La concentración de los diferentes ésteres analizados se muestran en las **Tablas 6.4 y 6.5**, correspondientes a las campañas 2020 y 2021 respectivamente. De acuerdo a Giménez-Bañón et al. (2022), se pueden diferenciar dos grupos principales de ésteres por su contribución sensorial, por un lado el éster acetato de etilo (vector acético) y el resto de ésteres (vector afrutado). En ambas campañas de estudio, el acetato de etilo fue el compuesto mayoritario.

En relación a la campaña 2020 (**Tabla 6.4**), la variedad Verdejo fue la que obtuvo una mayor concentración de acetato de etilo (48.62 mg/L) seguida de la variedad MC69 (45.44 mg/L), mientras que la variedad MT103 destacó por su baja concentración en este compuesto (26.72 mg/L). Como se ha comentado anteriormente, el acetato de etilo proporciona aromas desagradables, sin embargo, en nuestros análisis la concentración máxima no superó los 48 mg/L, y para que este compuesto proporcione un aroma desagradable se debe encontrar en el vino en concentraciones superiores a 100 mg/L (Albanese et al., 2013).

Siguiendo con los demás ésteres analizados que formarían parte del vector afrutado, el compuesto 3-metil-1-butanol-acetato se encontró en mayor concentración en los vinos de las variedades Verdejo y MC69 con unas concentraciones similares de 4.75 mg/L y 4.50 mg/L, sin embargo los vinos de la variedad MV67 obtuvieron solamente 1.50 mg/L. Este compuesto tiene un límite de detección muy bajo (0.03 mg/L) (Swiegers et al., 2005) siendo por tanto muy identificable en nuestros vinos, aunque estos valores se encuentren por debajo de los encontrados por Masa y Vilanova (2008), es decir un 97 % menos que en la variedad Albarín blanco. Finalmente, con respecto al resto de compuestos (hexanoato de etilo, octanoato de etilo, dodecanoato de etilo, tetradecanoato de etilo y hexadecanoato de etilo) se siguió una clara tendencia, siendo los vinos de la variedad MT103 los que mostraron las mayores concentraciones en comparación con el resto de variedades, pudiendo quizás dilucidarse ese carácter afrutado positivo en aroma de este vino durante la campaña 2020. Por otro lado, MV67 fue la variedad cuyos vinos mostraron la concentración más baja de estos compuestos. Sin embargo, la percepción del aroma puede estar influenciada por otros componentes del vino, es decir, el efecto del azúcar y el alcohol en el aumento y la reducción de la frutalidad, respectivamente (De Castilhos et al., 2016).

En la **Tabla 6.5** se puede observar las diferentes concentraciones de ésteres durante la campaña 2021. En este año de estudio no se encontraron diferencias significativas en los compuestos de octanoato de etilo y tetradecanoato de etilo entre los vinos de las

variedades. Atendiendo al resto de compuestos, el acetato de etilo volvió a destacar en los vinos de la variedad Verdejo con una concentración de 52.02 mg/L y en los de la variedad MC69 (48.40 mg/L), sin participar en el aroma final del vino con notas de vinagre, ya que las concentraciones no superaron los 100 mg/L. Aunque de acuerdo a Robinson et al. (2014), el aroma del vino no depende de un compuesto en particular, sino del perfil y las interacciones de los múltiples compuestos activos en olor que están presentes. Los vinos de la variedad MV67 obtuvieron un 41 % menos en los niveles de acetato de etilo con respecto a los de la variedad Verdejo.

Con respecto al vector afrutado, la variedad MC69 obtuvo las mayores concentraciones con respecto al 3-metil-1-butanol-acetato (8.18 mg/L) y hexanoato de etilo (4.09 mg/L) contribuyendo a un mayor carácter frutal en este vino y obteniendo así valores que otros autores como Swiegers et al. (2005) establecen como rangos propios en los vinos blancos. El dodecanoato de etilo destacó en los vinos de la variedad MC180 (1.04 mg/L) frente a los 0.12 o 0.10 mg/L mostrados en los vinos de Verdejo y MV67. Finalmente, al igual que ocurrió en la campaña 2020, las concentraciones de hexadecanoato de etilo fueron muy bajas, aun así se encontraron diferencias significativas entre las variedades y de este modo, los vinos de MC180 obtuvieron las concentraciones más altas (0.10 mg/L) frente a los 0.04 mg/L de MT103.

6.6.2.6 Terpenos

Las concentraciones terpénicas se encontraron en menor cantidad al resto de compuestos aromáticos, aunque es bien sabido la importancia organoléptica que tiene este tipo de compuestos para el aroma final del vino. Los compuestos analizados fueron el linalool, citronelol y nerolidol. El linalool y el citronelol tienen aromas a lavanda y limón verde (Vilanova et al., 2010), respectivamente, mientras que el nerolidol imparte aromas dulces y afrutados (Pardo-García et al., 2014). De este modo, durante ambas campañas 2020 (**Tabla 6.4**) y 2021 (**Tabla 6.5**), los vinos de la variedad MC69 fueron los que mostraron una mayor cantidad con respecto al compuesto linalool. Además como el linalool tiene un límite de detección de 25 µg/L (Vilanova et al., 2010) y en nuestros análisis este valor fue superior (0.0295 mg/L o 29.5 µg/L) tanto en la campaña 2020 como en la 2021, este compuesto participó activamente en el aroma final del vino.

En relación al citronelol, durante la campaña 2020 (**Tabla 6.4**) los vinos de la variedad MC180 fueron los que presentaron una mayor concentración en este compuesto (0.0105 mg/L) frente a los aproximados 0.0070 mg/L que obtuvieron el resto de variedades. En este mismo compuesto no se encontraron diferencias significativas entre las variedades durante la campaña 2021.

Finalmente, los vinos de la variedad MC180 destacaron por su mayor concentración de nerolidol en las campañas 2020 y 2021 (0.0834 y 0.0410 m/L), además de los de la variedad MT103 durante la campaña 2020 (0.0821 mg/L). Con el resto de variedades no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre ellas.

6.6.2.7 Norisoprenoides

Por último, el norisoprenoide que se cuantificó en este estudio fue la β -damascenona. Destacar que durante la campaña 2020 (**Tabla 6.4**) este compuesto no se logró identificar en los vinos de las variedades MC180, MC69 ni en la MT103. Sin embargo si se encontraron trazas en los de las variedades MV67 y Verdejo con unas concentraciones de 3.49 y 2.82 mg/L respectivamente. Como su umbral de percepción es muy bajo, 0.05 μ g/L (Vilanova et al., 2010) y en nuestras muestras se analizó con concentraciones de 3490 y 2820 μ g/L, sus OAV superaron a la unidad, participando de este modo en la complejidad aromática de los vinos.

Sin embargo en la campaña 2021 (**Tabla 6.5**) no se encontraron diferencias significativas entre las variedades, pero aun así, se encontraron concentraciones superiores a los 3.2 mg/L en todas las variedades, por lo que también participaron en la complejidad aromática de los vinos con aromas que recuerdan a dulce o a manzana (Pineau et al. 2007) o a rosas y miel (Vilanova et al., 2010), ya que este compuesto tiene un límite de detección extremadamente bajo (Slegers et al., 2017) como se ha descrito previamente.

	IK ¹	VERDEJO	MC180	MC69	MT103	MV67	p-value
Ácidos grasos volátiles							
Ácido hexanoico	1876	14.06a ± 1.49	7.38c ± 0.08	7.44c ± 0.22	7.57c ± 0.28	12.33b ± 0.97	***
Ácido octanoico	2092	14.96b ± 2.93	11.91b ± 0.99	16.85b ± 0.55	24.26a ± 5.56	12.23b ± 0.92	**
Ácido decanoico	2269	0.49c ± 0.07	2.91ab ± 1.36	2.58b ± 0.28	4.24a ± 1.06	0.97c ± 0.07	***
Ácido 9 decenoico	2386	nd	5.46bc ± 0.52	8.83a ± 0.08	6.24b ± 0.82	4.67c ± 0.07	***
Alcoholes							
1-propanol	1059	37.02a ± 2.55	12.63d ± 0.34	27.71b ± 1.32	21.51c ± 3.21	12.40d ± 1.08	***
2-metil-1-propanol	1123	46.47 ± 9.31	53.27 ± 1.17	48.36 ± 0.36	45.61 ± 1.73	48.42 ± 6.61	ns
3-metil-tio-1-propanol	1141	2.48b ± 0.52	6.79a ± 2.04	2.63b ± 0.23	6.21a ± 2.99	3.18b ± 0.10	*
3-metil-1-butanol	1233	156.97c ± 23.53	174.75bc ± 11.42	209.51ab ± 5.58	218.77a ± 19.56	184.71abc ± 31.72	*
2-fenil-etanol	1931	47.92c ± 9.75	71.17b ± 0.24	50.86c ± 1.49	137.85a ± 8.89	78.18b ± 3.98	***
Compuestos C6							
1-hexanol	1371	1.68d ± 0.38	2.57b ± 0.03	2.14c ± 0.03	2.47bc ± 0.02	3.10a ± 0.32	***
Z-3-hexen-1-ol	1378	0.32b ± 0.08	1.57a ± 0.27	0.40b ± 0.03	0.30b ± 0.08	0.31b ± 0.02	***
Fenol volátil							
4-vinilguaicol	2262	0.29a ± 0.05	nd	0.28a ± 0.01	0.26a ± 0.06	0.25a ± 0.00	***
Esteres							
Acetato de etilo	936	48.62a ± 7.42	36.79b ± 0.93	45.44a ± 1.62	26.72c ± 2.56	34.76b ± 1.15	***
3-metil-1-butanol-acetato	1141	4.75a ± 0.46	2.11b ± 0.17	4.50a ± 0.20	2.58b ± 0.16	1.50c ± 0.29	***
Hexanoato de etilo	1254	3.59c ± 0.09	3.65c ± 0.05	3.95b ± 0.09	4.17a ± 0.07	3.33d ± 0.05	***
Octanoato de etilo	1458	8.98c ± 1.03	10.43bc ± 1.98	13.08b ± 0.74	16.55a ± 3.15	5.05d ± 0.07	***
Dodecanoato de etilo	1857	0.21c ± 0.05	2.77b ± 1.11	2.94b ± 0.14	5.11a ± 1.62	0.27c ± 0.07	***
Tetradecanoato de etilo	2037	0.05b ± 0.02	0.09b ± 0.04	0.11ab ± 0.02	0.18a ± 0.08	0.04b ± 0.00	*
Hexadecanoato de etilo	2264	0.05bc ± 0.01	0.12bc ± 0.04	0.12b ± 0.02	0.24a ± 0.09	0.04c ± 0.00	**
Terpenos							
Linalool	1542	0,0018d ± 0.00	0.0072b ± 0.00	0.0295a ± 0.00	0.0018d ± 0.00	0.0060c ± 0.00	***
Citronelol	1785	0.0073b ± 0.00	0.0105a ± 0.00	0.0078b ± 0.00	0.0072b ± 0.00	0.0071b ± 0.00	*
Nerolidol	2071	0.0115b ± 0.00	0.0834a ± 0.03	0.0393b ± 0.00	0.0821a ± 0.03	0.0239b ± 0.00	**
Norisoprenoides							
β-damascenona	1755	2.82b ± 0.41	nd	nd	nd	3.49a ± 0.27	***
Total		391.75b ± 51.27	406.49b ± 9.28	447.82b ± 5.14	530.93a ± 40.70	409.27b ± 26.67	**

Tabla 6. 4 Concentraciones de los principales compuestos aromáticos expresados en mg/L y agrupados por familias en los vinos de las variedades Verdejo y en los de las nuevas VB durante el año 2020. ¹ IK indica los índices de retención de Kovats. Los datos representan las medias ± desviación estándar. Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas de acuerdo al test de LSD (p<0.05). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** (p < 0,001), 99%** (p< 0,01) y 95%* (p< 0,05)..

	IK ¹	VERDEJO	MC180	MC69	MT103	MV67	p-value
Ácidos grasos volátiles							
Ácido hexanoico	1876	17.83a ± 2.25	13.69b ± 0.13	15.47b ± 0.34	15.33b ± 0.55	14.02b ± 0.48	**
Ácido octanoico	2092	15.00 ± 4.33	14.37 ± 1.60	15.24 ± 1.19	17.47 ± 3.49	13.47 ± 1.97	ns
Ácido decanoico	2269	0.40d ± 0.09	2.12a ± 0.28	0.84bc ± 0.08	0.98b ± 0.22	0.59cd ± 0.10	***
Ácido 9 decenoico	2386	0.05b ± 0.00	0.13a ± 0.05	0.06b ± 0.00	0.08b ± 0.02	0.09ab ± 0.01	*
Alcoholes							
1-propanol	1059	36.32 ± 9.07	22.49 ± 8.33	21.23 ± 3.30	22.77 ± 5.98	20.70 ± 1.82	ns
2-metil-1-propanol	1123	43.38a ± 9.55	29.61b ± 3.24	35.02ab ± 3.52	30.84b ± 4.01	31.71b ± 0.75	*
3-metil-tio-1-propanol	1141	6.14a ± 1.42	3.74bc ± 0.28	2.59c ± 0.10	4.04b ± 0.55	4.26b ± 0.44	**
3-metil-1-butanol	1233	176.40 ± 19.29	165.06 ± 44.15	144.12 ± 10.32	147.90 ± 8.46	137.35 ± 4.13	ns
2-fenil-etanol	1931	54.54a ± 13.19	65.90a ± 9.08	33.35b ± 1.95	72.04a ± 12.98	69.94a ± 8.41	**
Compuestos C6							
1-hexanol	1371	1.11b ± 0.60	2.13a ± 0.11	1.88a ± 0.10	1.95a ± 0.14	1.71a ± 0.06	*
Z-3-hexen-1-ol	1378	0.45b ± 0.11	0.83a ± 0.26	0.55b ± 0.11	nd	0.56b ± 0.03	***
Fenol volátil							
4-vinilguaiacol	2262	0.46a ± 0.03	0.30b ± 0.03	0.32b ± 0.01	0.29b ± 0.03	0.29b ± 0.02	***
Esteres							
Acetato de etilo	936	52.05a ± 4.87	31.04b ± 7.04	48.40a ± 1.75	35.32b ± 4.79	30.46b ± 1.30	***
3-metil-1-butanol-acetato	1141	6.86b ± 1.07	1.33d ± 0.19	8.18a ± 0.52	3.60c ± 0.45	2.13d ± 0.12	***
Hexanoato de etilo	1254	3.51cd ± 0.09	3.60c ± 0.04	4.09a ± 0.03	3.81b ± 0.04	3.44d ± 0.04	***
Octanoato de etilo	1458	13.48 ± 3.09	11.58 ± 2.10	11.39 ± 0.42	9.40 ± 1.34	9.03 ± 0.42	ns
Dodecanoato de etilo	1857	0.12c ± 0.00	1.04a ± 0.23	0.37b ± 0.00	0.19bc ± 0.02	0.10c ± 0.01	***
Tetradecanoato de etilo	2037	0.05 ± 0.00	0.06 ± 0.02	0.04 ± 0.00	0.03 ± 0.01	0.04 ± 0.00	ns
Hexadecanoato de etilo	2264	0.07b ± 0.01	0.10a ± 0.03	0.06bc ± 0.01	0.04c ± 0.01	0.05bc ± 0.00	**
Terpenos							
Linalool	1542	0.0092c ± 0.00	0.0109bc ± 0.00	0.0328a ± 0.00	0.0091c ± 0.00	0.0126b ± 0.00	***
Citronelol	1785	0.0088 ± 0.00	0.0087 ± 0.00	0.0071 ± 0.00	0.0087 ± 0.00	0.0078 ± 0.00	ns
Nerolidol	2071	0.0162b ± 0.00	0.0410a ± 0.00	0.0186b ± 0.00	0.0208b ± 0.01	0.0188b ± 0.00	***
Norisoprenoides							
β-damascenona	1755	3.23 ± 0.21	4.82 ± 0.94	3.77 ± 0.14	3.88 ± 0.81	3.65 ± 0.49	ns
Total		431.48 ± 47.97	373.99 ± 31.36	347.06 ± 19.26	370.02 ± 27.00	343.63 ± 29.07	ns

Tabla 6. 5 Concentraciones de los principales compuestos aromáticos expresados en mg/L y agrupados por familias en los vinos de las variedades Verdejo y en los de las nuevas VB durante el año 2021. ¹IK indica los índices de retención de Kovats. Los datos representan las medias ± desviación estándar. Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas de acuerdo al test de LSD (p<0.05). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** (p < 0,001), 99%** (p< 0,01) y 95%* (p< 0,05).

Finalmente también se realizó un análisis factorial multivariable para determinar qué factores, variedad o añada, afectaron a los resultados obtenidos para cada uno de los compuestos volátiles y si hubo alguna interacción entre ambos. La **Tabla 6.6** muestra el porcentaje de la varianza atribuible a cada uno de ellos. El análisis mostró como la variedad fue un factor importante para algunos de los compuestos analizados, sobre todo para los alcoholes 1-propanol y 2-fenil-etanol, el compuesto Z-3-hexen-1-ol, algunos esterés como el acetato de etilo, 3-metil-1-butanol-acetato, hexanoato de etilo y el linalol como variedad terpénica, ya que mostraron valores superiores al 60 %, sobre todo con respecto al linalool con un porcentaje del 91.02 %.

Por otro lado, el análisis factorial también mostró un efecto significativo con respecto al factor añada en los ácidos hexanoico y 9-decenoico, en el alcohol 2-metil-1-propanol. Estas variaciones pudieron estar claramente influenciadas por las condiciones climáticas de las añadas que se han mostrado previamente (**Figura 3.2** de Materiales y métodos).

Por último la interacción entre variedad y añada, también tuvo algunos efectos significativos ($p < 0.01$) en el compuesto 3-metil-tio-1-propanol y el octanoato de etilo con porcentajes de 41 %.

	Variedad	Añada	V x A
Ácidos grasos volátiles			
Ácido hexanoico	27,50 (***)	56,90 (***)	11,09 (***)
Ácido octanoico	50,60 (***)	1,31 (ns)	15,70 (ns)
Ácido decanoico	45,31 (***)	22,87 (***)	19,31 (***)
Ácido 9 decenoico	20,15 (***)	59,27 (***)	19,95 (***)
Alcoholes			
1-propanol	67,27 (***)	1,94 (ns)	11,66 (*)
2-metil-1-propanol	5,72 (ns)	60,40 (***)	12,98 (*)
3-metil-tio-1-propanol	27,52 (***)	0,08 (ns)	41,37 (***)
3-metil-1-butanol	6,26 (ns)	31,18 (***)	30,77 (***)
2-fenil-etanol	62,29 (***)	10,76 (***)	20,83 (***)
Compuestos C6			
1-hexanol	42,31 (***)	31,62 (***)	12,21 (**)
Z-3-hexen-1-ol	71,42 (***)	1,60 (*)	20,07 (***)
Fenol volátil			
4-vinilguaiacol	43,42 (***)	28,21 (***)	23,25 (***)
Esteres			
Acetato de etilo	77,70 (***)	0,29 (ns)	8,52 (*)
3-metil-1-butanol-acetato	77,13 (***)	8,88 (***)	11,21 (***)
Hexanoato de etilo	84,73 (***)	0,87 (*)	10,59 (***)
Octanoato de etilo	38,75 (***)	0,05 (ns)	41,86 (***)
Dodecanoato de etilo	33,15 (***)	30,73 (***)	27,10 (***)
Tetradecanoato de etilo	22,62 (***)	23,15 (***)	30,07 (***)
Hexadecanoato de etilo	28,35 (***)	14,50 (***)	37,85 (***)
Terpenos			
Linalool	91,02 (***)	7,75 (***)	0,78 (***)
Citronelol	35,17 (***)	0,75 (ns)	23,60 (*)
Nerolidol	43,85 (***)	20,35 (***)	19,06 (***)
Norisoprenoides			
β-damascenona	13,07 (***)	53,31 (***)	29,26 (***)
Total	17,34 (**)	27,75 (***)	30,47 (***)

Tabla 6. 6 Análisis factorial multivariable sobre los compuestos aromáticos individuales de los vinos en las variedades Verdejo y en los de las nuevas VB durante las campañas 2021 y 2021. Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** ($p < 0,001$), 99%** ($p < 0,01$) y 95%* ($p < 0,05$). Los valores del análisis multifactorial están expresados en porcentaje.

6.6.3 Análisis discriminante

También se realizó un análisis discriminante para ver si era posible visualizar una separación entre las diferentes variedades. Este análisis es una herramienta que separa, por relación lineal, un cúmulo de variables en grupos y brinda la posibilidad de clasificar variables recién medidas en los grupos previamente establecidos (Giménez-Bañón et al., 2022). En este caso se han utilizado en dicho análisis los compuestos aromáticos individuales analizados en los vinos.

Se calcularon 4 funciones discriminantes con un p-valor inferior a 0,05, siendo estadísticamente significantes con un intervalo de confianza del 95%. La función discriminante 1 explicó un 97.10 % de la varianza y la función discriminante 2 un 2.04 %.

Tal como se puede observar en la **Figura 6.3** existe una clara separación de los vinos en función de la variedad, así, los vinos de la variedad MC69 fueron los que se situaron más alejados de los vinos de la variedad Verdejo y del resto de los de las nuevas VB, localizándose en la parte positiva de la Función 1, mostrándose por tanto como los vinos más diferentes. Los vinos de las variedades MC180 y MV67 se situaron en la parte más positiva de la Función 2 y los de Verdejo en su parte más negativa. Por último, los vinos de MT103, están situados entre las variedades MC180, MV67, y Verdejo, dando a entender que serían los más parecidos a este último.

Estos resultados podrían confirmar lo anteriormente comentado. Por un lado se encontró una alta concentración de aromas varietales en las variedades MT103 y MC69, haciendo de este modo que en los vinos analizados presenten ciertos aromas o características específicas que las hacen diferenciar del resto de variedades.

La **Tabla 7.27** que se muestra en el Capítulo 8: ANEXOS, recoge los coeficientes estandarizados de las funciones discriminantes para los tratamientos realizados. La magnitud de los coeficientes permite determinar cómo se utilizan las variables para discriminar entre grupos. Dichas variables con mayor poder discriminante, para la Función 1 fueron el etil tetradecanoato, hexadecanoato de etilo y nerolidol y para la Función 2 fueron el hexadecanoato de etilo y los ácidos hexanoico y 9 decenoico.

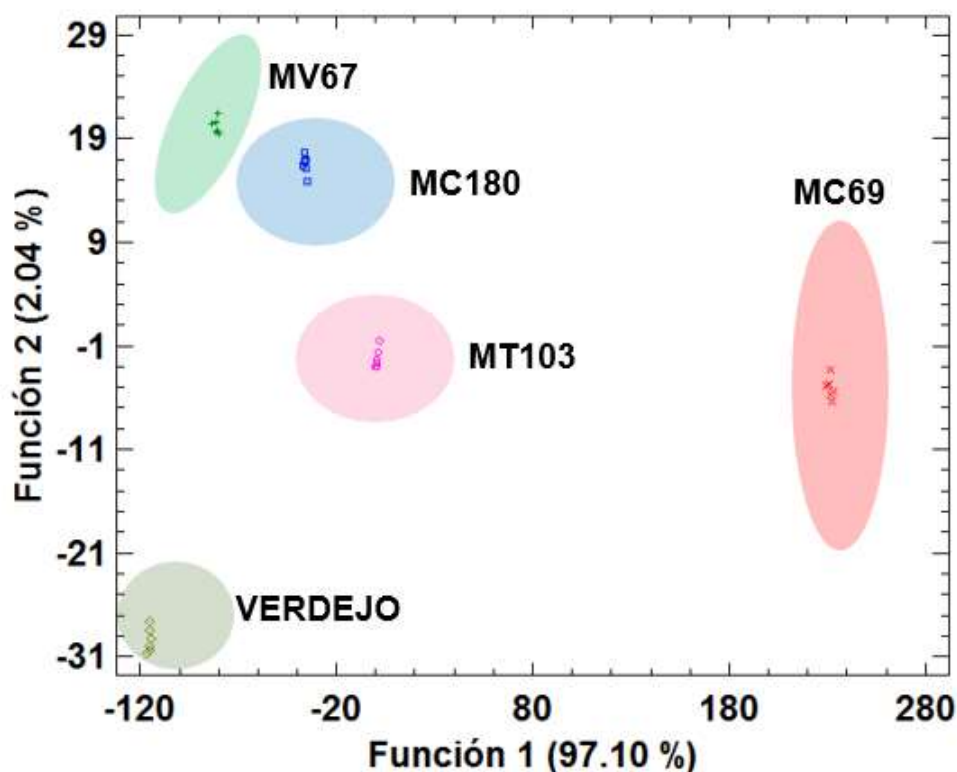


Figura 6. 3 Gráfico de dispersión de análisis discriminante en vinos de Verdejo y las nuevas VB durante las campañas 2020 y 2021.

6.6.4 Análisis sensorial

Con el fin de estudiar el perfil aromático de las nuevas variedades y compararlas con la variedad Verdejo, se realizó un análisis sensorial al finalizar la fermentación alcohólica en los vinos elaborados.

6.6.4.1 Campaña 2020

En primer lugar, como se puede observar en la **Figura 6.4**, se estudiaron parámetros de calidad de forma general y tal como se ha descrito en el **apartado 3.4.6.2** de Materiales y métodos: aroma global en nariz, acidez y sensación final. El conjunto sensorial aromático en nariz en los vinos dio las mejores valoraciones por parte de los catadores a los vinos de la variedad MC69 seguidos de los de la variedad MT103.

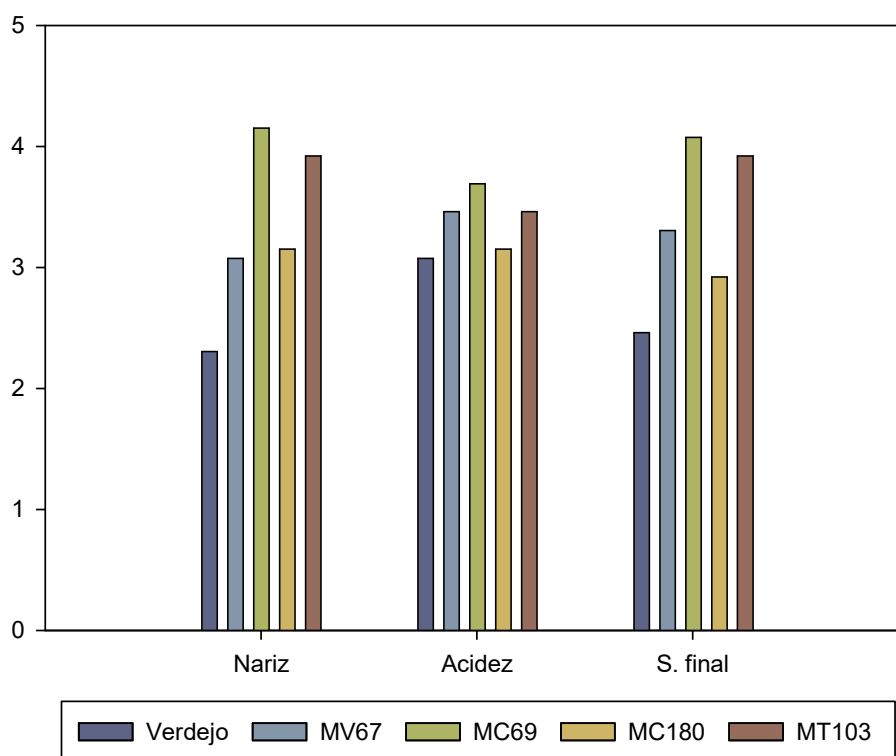


Figura 6. 4 Percepción global de los vinos elaborados durante la campaña 2020.

Con respecto al parámetro de la acidez, se encontraron en general vinos más ácidos y frescos en las nuevas VB, aunque los vinos de la variedad MC180 se percibieron prácticamente similares a los vinos de la variedad Verdejo. Finalmente, en la sensación en boca, de nuevo los vinos de las variedades MC69 y MT103 fueron los que obtuvieron una mejor puntuación, catalogándose durante esta campaña como los mejores vinos blancos.

Seguidamente se muestran los resultados obtenidos para la campaña 2020 con respecto al perfil aromático de los vinos tal y como se pueden observar en la **Figura 6.5**. Con respecto a la variedad Verdejo, los catadores la calificaron con aromas etéreos (plátano, acetona y levadura) así como cierto carácter químico con descriptores cómo alcohol y pegamento. Quizás estos resultados podrían confirmar lo anteriormente comentado en relación a los grados alcohólicos bajos en los vinos. Verdejo fue la variedad con menor grado alcohólico durante la campaña 2020, por lo que los aromas podrían no haberse expresado al máximo. Por otro lado, esta variedad fue calificada también con cierto carácter floral con descriptores como azahar, almendro y cítrico. En general, esta variedad se encontró poco afrutada en comparación a lo encontrado por

otros autores. Así autores como Sánchez-Palomo et al. (2015), evaluaron y caracterizaron a los vinos de Verdejo elaborados en La Mancha cómo vinos frescos, cítricos, afrutados y tropicales así como con notas de manzana verde como descriptores principales, o Rodríguez-Nogales et al. (2009) que definen a la variedad Verdejo elaborada en Rueda como vinos con un carácter muy afrutado.

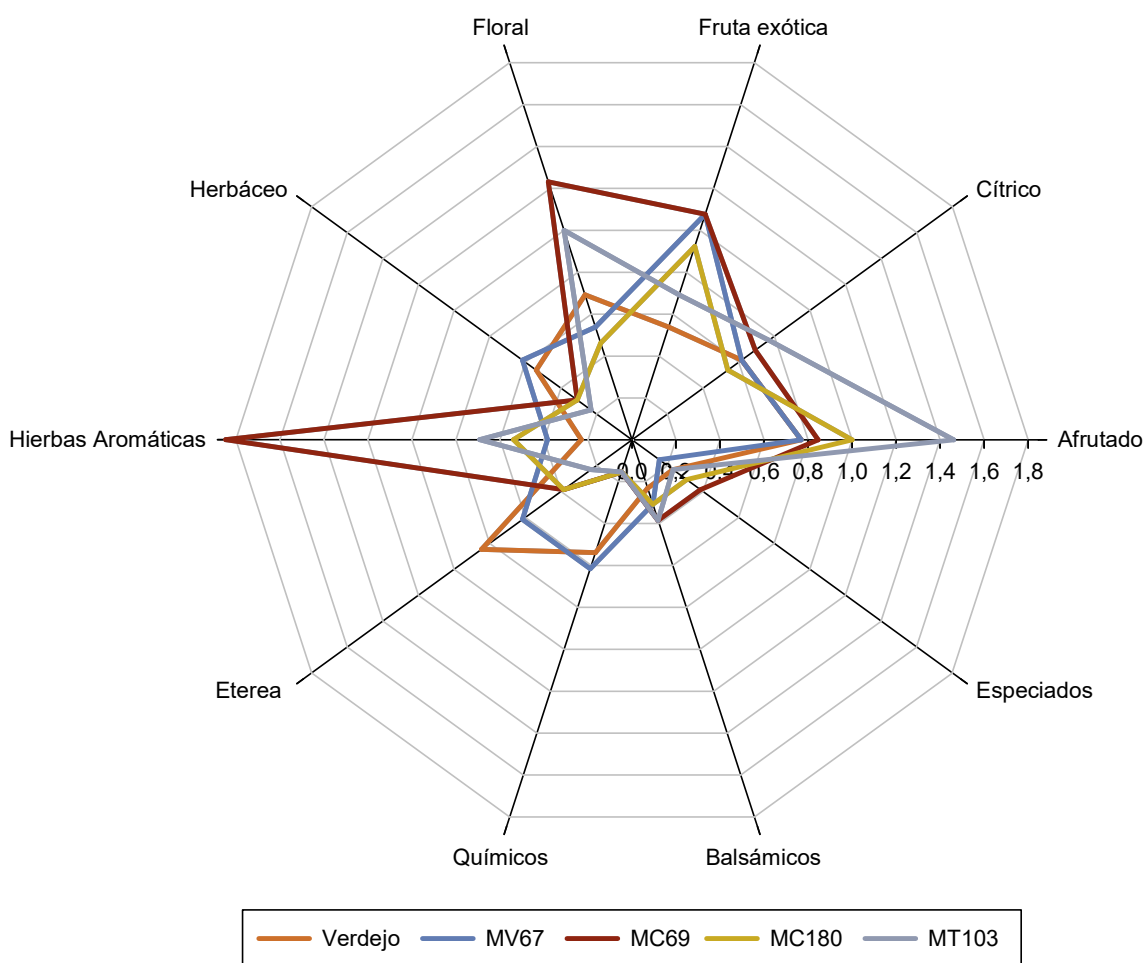


Figura 6. 5 Perfil aromático de los vinos de la variedad Verdejo y de las nuevas VB durante la campaña 2020.

En relación a las nuevas VB, llama la atención el fuerte carácter a hierbas aromáticas que se encontró en los vinos de la variedad MC69. Los catadores encontraron en esta variedad un marcado aroma a hierbabuena, menta y notas de eucalipto. También destacó por sus aromas florales que recuerdan a almendro, citronella, jazmín, clavel y azahar. Además los catadores encontraron en estos vinos abundantes notas a mango,

lichi, piña (frutas exóticas) así como albaricoque y pera (notas afrutadas). En general los vinos de esta variedad fueron muy bien valorados por los catadores. Probablemente, los aromas encontrados en esta variedad, corresponden a los aromas varietales que se analizaron en el estudio de mapa de calor, en el cual se encontraron también interacciones positivas con los compuestos varietales 7,8 hidroxilinalol, 3,4 dihidroxi-3-oxo Actinidol III o el 4-OH-7,8 dihidro β -ionol, aunque más estudios serían necesarios para corroborar estos resultados.

Los vinos de la variedad MT103 fueron catalogados entre los catadores por sus descriptores relacionados con aromas afrutados, como por ejemplo pera, manzana, melocotón y coco. Estos resultados podrían estar en concordancia con los resultados mostrados en la **Tabla 6.4**, ya que los vinos de la variedad MT103 fueron los que presentaron las mayores concentraciones en 5 de los 7 ésteres analizados. Los vinos de esta variedad también presentaron cierto carácter balsámico y algunas notas de hierbas aromáticas como la hierbabuena y la hoja de limón, aunque de manera menos notoria que en los vinos de MC69. Además, esta variedad presentó también un carácter floral (azahar, jazmín y almendro) así como cierto carácter cítrico y fresco con aromas que recuerdan a naranja, limón y pomelo. Estos resultados encontrados en la gran complejidad aromática en estos vinos podrían relacionarse con el estudio del mapa de calor, en donde se mostraron abundantes interacciones positivas con respecto a los compuestos terpénicos y C13 norisoprenoides, identificándose a esta variedad como varietal.

Por otro lado, los vinos de la variedad MC180 fueron también mejor valorados que los vinos de la variedad Verdejo, caracterizándose por descriptores pertenecientes a la familia de las frutas exóticas como por ejemplo, piña, mango, lichi y lima así como por la familia cítrica con notas de limón y naranja. También los catadores encontraron ciertas notas de eucalipto y hoja de limón en la cata de esta variedad.

Por último, los vinos de la variedad MV67 se caracterizaron por tener aromas más atenuados con respecto a los descriptores florales y afrutados. Además, algunos catadores también observaron ciertas notas herbáceas de hinojo y hierba, y alguna percepción química como el alcohol.

Cabe destacar que los aromas anteriormente comentados con respecto al apartado de ácidos grasos volátiles, los catadores no mostraron indicios de presenciar esos aromas. Además autores como Falcão et al. (2008) establecen que la combinación de dos o más odorantes pueden afectar al aroma final, haciéndolo más o menos intenso y así aportar matices diferentes de aquellos que inducían un odorante en concreto. O por

ejemplo también es necesario hacer alusión a Styger et al. (2011) quien sugirió que un bajo impacto odorítico podría actuar en cambiar la percepción de otros odorantes en una mezcla y que además estos aromas podrían interactuar sinérgicamente o antagónicamente, pudiendo así influir significativamente en la percepción sin ser reconocidos por su OAV.

6.6.4.2 Campaña 2021

Por último en la **Figura 6.6** muestra la percepción global de los vinos elaborados durante la campaña 2021. En este caso los resultados también fueron diferentes a la campaña anterior. Con respecto a la percepción general aromática de los vinos, los vinos de Verdejo fueron los que mostraron una mejor calidad aromática junto con los de la variedad MC69. Quizás el aumento de grado alcohólico de los vinos de la variedad Verdejo durante esta campaña, aumentó la calidad aromática del vino. Siguiendo con el estudio del resto de variedades, los catadores encontraron ciertos descriptores más negativos en este caso para los vinos de la variedad MT103, cómo aromas químicos que recuerdan a azufre, reducido, boj o disolvente.

Con respecto a la acidez de los vinos, la acidez de los vinos elaborados con la variedad Verdejo fue similar a los de las nuevas VB, sobre todo con las variedades MC69 y MT103. Estos resultados corresponderían con los anteriormente comentados en la **Tabla 6.3**. Finalmente, en la percepción global de los vinos destacaron los vinos de la variedad MC69, siendo los mejores valorados por los catadores. En general, Verdejo mostró una calidad similar a las variedades MV67 y MT180, mientras que la variedad MT103 fue la peor calificada durante esta campaña.

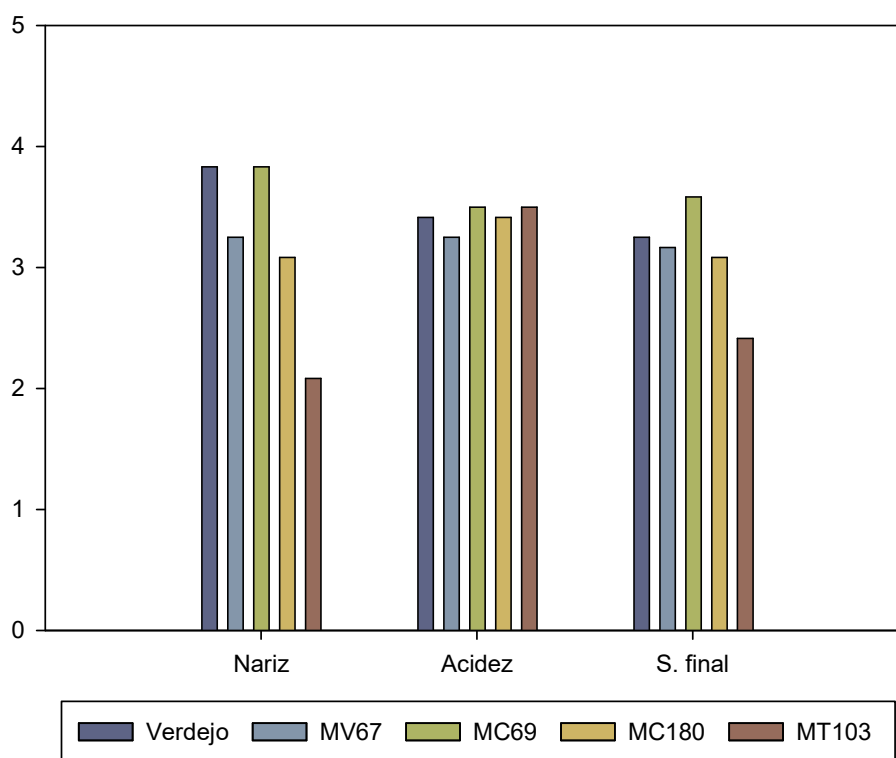


Figura 6. 6 Percepción global de los vinos elaborados durante la campaña 2021.

Los resultados correspondientes al perfil aromático analizado por los catadores durante la campaña 2021 se muestran en la **Figura 6.7**. La tendencia general con respecto a la anterior campaña fue diferente para todos los vinos menos en el caso de los vinos de la variedad MC69, que fueron catalogados de manera similar al año 2020.

Los vinos elaborados con la variedad MC69 volvieron a destacar por la familia aromática de las hierbas aromáticas y por sus notas de hierba buena, sin embargo, esta percepción fue notificada por un menor número de catadores. Además durante esta campaña de estudio, volvieron a percibirse las notas florales y de fruta exótica de igual manera que la campaña anterior. Sin embargo, aparecieron notas etéreas que recordaban a plátano y levadura.

Como se ha comentado anteriormente, la tendencia de los vinos de Verdejo y las nuevas VB durante la campaña 2021 fue algo diferente. Concretamente, los vinos de la variedad Verdejo se percibieron con un carácter mucho más afrutado con respecto a la campaña anterior en dónde los catadores pudieron diferenciar gran cantidad de descriptores (pera, manzana, albaricoque, coco, frambuesa incluso etc.). Los vinos de esta variedad también destacaron por aromas florales tales como almendro, azahar,

rosa y jazmín entre otros. Estos resultados podrían deberse a las características físico-químicas de las uvas en esta campaña, tal como se explicó en la **Tabla 6.1**.

Los vinos de la variedad MC180 mostraron un carácter más cítrico y afrutado que la campaña anterior ya que en la campaña 2020 destacaron por presentar aromas a fruta exótica. Como se puede observar en la **Figura 6.7**, los vinos procedentes de la variedad MV67 fueron más químicos y herbáceos en comparación al año 2020, con aromas que recordaban a heno, hierba o musgo. Mientras que los vinos de la variedad MT103 tuvieron en esta campaña cierto carácter químico y herbáceo con aromas a rábanos, heno, verdura y musgo.

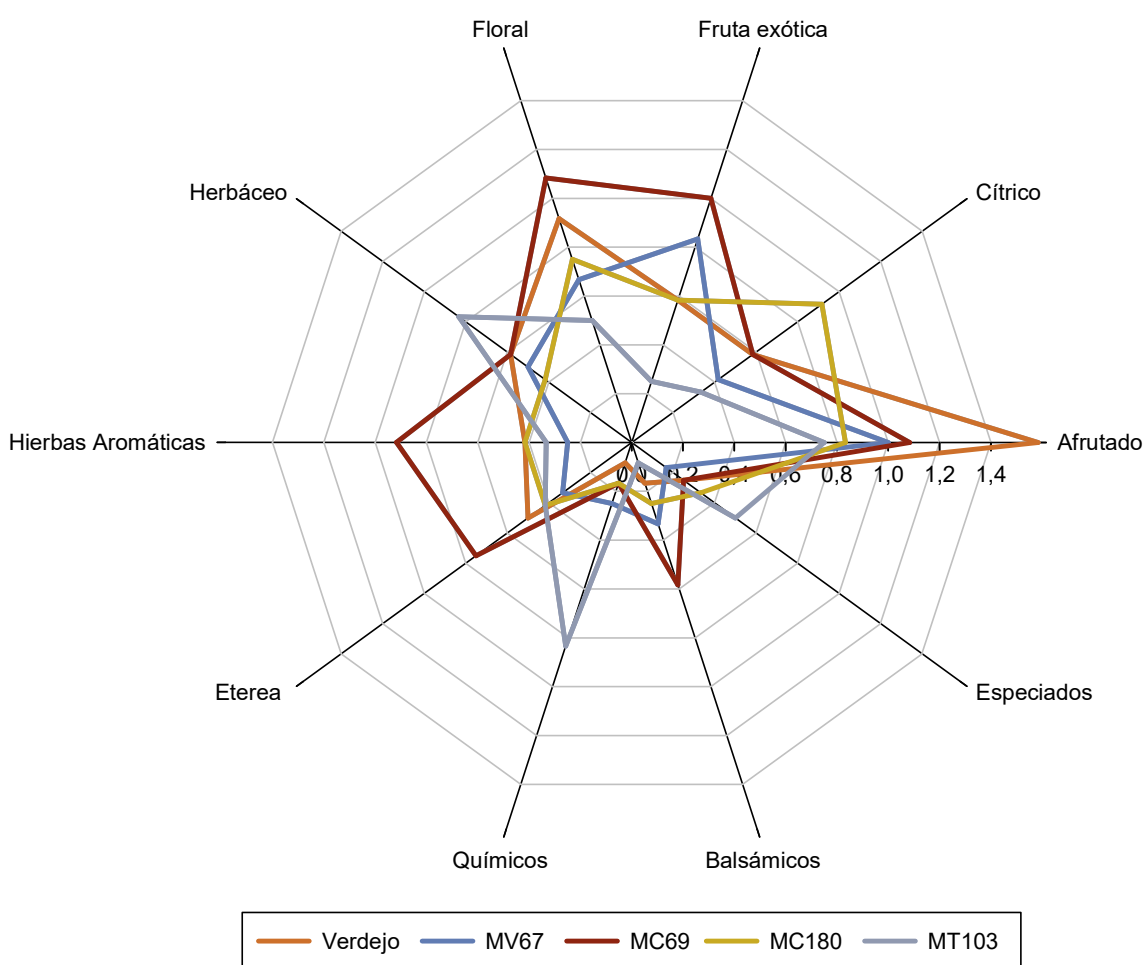
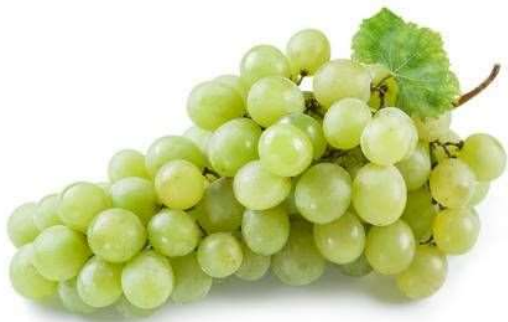


Figura 6. 7 Perfil aromático de los vinos de la variedad Verdejo y de las nuevas VB durante la campaña 2021.

CAPÍTULO 7

CONCLUSIONES



CAPÍTULO 7: CONCLUSIONES

Con respecto a la caracterización de las nuevas VACF:

Propiedades estructurales y de composición de la pared celular

- Existieron diferencias con respecto a la composición de la pared celular en Monastrell y las diferentes variedades estudiadas (MC80, MC98 y MS10), pero en general, estos resultados se vieron más influenciados por la añada que por la variedad.
- La variedad Monastrell se caracterizó por tener una gran cantidad de glucosa celulósica y de lignina indicando así una mayor rigidez estructural. En cambio, en nuestras variedades encontramos altas concentraciones de ácidos urónicos en la variedad MC80, así como en la variedad MC98. Por otro lado, la variedad MS10 mostró altas concentraciones de compuestos fenólicos y MC98 lo hizo en relación a la concentración de proteínas en dos de las tres campañas de estudio.

Propiedades físico-químicas las uvas

- Las VACF resultaron ser variedades más tempranas que Monastrell. Todas se vendimiaron entre finales de agosto y mediados de septiembre, indicando períodos de maduración más cortos. Además, se observó como la variedad MC4 alcanzó la madurez fenológica con el menor °Bé en las tres campañas de estudio.
- El tamaño de baya de las VACF fue inferior al de la variedad Monastrell, sobre todo en la variedad MC4. Además, la acidez de todas ellas también fue superior a la obtenida en Monastrell.

Propiedades fenólicas de las uvas y vinos

- Todas las VACF, con excepción de la variedad MC4, obtuvieron una alta concentración de antocianos y flavonoles tanto en sus uvas como en sus vinos, destacando entre todas ellas la variedad MS10. Por otro lado, las nuevas variedades se caracterizaron por tener una mayor concentración de antocianos acilados, destacando entre todas ellas la variedad MC4.
- En cuanto a la cantidad de PAs y su perfil, de entre todas las VACF, MC80 destacó por sus altas concentraciones, además esta variedad fue la que mostró una mayor concentración de EGC. Sin embargo, MS10 destacó por su alto % GAL en sus uvas, en dos de las tres campañas de estudio. En cuanto a los vinos, a pesar de no tener una alta concentración de PAs, la variedad MS10 obtuvo los valores más altos de % GAL y EPI-GAL pudiendo indicar una mayor astringencia en sus vinos.

- Las características cromáticas de los vinos de las VACF mostraron valores que triplicaron e incluso cuadruplicaron la IC, sobre todo en los vinos la variedad MS10. En cambio los vinos de MC4, mostraron unas características cromáticas más similares a los de la variedad Monastrell.

Análisis sensorial de los vinos

- Los vinos de las variedades MC80, MC98 y MS10 presentaron una mayor intensidad aromática que Monastrell, sobre todo los de MS10 en la campaña 2019 y MC80 en la campaña 2020. La persistencia de estas tres variedades y la armonía general también fueron superiores con respecto a Monastrell. Sin embargo, los vinos de Monastrell obtuvieron una mejor puntuación en los parámetros organolépticos que los de la variedad MC4.
- Los vinos de las nuevas variedades se caracterizaron por presentar aromas a fruta madura, excepto el de la variedad MC4. Además en los vinos de la variedad MC80 encontramos aromas florales, en los de la variedad MC98 aromas especiados y en los de la variedad MS10 aromas químicos y herbáceos.

Con respecto a la caracterización de las nuevas VBGA:

Propiedades fenólicas las uvas

- Las nuevas VBGA se caracterizaron por tener un tamaño pequeño de baya en comparación a la variedad Monastrell, además presentaron un menor °Bé y una mayor acidez.
- Todas las VBGA, se caracterizaron por tener una mayor cantidad de antocianos que Monastrell. Además, en general también presentaron un mayor porcentaje de antocianos acilados y concentración de acetatos y cumaratos, aunque las variedades T81 y T82 mostraron valores más similares a la variedad Monastrell con respecto a la concentración de cumaratos.
- Las nuevas VBGA presentaron concentraciones superiores de flavonoles que la variedad Monastrell, sobre todo este hecho se destacó en las variedades T82 y T81.
- En relación a la cantidad de PAs y su perfil, T81 y T82 fueron más similares a Monastrell, mientras que altas concentraciones de estos compuestos se mostraron en las variedades T11 y T4. Además todas las nuevas VBGA duplicaron su concentración de EGC en comparación a Monastrell.

Propiedades fenólicas en los vinos

- La graduación alcohólica de las nuevas VBGA fueron inferiores a la variedad Monastrell, aunque estas diferencias fueron más marcadas en 2020, que en la campaña 2021. Entre ellas, los vinos de la variedad T81 fueron los que destacaron por tener la menor graduación alcohólica.
- En relación a las características cromáticas, los vinos de las nuevas VBGA mostraron altos valores de IC, cuadruplicando los valores mostrados en los de la variedad Monastrell, sobre todo en la variedad T81. Además dada la alta concentración fenólica de estas variedades, su capacidad antioxidante también fue elevada en comparación con los vinos de Monastrell.
- Los vinos elaborados por las nuevas VBGA obtuvieron altas concentraciones de antocianos en comparación con los vinos de la variedad Monastrell, aunque esto se evidenció sobre todo en los de 2021. Además, los vinos de estas variedades se caracterizaron por tener una menor concentración de cumaratos, al contrario que los de Monastrell, excepto los de la variedad T75, que presentaron un perfil más similar a los de Monastrell.
- En relación a la concentración de flavonoles, existieron diferencias interanuales entre las variedades, ya que en la campaña 2020, los vinos de las variedades T4 y T81 fueron los que presentaron mayores concentraciones de estos compuestos, mientras que los de la variedad T82 fueron los que lo hicieron en en la campaña 2021.
- Finalmente, en relación a la concentración de PAs, fueron los vinos de la variedad T11, los que presentaron la mayor concentración, mientras que los de la variedad T81 presentaron los valores más bajos, siendo más similares a los de Monastrell.

Con respecto a la caracterización de las nuevas VB:

Propiedades físico-químicas de las uvas

- Las variedades con mayor cantidad de ácido málico fueron MC180 y MC69, destacando sobre todo ésta última.

Composición aromática de las uvas

- Las variedades MC180 y sobre todo, MC69, se caracterizaron por tener altas concentraciones de tres grupos terpénicos; óxidos y dioles monoterpénicos así como de alcoholes monoterpénicos. También lo hizo la variedad MV67 en la campaña 2020. Además la variedad MT103 también destacó por su alta concentración en los compuestos C13 norisoprenoides.

Propiedades aromáticas de los vinos

- En cuanto a los compuestos individuales analizados, en los vinos de la variedad MC69 destacó el compuesto linalool, en los vinos de las variedad MC180 destacaron los compuestos citronelol y nerolidol. Además, los vinos de la variedad MT103 presentaron una mayor concentración de ésteres y aromas afrutados sobre todo en la campaña 2020, mientras que en la campaña 2021 destacaron en estos mismos compuestos los vinos de las variedades MC69 y Verdejo.

Análisis sensorial

- Los vinos de las nuevas VB presentaron mayores calificaciones en nariz, sensación final y acidez que la variedad Verdejo, sobre todo en la campaña 2020. Sin embargo, en la campaña 2021 estas diferencias no fueron tan evidentes. A pesar de ello los vinos de la variedad MC69 fueron puntuados muy favorablemente durante los dos años de estudio.
- Sensorialmente, los vinos de la variedad MC69 se caracterizaron por sus aromas a hierbas aromáticas. Los de la variedad MT103 se caracterizaron por tener aromas más afrutados, florales y balsámicos. Los de la variedad MC180 fueron valorados por presentar aromas afrutados y cítricos mientras que en los de la variedad MV67 se observaron ligeros aromas florales y afrutados y ciertas notas herbáceas de hinojo y hierba.

Conclusión final

Tras el estudio llevado a cabo en esta Tesis Doctoral, podemos concluir que nos encontramos ante un material vegetal único y exclusivo, que será una herramienta muy útil para paliar las consecuencias que el cambio climático ya están mostrando al sector vitivinícola de nuestra Región.

Por tanto, viticultores y enólogos podrán disponer por un lado de un material con un alto potencial fenólico con diferentes momentos de vendimia destinado a la elaboración de vinos de calidad. Por otro lado, de variedades capaces de obtener vinos con una baja graduación alcohólica acorde a los gustos del consumidor y que además consiguen completar su ciclo fenológico alcanzando altas concentraciones fenólicas. Por último, también dispondrán de nuevas variedades blancas descendientes de Monastrell con unas características diferentes a los vinos blancos de la zona, es decir, podrán elaborar vinos frescos y aromáticos con un buen equilibrio entre acidez y alcohol.

CONCLUSIONS

With regard to the characterization of the new VACF:

Structural and compositional properties of the cell wall

- There were differences with respect to the composition of the cell wall in Monastrell and the different varieties studied (MC80, MC98 and MS10), but in general, these results were more influenced by the vintage than by the variety.
- The Monastrell variety was characterized by having a large amount of cellulosic glucose and lignin thus indicating greater structural rigidity. On the other hand, in our varieties we found high concentrations of uronic acids in the MC80 variety, as well as in the MC98 variety. On the other hand, the MS10 variety showed high concentrations of phenolic compounds and MC98 did so in relation to the concentration of proteins in two of the three study seasons.

Physico-chemical properties of grapes

- VACF turned out to be earlier varieties than Monastrell. All were harvested between late August and mid-September, indicating shorter ripening periods. In addition, it was observed how the MC4 variety reached phenological maturity with the lowest °Bé in the three study campaigns.
- The berry size of the VACF was smaller than that of the Monastrell variety, especially in the MC4 variety. In addition, the acidity of all of them was also higher than that obtained in Monastrell.

Phenolic properties of grapes and wines

- All VACF, with the exception of the MC4 variety, obtained a high concentration of anthocyanins and flavonols in both their grapes and their wines, highlighting among them the MS10 variety. On the other hand, the new varieties were characterized by having a higher concentration of acylated anthocyanins, highlighting among them the MC4 variety.
- As for the number of PAs and their profile, among all the VACF, MC80 stood out for its high concentrations, in addition this variety was the one that showed a higher concentration of EGC. However, MS10 stood out for its high % GAL in its grapes, in two of the three study campaigns. As for the wines, despite not having a high concentration of PAs, the MS10 variety obtained the highest values of % GAL and EPI-GAL and may indicate a greater astringency in its wines.

- The chromatic characteristics of the wines of the VACF showed values that tripled and even quadrupled the IC, especially in the wines of the MS10 variety. On the other hand, the wines of MC4, showed chromatic characteristics more similar to those of the Monastrell variety.

Sensory analysis of wines

- The wines of the MC80, MC98 and MS10 varieties presented a higher aromatic intensity than Monastrell, especially those of MS10 in the 2019 campaign and MC80 in the 2020 season. The persistence of these three varieties and the overall harmony were also superior with respect to Monastrell. However, Monastrell wines scored better on organoleptic parameters than those of the M4 variety.
- The wines of the new varieties were characterized by aromas of ripe fruit, except that of the MC4 variety. In addition, in the wines of the MC80 variety we find floral aromas, in those of the MC98 variety spicy aromas and in those of the MS10 variety chemical and herbaceous aromas.

With regard to the characterization of the new VBGA:

Phenolic properties of grapes

- The new VBGA were characterized by having a small berry size compared to the Monastrell variety, they also presented a lower °Bé and a higher acidity.
- All VBGA were characterized by having a higher number of anthocyanins than Monastrell. In addition, in general they also presented a higher percentage of acylated anthocyanins and concentration of acetates and cumarates, although the T81 and T82 varieties showed values more similar to the Monastrell variety with respect to the concentration of cumarates.
- The new VBGA presented higher concentrations of flavonols than the Monastrell variety, especially this fact was highlighted in the T82 and T81 varieties.
- In relation to the number of PAs and their profile, T81 and T82 were more similar to Monastrell, while high concentrations of these compounds were shown in the T11 and T4 varieties. In addition, all new VBGA doubled their EGC concentration compared to Monastrell.

In relation to the amount of phenolic properties in wines.

- The alcohol content of the new VBGA were lower than the Monastrell variety, although these differences were more marked in 2020 than in the 2021 season.

Among them, the wines of the T81 variety were those that stood out for having the lowest alcohol content.

- In relation to the chromatic characteristics, the wines of the new VBGA showed high values of CI, quadrupling the values shown in those of the Monastrell variety, especially in the T81 variety. In addition, given the high phenolic concentration of these varieties, their antioxidant capacity was also high compared to Monastrell wines.
- The wines produced by the new VBGA obtained high concentrations of anthocyanins compared to the wines of the Monastrell variety, although this was evidenced especially in those of 2021. In addition, the wines of these varieties were characterized by having a lower concentration of cumarates, unlike those of Monastrell, except those of the T75 variety, which presented a profile more similar to those of Monastrell.
- In relation to the concentration of flavonols, there were interannual differences between the varieties, since in the 2020 season, the wines of the T4 and T81 varieties were the ones that presented the highest concentrations of these compounds, while those of the T82 variety were those that did so in the 2021 season.
- Finally, in relation to the concentration of PAs, it was the wines of the T11 variety that presented the highest concentration, while those of the T81 variety presented the lowest values, being more similar to those of Monastrell.

With regard to the characterization of the new VB:

Physico-chemical properties of grapes

- The varieties with the highest amount of malic acid were MC180 and MC69, especially the last.

Aromatic composition of grapes

- The MC180 varieties and above all, MC69, were characterized by having high concentrations of three terpene groups; monoterpene oxides and diols as well as monoterpene alcohols. So did the MV67 variety in the 2020 campaign. In addition, the MT103 variety also stood out for its high concentration in the C13 norisoprenoid compounds.

Aromatic properties of wines

- As for the individual compounds analyzed, in the wines of the MC69 variety the linalool compound stood out, in the wines of the MC180 variety the citronellol and nerolidol

compounds stood out. In addition, the wines of the MT103 variety presented a higher concentration of esters and fruity aromas, especially in the 2020 season, while in the 2021 season the wines of the MC69 and Verdejo varieties stood out in these same compounds.

Sensory analysis

- The wines of the new VB presented higher ratings in nose, final sensation and acidity than the Verdejo variety, especially in the 2020 season. However, in the 2021 season these differences were not so evident. Despite this, the wines of the MC69 variety were rated very favorably during the two years of study.
- Sensory, the wines of the MC69 variety were characterized by their aromas of aromatic herbs. Those of the MT103 variety were characterized by having more fruity, floral and balsamic aromas. Those of the MC180 variety were valued for presenting fruity and citrus aromas while in those of the MV67 variety slight floral and fruity aromas and certain herbaceous notes of fennel and grass were observed.

Final Conclusion

After the study carried out in this Doctoral Thesis, we can conclude that we are facing a unique and exclusive plant material, which will be a very useful tool to lighten the consequences that climate change is already showing to the wine sector of our Region.

Therefore, winegrowers and winemakers will be able to have on the one hand a material with a high phenolic potential with different harvest moments destined to the elaboration of quality wines. On the other hand, varieties capable of obtaining wines with a low alcohol content according to the tastes of the consumer and that also manage to complete their phenological cycle reaching high phenolic concentrations. Finally, they will also have new white varieties descended from Monastrell with different characteristics to the white wines of the area, that is, they will be able to produce fresh and aromatic wines with a good balance between acidity and alcohol.

CAPÍTULO 8

ANEXOS



CAPÍTULO 8: ANEXOS

	Monastrell	MC80	MC98	MS10	MC4	p-value
2018						
Delfidina-3-glucósido	1710.95d ± 51	4172.45c ± 672	6954.88a ± 497	5821.93b ± 115	1160.42d ± 34	***
Cianidina-3-glucósido	1804.83c ± 44	2478.14ab ± 312	2205.61b ± 104	2601.91a ± 83	307.51d ± 57	***
Petunidina-3-glucósido	2451.80c ± 41	2662.77c ± 256	5115.25b ± 218	6492.57a ± 174	1204.48d ± 96	***
Peonidina-3-glucósido	3089.94b ± 124	3441.78b ± 50	2633.33c ± 396	5471.41a ± 149	521.81d ± 101	***
Malvidina-3-glucósido	12609.73d ± 149	15479.77c ± 823	19227.12b ± 641	23899.06a ± 937	9460.64e ± 796	***
Delfinidina-3-acetil-glucósido	nd	318.77a ± 90	251.31a ± 31	123.41b ± 3	121.44b ± 30	***
Cianidina-3-acetil-glucósido	8.73d ± 3	256.95c ± 57	1139.64a ± 26	1019.01b ± 62	78.29d ± 4	***
Petunidina-3-acetil-glucósido	74.26d ± 2	437.66c ± 14	1232.39b ± 63	1484.42a ± 84	370.59c ± 67	***
Peonidina-3-acetil-glucósido	68.69e ± 4	582.69c ± 19	694.45b ± 15	1139.70a ± 50	248.63d ± 47	***
Malvidina-3-acetil-glucósido	737.37c ± 30	5996.65b ± 268	6935.08a ± 160	7458.86a ± 512	6017.02b ± 685	***
Malvidina-3-cumaril glucósido (cis)	70.75a ± 6	7.33d ± 2	36.04c ± 5	65.62a ± 6	54.15b ± 7	***
Delfinidina-3-cumaril-glu/peonidn-3-cafeoil	11.50c ± 5	10.32c ± 6	50.88b ± 12	116.13a ± 37	7.55c ± 7	***
Malvidina-3-cafeoil-glucósido	38.41c ± 10	18.02c ± 3	128.71b ± 4	278.40a ± 18	144.87b ± 31	***
Cianidina-3-cumaril-glucósido	92.23b ± 1	30.66c ± 3	36.43c ± 3	320.44a ± 9	29.21c ± 4	***
Petunidina-3-cumaril-glucósido	292.45c ± 35	32.91d ± 6	365.54b ± 3	963.35a ± 41	261.01c ± 36	***
Peonidina-3-cumaril- glucósido	442.05b ± 52	284.60c ± 68	437.05b ± 23	1213.45a ± 61	252.11c ± 45	***
Malvidina-3-cumaril glucósido (trans)	3100.74d ± 149	2796.08d ± 152	4576.14c ± 48	7994.64a ± 475	5269.99b ± 580	***

Tabla 8. 1 Antocianos individuales ($\mu\text{g/g}$ hollejo) en uvas de Monastrell y nuevas VACF en la campaña 2018. Los datos representan las medias \pm desviación estándar. Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas de acuerdo al test de LSD ($p < 0.05$). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** ($p < 0,001$), 99%** ($p < 0,01$) y 95%* ($p < 0,05$).

	Monastrell	MC80	MC98	MS10	MC4	p-value
2019						
Delfidina-3-glucósido	2850.63d ± 186	4702.96c ± 252	7148.99a ± 333	5872.00b ± 683	915.22e ± 189	***
Cianidina-3-glucósido	2024.25a ± 279	571.02c ± 51	915.91c ± 121	1315.70b ± 300	56.29d ± 7	***
Petunidina-3-glucósido	3623.92b ± 225	3041.49b ± 255	5955.36a ± 446	5553.44a ± 496	1120.34c ± 269	***
Peonidina-3-glucósido	2918.71a ± 387	1735.41b ± 142	1859.48b ± 106	2817.24a ± 505	144.67c ± 49	***
Malvidina-3-glucósido	14221.32d ± 938	21040.74b ± 1456	23530.48a ± 1575	17611.63c ± 938	7472.80e ± 1691	***
Delfinidina-3-acetil-glucósido	17.74c ± 9	606.33b ± 107	866.73a ± 55	602.40b ± 96	147.20c ± 49	***
Cianidina-3-acetil-glucósido	nd	19.53b ± 10	50.09a ± 2	60.47a ± 23	3.04b ± 1	***
Petunidina-3-acetil-glucósido	125.92e ± 8	819.75c ± 50	1627.93a ± 80	1221.86b ± 99	429.51d ± 103	***
Peonidina-3-acetil-glucósido	44.09d ± 12	340.77c ± 24	455.30b ± 22	530.30a ± 68	60.69d ± 19	***
Malvidina-3-acetil-glucósido	686.40c ± 31	8569.56a ± 455	8582.73a ± 428	5236.16b ± 78	5365.93b ± 1200	***
Malvidina-3-cumaril glucósido (cis)	39.26c ± 4	36.54c ± 10	63.45c ± 17	163.94a ± 11	104.18b ± 36	***
Delfinidina-3-cumaril-glu/peonidn-3-cafeoil	188.83bc ± 9	301.54b ± 38	847.80a ± 81	14.76d ± 3	89.14cd ± 111	***
Malvidina-3-cafeoli-glucósido	86.27c ± 19	147.61c ± 45	138.66c ± 78	1664.64a ± 16	320.30b ± 103	***
Cianidina-3-cumaril-glucósido	199.20 ± 17	49.06 ± 12	152.31 ± 103	368.75 ± 26	331.76 ± 295	ns
Petunidina-3-cumaril-glucósido	424.41d ± 18	366.29d ± 49	1230.18b ± 109	2092.21a ± 74	672.44c ± 208	***
Peonidina-3-cumaril- glucósido	299.32c ± 51	248.06c ± 25	488.25b ± 39	912.90a ± 51	98.68d ± 40	***
Malvidina-3-cumaril glucósido (trans)	2435.05d ± 140	4428.77c ± 469	6927.17b ± 432	8886.39a ± 538	5325.62c ± 1153	***

Tabla 8. 2 Antocianos individuales ($\mu\text{g/g}$ hollejo) en uvas de Monastrell y nuevas VACF en la campaña 2019. Los datos representan las medias \pm desviación estándar. Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas de acuerdo al test de LSD ($p < 0.05$). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** ($p < 0,001$), 99%** ($p < 0,01$) y 95%* ($p < 0,05$).

	Monastrell	MC80	MC98	MS10	MC4	p-value
	2020					
Delfidina-3-glucósido	134.30cd ± 23	444.91a ± 48	365.51b ± 39	191.21c ± 37	126.27d ± 20	***
Cianidina-3-glucósido	199.73a ± 56	71.96b ± 15	52.30bc ± 6	22.03c ± 6	12.08c ± 2	***
Petunidina-3-glucósido	160.15bc ± 23	263.12a ± 26	266.44a ± 24	187.88b ± 34	115.36c ± 15	***
Peonidina-3-glucósido	262.03a ± 61	172.17b ± 25	101.82c ± 5	98.74c ± 20	39.89d ± 5	***
Malvidina-3-glucósido	700.19c ± 88	1505.32a ± 105	945.47b ± 81	1105.79b ± 207	627.85c ± 73	***
Delfinidina-3-acetil-glucósido	7.23d ± 1	101.06a ± 11	77.47b ± 8	35.66c ± 5	38.62c ± 5	***
Cianidina-3-acetil-glucósido	9.22c ± 2	30.19a ± 4	16.73b ± 1	8.07c ± 2	6.69c ± 1	***
Petunidina-3-acetil-glucósido	11.32c ± 1	99.84a ± 9	88.03a ± 7	53.63b ± 8	51.67b ± 6	***
Peonidina-3-acetil-glucósido	11.56c ± 2	62.09a ± 7	32.35b ± 1	31.18b ± 5	16.90c ± 2	***
Malvidina-3-acetil-glucósido	55.38c ± 5	843.78a ± 46	408.11b ± 29	486.47b ± 81	475.75b ± 40	***
Malvidina-3-cumaril glucósido (cis)	9.40c ± 1	23.55a ± 1	13.09bc ± 2	24.95a ± 4	14.82b ± 1	***
Delfinidina-3-cumaril-glu/peonidn-3-cafeoil	19.02d ± 3	36.94c ± 2	50.25b ± 5	74.05a ± 10	49.01b ± 4	***
Malvidina-3-cafeoil-glucósido	2.95c ± 0-48	7.20b ± 0-86	5.59b ± 0-21	10.03a ± 2-53	6.92b ± 1-26	***
Cianidina-3-cumaril-glucósido	24.35a ± 4	11.55bc ± 2	12.47b ± 1	15.02b ± 3	7.83c ± 2	***
Petunidina-3-cumaril-glucósido	37.41d ± 4	42.44cd ± 3	58.38bc ± 4	114.58a ± 18	69.22b ± 5	***
Peonidina-3-cumaril- glucósido	33.34b ± 5	34.36b ± 4	28.80bc ± 1	66.60a ± 10	21.56c ± 2	***
Malvidina-3-cumaril glucósido (trans)	177.51d ± 14	390.80bc ± 8	306.86cd ± 19	827.57a ± 155	470.39b ± 31	***

Tabla 8. 3 Antocianos individuales ($\mu\text{g/g}$ hollejo) en uvas de Monastrell y nuevas VACF en la campaña 2020. Los datos representan las medias \pm desviación estándar. Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas de acuerdo al test de LSD ($p < 0.05$). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** ($p < 0,001$), 99%** ($p < 0,01$) y 95%* ($p < 0,05$).

	Monastrell	MC80	MC98	MS10	MC4	p-value
2018						
Miricetina-3-glucósido	57.95d ± 0.48	257.12c ± 53.76	348.51b ± 24.07	887.95a ± 31.60	89.41d ± 12.13	***
Quercetina-3-glucósido/Laricitrina-3-glucósido	337.48b ± 10.36	174.87d ± 10.32	307.26bc ± 100.45	884.86a ± 84.87	211.13cd ± 26.06	***
Kampferol-3-galactósido	433.96a ± 30.28	nd	3.83c ± 1.18	13.78c ± 3.00	239.25b ± 21.83	***
Kampferol-3-glucósido/Siringetina-3-glucósido	26.33b ± 5.58	13.98c ± 5.55	33.67b ± 4.17	118.21a ± 7.02	nd	***
Isoramnetina-3-glucósido	nd	95.10b ± 8.12	80.42b ± 6.65	454.84a ± 33.68	22.73c ± 2.42	***
Quercetina-3-glucurónido	172.18a ± 6.31	nd	7.39d ± 2.13	23.93c ± 0.81	96.80b ± 6.08	***
2019						
Miricetina-3-glucósido	297.73bc ± 26.85	453.30a ± 97.12	354.37b ± 11.81	510.79a ± 60.34	205.09c ± 7.35	***
Quercetina-3-glucósido/Laricitrina-3-glucósido	585.98a ± 52.23	335.25c ± 85.67	340.20c ± 33.34	449.23b ± 61.03	245.46c ± 44.53	***
Kampferol-3-galactósido	26.18a ± 8.73	nd	nd	nd	nd	***
Kampferol-3-glucósido/Siringetina-3-glucósido	nd	14.81ab ± 4.23	7.25c ± 2.06	20.30a ± 5.40	9.36bc ± 2.16	***
Isoramnetina-3-glucósido	191.50bc ± 18.38	251.65ab ± 37.94	153.88c ± 23.40	279.74a ± 62.24	141.37c ± 32.71	**
Quercetina-3-glucurónido	nd	18.05b ± 4.14	9.86c ± 6.09	27.03a ± 3.36	7.07c ± 1.70	***
2020						
Miricetina-3-glucósido	430.92b ± 45.96	594.20a ± 36.06	390.53b ± 21.96	529.20a ± 76.31	424.13b ± 32.26	**
Quercetina-3-glucósido/Laricitrina-3-glucósido	504.89b ± 69.94	358.53bc ± 46.91	329.71c ± 26.90	701.68a ± 189.68	341.17bc ± 23.26	**
Kampferol-3-galactósido	46.08a ± 10.85	12.95b ± 5.36	16.30b ± 6.54	49.79a ± 22.65	9.74b ± 1.91	**
Kampferol-3-glucósido/Siringetina-3-glucósido	34.71c ± 4.27	87.45b ± 7.36	60.96bc ± 4.26	122.70a ± 33.84	66.80b ± 3.65	***
Isoramnetina-3-glucósido	119.71c ± 17.28	193.42ab ± 38.14	97.57c ± 4.73	251.81a ± 64.58	138.28bc ± 5.65	**
Quercetina-3-glucurónido	3.15d ± 1.65	33.30b ± 1.28	24.73c ± 4.49	88.72a ± 6.34	9.38d ± 1.17	***

Tabla 8. 4 Flavonoles individuales ($\mu\text{g/g}$ hollejo) en Monastrell y las nuevas VACF durante las campañas 2018, 2019 y 2020. Los datos representan las medias \pm desviación estándar. Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas de acuerdo al test de LSD ($p < 0.05$). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** ($p < 0,001$), 99%** ($p < 0,01$) y 95%* ($p < 0,05$).

	Monastrell	MC80	MC98	MS10	MC4	p-value
2018						
¹EGC-Ext²	255.28d ± 57.15	965.75a ± 25.64	698.42b ± 16.88	420.78c ± 51.72	381.30c ± 23.62	***
Catequina-Ext	18.16b ± 11.09	38.82ab ± 20.55	54.90a ± 1.64	19.47b ± 10.27	24.05b ± 7.45	*
Epicatequina-Ext	556.91b ± 96.29	872.86a ± 25.05	818.42a ± 20.67	502.71b ± 27.78	570.01b ± 31.47	***
Catequina-T³	23.30bc ± 5.82	59.07a ± 8.82	51.84a ± 6.32	35.86b ± 13.26	18.36c ± 1.73	***
⁴EPI-GAL-Ext	17.99bc ± 3.03	40.12a ± 10.05	18.48bc ± 0.75	27.40b ± 7.01	8.86c ± 1.57	***
Epicatequina-T	9.42b ± 7.52	34.74a ± 0.96	27.09a ± 1.38	31.48a ± 7.76	12.40b ± 4.14	***
EPI-GAL-T	2.36b ± 0.38	nd	13.21a ± 6.03	nd	12.73a ± 7.47	**
2019						
EGC-Ext	178.85c ± 27.47	951.46a ± 115.52	538.83b ± 123.06	490.33b ± 37.09	112.05c ± 25.56	***
Catequina-Ext	14.50c ± 2.90	32.40b ± 4.14	36.13b ± 3.41	48.34a ± 5.39	8.05c ± 0.29	***
Epicatequina-Ext	481.91c ± 11.07	863.87a ± 151.84	661.53b ± 93.77	866.70a ± 52.91	235.87d ± 4.04	***
Catequina-T	40.55c ± 7.37	57.57b ± 12.07	54.94b ± 1.83	76.22a ± 5.45	nd	***
EPI-GAL-Ext	17.92c ± 0.80	65.96a ± 4.76	20.78c ± 0.60	27.53b ± 1.63	5.34d ± 0.12	***
Epicatequina-T	17.82 ± 0.92	24.70 ± 12.87	23.24 ± 3.54	31.14 ± 0.65	38.86 ± 12.57	ns
EPI-GAL-T	80.47a ± 2.74	nd	nd	nd	nd	***
2020						
EGC-Ext	274.81b ± 50.52	834.84a ± 55.37	769.60a ± 96.15	334.14b ± 6.10	292.32b ± 57.63	***
Catequina-Ext	13.48d ± 0.55	29.54b ± 4.37	54.50a ± 5.92	13.29d ± 1.97	22.21c ± 1.59	***
Epicatequina-Ext	679.53b ± 118.09	683.58b ± 73.25	968.96a ± 36.63	425.01c ± 15.73	530.18c ± 40.48	***
Catequina-T	41.85c ± 9.59	54.91b ± 6.22	74.74a ± 5.05	42.96c ± 1.93	30.39d ± 5.14	***
EPI-GAL-Ext	13.88d ± 2.04	39.18a ± 3.07	27.85b ± 3.64	21.75c ± 0.36	10.39d ± 0.22	***
Epicatequina-T	19.84b ± 5.76	14.95b ± 0.79	61.49a ± 17.68	6.52b ± 3.07	11.23b ± 2.18	***
EPI-GAL-T	nd	2.72b ± 0.66	1.65bc ± 2.21	5.57a ± 2.25	1.18bc ± 0.39	**

Tabla 8. 5 Concentración de compuestos individuales de las PAs expresados en µg/ g hollejo en Monastrell y las nuevas VACF durante las campañas 2018, 2019 y 2020. Abreviaturas: ¹EGC: epigalocatequina, ²Ext: extensión, ³T: terminal, ⁴EPI-GAL: epigalocatequina-3-orto-galato. Los datos representan las medias ± desviación estándar. Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas de acuerdo al test de LSD (p<0.05). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** (p < 0,001), 99%** (p< 0,01) y 95%* (p< 0,05).

	Monastrell	MC80	MC98	MS10	MC4	p-value
2018						
Catequina-Ext¹	132.56d ± 20.97	275.42a ± 8.34	254.59a ± 2.15	202.91b ± 27.11	170.23c ± 8.56	***
Epicatequina-Ext	1285.38d ± 216.84	2636.98a ± 59.98	2463.73ab ± 14.42	2113.32c ± 252.01	2325.46bc ± 25.64	***
Catequina-T²	88.38cd ± 17.96	227.61a ± 38.99	214.08ab ± 66.84	149.96bc ± 27.57	75.72d ± 17.59	**
³EPI-GAL-Ext	345.29d ± 54.34	738.53a ± 36.47	478.73c ± 7.84	590.23b ± 62.05	441.11c ± 9.98	***
Epicatequina-T	121.29c ± 49.76	334.80a ± 21.89	328.83a ± 45.76	329.13a ± 64.57	239.87b ± 31.12	***
EPI-GAL-T	89.29c ± 19.12	202.71ab ± 41.89	148.95bc ± 14.80	238.04a ± 56.47	140.05c ± 5.76	**
2019						
Catequina-Ext	210.33b ± 35.43	297.04a ± 4.46	273.34a ± 15.89	220.05b ± 20.29	139.23c ± 7.23	***
Epicatequina-Ext	2028.35bc ± 280.67	2909.91a ± 28.92	2803.45a ± 106.55	1732.91c ± 183.32	2086.54b ± 129.81	***
Catequina-T	169.38c ± 34.94	383.72a ± 3.83	281.53b ± 19.43	202.40c ± 21.23	110.23d ± 11.37	***
EPI-GAL-Ext	471.33b ± 55.17	785.96a ± 29.60	464.40b ± 23.92	312.27c ± 60.58	370.61c ± 13.85	***
Epicatequina-T	233.42bc ± 67.01	386.62a ± 16.36	409.70a ± 43.46	160.92c ± 30.06	236.47b ± 23.56	***
EPI-GAL-T	185.18ab ± 29.64	224.95a ± 63.10	183.90ab ± 8.31	134.55bc ± 20.42	115.24c ± 11.59	*
2020						
Catequina-Ext	174.53d ± 20.04	246.13bc ± 19.43	289.02ab ± 18.17	301.44a ± 32.12	209.89cd ± 29.27	***
Epicatequina-Ext	1301.02c ± 143.50	2011.15b ± 150.94	2422.28ab ± 236.31	2502.44a ± 291.81	2128.14ab ± 338.10	***
Catequina-T	109.69b ± 14.84	262.18a ± 28.55	242.17a ± 28.66	254.04a ± 36.74	160.31b ± 28.91	***
EPI-GAL-Ext	367.11b ± 56.67	483.86a ± 28.41	560.38a ± 64.23	581.72a ± 72.59	358.53b ± 42.66	**
Epicatequina-T	107.64b ± 14.78	222.71a ± 30.07	273.13a ± 55.98	280.45a ± 48.59	212.04a ± 59.53	**
EPI-GAL-T	118.52d ± 12.36	180.86bc ± 20.14	194.38b ± 25.56	269.85a ± 38.45	147.48cd ± 21.62	***

Tabla 8. 6 Concentración de compuestos individuales de las PAs expresados en µg/ g semilla en Monastrell y las nuevas VACF durante las campañas 2018, 2019 y 2020. Abreviaturas: ¹ (Ext): extensión, ² (T): Terminal, ³ (EPI-GAL): epigallocatequina-3-orto-galato. Los datos representan las medias ± desviación estándar. Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas de acuerdo al test de LSD (p<0.05). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** (p < 0,001), 99%** (p< 0,01) y 95%* (p< 0,05).

	Monastrell	MC80	MC98	MS10	MC4	p-value
2018						
Delfidina-3-glucósido	33.88e ± 0.92	163.73b ± 3.17	189.70a ± 0.77	100.73c ± 7.26	41.32d ± 0.39	***
Cianidina-3-glucósido	10.53d ± 0.21	24.33a ± 1.31	16.76c ± 0.12	20.59b ± 1.23	2.39e ± 0.23	***
Petunidina-3-glucósido	62.67d ± 0.93	110.00c ± 2.43	174.76a ± 0.54	150.86b ± 8.39	53.63e ± 0.68	***
Peonidina-3-glucósido	1.23c ± 0.22	8.01a ± 0.92	8.88a ± 0.04	6.19b ± 0.78	1.69c ± 0.19	***
Malvidina-3-glucósido	322.80e ± 0.90	749.10a ± 3.75	717.21b ± 2.62	668.28c ± 9.16	415.22d ± 2.71	***
Vitisina A	8.61c ± 0.65	21.56b ± 1.69	27.09a ± 0.16	19.63b ± 1.67	8.10c ± 0.46	***
Delfinidina-3-acetil-glucósido	4.27b ± 0.04	15.79a ± 1.94	15.49a ± 0.14	14.17a ± 1.88	4.36b ± 0.48	***
Vitisina B	4.29e ± 0.09	47.17b ± 2.10	61.63a ± 0.13	36.41c ± 1.43	15.41d ± 0.56	***
Acetil vitisina A	3.64d ± 0.09	10.64b ± 1.01	12.21a ± 0.30	12.19a ± 0.31	4.82c ± 0.27	***
Cianidina-3-acetil-glucósido	1.05d ± 0.04	6.52b ± 0.68	8.01a ± 0.11	8.91a ± 1.35	2.67c ± 0.20	***
Petunidina-3-acetil-glucósido	6.47e ± 0.56	44.50c ± 4.97	67.86a ± 1.01	59.81b ± 4.24	24.58d ± 1.00	***
Peonidina-3-acetil-glucósido	1.73d ± 0.10	7.79ab ± 1.52	9.47a ± 0.87	6.65bc ± 1.27	5.12c ± 1.27	***
Malvidina acetil/delfinidina cumaril¹	24.40d ± 0.73	260.82a ± 3.85	234.53b ± 17.80	212.99b ± 24.87	179.94c ± 0.92	***
Peonidina-3-cafeolil-glucósido	1.01e ± 0.09	4.60c ± 0.36	5.51b ± 0.06	7.71a ± 0.96	2.01d ± 0.36	***
Cianidina-3-cafeolil-glucósido/cumaril-glucósido	6.25d ± 0.44	18.01b ± 2.69	31.61a ± 1.32	18.17b ± 1.34	9.69c ± 1.04	***
Petunidina-3-cumaril-glucósido	7.28b ± 0.69	15.64a ± 4.27	15.60a ± 0.08	16.45a ± 1.37	7.70b ± 1.04	***
Malvidina-3-cumaril-glucósido (cis)	11.71c ± 1.93	21.35b ± 1.90	30.96a ± 0.26	28.67a ± 2.08	9.37c ± 1.01	***
Peonidina-3-cumaril-glucósido	3.52d ± 0.73	9.50b ± 0.78	11.74a ± 0.48	6.21c ± 0.85	3.15d ± 0.72	***
Malvidina-3-cumaril-glucósido-(trans)	33.08d ± 0.47	62.33b ± 2.17	87.68a ± 0.89	60.20b ± 2.43	41.86c ± 2.22	***

Tabla 8. 7 Antocianos individuales en vinos (mg/L) de Monastrell y en los de las nuevas VACF en la campaña 2018. Los datos representan las medias ± desviación estándar. Abreviaturas: ¹ (Malvidina acetil/delfinidina cumaril): malvidina-3-acetil-glucósido/delfinidina-3-cumaril-glucósido. Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas de acuerdo al test de LSD ($p < 0.05$). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** ($p < 0,001$), 99%** ($p < 0,01$) y 95%* ($p < 0,05$).

	Monastrell	MC80	MC98	MS10	MC4	p-value
2019						
Delfidina-3-glucósido	51.37d ± 0.45	161.27b ± 0.68	52.83c ± 0.52	232.60a ± 0.79	0.16e ± 0.12	***
Cianidina-3-glucósido	12.76c ± 0.54	11.67d ± 0.31	2.67e ± 0.22	37.28a ± 0.19	27.65b ± 0.14	***
Petunidina-3-glucósido	75.46c ± 0.46	115.48b ± 0.64	50.98d ± 0.17	270.65a ± 0.99	37.20e ± 0.47	***
Peonidina-3-glucósido	49.17c ± 0.56	78.01b ± 4.03	26.24d ± 0.25	113.48a ± 9.46	0.92e ± 0.60	***
Malvidina-3-glucósido	368.60d ± 1.31	789.94b ± 4.09	393.20c ± 0.69	882.17a ± 11.29	330.62e ± 2.89	***
Vitisina A	2.67c ± 0.55	9.86a ± 0.25	4.62b ± 0.13	5.28b ± 0.82	0.41d ± 0.21	***
Delfinidina-3-acetil-glucósido	4.41c ± 0.86	9.33b ± 0.54	5.39c ± 0.56	13.79a ± 1.02	2.68d ± 0.37	***
Vitisina B	3.14c ± 0.96	8.73b ± 1.86	7.95b ± 0.51	11.57a ± 0.08	0.42d ± 0.31	***
Acetil vitisina A	3.75e ± 0.98	46.28b ± 1.50	20.70c ± 0.33	62.73a ± 0.56	12.20d ± 0.17	***
Cianidina-3-acetil-glucósido	3.56b ± 1.54	6.51b ± 0.23	4.33b ± 0.33	16.36a ± 8.76	6.37b ± 3.85	*
Petunidina-3-acetil-glucósido	6.19d ± 1.56	64.35b ± 1.42	30.86c ± 1.36	89.91a ± 0.37	14.65d ± 10.51	***
Peonidina-3-acetil-glucósido	2.78d ± 1.59	24.98a ± 1.50	11.76bc ± 0.07	18.16ab ± 2.20	6.48cd ± 7.99	***
Malvidina acetil/delfinidina cumaril¹	23.16e ± 2.50	351.77a ± 3.42	204.70c ± 3.18	331.58b ± 1.40	167.93d ± 4.31	***
Peonidina-3-cafeoilil-glucósido	1.58c ± 0.07	4.95b ± 0.63	1.91c ± 0.81	6.78a ± 0.33	1.28c ± 0.90	***
Cianidina-3-cafeoilil-glucósido/cumaril-glucósido	0.48d ± 0.68	2.79b ± 0.55	0.82cd ± 0.45	6.33a ± 0.52	2.03bc ± 1.15	***
Petunidina-3-cumaril-glucósido	6.60c ± 1.82	23.41b ± 1.47	7.05c ± 1.39	45.83a ± 0.10	8.66c ± 1.53	***
Malvidina-3-cumaril-glucósido (cis)	3.20d ± 0.80	10.04b ± 1.26	3.61d ± 1.53	18.33a ± 0.72	6.66c ± 0.46	***
Peonidina-3-cumaril-glucósido	6.47c ± 0.76	17.57b ± 1.18	4.82d ± 1.01	52.58a ± 0.15	3.31e ± 0.21	***
Malvidina-3-cumaril-glucósido-(trans)	48.64c ± 0.50	137.94b ± 5.85	44.52c ± 2.53	213.53a ± 0.45	38.40d ± 0.95	***

Tabla 8. 8 Antocianos individuales en vinos (mg/L) de Monastrell y en los de las nuevas VACF en la campaña 2019. Los datos representan las medias ± desviación estándar. Abreviaturas: ¹ (Malvidina acetil/delfinidina cumaril): malvidina-3-acetil-glucósido/delfinidina-3-cumaril-glucósido. Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas de acuerdo al test de LSD (p<0.05). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** (p < 0,001), 99%** (p< 0,01) y 95%* (p< 0,05).st de LSD (p<0.05).

	Monastrell	MC80	MC98	MS10	MC4	p-value
2020						
Delfidina-3-glucósido	30.09d ± 0.19	144.51a ± 2.22	104.15c ± 0.29	120.54b ± 1.60	30.49d ± 0.16	***
Cianidina-3-glucósido	13.85b ± 0.20	13.81b ± 1.25	5.99c ± 0.18	15.51a ± 1.04	1.54d ± 0.11	***
Petunidina-3-glucósido	49.40d ± 0.13	102.82b ± 1.88	94.35c ± 0.65	149.46a ± 1.94	36.44e ± 0.13	***
Peonidina-3-glucósido	45.62b ± 0.22	54.99a ± 2.85	28.68c ± 0.27	54.54a ± 1.07	11.26d ± 0.16	***
Malvidina-3-glucósido	264.67d ± 0.79	574.52a ± 1.15	356.66c ± 0.81	537.35b ± 2.61	220.21e ± 0.35	***
Vitisina A	2.01e ± 0.09	9.18a ± 0.26	4.59c ± 0.09	5.18b ± 0.31	2.41d ± 0.07	***
Delfinidina-3-acetil-glucósido	4.76d ± 0.10	15.01a ± 0.31	11.23c ± 0.22	12.54b ± 1.23	4.25d ± 0.13	***
Vitisina B	5.63b ± 0.16	5.60b ± 1.03	1.83c ± 0.16	17.41a ± 0.89	1.77c ± 0.10	***
Acetil vitisina A	5.06c ± 0.25	11.31b ± 0.51	4.97c ± 0.14	40.51a ± 3.11	4.07c ± 0.16	***
Cianidina-3-acetil-glucósido	5.08d ± 0.33	73.19a ± 1.71	50.23b ± 0.37	21.77c ± 1.01	21.08c ± 0.29	***
Petunidina-3-acetil-glucósido	13.16e ± 0.31	82.06a ± 1.70	58.35c ± 0.88	77.14b ± 2.92	26.64d ± 0.80	***
Peonidina-3-acetil-glucósido	5.37d ± 0.21	36.07a ± 1.06	11.10c ± 0.17	17.73b ± 1.58	12.49c ± 0.44	***
Malvidina acetil/delfinidina cumaril¹	28.03e ± 0.29	279.73a ± 1.26	165.59c ± 0.51	213.06b ± 3.92	127.47d ± 0.64	***
Peonidina-3-cafeoilil-glucósido	3.27e ± 0.02	18.21a ± 0.69	9.89c ± 0.33	12.84b ± 1.93	6.54d ± 0.59	***
Cianidina-3-cafeoilil-glucósido/cumaril-glucósido	7.54d ± 0.26	22.53a ± 0.92	13.20c ± 0.74	15.41b ± 2.00	6.82d ± 0.25	***
Petunidina-3-cumaril-glucósido	6.11d ± 0.18	35.10a ± 2.40	27.73b ± 1.42	35.79a ± 3.62	14.75c ± 0.58	***
Malvidina-3-cumaril-glucósido (cis)	10.66e ± 0.10	44.67a ± 1.32	27.55c ± 0.54	35.25b ± 5.57	20.12d ± 0.99	***
Peonidina-3-cumaril-glucósido	0.44d ± 0.05	11.52a ± 0.64	6.18bc ± 0.08	7.06b ± 1.02	5.33c ± 0.47	***
Malvidina-3-cumaril-glucósido-(trans)	41.01c ± 0.28	106.70a ± 1.32	71.58b ± 0.53	73.87b ± 6.13	32.33d ± 1.12	***

Tabla 8. 9 Antocianos individuales en vinos (mg/L) de Monastrell y en los de las nuevas VACF en la campaña 2020. Los datos representan las medias ± desviación estándar. Abreviaturas: ¹ (Malvidina acetil/delfinidina cumaril): malvidina-3-acetil-glucósido/delfinidina-3-cumaril-glucósido. Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas de acuerdo al test de LSD (p<0.05). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** (p < 0,001), 99%** (p< 0,01) y 95%* (p< 0,05).

	MON	MC80	MC98	MS10	MC4	p-value
2018						
Miricetina-3-galactósido	0.42b ± 0.17	0.40b ± 0.01	0.04c ± 0.00	5.33a ± 0.34	0.56b ± 0.04	***
Miricetina-3-glucósido	5.97d ± 0.18	11.60b ± 0.12	12.55a ± 0.25	5.13e ± 0.10	6.55c ± 0.07	***
Quercetin-3-galactósido	1.22c ± 0.00	2.60b ± 0.07	2.48b ± 0.14	35.10a ± 0.89	1.18c ± 0.05	***
Quercetina-3-glucurónido	7.32c ± 0.09	16.05a ± 0.11	14.34b ± 0.19	5.11d ± 0.24	3.58e ± 0.09	***
Quercetina-3-glucósido	1.24d ± 0.02	3.32a ± 0.05	2.46b ± 0.13	1.91c ± 0.13	1.01e ± 0.05	***
Laricitrina-3-glucósido	0.97d ± 0.05	5.76a ± 0.11	5.56b ± 0.19	nd	3.69c ± 0.06	***
Kampferol-3-galactósido	0.55bc ± 0.10	1.67a ± 0.10	0.64b ± 0.05	0.46c ± 0.02	0.64b ± 0.06	***
Kampferol-3-glucósido	1.73a ± 1.10	1.53a ± 0.10	1.56a ± 0.24	0.04b ± 0.00	0.54b ± 0.06	**
Isoramnetina-3-glucósido	4.14d ± 2.87	11.90b ± 0.16	7.97c ± 0.37	25.08a ± 1.40	4.34d ± 0.15	***
Siringetina-3-glucósido	2.10 ± 3.35	0.69 ± 0.14	0.74 ± 0.08	nd	0.53 ± 0.02	ns

Tabla 8. 10 Flavonoles individuales expresados en mg/L en vinos de Monastrell y en los de las nuevas VACF durante la campaña 2018. Los datos representan las medias ± desviación estándar. Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas de acuerdo al test de LSD ($p < 0.05$). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** ($p < 0,001$), 99%** ($p < 0,01$) y 95%* ($p < 0,05$).

	MON	MC80	MC98	MS10	MC4	p-value
2019						
Miricetina-3-galactósido	0.09b ± 0.02	nd	nd	0.16a ± 0.00	0.10b ± 0.00	***
Miricetina-3-glucósido	4.94c ± 0.05	8.83a ± 0.09	4.87c ± 0.61	7.21b ± 0.32	2.60d ± 0.29	***
Quercetin-3-galactósido	1.58cd ± 0.03	5.15b ± 0.02	1.67c ± 0.02	7.52a ± 0.04	1.48d ± 0.13	***
Quercetina-3-glucurónido	10.49d ± 0.07	23.88b ± 0.08	7.33e ± 0.09	42.73a ± 0.03	10.95c ± 0.12	***
Quercetina-3-glucósido	1.41d ± 0.02	4.53b ± 0.01	1.35d ± 0.03	6.50a ± 0.08	1.62c ± 0.03	***
Laricitrina-3-glucósido	0.42d ± 0.00	5.37a ± 0.05	3.61b ± 0.35	3.45b ± 0.13	2.11c ± 0.14	***
Kampferol-3-galactósido	0.14b ± 0.01	0.36a ± 0.02	nd	0.35a ± 0.05	nd	***
Kampferol-3-glucósido	0.06a ± 0.01	nd	nd	nd	nd	***
Isoramnetina-3-glucósido	6.10c ± 0.03	15.77b ± 0.05	4.14d ± 0.18	36.58a ± 0.09	6.28c ± 0.20	***
Siringetina-3-glucósido	8.57d ± 0.06	20.01b ± 0.25	8.29d ± 0.25	40.77a ± 0.09	9.02c ± 0.30	***

Tabla 8. 11 Flavonoles individuales expresados en mg/L en vinos en Monastrell y en los de las nuevas VACF durante la campaña 2019. Los datos representan las medias ± desviación estándar. Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas de acuerdo al test de LSD ($p < 0.05$). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** ($p < 0,001$), 99%** ($p < 0,01$) y 95%* ($p < 0,05$).

	MON	MC80	MC98	MS10	MC4	p-value
	2020					
Miricetina-3-galactósido	0.01e ± 0.00	0.88b ± 0.01	0.83c ± 0.01	1.40a ± 0.01	0.49d ± 0.01	***
Miricetina-3-glucósido	4.31d ± 0.08	6.85a ± 0.05	5.92b ± 0.02	5.67c ± 0.02	2.72e ± 0.01	***
Quercetin-3-galactósido	2.36e ± 0.07	7.85b ± 0.04	4.27c ± 0.01	11.51a ± 0.12	3.41d ± 0.01	***
Quercetina-3-glucurónido	13.80e ± 0.10	41.03b ± 0.06	26.67c ± 0.06	66.61a ± 0.11	23.04d ± 0.01	***
Quercetina-3-glucósido	1.50e ± 0.00	6.96b ± 0.03	3.87c ± 0.01	8.95a ± 0.06	3.02d ± 0.03	***
Laricitrina-3-glucósido	0.47e ± 0.02	4.19a ± 0.01	3.15b ± 0.01	2.92c ± 0.03	1.91d ± 0.01	***
Kampferol-3-galactósido	0.30d ± 0.04	0.61b ± 0.02	0.45c ± 0.02	0.94a ± 0.03	0.22e ± 0.01	***
Kampferol-3-glucósido	0.21e ± 0.01	0.45b ± 0.03	0.32c ± 0.00	0.55a ± 0.02	0.28d ± 0.00	***
Isoramnetina-3-glucósido	11.23d ± 0.07	18.26b ± 0.05	13.91c ± 0.03	56.53a ± 0.14	11.04e ± 0.05	***
Siringetina-3-glucósido	7.33e ± 0.07	25.70b ± 0.11	12.77c ± 0.02	46.78a ± 0.10	11.84d ± 0.04	***

Tabla 8. 12 Flavonoles individuales expresados en mg/L en vinos de Monastrell y en los de las nuevas VACF durante la campaña 2020. Los datos representan las medias ± desviación estándar. Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas de acuerdo al test de LSD ($p < 0.05$). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** ($p < 0,001$), 99%** ($p < 0,01$) y 95%* ($p < 0,05$).

	Monastrell	MC80	MC98	MS10	MC4	p-value
2018						
¹ EGC-Ext ²	64.53d ± 4.63	464.37a ± 40.21	369.81b ± 15.06	150.21c ± 6.64	46.44d ± 2.16	***
Catequina-Ext	10.42d ± 1.04	45.41a ± 1.88	36.99b ± 2.04	15.17c ± 0.66	6.19e ± 0.44	***
Epicatequina-Ext	183.93d ± 12.64	685.97a ± 59.48	613.40b ± 12.16	331.01c ± 12.03	119.03e ± 5.84	***
Catequina-T ³	35.04d ± 2.11	182.43a ± 14.75	90.13b ± 4.44	66.15c ± 0.47	25.57d ± 0.75	***
⁴ EPI-GAL-Ext	15.16d ± 0.90	61.83a ± 7.99	28.71c ± 0.31	40.12b ± 1.52	5.39e ± 0.40	***
Epicatequina-T	7.11c ± 0.52	43.69a ± 14.28	13.10bc ± 3.57	19.59b ± 0.54	4.61c ± 0.08	***
EPI-GAL-T	127.32d ± 9.99	266.23b ± 5.62	250.67b ± 5.57	487.81a ± 15.74	171.52c ± 3.79	***
2019						
¹ EGC-Ext ²	72.64d ± 2.23	560.48a ± 14.52	394.07b ± 45.84	144.34c ± 3.88	42.68d ± 7.66	***
Catequina-Ext	10.84c ± 0.26	35.01a ± 8.91	40.09a ± 4.06	22.49b ± 0.94	7.07c ± 1.32	***
Epicatequina-Ext	238.19c ± 5.45	746.39a ± 24.52	690.88a ± 78.53	348.31b ± 9.00	129.73d ± 20.31	***
Catequina-T ³	43.00d ± 1.25	159.19a ± 4.89	113.73b ± 10.37	83.03c ± 2.54	37.07d ± 4.31	***
⁴ EPI-GAL-Ext	18.20c ± 1.54	94.78a ± 2.41	73.75b ± 12.22	67.64b ± 2.65	25.45c ± 3.40	***
Epicatequina-T	37.48c ± 1.46	64.60a ± 6.08	30.43c ± 2.70	51.53b ± 1.47	53.87b ± 5.75	***
EPI-GAL-T	34.19d ± 11.58	76.77b ± 5.15	56.52c ± 6.31	138.94a ± 17.90	18.53d ± 3.23	***
2020						
¹ EGC-Ext ²	151.51cd ± 6.19	732.08a ± 98.80	455.45b ± 43.95	238.04c ± 20.44	130.14d ± 2.96	***
Catequina-Ext	20.44c ± 1.67	77.02a ± 10.04	54.07b ± 10.12	29.60c ± 6.06	25.80c ± 1.79	***
Epicatequina-Ext	443.35bc ± 15.84	923.51a ± 120.75	917.46a ± 86.84	543.44b ± 50.94	383.20c ± 7.66	***
Catequina-T ³	129.41cd ± 3.54	324.29a ± 29.25	188.91b ± 20.41	158.70bc ± 21.86	108.38d ± 2.75	***
⁴ EPI-GAL-Ext	29.39c ± 0.88	95.63a ± 14.81	59.21b ± 2.77	62.94b ± 6.09	25.53c ± 0.85	***
Epicatequina-T	13.66d ± 0.20	141.35a ± 19.53	63.59b ± 4.00	42.00c ± 4.30	28.19cd ± 1.15	***
EPI-GAL-T	3.92cd ± 0.34	9.38b ± 0.39	5.12c ± 0.68	11.91a ± 1.66	2.66d ± 0.02	***

Tabla 8. 13 Concentración de compuestos individuales de las PAs expresados en mg/L en los vinos de Monastrell y las nuevas VACF durante las campañas 2018, 2019 y 2020. Abreviaturas: ¹EGC: epigallocatequina, ²Ext: extensión, ³T: terminal, ⁴EPI-GAL: epigallocatequina-3-orto-galato. Los datos representan las medias ± desviación estándar. Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas de acuerdo al test de LSD (p<0.05).

Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** (p < 0,001), 99%** (p < 0,01) y 95%* (p < 0,05).

	Monastrell	T4	T11	T75	T81	T82	p-value
2020							
Delfidina-3-glucósido	2178.04d ± 309	11955.81c ± 699	16041.06b ± 870	-	13545.77c ± 1080	19328.36a ± 1745	***
Cianidina-3-glucósido	3232.73c ± 825	3299.02c ± 717	8270.10a ± 886	-	2282.75c ± 7	5882.24b ± 209	***
Petunidina-3-glucósido	2598.71e ± 288	11419.59b ± 210	16645.36a ± 760	-	5709.94d ± 468	7374.12c ± 700	***
Peonidina-3-glucósido	4243.39b ± 867	7299.79a ± 230	6980.72a ± 621	-	2125.96c ± 120	4825.80b ± 270	***
Malvidina-3-glucósido	11371.84c ± 1046	40921.07a ± 3669	39544.85a ± 2402	-	22940.92b ± 2236	24108.39b ± 2191	***
Delfinidina-3-acetil-glucósido	117.30e ± 12	3594.27d ± 262	5863.41b ± 431	-	5013.82c ± 148	7809.40a ± 760	***
Cianidina-3-acetil-glucósido	149.22d ± 27	1160.51c ± 132	3689.86a ± 325	-	1230.83c ± 59	2887.37b ± 187	***
Petunidina-3-acetil-glucósido	183.71d ± 12	5093.88b ± 201	8889.73a ± 465	-	3501.80c ± 138	5021.01b ± 527	***
Peonidina-3-acetil-glucósido	187.30d ± 25	2482.90b ± 16	2787.03a ± 248	-	1099.47c ± 60	2511.60b ± 101	***
Malvidina-3-acetil-glucósido	899.58c ± 29	20570.90a ± 2448	20847.30a ± 1160	-	16103.22b ± 870	19814.87a ± 1953	***
Malvidina-3-cumaril glucósido (cis)	152.58b ± 9	296.40a ± 67	187.63b ± 12	-	69.91c ± 15	81.13c ± 11	***
Delfinidina-3-cumaril-glu/peonidn-3-cafeoil	308.24c ± 29	1193.09b ± 192	1531.99a ± 44	-	1102.54b ± 99	1203.11b ± 206	***
Malvidina-3-cafeoil-glucósido	47.75d ± 5	345.85ab ± 109	419.95a ± 36	-	221.50c ± 46	292.83bc ± 4	***
Cianidina-3-cumaril-glucósido	394.77d ± 42	566.68c ± 37	1467.05a ± 71	-	481.09cd ± 54	734.06b ± 64	***
Petunidina-3-cumaril-glucósido	607.38d ± 26	2020.96b ± 207	2571.06a ± 61	-	865.51c ± 45	923.88c ± 113	***
Peonidina-3-cumaril- glucósido	540.66d ± 51	1356.76a ± 71	1141.38b ± 69	-	419.60e ± 25	651.21c ± 36	***
Malvidina-3-cumaril glucósido (trans)	2885.18c ± 46	10923.79a ± 1667	7939.97b ± 656	-	3973.23c ± 165	3627.59c ± 460	***

Tabla 8. 14 Antocianos individuales ($\mu\text{g/g}$ hollejo) en uvas de Monastrell y nuevas VBGA en la campaña 2020. Los datos representan las medias \pm desviación estándar. Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas de acuerdo al test de LSD ($p < 0.05$). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** ($p < 0,001$), 99%** ($p < 0,01$) y 95%* ($p < 0,05$).

	Monastrell	T4	T11	T75	T81	T82	p-value
	2021						
Delfidina-3-glucósido	1485.11d ± 149	5161.38c ± 429	5789.06c ± 629	11054.36a ± 376	9187.69b ± 630	11255.66a ± 356	***
Cianidina-3-glucósido	1712.16d ± 90	856.10e ± 89	1998.00c ± 233	2856.90a ± 177	946.81e ± 101	2393.34b ± 115	***
Petunidina-3-glucósido	1998.09e ± 183	5414.58c ± 293	6202.89b ± 493	7197.24a ± 201	4064.75d ± 229	2488.54e ± 166	***
Peonidina-3-glucósido	3006.56b ± 306	3115.72b ± 220	2496.03c ± 315	8247.30a ± 224	1218.49d ± 85	2367.22c ± 17	***
Malvidina-3-glucósido	8506.47d ± 120	25317.07a ± 202	19257.56b ± 1312	23984.27a ± 165	18214.92b ± 1085	16096.21c ± 1255	***
Delfinidina-3-acetil-glucósido	62.98f ± 2	1508.70d ± 103	2236.03c ± 250	675.92e ± 31	3688.45b ± 182	4475.36a ± 140	***
Cianidina-3-acetil-glucósido	46.77d ± 6	312.10c ± 72	960.87a ± 94	251.27c ± 15	456.35b ± 31	993.20a ± 35	***
Petunidina-3-acetil-glucósido	84.35f ± 3	2275.49d ± 86	3504.80a ± 310	644.94e ± 14	2575.47c ± 143	2870.21b ± 92	***
Peonidina-3-acetil-glucósido	94.61d ± 14	937.80b ± 42	951.57b ± 88	551.62c ± 10	574.69c ± 31	1101.26a ± 35	***
Malvidina-3-acetil-glucósido	549.40e ± 19	12641.93b ± 207	11060.55c ± 645	2535.41d ± 27	14303.24a ± 817	12653.91b ± 896	***
Malvidina-3-cumaril glucósido (cis)	nd	102.83a ± 16	22.88c ± 1	69.80b ± 2	4.75d ± 2	nd	***
Delfinidina-3-cumaril-glu/peonidn-3-cafeoil	153.14e ± 5	722.29d ± 42	679.11d ± 91	1272.27a ± 32	987.80b ± 77	834.60c ± 12	***
Malvidina-3-cafeoil-glucósido	25.27d ± 3	102.15b ± 11	63.27c ± 11	103.31b ± 12	134.39a ± 11	78.48c ± 3	***
Cianidina-3-cumaril-glucósido	223.40cd ± 29	152.57e ± 29	415.09b ± 67	478.97a ± 26	203.01de ± 7	269.01c ± 20	***
Petunidina-3-cumaril-glucósido	364.71e ± 7	1116.48b ± 47	1040.05b ± 125	1305.85a ± 12	644.97c ± 32	501.28d ± 3	***
Peonidina-3-cumaril- glucósido	383.39d ± 57	645.69b ± 50	470.95c ± 63	1661.07a ± 50	182.21e ± 10	244.69e ± 11	***
Malvidina-3-cumaril glucósido (trans)	1987.04f ± 71	7548.21a ± 72	4678.51c ± 393	6697.63b ± 79	3725.73d ± 211	2488.54e ± 166	***

Tabla 8. 15 Antocianos individuales ($\mu\text{g/g}$ hollejo) en uvas de Monastrell y nuevas VBGA en la campaña 2021. Los datos representan las medias \pm desviación estándar. Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas de acuerdo al test de LSD ($p < 0.05$). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** ($p < 0,001$), 99%** ($p < 0,01$) y 95%* ($p < 0,05$).

	Monastrell	T4	T11	T75	T81	T82	p-value
2020							
Miricetina-3-glucósido	430.92c ± 46	816.85b ± 11	598.00bc ± 10	-	1236.71a ± 159	1262.12a ± 315	***
Quercetina-3-glucósido/Laricitrina-3-glucósido	504.89b ± 70	739.01b ± 48	545.14b ± 19	-	1543.77a ± 245	1582.05a ± 282	***
Kampferol-3-galactósido	46.08b ± 11	41.12b ± 4	8.36c ± 2	-	107.88a ± 21	88.82a ± 21	***
Kampferol-3-glucósido/Siringetina-3-glucósido	34.71c ± 4	94.00a ± 2	16.69c ± 1	-	73.00ab ± 13	71.66b ± 23	***
Isoramnetina-3-glucósido	119.71c ± 17	419.37b ± 9	479.97ab ± 79	-	530.26a ± 88	521.88ab ± 52	***
Quercetina-3-glucurónido	3.15b ± 2	23.70a ± 10	14.51a ± 2	-	15.48a ± 8	14.58a ± 4	*
2021							
Miricetina-3-glucósido	296.46c ± 33	722.65b ± 69	703.36b ± 80	738.25b ± 19	1231.07a ± 110	1299.09a ± 11	***
Quercetina-3-glucósido/Laricitrina-3-glucósido	506.62c ± 39	570.95c ± 93	422.78c ± 72	915.07b ± 103	1015.82b ± 113	1265.20a ± 94	***
Kampferol-3-galactósido	42.31bc ± 5	30.89c ± 9	3.57d ± 1	57.21ab ± 19	59.30ab ± 9	70.80a ± 8	***
Kampferol-3-glucósido/Siringetina-3-glucósido	17.24d ± 3	87.66a ± 6	41.45c ± 8	73.40ab ± 16	66.91b ± 6	67.76b ± 3	***
Isoramnetina-3-glucósido	112.21c ± 26	312.35ab ± 45	323.04ab ± 79	349.98ab ± 47	288.61b ± 42	380.74a ± 15	***
Quercetina-3-glucurónido	nd	36.15b ± 5	28.58c ± 6	43.32a ± 1	24.70c ± 4	17.87d ± 1	***

Tabla 8. 16 Flavonoles individuales ($\mu\text{g/g}$ hollejo) en Monastrell y las nuevas VBGA durante las campañas 2020 y 2021. Los datos representan las medias \pm desviación estándar. Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas de acuerdo al test de LSD ($p < 0.05$). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** ($p < 0,001$), 99%** ($p < 0,01$) y 95%* ($p < 0,05$).

	Monastrell	T4	T11	T75	T81	T82	p-value
2020							
¹ EGC-Ext ²	274.81d ± 50.52	620.18bc ± 21.68	1238.70a ± 35.30	-	595.55c ± 62.96	692.04b ± 69.13	***
Catequina-Ext	13.48c ± 0.55	12.76c ± 4.33	26.84b ± 1.63	-	21.63bc ± 10.05	46.35a ± 4.05	***
Epicatequina-Ext	679.53b ± 118.09	321.77c ± 17.12	1216.68a ± 42.40	-	426.67c ± 10.53	676.73b ± 46.15	***
Catequina-T ³	41.85c ± 9.59	36.80c ± 0.17	141.28a ± 7.84	-	34.12c ± 2.55	70.92b ± 3.40	***
⁴ EPI-GAL-Ext	13.88c ± 2.04	9.57c ± 1.28	37.89a ± 2.60	-	26.11b ± 2.25	42.46a ± 6.39	***
Epicatequina-T	19.84b ± 5.76	66.88a ± 28.52	77.63a ± 22.21	-	64.87a ± 17.31	56.86a ± 17.71	*
EPI-GAL-T	nd	nd	nd	-	2.26a ± 1.65	nd	*
2021							
¹ EGC-Ext ²	92.97d ± 20.60	493.29b ± 27.31	780.98a ± 95.21	416.77bc ± 22.08	435.30bc ± 30.21	402.04c ± 33.26	***
Catequina-Ext	7.86c ± 1.39	8.42c ± 0.93	17.61b ± 2.63	15.46b ± 2.29	9.79c ± 2.05	25.45a ± 5.59	***
Epicatequina-Ext	274.72c ± 34.11	275.56c ± 16.57	812.29a ± 137.14	373.31bc ± 27.97	332.13c ± 11.84	459.38b ± 54.04	***
Catequina-T ³	21.34c ± 2.21	38.75b ± 3.74	90.47a ± 16.26	45.43b ± 4.47	24.89c ± 4.41	51.56b ± 4.30	***
⁴ EPI-GAL-Ext	7.05e ± 0.97	7.05e ± 0.25	27.56b ± 6.50	38.08a ± 2.27	13.62d ± 0.67	21.41c ± 3.28	***
Epicatequina-T	6.23c ± 1.25	3.74c ± 1.19	38.45a ± 5.77	14.79b ± 1.07	13.31b ± 2.05	37.46a ± 4.27	***
EPI-GAL-T	nd	nd	nd	nd	nd	nd	ns

Tabla 8. 17 Concentración de compuestos de PAs individuales expresados en µg/ g hollejo en Monastrell y las nuevas VBGA durante las campañas 2020 y 2021. Abreviaturas: ¹EGC: epigalocatequina, ²Ext: extensión, ³T: terminal, ⁴EPI-GAL: epigalocatequina-3-orto-galato. Los datos representan las medias ± desviación estándar. Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas de acuerdo al test de LSD (p<0.05). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** (p < 0,001), 99%** (p< 0,01) y 95%* (p< 0,05).

	Monastrell	T4	T11	T75	T81	T82	p-value
2020							
Catequina-Ext¹	174.53c ± 20.04	275.60a ± 25.21	266.25a ± 5.89	-	253.11a ± 13.22	215.57b ± 6.97	***
Epicatequina-Ext	1301.02d ± 143.50	2155.18b ± 130.46	2437.44a ± 98.48	-	2011.05b ± 93.48	1607.73c ± 66.80	***
Catequina-T²	109.69c ± 14.84	219.97a ± 37.83	176.43ab ± 35.32	-	214.22a ± 21.42	165.82b ± 12.40	**
³EPI-GAL-Ext	367.11c ± 56.67	583.40b ± 47.59	697.38a ± 35.12	-	649.42ab ± 6.44	345.90c ± 18.34	***
Epicatequina-T	107.64c ± 14.78	241.91a ± 36.41	262.03a ± 30.35	-	184.55b ± 24.74	148.69bc ± 19.41	***
EPI-GAL-T	118.52d ± 12.36	193.67c ± 13.69	272.10a ± 24.54	-	240.99b ± 10.75	142.08d ± 17.90	***
2021							
Catequina-Ext¹	158.23cd ± 25.65	186.36bc ± 10.98	215.92ab ± 23.67	218.93a ± 12.19	206.28ab ± 14.29	139.80d ± 17.77	***
Epicatequina-Ext	1493.41c ± 183.65	1472.60c ± 59.93	2241.67a ± 155.42	2045.39a ± 71.53	1769.25b ± 54.25	1072.14d ± 161.51	***
Catequina-T²	132.52bc ± 30.92	161.11b ± 7.18	239.64a ± 16.95	242.02a ± 12.45	212.74a ± 11.85	124.48c ± 20.89	***
³EPI-GAL-Ext	324.64c ± 37.69	348.60c ± 23.95	528.77a ± 22.95	526.69a ± 22.70	442.36b ± 13.76	203.81d ± 32.75	***
Epicatequina-T	156.14cd ± 49.37	169.57c ± 3.68	296.09a ± 43.41	235.84b ± 10.56	184.94bc ± 12.77	108.21d ± 21.76	***
EPI-GAL-T	179.07d ± 23.47	192.25d ± 16.30	349.98b ± 27.95	403.57a ± 5.87	302.38c ± 15.46	142.19e ± 22.34	***

Tabla 8. 18 Concentración de compuestos de PAs individuales expresados en µg/ g semillas en Monastrell y las nuevas VBGA durante las campañas 2020 y 2021. Abreviaturas: ¹(Ext): extensión, ²(T): Terminal, ³(EPI-GAL): epigallocatequina-3-orto-galato. Los datos representan las medias ± desviación estándar. Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas de acuerdo al test de LSD (p<0.05). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** (p < 0,001), 99%** (p< 0,01) y 95%* (p< 0,05).

	Monastrell	T4	T11	T75	T81	T82	p-value
	2020						
Delfidina-3-glucósido	30.09f ± 0.19	127.30b ± 0.50	77.60e ± 0.08	89.49d ± 0.07	167.74a ± 0.68	111.62c ± 0.18	***
Cianidina-3-glucósido	13.85f ± 0.20	20.43b ± 0.38	17.99c ± 0.13	24.83a ± 0.12	14.59e ± 0.32	16.22d ± 0.14	***
Petunidina-3-glucósido	49.40f ± 0.13	145.76a ± 0.60	93.32b ± 0.10	65.62d ± 0.14	89.55c ± 0.44	57.51e ± 0.16	***
Peonidina-3-glucósido	45.62c ± 0.22	87.42b ± 0.47	33.44d ± 0.38	94.17a ± 0.07	30.33e ± 1.16	33.59d ± 0.25	***
Malvidina-3-glucósido	264.67c ± 0.79	530.53a ± 1.46	257.46d ± 0.37	200.59f ± 0.95	397.66b ± 0.30	226.50e ± 0.23	***
Vitisina A	2.01e ± 0.09	7.95a ± 0.12	5.33cd ± 0.25	5.75bc ± 0.13	4.87d ± 0.59	6.12b ± 0.16	***
Delfinidina-3-acetil-glucósido	4.76e ± 0.10	17.44a ± 0.28	14.83b ± 0.34	8.14d ± 0.14	13.24c ± 0.14	13.06c ± 0.25	***
Vitisina B	5.63b ± 0.16	3.41c ± 0.49	3.17c ± 0.07	8.06a ± 0.17	3.48c ± 0.18	3.10c ± 0.13	***
Acetil vitisina A	5.06c ± 0.25	6.53b ± 0.34	4.87c ± 0.28	5.85bc ± 1.23	7.54a ± 0.18	4.91c ± 0.11	***
Cianidina-3-acetil-glucósido	5.08f ± 0.33	64.78c ± 0.53	56.42d ± 0.49	16.71e ± 3.29	85.57a ± 0.62	71.31b ± 0.35	***
Petunidina-3-acetil-glucósido	13.16f ± 0.31	104.97b ± 0.49	112.03a ± 0.76	28.39e ± 0.38	93.46c ± 0.47	82.20d ± 0.46	***
Peonidina-3-acetil-glucósido	5.37e ± 0.21	22.70b ± 0.72	26.35a ± 3.09	8.84d ± 0.14	28.04a ± 0.48	19.24c ± 0.35	***
Malvidina acetil/delfinidina cumaril¹	28.03f ± 0.29	288.04a ± 0.89	182.38d ± 0.98	40.47e ± 0.74	273.48b ± 0.75	199.29c ± 0.18	***
Peonidina-3-cafeoilil-glucósido	3.27e ± 0.02	11.28c ± 0.24	12.41a ± 0.45	9.00d ± 0.56	11.71bc ± 0.36	12.26ab ± 0.17	***
Cianidina-3-cafeoilil-glucósido/cumaril-glucósido	7.54d ± 0.26	12.70b ± 0.45	20.28a ± 0.30	8.38c ± 0.21	6.87e ± 0.10	19.81a ± 0.10	***
Petunidina-3-cumaril-glucósido	6.11e ± 0.18	29.64a ± 0.94	21.36c ± 1.20	21.95c ± 0.82	23.68b ± 0.09	17.89d ± 0.22	***
Malvidina-3-cumaril-glucósido (cis)	10.66e ± 0.10	24.79a ± 0.67	25.43a ± 1.19	15.84d ± 0.24	23.52b ± 0.18	18.27c ± 0.26	***
Peonidina-3-cumaril-glucósido	0.44e ± 0.05	6.67b ± 0.44	7.79a ± 0.39	6.89b ± 0.45	5.81c ± 0.14	4.65d ± 0.15	***
Malvidina-3-cumaril-glucósido (trans)	41.01b ± 0.28	85.27a ± 1.49	32.89c ± 1.81	30.09d ± 0.88	40.30b ± 0.59	21.27e ± 0.11	***

Tabla 8. 19 Antocianos individuales en vinos (mg/L) de Monastrell y en los de las nuevas VBGA en la campaña 2020. Los datos representan las medias ± desviación estándar. Abreviaturas: ¹ (Malvidina acetil/delfinidina cumaril): malvidina-3-acetil-glucósido/delfinidina-3-cumaril-glucósido. Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas de acuerdo al test de LSD (p<0.05). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** (p < 0,001), 99%** (p< 0,01) y 95%* (p< 0,05).

	Monastrell	T4	T11	T75	T81	T82	p-value
	2021						
Delfidina-3-glucósido	26.55f ± 0.04	93.60e ± 0.57	118.76d ± 0.23	147.85c ± 2.24	214.99b ± 0.17	227.46a ± 0.22	***
Cianidina-3-glucósido	13.53d ± 0.14	7.67f ± 0.06	22.10b ± 0.19	21.02c ± 0.33	9.81e ± 0.07	23.64a ± 0.06	***
Petunidina-3-glucósido	44.56d ± 0.24	127.67b ± 0.13	155.54a ± 1.08	127.09b ± 0.59	125.58b ± 0.48	119.23c ± 2.54	***
Peonidina-3-glucósido	52.45b ± 1.19	49.90bc ± 5.53	43.65c ± 1.86	120.19a ± 3.92	43.16c ± 8.00	58.39b ± 5.02	***
Malvidina-3-glucósido	233.01d ± 2.72	712.92a ± 5.02	590.00b ± 1.41	517.39c ± 1.73	712.93a ± 19.79	608.90b ± 38.11	***
Vitisina A	2.48c ± 0.30	8.64a ± 0.20	9.31a ± 0.10	9.59a ± 1.12	6.76b ± 1.20	6.73b ± 0.50	***
Delfinidina-3-acetil-glucósido	1.22e ± 0.04	4.45d ± 0.04	5.33c ± 0.10	7.94a ± 0.54	6.65b ± 0.03	5.59c ± 0.22	***
Vitisina B	0.66f ± 0.09	34.20d ± 0.15	56.39c ± 0.15	15.48e ± 0.77	99.44b ± 1.32	109.41a ± 1.14	***
Acetil vitisina A	0.27e ± 0.07	2.56c ± 0.17	3.99a ± 0.01	1.19d ± 0.43	3.96a ± 0.46	3.45b ± 0.10	***
Cianidina-3-acetil-glucósido	0.37e ± 0.18	5.03d ± 0.14	22.21b ± 0.28	5.79d ± 0.95	11.12c ± 2.58	24.83a ± 0.81	***
Petunidina-3-acetil-glucósido	1.08f ± 0.34	53.26d ± 0.47	85.57a ± 0.45	16.00e ± 0.67	71.20c ± 1.13	74.31b ± 1.92	***
Peonidina-3-acetil-glucósido	0.77e ± 0.06	1.48d ± 0.09	2.11c ± 0.03	3.73a ± 0.46	3.15b ± 0.30	2.12c ± 0.48	***
Malvidina acetil/delfinidina cumaril¹	14.55f ± 0.05	335.94d ± 1.51	340.76c ± 0.48	88.19e ± 4.72	470.42a ± 2.63	412.06b ± 0.87	***
Peonidina-3-cafeoilil-glucósido	0.10e ± 0.03	1.26b ± 0.12	1.26b ± 0.03	1.51a ± 0.06	1.00c ± 0.08	0.70d ± 0.07	***
Cianidina-3-cafeoilil-glucósido/cumaril-glucósido	2.77f ± 0.07	14.09e ± 0.20	14.88d ± 0.14	17.29c ± 0.12	23.95a ± 0.20	18.24b ± 0.37	***
Petunidina-3-cumaril-glucósido	1.97e ± 0.07	4.00bc ± 0.32	4.45b ± 0.24	3.81c ± 0.10	5.00a ± 0.18	3.27d ± 0.51	***
Malvidina-3-cumaril-glucósido (cis)	7.83f ± 0.04	21.09c ± 0.36	25.61a ± 0.11	24.38b ± 0.17	19.99d ± 0.45	16.66e ± 0.36	***
Peonidina-3-cumaril-glucósido	3.41c ± 0.05	7.60b ± 0.43	6.48b ± 0.28	17.16a ± 1.71	3.21c ± 0.16	4.48c ± 0.25	***
Malvidina-3-cumaril-glucósido (trans)	26.64e ± 0.07	106.51a ± 0.81	79.15c ± 0.35	80.94bc ± 2.13	82.18b ± 1.45	60.07d ± 0.25	***

Tabla 8. 20 Antocianos individuales en vinos (mg/L) de Monastrell y en los de las nuevas VBGA en la campaña 2021. Los datos representan las medias ± desviación estándar. Abreviaturas: ¹ (Malvidina acetil/delfinidina cumaril): malvidina-3-acetil-glucósido/delfinidina-3-cumaril-glucósido. Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas de acuerdo al test de LSD (p<0.05). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** (p < 0,001), 99%** (p< 0,01) y 95%* (p< 0,05).

	Monastrell	T4	T11	T75	T81	T82	p-value
	2020						
Miricetina-3-galactósido	0.01f ± 0.00	1.43a ± 0.02	1.02b ± 0.00	0.03e ± 0.00	0.83c ± 0.01	0.64d ± 0.02	***
Miricetina-3-glucósido	4.31b ± 0.08	7.24a ± 0.04	3.59c ± 0.00	2.35f ± 0.01	3.05d ± 0.04	2.62e ± 0.03	***
Quercetin-3-galactosido	2.36f ± 0.07	6.56c ± 0.02	3.65d ± 0.01	2.90e ± 0.01	9.72a ± 0.09	6.98b ± 0.02	***
Quercetina-3-glucurónido	13.80f ± 0.10	27.11b ± 0.02	19.00d ± 0.03	17.11e ± 0.09	41.99a ± 0.09	19.75c ± 0.02	***
Quercetina-3-glucósido	1.50e ± 0.00	4.07c ± 0.04	4.41ab ± 0.00	1.97d ± 0.03	4.46a ± 0.03	4.38b ± 0.03	***
Laricitrina-3-glucósido	0.47e ± 0.02	4.80a ± 0.02	2.99b ± 0.01	0.49e ± 0.01	2.71d ± 0.01	2.81c ± 0.03	***
Kampferol -3-galactósido	0.30f ± 0.04	0.86b ± 0.03	1.01a ± 0.01	0.43e ± 0.02	0.72c ± 0.01	0.54d ± 0.00	***
Kampferol-3-glucósido	0.21d ± 0.01	0.38a ± 0.01	0.31bc ± 0.02	0.28c ± 0.02	0.37a ± 0.03	0.32b ± 0.03	***
Isoramnetina-3-glucósido	11.23d ± 0.07	14.71c ± 0.03	4.48e ± 0.00	28.15a ± 0.06	21.78b ± 0.11	1.74f ± 0.07	***
Siringetina-3-glucósido	7.33f ± 0.07	26.58b ± 0.04	24.33d ± 0.00	22.60e ± 0.08	26.45c ± 0.07	27.04a ± 0.07	***

Tabla 8. 21 Flavonoles individuales expresados en mg/L en vinos de Monastrell y en los de las nuevas VBGA durante la campaña 2020. Los datos representan las medias ± desviación estándar. Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas de acuerdo al test de LSD ($p < 0.05$). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** ($p < 0,001$), 99%** ($p < 0,01$) y 95%* ($p < 0,05$).

	Monastrell	T4	T11	T75	T81	T82	p-value
	2021						
Miricetina-3-galactósido	0.09c ± 0.01	0.05d ± 0.00	0.03d ± 0.00	0.02d ± 0.04	0.33a ± 0.00	0.12b ± 0.01	***
Miricetina-3-glucósido	4.31e ± 0.12	14.15a ± 0.08	12.57b ± 0.29	10.43c ± 0.04	9.77d ± 0.04	10.31c ± 0.06	***
Quercetin-3-galactosido	0.13b ± 0.00	0.18b ± 0.02	0.30b ± 0.03	0.20b ± 0.25	0.78a ± 0.02	0.64a ± 0.11	***
Quercetina-3-glucurónido	5.63f ± 0.00	19.35d ± 0.06	22.90b ± 0.02	16.08e ± 0.05	22.75c ± 0.09	48.98a ± 0.03	***
Quercetina-3-glucósido	0.85e ± 0.01	2.49c ± 0.04	4.35b ± 0.03	2.09d ± 0.12	4.23b ± 0.19	4.59a ± 0.05	***
Laricitrina-3-glucósido	0.37e ± 0.00	8.14c ± 0.04	8.52b ± 0.10	1.94d ± 0.10	8.26c ± 0.18	8.71a ± 0.06	***
Kampferol -3-galactósido	0.14e ± 0.03	0.48c ± 0.03	0.97a ± 0.01	0.34d ± 0.04	0.68b ± 0.12	1.06a ± 0.02	***
Kampferol-3-glucósido	nd	0.15a ± 0.01	0.15a ± 0.02	0.01c ± 0.00	0.08b ± 0.01	0.07b ± 0.01	***
Isoramnetina-3-glucósido	2.93f ± 0.07	14.75d ± 0.12	15.15c ± 0.37	7.39e ± 0.10	19.79b ± 0.04	21.24a ± 0.21	***
Siringetina-3-glucósido	4.30f ± 0.02	12.54e ± 0.06	17.72b ± 0.10	15.66d ± 0.18	16.25c ± 0.02	22.50a ± 0.06	***

Tabla 8. 22 Flavonoles individuales expresados en mg/L en vinos de Monastrell y en los de las nuevas VBGA durante la campaña 2021. Los datos representan las medias ± desviación estándar. Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas de acuerdo al test de LSD ($p < 0.05$). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** ($p < 0,001$), 99%** ($p < 0,01$) y 95%* ($p < 0,05$).

	Monastrell	T4	T11	T75	T81	T82	p-value
2020							
¹ EGC-Ext ²	151.51e ± 6.19	653.66b ± 57.57	778.01a ± 29.26	443.27c ± 31.26	234.90d ± 16.55	459.37c ± 20.57	***
Catequina-Ext	20.44e ± 1.67	40.95c ± 5.05	56.38b ± 1.90	55.06b ± 4.41	31.70d ± 1.80	68.79a ± 4.35	***
Epicatequina-Ext	443.35d ± 15.84	766.43b ± 117.86	1217.95a ± 50.82	590.51c ± 61.85	399.62d ± 25.85	778.13b ± 29.61	***
Catequina-T ³	129.41e ± 3.54	261.47c ± 42.15	451.95a ± 17.80	303.72b ± 29.34	214.83d ± 5.71	280.89bc ± 11.99	***
⁴ EPI-GAL-Ext	29.39e ± 0.88	72.02c ± 4.17	106.15a ± 7.68	94.83b ± 6.22	53.62d ± 3.03	71.14c ± 8.29	***
Epicatequina-T	13.66e ± 0.20	56.81c ± 5.02	133.35a ± 4.77	69.64b ± 6.94	50.77c ± 5.81	40.90d ± 1.55	***
EPI-GAL-T	3.92c ± 0.34	3.98c ± 0.15	6.13a ± 0.21	5.18b ± 0.25	2.96d ± 0.12	3.88c ± 0.18	***
2021							
¹ EGC-Ext ²	63.43c ± 4.74	439.63b ± 23.54	702.26a ± 163.03	670.15a ± 48.88	505.68b ± 20.80	681.93a ± 6.23	***
Catequina-Ext	29.97abc ± 1.72	43.43ab ± 0.92	50.49a ± 9.58	24.43bc ± 2.19	11.31c ± 1.80	33.90ab ± 27.36	*
Epicatequina-Ext	241.54f ± 0.98	516.64d ± 30.58	1158.05a ± 132.71	759.33c ± 52.84	401.26e ± 20.72	948.39b ± 14.01	***
Catequina-T ³	49.95d ± 0.75	129.61c ± 6.18	269.58a ± 40.91	203.51b ± 11.02	115.62c ± 7.80	220.74b ± 11.87	***
⁴ EPI-GAL-Ext	14.14d ± 0.17	30.87c ± 3.17	69.26b ± 16.45	91.51a ± 8.60	31.88c ± 4.29	65.24b ± 0.58	***
Epicatequina-T	20.30d ± 0.45	42.51c ± 6.21	111.17a ± 28.61	80.35b ± 6.88	30.30cd ± 0.96	50.51c ± 3.48	***
EPI-GAL-T	8.60c ± 0.74	3.16d ± 0.33	12.54a ± 0.38	9.06c ± 0.21	3.57d ± 0.22	11.13b ± 1.49	***

Tabla 8. 23 Concentración de compuestos de PAs individuales expresados en mg/L en vinos de Monastrell y en los de las nuevas VBGA durante las campañas 2020 y 2021. Abreviaturas: ¹EGC: epigalocatequina, ²Ext: extensión, ³T: terminal, ⁴EPI-GAL: epigalocatequina-3-orto-galato. Los datos representan las medias ± desviación estándar. Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas de acuerdo al test de LSD (p<0.05). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** (p < 0,001), 99%** (p< 0,01) y 95%* (p< 0,05).

Variables	Funciones	
	1	2
Antocianos No acilados	0,72	-0,54
Antocianos Acilados	-0,72	0,54
Antocianos Acetatos	-12,10	-4,08
Antocianos Cumaratos	10,69	3,48
Flavonoles Mono-hidroxiados	1,32	-0,29
Flavonoles Di-hidroxiados	-2,03	2,33
Flavonoles Tri-hidroxiados	-0,10	-0,72
Epigallocatequina H ¹	5,41	6,37
Catequina extensión H	0,83	-2,31
Epicatequina extensión H	-3,82	-3,86
Catequina terminal H	-0,97	0,17
Epicatequina-3-O-galato extensión H	3,26	1,03
Epicatequina-3-O-galato terminal H	-3,97	-0,58
Catequina extensión S ²	-2,39	-1,09
Epicatequina extensión S	4,60	0,37
Catequina terminal S	0,62	2,39
Epicatequina-3-O-galato extensión S	-0,88	-0,03
Epicatequina-3-O-galato terminal S	-1,64	-2,96
Epicatequina terminal S	-0,83	1,16

Tabla 8. 24 Coeficientes discriminantes estandarizados en uvas para las funciones discriminantes 1 y 2. Abreviaturas: ¹Hollejo, ²Semilla.

Variables	Funciones	
	1	2
Antocianos No acilados	-1,38	-1,84
Antocianos Vitisinas	15,16	9,78
Antocianos Acilados	-5,79	-16,04
Antocianos Acetatos	12,71	7,53
Antocianos Cumaratos	0,32	5,47
Flavonoles Mono-hidroxilados	2,58	-4,15
Flavonoles Di-hidroxilados	-4,23	0,27
Flavonoles Tri-hidroxilados	-6,57	11,54
Epigallocatequina	-5,52	4,12
Catequina extensión	-3,43	0,04
Epicatequina extensión	6,72	-5,07
Catequina terminal	-5,79	4,80
Epicatequina-3-O-galato extensión	-0,46	-0,14
Epicatequina-3-O-galato terminal	0,53	0,50
Epicatequina-terminal	3,37	0,13

Tabla 8. 25 Coeficientes discriminantes estandarizados en los vinos para las funciones discriminantes 1 y 2.

	Verdejo	MC180	MC69	MT103	MV67	p-value
Linalool	0.70cd ± 0.25	12.11b ± 1.58	31.63a ± 4.34	nd	4.10c ± 0.55	***
HO-Trienol	0.29d ± 0.08	1.77c ± 0.09	3.20a ± 0.11	nd	2.65b ± 0.65	***
Alpha-Terpineol	1.17b ± 0.41	1.75b ± 0.35	3.18b ± 0.63	6.79a ± 4.15	4.07ab ± 0.51	*
Nerol	1.03 ± 0.37	3.35 ± 0.35	1.90 ± 0.26	4.97 ± 3.59	4.32 ± 0.01	ns
Oxido furánico de Linalol <i>cis</i>	4.55c ± 1.13	9.94b ± 1.14	18.40a ± 0.93	nd	5.53c ± 1.18	***
Oxido furánico de linalol <i>trans</i>	27.30a ± 8.26	3.31c ± 0.32	12.84b ± 1.86	nd	3.16c ± 0.67	***
Oxido piránico de linalol <i>trans</i>	5.18c ± 1.14	8.75b ± 1.18	23.90a ± 0.86	nd	8.38b ± 1.47	***
Oxido piránico de linalol <i>cis</i>	6.11a ± 1.87	3.69b ± 0.81	4.45ab ± 0.58	nd	4.23b ± 0.08	***
Diendiol I	3.21c ± 1.89	21.18b ± 8.40	64.72a ± 1.24	7.99c ± 4.41	5.28c ± 0.58	***
Diendiol II	6.76 ± 1.88	5.26 ± 1.14	6.07 ± 1.00	4.47 ± 1.39	4.30 ± 0.36	ns
Hidroxicitronelol	2.25a ± 1.52	2.73a ± 0.22	2.88a ± 0.46	2.84a ± 1.15	nd	*
E-8-Hidroxilinalol	10.91bc ± 4.35	12.75b ± 3.33	23.01a ± 1.22	9.92bc ± 2.21	7.61c ± 0.00	***
Z-8-Hidroxilinalol	12.90bc ± 4.49	70.43a ± 18.99	28.49b ± 0.75	14.83bc ± 1.67	10.86c ± 1.54	***
Ac geránico	5.56bc ± 1.92	26.94a ± 4.59	10.70b ± 1.34	7.74bc ± 3.73	4.54c ± 1.68	***
3,4-Dihidro-3-Oxo-Actinidol I	3.21c ± 2.20	6.03a ± 3.01	3.56bc ± 1.50	5.08ab ± 4.20	4.71abc ± 2.10	*
3,4-Dihidro-3-Oxo-Actinidol II	4.77 ± 1.42	6.80 ± 0.52	4.94 ± 0.33	6.71 ± 1.10	9.14 ± 0.18	ns
3,4-Dihidro-3-Oxo-Actinidol III	5.69 ± 3.24	8.12 ± 0.55	4.92 ± 0.08	7.58 ± 0.16	4.65 ± 0.71	ns
3-OH-Damascenona	4.72 ± 3.15	4.62 ± 0.89	4.20 ± 0.84	19.27 ± 15.72	17.15 ± 11.38	ns
3-OH-Damascona	30.60 ± 13.41	31.84 ± 4.30	18.54 ± 0.03	31.30 ± 5.94	23.04 ± 2.68	ns
3-OH-7,8-Dihidro-b-Ionona	4.24b ± 2.58	9.24b ± 1.31	9.51b ± 0.64	30.03a ± 8.87	10.55b ± 4.09	***
3-Oxo- α -Ionol	35.30b ± 10.86	34.38b ± 6.67	40.91ab ± 0.64	52.40a ± 8.10	17.32c ± 8.12	**
3-OH-7,8-Dihidro-b-Ionol	3.05 ± 1.78	4.37 ± 1.31	2.78 ± 0.62	7.47 ± 1.02	12.39 ± 8.61	ns
4-OH-7,8-Dihidro-b-Ionol	37.02b ± 13.35	76.61a ± 9.72	33.01b ± 2.40	63.28a ± 7.79	22.81b ± 11.17	***
3-Oxo-7,8-Dihidro- α -Ionol	11.50bc ± 3.53	18.56ab ± 7.19	6.86c ± 1.71	25.13a ± 1.64	7.97c ± 2.88	***
3-OH-7,8-Dehidro-b-Ionol	8.30bc ± 3.28	10.76b ± 2.06	8.26bc ± 0.26	15.01a ± 0.85	7.03c ± 1.60	**
Vomifoliol	20.53bc ± 8.57	16.46c ± 3.76	35.37a ± 8.62	29.17ab ± 4.75	20.34bc ± 2.21	*
1-butanol	5.90b ± 1.31	3.28c ± 0.38	7.33a ± 0.36	7.18ab ± 0.66	3.25c ± 0.55	***

3-penten-2-ol	0.93c ± 0.10	1.79bc ± 0.43	4.32a ± 0.21	3.01ab ± 1.56	4.48a ± 0.90	**
Isoamyl alcohol	4.46c ± 1.59	7.97b ± 1.00	40.74a ± 1.09	8.90b ± 0.36	4.97c ± 0.74	***
3-metil-3-buten-1-ol	11.66a ± 4.03	9.07ab ± 1.21	6.96b ± 0.52	10.70a ± 0.40	6.79b ± 0.40	*
2-heptanol	4.29c ± 0.80	5.13bc ± 1.28	13.41a ± 0.72	7.02b ± 2.74	13.69a ± 0.26	***
3-metil-2-buten-1-ol	10.06 ± 3.58	10.55 ± 1.64	10.15 ± 0.54	9.57 ± 0.99	5.95 ± 0.79	ns
1-octen-3-ol	6.29b ± 2.36	10.84b ± 3.36	6.03b ± 0.27	19.82a ± 10.07	6.56b ± 0.51	*
2-etil-1-hexanol	4.63b ± 1.55	5.91ab ± 1.85	6.91a ± 0.86	7.02a ± 0.08	4.14b ± 0.83	*
Alcohol bencílico	265.23a ± 82.61	181.21b ± 20.68	148.61bc ± 0.68	205.04ab ± 14.46	100.19c ± 21.29	**
Feniletanol	3.53 ± 1.04	2.69 ± 0.52	3.24 ± 0.49	3.31 ± 0.40	3.74 ± 0.62	ns
1-fenil-etanol	13.48 ± 17.73	3.43 ± 0.93	1.81 ± 0.66	5.72 ± 0.59	3.13 ± 0.34	ns
b-fenil etanol	117.36a ± 45.57	126.52a ± 16.00	95.46a ± 1.60	124.13a ± 9.94	48.94b ± 10.17	**
dodecanol	20.17 ± 19.60	10.91 ± 2.58	9.29 ± 0.03	10.91 ± 0.42	4.35 ± 0.45	ns
2-fenoxietanol	2.70b ± 1.42	5.59a ± 1.20	3.98ab ± 0.55	6.11a ± 2.08	5.42a ± 0.28	*
Fenol	2.72 ± 1.49	3.36 ± 0.88	2.22 ± 0.45	3.16 ± 0.25	4.05 ± 1.44	ns
4-vinil-guaicol	8.82 ± 5.64	8.33 ± 1.90	6.39 ± 0.30	12.66 ± 0.41	7.82 ± 0.28	ns
4-vinilfenol	4.20 ± 2.88	7.57 ± 0.97	3.69 ± 0.55	6.67 ± 2.57	4.23 ± 0.05	ns
Vainilina	20.41 ± 8.74	17.19 ± 2.16	16.06 ± 3.07	20.70 ± 19.46	19.10 ± 0.19	ns
Metil vanilato	4.66b ± 1.96	2.09b ± 0.79	2.76b ± 0.04	14.93a ± 10.83	3.32b ± 0.42	*
Acetovanilona	18.34a ± 5.88	11.42b ± 1.97	9.17bc ± 0.80	4.60c ± 1.05	7.41bc ± 2.10	**
3,4 dimetoxifenol	3.80b ± 1.17	7.65a ± 2.85	nd	5.26ab ± 2.98	3.79b ± 1.02	*
zingerona	10.29a ± 6.71	9.12a ± 1.28	nd	5.33ab ± 1.56	6.24a ± 0.79	*
alcohol 3,4,5 trimetoxibenzílico	3.53b ± 0.81	nd	nd	7.79a ± 2.29	nd	***
2,5 dihidrobenzoato de metilo	9.25ab ± 2.36	13.33a ± 6.81	nd	9.09ab ± 1.07	7.01b ± 1.80	**
3,4,5 trimetoxifenol	6.37a ± 1.26	4.66a ± 2.25	nd	6.08a ± 0.68	4.82a ± 0.46	***
ac isobutírico	2.00b ± 1.06	2.60b ± 0.43	4.02a ± 0.10	4.04a ± 0.23	4.00a ± 0.53	**
acs 2,3 metilbutanoico	10.11bc ± 5.27	13.26abc ± 3.82	16.32ab ± 0.06	17.11a ± 4.10	8.01c ± 1.32	*
ac hexanoico	133.91a ± 42.11	132.41a ± 25.92	81.49b ± 4.73	128.09a ± 20.05	33.05c ± 1.36	**
ac heptanoico	3.83 ± 1.34	4.78 ± 0.97	5.00 ± 0.69	6.31 ± 0.03	5.28 ± 1.66	ns

ac E 2 hexanoico	171.19a ± 77.05	139.05a ± 26.42	111.63a ± 6.01	117.35a ± 22.17	35.71b ± 1.36	*
ac octanoico	12.68 ± 4.42	8.39 ± 2.01	8.95 ± 1.55	9.45 ± 0.95	7.55 ± 0.52	ns
ac decanoico	1.96 ± 0.92	2.74 ± 0.54	3.37 ± 0.63	3.55 ± 1.71	4.09 ± 0.14	ns
ac dodecanoico	4.39 ± 2.24	5.75 ± 0.87	3.25 ± 0.33	5.21 ± 0.68	4.07 ± 1.07	ns
ac hexadecanoico	103.17 ± 36.26	108.12 ± 41.14	64.60 ± 6.46	148.92 ± 60.82	85.45 ± 13.22	ns
2-hexenal	21.73a ± 5.05	13.23b ± 2.08	13.07b ± 1.01	15.18b ± 2.13	22.64a ± 1.46	**
1-hexanol	11.29b ± 3.57	22.74a ± 4.90	22.20a ± 1.01	24.25a ± 5.12	5.65b ± 0.67	***
Z-3-hexen-1-ol	5.55c ± 1.98	12.35b ± 2.81	17.99a ± 0.92	16.49a ± 2.89	3.36c ± 0.75	***
Z-2-hexanol	0.85c ± 0.19	1.45c ± 0.11	2.25b ± 0.26	1.37c ± 0.56	3.07a ± 0.50	***
E-2-hexanol	3.15b ± 1.05	22.07a ± 5.14	18.33a ± 0.97	23.00a ± 4.30	4.84b ± 0.20	***

Tabla 8. 26 Compuestos aromáticos individuales en uva durante la campaña 2020. Los datos representan las medias ± desviación estándar. Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas de acuerdo al test de LSD ($p < 0.05$). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** ($p < 0,001$), 99%** ($p < 0,01$) y 95%* ($p < 0,05$).

	VERDEJO	MC180	MC69	MT103	MV67	p-value
Linalool	nd	8.36b ± 3.26	26.35a ± 2.35	nd	25.34a ± 0.21	***
HO-Trienol	nd	nd	1.54b ± 0.59	nd	2.06a ± 0.04	***
Alpha-Terpineol	0.49c ± 0.09	0.66c ± 0.27	3.16a ± 0.33	nd	1.27b ± 0.09	***
Nerol	1.45 ± 0.32	2.41 ± 0.64	3.48 ± 1.14	2.30 ± 1.29	3.17 ± 0.26	ns
Oxido furánico de Linalol cis	1.73d ± 0.16	9.15c ± 1.62	16.28b ± 2.31	nd	19.35a ± 0.29	***
Oxido furánico de linalol trans	12.08a ± 1.52	1.39d ± 0.19	6.77b ± 0.45	nd	3.01c ± 0.00	***
Oxido piránico de linalol trans	2.84c ± 0.23	6.94b ± 1.34	20.59a ± 2.14	nd	20.51a ± 0.33	***
Oxido piránico de linalol cis	3.23ab ± 0.40	2.39c ± 0.69	3.89a ± 0.42	nd	3.09bc ± 0.10	***
Diendiol I	nd	24.83b ± 3.44	49.18a ± 8.96	8.07c ± 0.26	43.25a ± 5.08	***
Diendiol II	nd	1.23b ± 0.75	1.96b ± 1.02	nd	4.43a ± 0.16	***
Hidroxicitronelol	1.58b ± 0.13	2.31ab ± 0.33	1.91ab ± 0.35	3.11a ± 1.70	nd	**
E-8-Hidroxilinalol	9.90b ± 0.69	9.30bc ± 1.41	15.48a ± 3.40	6.29c ± 1.94	10.74b ± 0.70	**
Z-8-Hidroxilinalol	6.95c ± 0.68	54.66a ± 3.59	26.09b ± 3.78	5.06c ± 0.69	30.53b ± 1.59	***
Ac geránico	5.28bc ± 0.74	11.43a ± 4.20	9.87a ± 2.28	3.48c ± 0.54	8.07ab ± 0.30	**
3,4-Dihidro-3-Oxo-Actinidol I	2.92ab ± 0.10	3.31a ± 0.65	2.10b ± 0.09	2.16b ± 0.58	3.21a ± 0.60	*
3,4-Dihidro-3-Oxo-Actinidol II	2.19ab ± 0.11	2.58a ± 0.88	2.41a ± 0.43	1.80bc ± 0.23	1.57c ± 0.39	**
3,4-Dihidro-3-Oxo-Actinidol III	4.33 ± 0.90	4.42 ± 2.35	3.50 ± 1.40	3.35 ± 2.70	3.47 ± 3.02	ns
3-OH-Damasconona	2.64b ± 0.21	5.13a ± 0.80	2.68b ± 0.01	1.66c ± 0.13	1.34c ± 0.23	***
3-OH-Damascona	18.17 ± 2.40	19.14 ± 4.51	19.93 ± 5.06	22.14 ± 0.87	25.54 ± 1.30	ns
3-OH-7,8-Dihidro-b-Ionona	8.49bc ± 4.93	9.34ab ± 1.69	5.32bc ± 2.02	13.84a ± 1.38	4.10c ± 1.39	**
3-Oxo- α -Ionol	21.18d ± 2.02	18.50d ± 6.04	44.04b ± 7.43	60.39a ± 4.46	32.16c ± 1.66	***
3-OH-7,8-Dihidro-b-Ionol	2.49 ± 0.30	1.59 ± 1.21	2.28 ± 1.19	3.73 ± 1.42	1.51 ± 0.42	ns
4-OH-7,8-Dihidro-b-Ionol	25.49 ± 2.24	21.60 ± 9.24	17.51 ± 6.00	16.56 ± 4.88	26.15 ± 0.45	ns
3-Oxo-7,8-Dihidro- α -Ionol	14.18 ± 5.37	14.99 ± 8.26	12.24 ± 3.37	19.52 ± 14.41	8.67 ± 1.73	ns
3-OH-7,8-Dehidro-b-Ionol	7.31bc ± 0.27	9.38ab ± 2.19	10.60a ± 1.46	11.06a ± 0.60	7.15c ± 0.03	**

Vomifoliol	19.62bc ± 1.34	16.63c ± 3.69	23.94b ± 2.17	32.23a ± 6.57	8.04d ± 1.62	***
1-butanol	6.64b ± 1.42	3.74c ± 0.75	6.16b ± 0.64	10.01a ± 0.46	3.37c ± 0.13	***
3-penten-2-ol	1.91b ± 0.13	2.42b ± 1.22	2.66b ± 0.70	4.09a ± 0.80	2.22b ± 0.06	*
Isoamyl alcohol	4.81d ± 0.90	5.05d ± 0.49	29.89a ± 0.28	8.92b ± 0.02	6.95c ± 0.47	***
3-metil-3-buten-1-ol	10.32a ± 0.92	6.47c ± 0.16	5.21d ± 0.27	10.79a ± 0.03	8.77b ± 0.91	***
2-heptanol	6.37 ± 0.65	8.42 ± 3.61	10.98 ± 3.74	12.76 ± 1.96	9.43 ± 1.60	ns
3-metil-2-buten-1-ol	7.86bc ± 0.61	7.55cd ± 0.22	6.62d ± 0.87	9.15a ± 0.19	8.76ab ± 0.57	**
1-octen-3-ol	5.38 ± 0.96	5.57 ± 1.36	7.24 ± 0.90	14.74 ± 9.26	4.95 ± 0.66	ns
2-etil-1-hexanol	5.81c ± 1.98	6.24c ± 1.67	7.62bc ± 0.35	8.84b ± 0.83	12.11a ± 0.01	***
Alcohol bencílico	276.43a ± 32.74	169.41b ± 21.39	191.89b ± 40.01	203.95b ± 1.03	286.74a ± 18.31	***
Feniletanol	1.59bc ± 0.21	2.02bc ± 0.62	4.30a ± 0.89	2.79b ± 1.07	1.32c ± 0.10	**
1-fenil-etanol	1.83 ± 0.26	1.93 ± 0.49	2.36 ± 0.46	2.44 ± 0.29	2.03 ± 0.00	ns
b-fenil etanol	89.19a ± 7.88	56.59c ± 13.24	78.04ab ± 17.00	66.77bc ± 3.58	91.39a ± 2.62	**
dodecanol	6.02 ± 0.31	5.58 ± 1.25	5.79 ± 1.81	4.87 ± 0.63	5.03 ± 0.25	ns
2-fenoxietanol	2.23c ± 0.13	5.36b ± 0.99	4.98b ± 1.49	4.17b ± 1.52	8.57a ± 0.16	***
Fenol	2.51 ± 0.24	2.57 ± 0.39	2.35 ± 0.70	3.81 ± 1.50	2.44 ± 0.48	ns
4-vinil-guaicol	12.55 ± 3.34	7.26 ± 2.51	8.98 ± 3.54	14.46 ± 4.13	11.44 ± 0.49	ns
4-vinilfenol	4.10 ± 0.56	5.12 ± 2.14	4.05 ± 1.18	5.32 ± 0.86	4.78 ± 0.03	ns
Vainilina	11.59a ± 0.66	8.76b ± 0.83	8.54b ± 1.75	7.10b ± 1.89	11.62a ± 0.64	**
Metil vanilato	3.54a ± 0.25	1.64b ± 0.27	2.15b ± 0.39	nd	3.83a ± 0.77	***
Acetovanilona	16.13a ± 1.92	6.81c ± 2.03	7.22c ± 0.85	5.22c ± 0.83	12.23b ± 2.16	***
3,4 dimetoxifenol	4.28ab ± 0.41	5.17a ± 1.66	4.04ab ± 0.70	2.72bc ± 0.69	2.22c ± 0.42	*
zingerona	12.45a ± 3.52	4.75b ± 0.69	5.03b ± 0.08	3.87b ± 0.69	3.14b ± 0.74	***
alcohol 3,4,5 trimetoxibenzílico	3.22a ± 0.29	nd	4.84a ± 1.90	4.53a ± 1.48	nd	***
2,5 dihidrobenzoato de metilo	30.68a ± 6.67	11.64b ± 4.49	6.58b ± 1.53	6.66b ± 2.76	13.77b ± 3.83	***
3,4,5 trimetoxifenol	6.12bc ± 0.69	7.16ab ± 1.77	7.48ab ± 2.73	10.60a ± 2.65	2.97c ± 0.12	**
ac isobutírico	1.32b ± 0.28	1.52b ± 0.37	2.15a ± 0.31	2.30a ± 0.15	1.52b ± 0.25	**
acs 2,3 metilbutanoico	6.95 ± 2.31	5.37 ± 0.86	7.29 ± 1.47	4.84 ± 0.21	4.94 ± 0.09	ns

ac hexanoico	74.32a ± 20.95	52.92b ± 6.14	52.89b ± 7.83	40.29b ± 4.84	58.50ab ± 5.94	*
ac heptanoico	3.12b ± 0.41	2.56b ± 0.14	4.05a ± 0.46	4.06a ± 0.47	3.26b ± 0.36	**
ac E 2 hexanoico	101.90a ± 12.48	79.58a ± 21.38	88.40a ± 22.36	46.18b ± 8.41	86.76a ± 6.51	*
ac octanoico	5.35 ± 0.97	5.70 ± 1.63	7.38 ± 0.59	7.15 ± 0.73	6.65 ± 0.63	ns
ac decanoico	2.57 ± 0.61	2.27 ± 0.43	2.03 ± 0.24	1.78 ± 0.29	1.90 ± 0.12	ns
ac dodecanoico	4.02 ± 0.91	5.90 ± 2.10	4.85 ± 1.55	5.49 ± 3.36	2.19 ± 0.10	ns
ac hexadecanoico	57.56 ± 12.63	67.93 ± 28.91	98.38 ± 29.12	82.04 ± 59.76	22.66 ± 8.00	ns
2-hexenal	19.70b ± 0.61	14.95c ± 1.14	7.11d ± 2.21	9.84d ± 0.64	29.69a ± 2.63	***
1-hexanol	9.41bc ± 2.66	7.85c ± 2.11	16.01a ± 1.31	8.98bc ± 0.88	11.35b ± 0.06	**
Z-3-hexen-1-ol	4.69b ± 1.19	3.24c ± 0.78	11.03a ± 0.11	5.18b ± 0.58	4.25bc ± 0.08	***
Z-2-hexanol	1.05c ± 0.70	1.32bc ± 0.28	1.84b ± 0.08	2.77a ± 0.32	1.71bc ± 0.16	**
E-2-hexanol	1.79c ± 0.94	7.19b ± 1.89	11.91a ± 1.16	6.57b ± 0.28	8.19b ± 0.41	***

Tabla 8. 27 Compuestos aromáticos individuales en uva durante la campaña 2021. Los datos representan las medias ± desviación estándar. Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas de acuerdo al test de LSD ($p < 0.05$). Separación por test de rango múltiple al 99,9%*** ($p < 0,001$), 99%** ($p < 0,01$) y 95%* ($p < 0,05$).

Variables	Funciones	
	1	2
Acetato de etilo	9,66	-1,54
1-propanol	9,70	-1,84
2-metil-1-propanol	8,46	0,28
3-metil-1-butanol- acetato	-5,87	-5,92
3-metil-1-butanol	5,49	-0,02
Hexanoato de etilo	16,80	-2,36
1-hexanol	-2,76	5,28
Z-3-hexen-1-ol	-24,75	-0,71
Octanoato de etilo	-25,63	-1,03
Linalool	37,86	5,39
3-metil-tio-1-propanol	-15,93	2,65
β damascenona	-10,64	-5,35
Citronellol	0,13	-0,19
Dodecanoato de etilo	-36,29	0,07
Ácido hexanoico	-1,48	7,22
2-fenil-etanol	6,38	3,76
Etil tetradecanoate	-108,59	-1,99
Nerolidol	64,22	-4,12
Ácido octanoico	4,67	-2,89
4-Vinilguaicol	-9,25	-4,57
Hexadecanoato de etilo	95,10	9,22
Ácido decanoico	6,50	0,60
Ácido 9 decenoico	7,80	-7,39

Tabla 8. 28 Coeficientes discriminantes estandarizados en los vinos blancos para las funciones discriminantes 1 y 2.

CAPÍTULO 9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agroinformación [WWW Document], n.d. URL <https://agroinformacion.com/> (accessed 3.28.22).
- Amrani Joutei, K., Glories, Y., Mercier, M. 1994. Localization of tannins in grape berry skins. *Vitis* 33, 133-138. Editor JKI.
- Albanese, D., Attanasio, G., Cinquanta, L., Di Matteo, M., 2013. Volatile compounds in red wines processed on an industrial scale by short pre-fermentative cold maceration. *Food Bioprocess Technol.* 6, 3266–3272. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0798-5>
- Aleixandre-Tudo, J.L., Buica, A., Nieuwoudt, H., Aleixandre, J.L., Du Toit, W., 2017. Spectrophotometric analysis of phenolic compounds in grapes and wines. *J. Agric. Food Chem.* 65, 4009–4026. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b01724>
- Allegro, G., Pastore, C., Valentini, G., Filippetti, I., 2021. The evolution of phenolic compounds in vitis vinifera L. Red berries during ripening: Analysis and role on wine sensory—a review. *Agronomy* 11, 1–14. <https://doi.org/10.3390/agronomy11050999>
- Allegro, G., Pastore, C., Valentini, G., Muzzi, E., Filippetti, I., 2016. Influence of berry ripeness on accumulation, composition and extractability of skin and seed flavonoids in cv. Sangiovese (*Vitis vinifera* L.). *J. Sci. Food Agric.* 96, 4553–4559. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7672>
- Almagro, L., Calderón, A.A., Pedreño, M.A., Ferrer, M.A., 2022. Differential response of phenol metabolism associated with antioxidative network in elicited grapevine suspension cultured cells under saline conditions. *Antioxidants* 11, 388. <https://doi.org/10.3390/antiox11020388>
- Anaya, J.A., Lizama, V., Alvarez, I., García, M.J., 2022. Evaluation of the impact of adding rutin and buckwheat on the volatile and phenolic composition of Monastrell Wine. *Soc. Sci. Res. Netw.* 1–24. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.4012961>
- Apolinar-Valiente, R., 2011. Pared celular de uva y polisacáridos de vinos de distinta procedencia, elaborados mediante tecnologías enzimáticas y de frío. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia.

- Apolinar-Valiente, R., Gómez-Plaza, E., Terrier, N., Doco, T., Ros-García, J.M., 2017. The composition of cell walls from grape skin in *Vitis vinifera* intraspecific hybrids. *J. Sci. Food Agric.* 97, 4029–4035. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8270>
- Apolinar-Valiente, R., Romero-Cascales, I., Gómez-Plaza, E., López-Roca, J.M., Ros-García, J.M., 2015a. Cell wall compounds of red grapes skins and their grape marcs from three different winemaking techniques. *Food Chem.* 187, 89–97. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.042>
- Apolinar-Valiente, R., Romero-Cascales, I., Gómez-Plaza, E., López-Roca, J.M., Ros-García, J.M., 2015b. The composition of cell walls from grape marcs is affected by grape origin and enological technique. *Food Chem.* 167, 370–377. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.030>
- Apolinar-Valiente, R., Ruiz-García, Y., Williams, P., Gil-Muñoz, R., Gómez-Plaza, E., Doco, T., 2018. Preharvest application of elicitors to Monastrell grapes: impact on wine polysaccharide and oligosaccharide composition. *J. Agric. Food Chem.* 66, 11151–11157. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b05231>
- Apolinar-Valiente, R., Williams, P., Doco, T., 2021. Recent advances in the knowledge of wine oligosaccharides. *Food Chem.* 342, 128330. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128330>
- Arapitsas, P., Perenzoni, D., Guella, G., Mattivi, F., 2021. Improving the phloroglucinolysis protocol and characterization of sagrantinowines proanthocyanidins. *Molecules* 26, 1–17. <https://doi.org/10.3390/molecules26041087>
- Arapitsas, P., Perenzoni, D., Nicolini, G., Mattivi, F., 2012. Study of sangiovese wines pigment profile by UHPLC-MS/MS. *J. Agric. Food Chem.* 60, 10461–10471. <https://doi.org/10.1021/jf302617e>
- Arcari, S.G., Caliari, V., Sganzerla, M., Godoy, H.T., 2017. Volatile composition of Merlot red wine and its contribution to the aroma: optimization and validation of analytical method. *Talanta* 174, 752–766. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.06.074>
- Asproudi, A., Ferrandino, A., Bonello, F., Vaudano, E., Pollon, M., Petrozziello, M., 2018. Key norisoprenoid compounds in wines from early-harvested grapes in view of climate change. *Food Chem.* 268, 143–152. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.069>
- Azcón, J., Talón, M., 2008. *Fisiología vegetal. Introducción a las células de las plantas:*

membranas y pared. Fundamentos de fisiología vegetal. 9-21.

- Bautista-Ortín, A.B., Busse-Valverde, N., Fernández-Fernández, J.I., Gómez-Plaza, E., Gil-Muñoz, R., 2016. The extraction kinetics of anthocyanins and proanthocyanidins from grape to wine in three different varieties. *J. Int. des Sci. la Vigne du Vin* 50, 91–100. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2016.50.2.781>
- Bautista-Ortín, A.B., Cano-Lechuga, M., Ruiz-García, Y., Gómez-Plaza, E., 2014. Interactions between grape skin cell wall material and commercial enological tannins. Practical implications. *Food Chem.* 152, 558–565. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.009>
- Bautista-Ortín, A.B., Jiménez-Martínez, M.D., Jurado, R., Iniesta, J.A., Terrades, S., Andrés, A., Gómez-Plaza, E., 2017a. Application of high-power ultrasounds during red wine vinification. *Int. J. Food Sci. Technol.* 52, 1314–1323. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13411>
- Bautista-Ortín, A.B., Jurado, R., Iniesta, J.A., Jiménez-Martínez, M.D., Gómez-Plaza, E., 2017b. Aplicación de ultrasonidos de alta potencia para acortar los tiempos de maceración de los vinos tintos [WWW Document]. URL https://www.acenologia.com/ultrasonidos_acortar_maceracion_cienc1017/ (accessed 6.16.22).
- Bautista-Ortín, A.B., Ruiz-García, Y., Marín, F., Molero, N., Apolinar-Valiente, R., Gómez-Plaza, E., 2015. Remarkable proanthocyanidin adsorption properties of monastrell pomace cell wall material highlight its potential use as an alternative fining agent in red wine production. *J. Agric. Food Chem.* 63, 620–633. <https://doi.org/10.1021/jf503659y>
- Bavaresco, L., Squeri, C., 2022. Outlook on disease resistant grapevine varieties. *BIO Web Conf.* 44, 06001. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20224406001>
- Belchí-Navarro, S., Almagro, L., Sabater-Jara, A.B., Fernández-Pérez, F., Bru, R., Pedreño, M.A., 2013a. Induction of trans-resveratrol and extracellular pathogenesis-related proteins in elicited suspension cultured cells of *Vitis vinifera* cv Monastrell. *J. Plant Physiol.* 170, 258–264. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2012.10.003>
- Belchí-Navarro, S., Almagro, L., Sabater-Jara, A.B., Fernández-Pérez, F., Bru, R., Pedreño, M.A., 2013b. Early signaling events in grapevine cells elicited with cyclodextrins and methyl jasmonate. *Plant Physiol. Biochem.* 62, 107–110.

<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.11.001>

- Belda, I., Ruiz, J., Esteban-Fernández, A., Navascués, E., Marquina, D., Santos, A., Moreno-Arribas, M.V., 2017. Microbial contribution to wine aroma and its intended use for Wine quality improvement. *Molecules* 22, 1–29. <https://doi.org/10.3390/molecules22020189>
- Belwal, T., Singh, G., Jeandet, P., Pandey, A., Giri, L., Ramola, S., Bhatt, I.D., Venskutonis, P.R., Georgiev, M.I., Clément, C., Luo, Z., 2020. Anthocyanins, multi-functional natural products of industrial relevance: recent biotechnological advances. *Biotechnol. Adv.* <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107600>
- Benbougerra, N., Hornedo-Ortega, R., Garcia, F., El Khawand, T., Saucier, C., Richard, T., 2021. Stilbenes in grape berries and wine and their potential role as anti-obesity agents: a review. *Trends Food Sci. Technol.* 112, 362–381. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.03.060>
- Benito, S., 2018. The impact of *Torulaspora delbrueckii* yeast in winemaking. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 102, 3081–3094. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-8849-0>
- Benito, S., Palomero, F., Morata, A., Calderón, F., Palmero, D., Suárez-Lepe, J.A., 2013. Physiological features of *Schizosaccharomyces pombe* of interest in making of white wines. *Eur. Food Res. Technol.* 236, 29–36. <https://doi.org/10.1007/s00217-012-1836-2>
- Bindon, K.A., Smith, P.A., Kennedy, J.A., 2010. Interaction between grape-derived proanthocyanidins and cell wall material. 1. Effect on proanthocyanidin composition and molecular mass. *J. Agric. Food Chem.* 58, 2520–2528. <https://doi.org/10.1021/jf9037453>
- Biswas, T., Mathur, A., Gupta, V., Luqman, S., Mathur, A.K., 2020. Elicitation and phenylalanine precursor feeding based modulation of in vitro anthocyanin production, enzyme activity and gene expression in an Indian ginseng congener- *Panax sikkimensis* Ban. *Ind. Crops Prod.* 145, 111986. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111986>
- Bleda-Sánchez, J.A., 2019. Proceso de implantación de nuevas variedades. Jornada de transferencia de resultados de investigación.
- Boudet, A.M., 2000. Lignins and lignification: selected issues. *Plant Physiol. Biochem.* 38, 81–96. [https://doi.org/10.1016/S0981-9428\(00\)00166-2](https://doi.org/10.1016/S0981-9428(00)00166-2)
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram

- quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Budic-Leto, I., Vrhovsek, U., Gajdos Kljusuric, J., Lovric, T., 2009. Anthocyanin pattern of skin extracts from the babic and plavac mali grapes and anthocyanin pattern of the produced wine. *Acta Aliment.* 38, 67–75. <https://doi.org/10.1556/AAlim.2008.0029>
- Buesa, I., Pérez, D., Castel, J., Intrigliolo, D.S., Castel, J.R., 2017. Effect of deficit irrigation on vine performance and grape composition of *Vitis vinifera* L. cv. Muscat of Alexandria. *Aust. J. Grape Wine Res.* 23, 251–259. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12280>
- Bullas, C. regulador, n.d. Denominación de Origen Protegida Bullas [WWW Document]. URL <https://vinosdebullas.es/conocenos/> (accessed 3.28.22).
- Burns, J., Mullen, W., Landrault, N., Teissedre, P.L., Lean, M.E.J., Crozier, A., 2002. Variations in the profile and content of anthocyanins in wines made from Cabernet Sauvignon and hybrid grapes. *J. Agric. Food Chem.* 50, 4096–4102. <https://doi.org/10.1021/JF011233S>
- Burton, R.A., Gidley, M.J., Fincher, G.B., 2010. Heterogeneity in the chemistry, structure and function of plant cell walls. *Nat. Chem. Biol.* 6, 724–732. <https://doi.org/10.1038/nchembio.439>
- Busse-Valverde, N., Gómez-Plaza, E., López-Roca, J.M., Gil-Muñoz, R., Fernández-Fernández, J.I., Bautista-Ortín, A.B., 2010. Effect of different enological practices on skin and seed proanthocyanidins in three varietal wines. *J. Agric. Food Chem.* 58, 11333–11339. <https://doi.org/10.1021/jf102265c>
- Casassa, L.F., Harbertson, J.F., 2014. Extraction, evolution, and sensory impact of phenolic compounds during red wine maceration. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* 5, 83–109. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030713-092438>
- Castro-Marín, A., Buglia, A.G., Riponi, C., Chinnici, F., 2018. Volatile and fixed composition of sulphite-free white wines obtained after fermentation in the presence of chitosan. *LWT - Food Sci. Technol.* 93, 174–180. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.03.003>
- Chacón-Vozmediano, J.L., Martínez-Gascueña, J., García-Navarro, F.J., Jiménez-Ballesta, R., 2020. Effects of water stress on vegetative growth and 'merlot' grapevine yield in a semi-arid mediterranean climate. *Horticulturae* 6, 1–18.

<https://doi.org/10.3390/horticulturae6040095>

- Chen, H., Yang, J., Deng, X., Lei, Y., Xie, S., Guo, S., Ren, R., Li, J., Zhang, Z., Xu, T., 2020. Foliar-sprayed manganese sulfate improves flavonoid content in grape berry skin of Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.) growing on alkaline soil and wine chromatic characteristics. *Food Chem.* 314, 126182. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126182>
- Chiapparino, F., 2021. Bordeaux wine economy. Università Politecnica Delle Marche.
- Coelho, E., Coimbra, M.A., Nogueira, J.M.F., Rocha, S.M., 2009. Quantification approach for assessment of sparkling wine volatiles from different soils, ripening stages, and varieties by stir bar sorptive extraction with liquid desorption. *Anal. Chim. Acta* 635, 214–221. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.01.013>
- Coelho, E., Mendes Lemos, A., Genisheva, Z., Domingues, L., Vilanova, M., Oliveira, J.M., 2020. Simple and quick LLME/GC-MS methodology to quantify minor volatile compounds in alcoholic beverages. *Molecules* 25.
- Colangelo, D., Torchio, F., Rolle, L., Gerbi, V., Faveri, D.M. De, Lambri, M., 2018. Modeling by response surface methodology of the clarifying process of Muscat blanc must for the production of a sweet sparkling wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 70, 42–49. <https://doi.org/10.5344/AJEV.2018.18043>
- Corso, M., Bonghi, C., 2014. Grapevine rootstock effects on abiotic stress tolerance. *Plant Sci. Today* 1, 108–113. <https://doi.org/10.14719/PST.2014.1.3.64>
- Cosgrove, D.J., 2001. Wall structure and wall loosening. A look backwards and forwards1. *Plant Physiol.* 125, 131–134. <https://doi.org/10.1104/pp.125.1.131>
- Costa, J.M., Vaz, M., Escalona, J., Egipto, R., Lopes, C., Medrano, H., Chaves, M.M., 2016. Modern viticulture in southern Europe: vulnerabilities and strategies for adaptation to water scarcity. *Agric. Water Manag.* 164, 5–18. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2015.08.021>
- Cradock-Henry, N.A., Blackett, P., Hall, M., Johnstone, P., Teixeira, E., Wreford, A., 2020. Climate adaptation pathways for agriculture: insights from a participatory process. *Environ. Sci. Policy* 107, 66–79. <https://doi.org/10.1016/j.envsci.2020.02.020>
- Crozier, A., Jaganath, I.B., Clifford, M.N., 2009. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Nat. Prod. Rep.* 26, 1001. <https://doi.org/10.1039/b802662a>

- De Castilhos, M.B.M., Garcia Maia, J.D., Gómez-Alonso, S., Del Bianchi, V.L., Hermosín-Gutiérrez, I., 2016. Sensory acceptance drivers of pre-fermentation dehydration and submerged cap red wines produced from *Vitis labrusca* hybrid grapes. *LWT* 69, 82–90. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.01.043>
- De Rosso, M., Tonidandel, L., Larcher, R., Nicolini, G., Dalla Vedova, A., De Marchi, F., Gardiman, M., Giust, M., Flamini, R., 2014. Identification of new flavonols in hybrid grapes by combined liquid chromatography mass spectrometry approaches. *Food Chem.* 163, 244–251. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.110>
- De Trizio, L., Manna, L., 2016. Forging colloidal nanostructures via cation exchange reactions. *Chem. Rev.* 116, 10852–10887. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00739>
- De Vries, J.A., Rombouts, F.M., Voragen, A.G.J., Pilnik, W., 1984. Comparison of the structural features of apple and citrus pectic substances. *Carbohydr. Polym.* 4, 89–101. [https://doi.org/10.1016/0144-8617\(84\)90016-X](https://doi.org/10.1016/0144-8617(84)90016-X)
- Del-Castillo-Alonso, M.Á., Diago, M.P., Tomás-Las-Heras, R., Monforte, L., Soriano, G., Martínez-Abaigar, J., Núñez-Olivera, E., 2016. Effects of ambient solar UV radiation on grapevine leaf physiology and berry phenolic composition along one entire season under Mediterranean field conditions. *Plant Physiol. Biochem.* 109, 374–386. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.10.018>
- Delrot, S., Grimplet, J., Carbonell-Bejerano, P., Schwandner, A., Bert, P.-F., Bavaresco, L., Costa, L.D., Di Gaspero, G., Duchêne, E., Hausmann, L., Malnoy, M., Morgante, M., Ollat, N., Pecile, M., Vezzulli, S., 2020. Genetic and genomic approaches for adaptation of grapevine to climate change. *Genomic Des. Clim. Fruit Crop.* 157–270. https://doi.org/10.1007/978-3-319-97946-5_7
- Demir, K., Celik, S., 2004. Determination of characteristics of grape berry skin in some table grape cultivars (*V. vinifera* L.). *J. Agron.* 3, 141–146. <https://doi.org/10.3923/ja.2004.141.146>
- Di Vaio, C., Villano, C., Lisanti, M.T., Marallo, N., Cirillo, A., Di Lorenzo, R., Pisciotta, A., 2020. Application of anti-transpirant to control sugar accumulation in grape berries and alcohol degree in wines obtained from thinned and unthinned vines of cv. Falanghina (*Vitis vinifera* L.). *Agronomy* 10. <https://doi.org/10.3390/agronomy10030345>
- Downey, M.O., Dokoozlian, N.K., Krstic, M.P., 2006. Cultural practice and environmental

- impacts on the flavonoid composition of grapes and wine: a review of recent research. *Am. J. Enol. Vitic.* 57, 257–268.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28, 350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- Ducasse, M.A., Williams, P., Meudec, E., Cheynier, V., Doco, T., 2010. Isolation of Carignan and Merlot red wine oligosaccharides and their characterization by ESI-MS. *Carbohydr. Polym.* 79, 747–754. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.10.001>
- Escudero, A., Campo, E., Fariña, L., Cacho, J., Ferreira, V., 2007. Analytical characterization of the aroma of five premium red wines. Insights into the role of odor families and the concept of fruitiness of wines. *J. Agric. Food Chem.* 55, 4501–4510. <https://doi.org/10.1021/jf0636418>
- Esteras, C., López-Lluch, D., Derdak, S., Picó, B., Ruiz, J.J., 2017. Evaluación de la diversidad genética de la Monastrell, una variedad antigua en la provincia de Alicante (España) mediante genotipado por secuenciación (GBS). *BIO Web Conf.* 9, 01019. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20170901019>
- Etschmann, M.M.W., Kötter, P., Hauf, J., Bluemke, W., Entian, K.D., Schrader, J., 2008. Production of the aroma chemicals 3-(methylthio)-1-propanol and 3-(methylthio)-propylacetate with yeasts. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 80, 579–587. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1573-4>
- Falcão, L.D., de Revel, G., Rosier, J.P., Bordignon-Luiz, M.T., 2008. Aroma impact components of Brazilian Cabernet Sauvignon wines using detection frequency analysis (GC-olfactometry). *Food Chem.* 107, 497–505. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.07.069>
- Ferreira, V., Lopez, R., 2019. The actual and potential aroma of winemaking grapes. *Biomolecules* 9. <https://doi.org/10.3390/biom9120818>
- Flamini, R., Mattivi, F., De Rosso, M., Arapitsas, P., Bavaresco, L., 2013a. Advanced knowledge of three important classes of grape phenolics: Anthocyanins, stilbenes and flavonols. *Int. J. Mol. Sci.* <https://doi.org/10.3390/ijms141019651>
- Flamini, R., Mattivi, F., De Rosso, M., Arapitsas, P., Bavaresco, L., 2013b. Advanced knowledge of three important classes of grape phenolics: anthocyanins, stilbenes and flavonols. *Int. J. Mol. Sci.* 14, 19651-19669 <https://doi.org/10.3390/ijms141019651>

- Fraga, H., Molitor, D., Leolini, L., Santos, J.A., 2020. What is the impact of heatwaves on European viticulture? A modelling assessment. *Appl. Sci.* 10. <https://doi.org/10.3390/app10093030>
- Francis, I.L., Newton, J.L., 2005. Determining wine aroma from compositional data. *Aust. J. Grape Wine Res.* 11, 114–126. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2005.tb00283.x>
- Gao, Y., Zietsman, A.J.J., Vivier, M.A., Moore, J.P., 2019. Deconstructing wine grape cell walls with enzymes during winemaking: new insights from glycan microarray technology. *Mol.* 29, 165 <https://doi.org/10.3390/molecules24010165>
- García-Carpintero, E.G., Sánchez-Palomo, E., Gallego, M.A.G., González-Viñas, M.A., 2011. Volatile and sensory characterization of red wines from cv. Moravia Agría minority grape variety cultivated in La Mancha region over five consecutive vintages. *Food Res. Int.* 44, 1549–1560. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.04.022>
- García, M., Esteve-Zarzoso, B., Cabellos, J.M., Arroyo, T., 2020. Sequential non-saccharomyces and saccharomyces cerevisiae fermentations to reduce the alcohol content in wine. *Fermentation* 6. <https://doi.org/10.3390/FERMENTATION6020060>
- Garrido-Bañuelos, G., Buica, A., du Toit, W., 2021. Relationship between anthocyanins, proanthocyanidins, and cell wall polysaccharides in grapes and red wines. A current state-of-art review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 0, 1–17. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1918056>
- Garrido-Bañuelos, G., Buica, A., Schückel, J., Zietsman, A.J.J., Willats, W.G.T., Moore, J.P., Du Toit, W.J., 2019. Investigating the relationship between cell wall polysaccharide composition and the extractability of grape phenolic compounds into Shiraz wines. Part II: extractability during fermentation into wines made from grapes of different ripeness levels. *Food Chem.* 278, 26–35. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.10.136>
- Genovese, A., Gambuti, A., Piombino, P., Moio, L., 2007. Sensory properties and aroma compounds of sweet Fiano wine. *Food Chem.* 103, 1228–1236. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.10.027>
- Gil-Muñoz, R., Bautista-Ortín, A.B., Ruiz-García, Y., Fernández-Fernández, J.I., Gómez-Plaza, E., 2017a. Improving phenolic and chromatic characteristics of monastrell, merlot and syrah wines by using methyl jasmonate and benzothiadiazole. *Oeno*

One 51, 17–27. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2017.51.1.1814>

- Gil-Muñoz, R., Fernández-Fernández, J.I., Crespo-Villegas, O., Garde-Cerdán, T., 2017b. Elicitors used as a tool to increase stilbenes in grapes and wines. *Food Res. Int.* 98, 34–39. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.11.035>
- Gil-Muñoz, R., Giménez-Bañón, M.J., Moreno-Olivares, J.D., Paladines-Quezada, D.F., Bleda-Sánchez, J.A., Fernández-Fernández, J.I. Parra-Torrejón, B., Ramírez-Rodríguez, G.B. Delgado-López, J.M., 2021a. Effect of methyl jasmonate doped nanoparticles on nitrogen composition of Monastrell grapes and wines. *Biomolecules* 11, 1–14. <https://doi.org/10.3390/biom11111631>
- Gil-Muñoz, R., Moreno-Olivares, J.D., Paladines-Quezada, D.F., Bleda-Sánchez, J.A., Cebrián-Pérez, A., Giménez-Bañón, M.J., Fernández-Fernández, J.I., 2021b. Characterization of anthocyanins from intraspecific crosses of Monastrell with other premium varieties. *Front. Nutr.* 8, 1–11. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.664515>
- Gil-Muñoz, R., Moreno-Olivares, J.D., Paladines-Quezada, D.F., Cebrián-Pérez, A., Fernández-Fernández, J.I., I, J., 2018. High anthocyanin level of grape hybrids from Monastrell and their wines. *Int. J. Hortic. Agric.* 3, 1–8. <https://doi.org/10.15226/2572-3154/3/2/00122>
- Gil Cortiella, M., Úbeda, C., del Barrio-Galán, R., Peña-Neira, A., 2020. Impact of berry size at harvest on red wine composition: a winemaker's approach. *J. Sci. Food Agric.* 100, 836–845. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10095>
- Gil, M., Estévez, S., Kontoudakis, N., Fort, F., Canals, J.M., Zamora, F., 2013. Influence of partial desalcoholization by reverse osmosis on red wine composition and sensory characteristics. *Eur. Food Res. Technol.* 237, 481–488. <https://doi.org/10.1007/s00217-013-2018-6>
- Giménez-Bañón, M.J., Moreno-Olivares, J.D., Paladines-Quezada, D.F., Bleda-Sánchez, J.A., Fernández-Fernández, J.I., Parra-Torrejón, B., Delgado-López, J.M., Gil-Muñoz, R., 2022. Effects of methyl jasmonate and nano-methyl jasmonate treatments on Monastrell wine volatile composition. *Molecules* 27, 2878. <https://doi.org/10.3390/molecules27092878>
- Glories, Y., 1984. La couleur des vins rouges. Ire partie : les équilibres des anthocyanes et des tanins. *OENO One* 18, 195. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.1984.18.3.1751>
- Godden, P., Wilkes, E., Johnson, D., 2015. Trends in the composition of Australian wine

- 1984-2014. Aust. J. Grape Wine Res. 21, 741–753.
<https://doi.org/10.1111/ajgw.12195>
- Gombau, J., Pons-Mercadé, P., Conde, M., Asbiro, L., Pascual, O., Gómez-Alonso, S., García-Romero, E., Miquel Canals, J., Hermosín-Gutiérrez, I., Zamora, F., 2020. Influence of grape seeds on wine composition and astringency of Tempranillo, Garnacha, Merlot and Cabernet Sauvignon wines. Food Sci. Nutr. 8, 3442–3455.
<https://doi.org/10.1002/fsn3.1627>
- Gomès, É., Maillot, P., Duchêne, É., 2021. Molecular tools for adapting viticulture to climate change. Front. Plant Sci. 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.633846>
- Gómez-Plaza, E., Bautista-Ortín, A.B., Ruiz-García, Y., Fernández-Fernández, J.I., Gil-Muñoz, R., 2017. Effect of elicitors on the evolution of grape phenolic compounds during the ripening period. J. Sci. Food Agric. 97, 977–983.
<https://doi.org/10.1002/jsfa.7823>
- Gómez-Plaza, E., Gil-Muñoz, R., Hernández-Jiménez, A., López-Roca, J.M., Ortega-Regules, A., Martínez-Cutillas, A., 2008. Studies on the anthocyanin profile of *Vitis Vinifera* intraspecific hybrids (Monastrell × Cabernet Sauvignon). Eur. Food Res. Technol. 227, 479–484. <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0744-3>
- Gómez-Plaza, E., Mestre-Ortuño, L., Ruiz-García, Y., Fernández-Fernández, J.I., López-Roca, J.M., 2012. Effect of benzothiadiazole and methyl jasmonate on the volatile compound composition of *Vitis vinifera* L. Monastrell grapes and wines. Am. J. Enol. Vitic. 63, 394–401. <https://doi.org/10.5344/ajev.2012.12011>
- Gómez-Plaza, E., Olmos, O., Bautista-Ortín, A.B., 2016. Tannin profile of different Monastrell wines and its relation to projected market prices. Food Chem. 204, 506–512. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.124>
- Gómez García-Carpintero, E., Sánchez-Palomo, E., Gómez Gallego, M.A., González-Viñas, M.A., 2012. Free and bound volatile compounds as markers of aromatic typicalness of Moravia Dulce, Rojal and Tortosí red wines. Food Chem. 131, 90–98. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.035>
- González-Barreiro, C., Rial-Otero, R., Cancho-Grande, B., Simal-Gándara, J., 2015. Wine aroma compounds in grapes: a critical review. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 55, 202–218. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.650336>
- Gonzalez-Viñas, M.A., Perez-Coello, M.S., Salvador, M.D., Cabezudo, M.D., Martin-Alvarez, P.J., 1996. Changes in gas chromatographic volatiles of young Airen wines

- during bottle storage. *Food Chem.* 56, 399–403. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(95\)00207-3](https://doi.org/10.1016/0308-8146(95)00207-3)
- Greer, D.H., Weedon, M.M., 2013. The impact of high temperatures on *Vitis vinifera* cv. semillon grapevine performance and berry ripening. *Front. Plant Sci.* 4, 1–9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00491>
- Gunata, Y.Z., Bayonove, C.L., Baumes, R.L., Cordonnier, R.E., 1985. The aroma of grapes I. Extraction and determination of free and glycosidically bound fractions of some grape aroma components. *J. Chromatogr. A* 331, 83–90. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(85\)80009-1](https://doi.org/10.1016/0021-9673(85)80009-1)
- Gutiérrez-Gamboa, G., Garde-Cerdán, T., Rubio-Bretón, P., Pérez-Álvarez, E.P., 2020. Seaweed foliar applications at two dosages to Tempranillo blanco (*Vitis vinifera* L.) grapevines in two seasons: effects on grape and wine volatile composition. *Food Res. Int.* 130. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108918>
- Gutiérrez-Gamboa, Gastón, Gómez-Plaza, E., Bautista-Ortín, A.B., Garde-Cerdán, T., Moreno-Simunovic, Y., Martínez-Gil, A.M., 2019. Rootstock effects on grape anthocyanins, skin and seed proanthocyanidins and wine color and phenolic compounds from *Vitis vinifera* L. Merlot grapevines. *J. Sci. Food Agric.* 99, 2846–2854. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9496>
- Gutiérrez-Gamboa, G., Pérez-Álvarez, E.P., Rubio-Bretón, P., Garde-Cerdán, T., 2019. Changes on grape volatile composition through elicitation with methyl jasmonate, chitosan, and a yeast extract in Tempranillo (*Vitis vinifera* L.) grapevines. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 244, 257–262. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.09.063>
- Gutiérrez-Gamboa, G., Zheng, W., Martínez de Toda, F., 2021. Current viticultural techniques to mitigate the effects of global warming on grape and wine quality: a comprehensive review. *Food Res. Int.* 139. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109946>
- Gutiérrez-Gamboa, Gastón, Zheng, W., Martínez de Toda, F., 2020. Strategies in vineyard establishment to face global warming in viticulture: a mini review. *J. Sci. Food Agric.* <https://doi.org/10.1002/jsfa.10813>
- Gutiérrez, I.H., 2007. Copigmentación y piranoantocianos: el papel de los flavonoles y los ácidos hidroxicinámicos en el color del vino tinto. [WWW Document].
- He, F., Liang, N.N., Mu, L., Pan, Q.H., Wang, J., Reeves, M.J., Duan, C.Q., 2012a. Anthocyanins and their variation in red wines I. Monomeric anthocyanins and their

- color expression. *Molecules*. 15, (9057-9091)
<https://doi.org/10.3390/molecules17021571>
- He, F., Liang, N.N., Mu, L., Pan, Q.H., Wang, J., Reeves, M.J., Duan, C.Q., 2012b. Anthocyanins and their variation in red wines II. Anthocyanin derived pigments and their color evolution. *Molecules* 17, 1483–1519.
<https://doi.org/10.3390/molecules17021483>
- He, F., Mu, L., Yan, G.L., Liang, N.N., Pan, Q.H., Wang, J., Reeves, M.J., Duan, C.Q., 2010. Biosynthesis of anthocyanins and their regulation in colored grapes. *Molecules*. <https://doi.org/10.3390/molecules15129057>
- He, F., Pan, Q.H., Shi, Y., Duan, C.Q., 2008. Biosynthesis and genetic regulation of proanthocyanidins in plants. *Molecules* 13, 2674–2703.
<https://doi.org/10.3390/molecules13102674>
- Hernández-Hierro, J.M., Quijada-Morín, N., Rivas-Gonzalo, J.C., Escribano-Bailón, M.T., 2012. Influence of the physiological stage and the content of soluble solids on the anthocyanin extractability of *Vitis vinifera* L. cv. Tempranillo grapes. *Anal. Chim. Acta* 732, 26–32. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.10.056>
- Hernández-Jiménez, A., Gómez-Plaza, E., Martínez-Cutillas, A., Kennedy, J.A., 2009. Grape skin and seed proanthocyanidins from Monastrell × Syrah grapes. *J. Agric. Food Chem.* 57, 10798–10803. <https://doi.org/10.1021/jf903465p>
- Huerta-Pérez, F., Pérez-Correa, J.R., 2018. Optimizing ethanol recovery in a spinning cone column. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* 83, 1–9.
<https://doi.org/10.1016/j.jtice.2017.11.030>
- Hunter, J.J., Volschenk, C.G., Booyse, M., 2017. Vineyard row orientation and grape ripeness level effects on vegetative and reproductive growth characteristics of *Vitis vinifera* L. cv. Shiraz/101-14. *Mgt. Eur. J. Agron.* 84, 47–57.
<https://doi.org/10.1016/j.eja.2016.12.004>
- Ilc, T., Werck-Reichhart, D., Navrot, N., 2016. Meta-analysis of the core aroma components of grape and wine aroma. *Front. Plant Sci.* 7, 1–15.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01472>
- Iñiguez, M., Ortega, A.P., Rosales, A., Ayala, R., Puras, P., 1995. Estudio de color de los vinos tintos de la D.O.C. Rioja. *Zubia Monografías*.
- Issa-Issa, H., Guclu, G., Noguera-Artiaga, L., López-Lluch, D., Poveda, R., Kelebek, H., Selli, S., Carbonell-Barrachina, A., 2020. Aroma-active compounds, sensory profile,

- and phenolic composition of Fondillón. *Food Chem.* 316. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126353>
- Jiménez-Martínez, M.D., Bautista-Ortín, A.B., Gil-Muñoz, R., Gómez-Plaza, E., 2019. Fining with purified grape pomace. Effect of dose, contact time and varietal origin on the final wine phenolic composition. *Food Chem.* 271, 570–576. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.009>
- Jiménez, A.H., López-Roca, J.M., Plaza, E.G., Gil-Muñoz, R., Cutillas, A.M., 2009. The anthocyanin and flavonol profile in *Vitis vinifera* intraspecific hybrids. *Acta Hortic.* 839. <https://doi.org/https://10.17660/ActaHortic.2009.839.81>
- Jones, G. V., Edwards, E.J., Bonada, M., Sadras, V.O., Krstic, M.P., Herderich, M.J., 2022. Climate change and its consequences for viticulture, 2nd ed, *Managing Wine Quality*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-102067-8.00015-4>
- Jumilla, C.R., n.d. Denominación de Origen Protegida Jumilla [WWW Document]. URL <https://vinosdejumilla.org/> (accessed 3.28.22).
- Keller, M., 2020. *The science of grapevines*, Third Edit. ed. Elsevier.
- Kennedy, J.A., Hayasaka, Y., Vidal, S., Waters, E.J., Jones, G.P., 2001. Composition of grape skin proanthocyanidins at different stages of berry development. *J. Agric. Food Chem.* 49, 5348–5355. <https://doi.org/10.1021/jf010758h>
- Kennedy, J.A., Jones, G.P., 2001. Analysis of proanthocyanidin cleavage products following acid-catalysis in the presence of excess phloroglucinol. *J. Agric. Food Chem.* 49, 1740–1746. <https://doi.org/10.1021/jf001030o>
- Kennedy, J.A., Taylor, A.W., 2003. Analysis of proanthocyanidins by high-performance gel permeation chromatography. *J. Chromatogr. A* 995, 99–107. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(03\)00420-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(03)00420-5)
- Kheir, J., Salameh, D., Strehaiano, P., Brandam, C., Lteif, R., 2013. Impact of volatile phenols and their precursors on wine quality and control measures of *Brettanomyces/Dekkera* yeasts. *Eur. Food Res. Technol.* <https://doi.org/10.1007/s00217-013-2036-4>
- Kontoudakis, N., Esteruelas, M., Fort, F., Canals, J.M., Zamora, F., 2011. Use of unripe grapes harvested during cluster thinning as a method for reducing alcohol content and pH of wine. *Aust. J. Grape Wine Res.* 17, 230–238. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2011.00142.x>

- Kornecky, J.F., Carballares, D., Tardioli, P.W., Rodrigues, R.C., Berenguer-Murcia, Á., Alcántara, A.R., Fernandez-Lafuente, R., 2020. Enzyme production of D-gluconic acid and glucose oxidase: successful tales of cascaderactions. *Catal. Sci. Technol.* 10, 5740–5771. <https://doi.org/10.1039/D0CY00819B>
- Kotseridis, Y., Baumes, R., 2000. Identification of impact odorants in Bordeaux red grape juice, in the commercial yeast used for its fermentation, and in the produced wine. *J. Agric. Food Chem.* 48, 400–406. <https://doi.org/10.1021/jf990565i>
- Koyama, R., Roberto, S.R., de Souza, R.T., Borges, W.F.S., Anderson, M., Waterhouse, A.L., Cantu, D., Fidelibus, M.W., Blanco-Ulate, B., 2018. Exogenous abscisic acid promotes anthocyanin biosynthesis and increased expression of flavonoid synthesis genes in *Vitis vinifera* × *Vitis labrusca* table grapes in a subtropical region. *Front. Plant Sci.* 9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00323>
- Kwasniewski, M.T., Vanden Heuvel, J.E., Pan, B.S., Sacks, G.L., 2010. Timing of cluster light environment manipulation during grape development affects C13 norisoprenoid and aarotenoid concentrations in Riesling. *J. Agric. Food Chem.* 58, 6841–6849. <https://doi.org/10.1021/JF904555P>
- Lakso, A.N., Kliewer, W.M., 1975. The influence of temperature on malic acid metabolism in grape berries. *Plant Physiol.* 56, 370–372. <https://doi.org/10.1104/pp.56.3.370>
- Lankinen, Å., Armbruster, W.S., Antonsen, L., 2007. Delayed stigma receptivity in *Collinsia heterophylla* (*Plantaginaceae*): genetic variation and adaptive significance in relation to pollen competition, delayed self-pollination, and mating-system evolution. *Am. J. Bot.* 94, 1183–1192. <https://doi.org/10.3732/ajb.94.7.1183>
- Lara Fernández, 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. Tesis Doctoral. Universidad de Castilla La Mancha.
- Leeuwen, C. van, Darriet, P., 2016. The impact of climate change on viticulture and wine quality. *J. Wine Econ.* 11, 150–167. <https://doi.org/10.1017/JWE.2015.21>
- Li, S.Y., Duan, C.Q., 2019. Astringency, bitterness and color changes in dry red wines before and during oak barrel aging: an updated phenolic perspective review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 12, 1840-1867 <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1431762>
- Lisjak, K., Lelova, Z., Žigon, U., Bolta, Š.V., Teissedre, P.L., Vanzo, A., 2020. Effect of

- extraction time on content, composition and sensory perception of proanthocyanidins in wine-like medium and during industrial fermentation of Cabernet Sauvignon. *J. Sci. Food Agric.* 100, 1887–1896. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10189>
- López-Borrell, A., López-Pérez, M.-F., Cayetano-Cardona, S., Lora-García, J., 2022. Experimental study and mathematical modeling of a nanofiltration membrane system for the recovery of polyphenols from wine lees. *Membranes (Basel)*. 12. <https://doi.org/10.3390/membranes12020240>
- Lorenzo, C., Pardo, F., Zalacain, A., Alonso, G.L., Salinas, M.R., 2008. Differentiation of co-winemaking wines by their aroma composition. *Eur. Food Res. Technol.* 227, 777–787. <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0786-6>
- Lu, H.C., Wang, Y., Cheng, C.F., Chen, W., Li, S. De, He, F., Duan, C.Q., Wang, J., 2022. Distal leaf removal made balanced source-sink vines, delayed ripening, and increased flavonol composition in Cabernet Sauvignon grapes and wines in the semi-arid Xinjiang. *Food Chem.* 366, 130582. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130582>
- Luis Hidalgo, F.-C., 2002. *Tratado de Viticultura General*. ed. Mundi Prensa.
- Magalhães, N., 2008. *Tratado de viticultura - A videira, a vinha e o “terroir”*. ed. Esfera Poética.
- Marín, D., Armengol, J., Carbonell-Bejerano, P., Escalona, J.M., Gramaje, D., Hernández-Montes, E., Intrigliolo, D.S., Martínez-Zapater, J.M., Medrano, H., Mirás-Avalos, J.M., Palomares-Rius, J.E., Romero-Azorín, P., Savé, R., Santesteban, L.G., de Herralde, F., 2021. Challenges of viticulture adaptation to global change: tackling the issue from the roots. *Aust. J. Grape Wine Res.* 27, 8–25. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12463>
- Martínez-Lapuente, L., Guadalupe, Z., Pérez-Porras, P., Bautista-Ortín, A.B., Gómez-Plaza, E., Ayestarán, B., 2021. Effect of sonication treatment and maceration time in the extraction of polysaccharide compounds during red wine vinification. *Molecules* 26. <https://doi.org/10.3390/molecules26154452>
- Martínez-Lüscher, J., Chen, C.C.L., Brillante, L., Kurtural, S.K., 2017. Partial solar radiation exclusion with color shade nets reduces the degradation of organic acids and flavonoids of grape berry (*Vitis vinifera* L.). *J. Agric. Food Chem.* 65, 10693–10702. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b04163>

- Martínez-Moreno, A., Martínez-Pérez, P., Bautista-Ortín, A.B., Gómez-Plaza, E., 2022. La doble vendimia como técnica para mejorar la composición cromática y reducir el grado alcohólico en vinos tintos 2–8.
- Martínez-Moreno, A., Pérez-Álvarez, E.P., López-Urrea, R., Paladines-Quezada, D.F., Moreno-Olivares, J.D., Intrigliolo, D.S., Gil-Muñoz, R., 2021. Effects of deficit irrigation with saline water on wine color and polyphenolic composition of *Vitis vinifera* L. cv. Monastrell. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 283. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110085>
- Martinez de Toda, F., 2019. Técnicas vitícolas frente al cambio climático. ed. Mundi Prensa.
- Martinez De Toda, F., Garcia, J., Balda, P., 2019. Preliminary results on forcing vine regrowth to delay ripening to a cooler period. *Vitis - J. Grapevine Res.* 58, 17–22. <https://doi.org/10.5073/vitis.2019.58.17-22>
- Masa, A., Vilanova, M., 2008. Flavonoid and aromatic characterisation of cv. Albarín blanco (*Vitis vinifera* L.). *Food Chem.* 107, 273–281. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.08.014>
- McRae, J.M., Schulkin, A., Kassara, S., Holt, H.E., Smith, P.A., 2013. Sensory properties of wine tannin fractions: implications for in-mouth sensory properties. *J. Agric. Food Chem.* 61, 719–727. <https://doi.org/10.1021/jf304239n>
- Mendes Lemos, A., Machado, N., Egea-Cortines, M., Barros, A.I., 2020. Assessment of quality parameters and phytochemical content of thirty 'Tempranillo' grape clones for varietal improvement in two distinct sub-regions of Douro. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 262, 109096. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.109096>
- Mira de Orduña, R., 2010. Climate change associated effects on grape and wine quality and production. *Food Res. Int.* 43, 1844–1855. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.05.001>
- Morales-Castilla, I., de Cortázar-Atauri, I.G., Cook, B.I., Lacombe, T., Parker, A., van Leeuwen, C., Nicholas, K.A., Wolkovich, E.M., 2020. Diversity buffers winegrowing regions from climate change losses. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 117, 2864–2869. <https://doi.org/10.1073/pnas.1906731117>
- Moreno-Olivares, J.D., Giménez-Bañón, M.J., Paladines-Quezada, D.F., Gómez-Martínez, J.C., Cebrián-Pérez, A., Fernández-Fernández, J.I., Bleda-Sánchez, J.A., Gil-Muñoz, R., 2020. Aromatic characterization of new white wine varieties

- made from Monastrell grapes grown in south-eastern Spain. *Molecules* 25. <https://doi.org/10.3390/molecules25173917>
- Moreno-Olivares, J.D., Paladines-Quezada, D., Fernández-Fernández, J.I., Bleda-Sánchez, J.A., Martínez-Moreno, A., Gil-Muñoz, R., 2019. Study of aromatic profile of different crosses of Monastrell white wines. *J. Sci. Food Agric.* <https://doi.org/10.1002/jsfa.9991>
- Moreno-Olivares, J.D., Paladines-Quezada, D.F., Gimenez-Bañon, M.J., Cebrián-Pérez, A., Fernández-Fernández, J.I., Gómez-Martínez, J.C., Bleda-Sánchez, J.A., Gil-Muñoz, R. 2022. Cell wall characterization of new Monastrell hybrid descendants and their phenolic wine composition. *Eur. Food Res. Technol.* <https://doi.org/10.1007/s00217-022-03966-4>
- Moreno-Pérez, A., Vila-López, R., Fernández-Fernández, J.I., Martínez-Cutillas, A., Gil-Muñoz, R., 2013. Influence of cold pre-fermentation treatments on the major volatile compounds of three wine varieties. *Food Chem.* 139, 770–776. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.01.052>
- Moreno-Pérez, A.A., 2013. Técnicas enológicas de frío y enzimáticas aplicadas a la extractabilidad de Syrah, Cabernet Sauvignon y Monastrell. 1-311- Tesis Doctoral. Universidad de Murcia.
- Moro, K.I.B., Bender, A.B.B., Ferreira, D. de F., Speroni, C.S., Barin, J.S., da Silva, L.P., Penna, N.G., 2021. Recovery of phenolic compounds from grape pomace (*Vitis vinifera* L.) by microwave hydrodiffusion and gravity. *Lwt* 150. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112066>
- Moukarzel, R., Ridgway, H.J., Guerin-Laguette, A., Jones, E.E., 2021. Grapevine rootstocks drive the community structure of arbuscular mycorrhizal fungi in New Zealand vineyards. *J. Appl. Microbiol.* 131, 2941–2956. <https://doi.org/10.1111/jam.15160>
- Naulleau, A., Gary, C., Prévot, L., Berteloot, V., Fabre, J.-C., Crevoisier, D., Gaudin, R., Hossard, L., 2022. Participatory modeling to assess the impacts of climate change in a Mediterranean vineyard watershed. *Environ. Model. Softw.* 150, 105342. <https://doi.org/10.1016/j.envsoft.2022.105342>
- Nicolli, K.P., Biasoto, A.C.T., Souza-Silva, É.A., Guerra, C.C., dos Santos, H.P., Welke, J.E., Zini, C.A., 2018. Sensory, olfactometry and comprehensive two-dimensional gas chromatography analyses as appropriate tools to characterize the effects of

- vine management on wine aroma. *Food Chem.* 243, 103–117.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.09.078>
- Nogales Bueno, J., 2017. Estudio del estado de madurez y la aptitud enológica en uva mediante análisis de imagen hiperespectral. 174. Tesis Doctoral. Universidad de la Rioja
- OIV, 2006. Determinación de las características cromáticas según CIELab [WWW Document]. URL <https://www.oiv.int/es/normas-y-documentos-tecnicos/metodos-de-analisis> (accessed 7.7.22).
- OIV [WWW Document], 2021. State Vitiviculture World Mark.
- Ortega-Regules, A., Romero-Cascales, I., Ros García, J.M., Bautista-Ortín, A.B., López-Roca, J.M., Fernández-Fernández, J.I., Gómez-Plaza, E., 2008. Anthocyanins and tannins in four grape varieties (*Vitis vinifera* L.) evolution of their content and extractability. *J. Int. des Sci. la Vigne du Vin* 42, 147–156.
<https://doi.org/10.20870/oenone.2008.42.3.818>
- Ortega-Regules, Ana, Ros-García, J. osé M., Bautista-Ortín, A.B., López-Roca, J.M., Gómez-Plaza, E., 2008a. Changes in skin cell wall composition during the maturation of four premium wine grape varieties. *J. Sci. Food Agric.* 88, 420–428.
<https://doi.org/10.1002/jsfa>
- Ortega-Regules, Ana, Ros-García, J.M., Bautista-Ortín, A.B., López-Roca, J.M., Gómez-Plaza, E., 2008b. Differences in morphology and composition of skin and pulp cell walls from grapes (*Vitis vinifera* L.): Technological implications. *Eur. Food Res. Technol.* 227, 223–231. <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0714-9>
- Ortega-Regules, A.E., 2006. Antocianos, taninos y composición de la pared celular en distintas variedades de uva. Evolución durante la maduración e implicaciones tecnológicas. Tesis doctoral. University of Murcia.
- Osete-Alcaraz, A., Gómez-Plaza, E., Pérez-Porras, P., Bautista-Ortín, A.B., 2022. Revisiting the use of pectinases in enology: a role beyond facilitating phenolic grape extraction. *Food Chem.* 372. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131282>
- Paissoni, M.A., Río Segade, S., Carrero-Carralero, C., Montanini, C., Giacosa, S., Rolle, L., 2020. Role of anthocyanin traits on the impact of oenological tannins addition in the first stage of red winegrape skin simulated maceration. *Food Chem.* 320. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126633>
- Paladines-Quezada, D.F., 2021. Optimización del momento de aplicación de elicitores

para mejorar la calidad de las uvas y vinos de la variedad Monastrell. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia.

- Paladines-Quezada, D.F., Fernández-Fernández, J.I., Moreno-Olivares, J.D., Bleda-Sánchez, J.A., Gómez-Martínez, J.C., Martínez-Jiménez, J.A., Gil-Muñoz, R., 2021. Application of elicitors in two ripening periods of *Vitis vinifera* L. cv Monastrell: influence on anthocyanin concentration of rapes and wines. *Molecules* 26, 1689-[https://doi: 10.3390/molecules26061689](https://doi.org/10.3390/molecules26061689)
- Paladines-Quezada, D. F., Moreno-Olivares, J.D., Fernández-Fernández, J.I., Bautista-Ortín, A.B., Gil-Muñoz, R., 2019. Influence of methyl jasmonate and benzothiadiazole on the composition of grape skin cell walls and wines. *Food Chem.* 277, 691–697. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.029>
- Paladines-Quezada, D.F., Moreno-Olivares, J.D., Fernández-Fernández, J.I., Bleda-Sánchez, J.A., Gil-Muñoz, R., 2022. Application of elicitors at two maturation stages of *Vitis vinifera* L. cv Monastrell: changes in skin cell walls. *Chemistry (Easton)*. 4, 98–111. <https://doi.org/10.3390/chemistry4010008>
- Paladines-Quezada, Diego F., Moreno-Olivares, J.D., Fernández-Fernández, J.I., Bleda-Sánchez, J.A., Martínez-Moreno, A., Gil-Muñoz, R., 2019. Elicitors and pre-fermentative cold maceration: effects on polyphenol concentration in monastrell grapes and wines. *Biomolecules* 9. <https://doi.org/10.3390/biom9110671>
- Palliotti, A., Tombesi, S., Silvestroni, O., Lanari, V., Gatti, M., Poni, S., 2014. Changes in vineyard establishment and canopy management urged by earlier climate-related grape ripening: a review. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 178, 43–54. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.07.039>
- Palomo, E.S., Díaz-Maroto, M.C., Viñas, M.A.G., Soriano-Pérez, A., Pérez-Coello, M.S., 2007. Aroma profile of wines from Albillo and Muscat grape varieties at different stages of ripening. *Food Control* 18, 398–403. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.11.006>
- Pardo-García, A.I., De La Hoz, K.S., Zalacain, A., Alonso, G.L., Salinas, M.R., 2014. Effect of vine foliar treatments on the varietal aroma of Monastrell wines. *Food Chem.* 163, 258–266. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.100>
- Parra-Torrejón, B., Ramírez-Rodríguez, G.B., Gimenez-Bañón, M.J., Moreno-Olivares, J.D., Paladines-Quezada, D.F., Gil-Munoz, R., Delgado-López, J.M., 2021. Nanoelicitors with prolonged retention and sustained release to produce beneficial

- compounds in wines. *Environ. Sci. Nano* 8, 3524–3535.
<https://doi.org/10.1039/d1en00504a>
- Parra, M., Martínez, R., Ruiz, J.L., Martínez, A., Intrigliolo, D.S., Murcia, D., 2022. Resultados preliminares de un ensayo de campo sobre portainjertos para la variedad 'Monastrell' 4, 2–9.
- Pasquier, G., Feilhes, C., Dufourcq, T., Geffroy, O., 2021. Potential contribution of climate change to the protein haze of white wines from the French southwest region. *Foods* 10, 1355 <https://doi.org/10.3390/foods10061355>
- Pastor del Rio, J.L., Kennedy, J.A., 2006. Development of proanthocyanidins in *Vitis vinifera* L. cv. Pinot noir grapes and extraction into wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 57, 125 LP – 132.
- Pedroza, M.A., Carmona, M., Pardo, F., Salinas, M.R., Zalacain, A., 2012. Waste grape skins thermal dehydration: potential release of colour, phenolic and aroma compounds into wine. *CYTA - J. Food* 10, 225–234.
<https://doi.org/10.1080/19476337.2011.633243>
- Perestrelo, R., Fernandes, A., Albuquerque, F.F., Marques, J.C., Câmara, J.S., 2006. Analytical characterization of the aroma of Tinta Negra Mole red wine: Identification of the main odorants compounds. *Anal. Chim. Acta* 563, 154–164.
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2005.10.023>
- Perestrelo, R., Silva, C., Silva, P., Câmara, J.S., 2018. Unraveling *Vitis vinifera* L. grape maturity markers based on integration of terpenic pattern and chemometric methods. *Microchem. J.* 142, 367–376.
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.07.017>
- Pérez-Álvarez, Eva P., Martínez-Moreno, A., Benítez-Jiménez, A., Soriano-Gil, A., Parra, M., Gil-Muñoz, R., Intrigliolo, D.S., 2022. La poda tardía como técnica agronómica para retrasar la brotación y la maduración de la uva 2–10.
- Pérez-Álvarez, E.P., Rubio-Bretón, P., Intrigliolo, D.S., Parra-Torrejón, B., Ramírez-Rodríguez, G.B., Delgado-López, J.M., Garde-Cerdán, T., 2022. Year, watering regime and foliar methyl jasmonate doped nanoparticles treatments: effects on must nitrogen compounds in Monastrell grapes. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 297, 110944. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.110944>
- Pérez-Porras, P., Bautista-Ortín, A.B., Jurado, R., Gómez-Plaza, E., 2022. Combining high-power ultrasound and enological enzymes during winemaking to improve the

chromatic characteristics of red wine. *Lwt* 156.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.113032>

- Pineau B, Barbe JC, Van Leeuwen, D.D., 2007. Which impact for B-damascenone on red wines aroma? *J. Agric. Food Chem.* 55, 4103–4108.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1021/jf070120r>
- Pinto, E.P., Perin, E.C., Schott, I.B., Düsman, E., da Silva Rodrigues, R., Lucchetta, L., Manfroi, V., Rombaldi, C.V., 2022. Phenolic compounds are dependent on cultivation conditions in face of UV-C radiation in ‘Concord’ grape juices (*Vitis labrusca*). *Lwt* 154. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112681>
- Pirrello, C., Zeilmaker, T., Bianco, L., Giacomelli, L., Moser, C., Vezzulli, S., 2021. Mining grapevine downy mildew susceptibility genes: a resource for genomics-based breeding and tailored gene editing. *Biomolecules* 11, 1–23.
<https://doi.org/10.3390/biom11020181>
- Poni, S., Gatti, M., Palliotti, A., Dai, Z., Duchêne, E., Truong, T.T., Ferrara, G., Matarrese, A.M.S., Gallotta, A., Bellincontro, A., Mencarelli, F., Tombesi, S., 2018. Grapevine quality: a multiple choice issue. *Sci. Hortic.* 234, 445-462.
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.12.035>
- Portu, J., Santamaría, P., López-Alfaro, I., López, R., Garde-Cerdán, T., 2015. Methyl jasmonate foliar application to tempranillo vineyard improved grape and wine phenolic content. *J. Agric. Food Chem.* 63, 2328–2337.
<https://doi.org/10.1021/jf5060672>
- Pretorius, I.S., Høj, P.B., 2005. Grape and wine biotechnology: challenges, opportunities and potential benefits. *Aust. J. Grape Wine Res.* 11, 83–108.
<https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2005.tb00281.x>
- Quijada-Morín, N., Williams, P., Rivas-Gonzalo, J.C., Doco, T., Escribano-Bailón, M.T., 2014. Polyphenolic, polysaccharide and oligosaccharide composition of Tempranillo red wines and their relationship with the perceived astringency. *Food Chem.* 154, 44–51. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.101>
- Rahmstorf, S., Foster, G., Cahill, N., 2017. Global temperature evolution: recent trends and some pitfalls. *Environ. Res. Lett.* 12. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/aa6825>
- Ramos, M.C., Martínez de Toda, F., 2020. Variability in the potential effects of climate change on phenology and on grape composition of Tempranillo in three zones of the Rioja DOCa (Spain). *Eur. J. Agron.* 115, 126014.

<https://doi.org/10.1016/j.eja.2020.126014>

- Rapp, A., Versini, G., 1995. Influence of nitrogen compounds in grapes on aroma compounds of wines. *Dev. Food Sci.* 37, 1659–1694. [https://doi.org/10.1016/S0167-4501\(06\)80257-8](https://doi.org/10.1016/S0167-4501(06)80257-8)
- Resco, P., 2015a. *Viticultura y Cambio Climático en España: vulnerabilidad en las distintas regiones y estrategias de adaptación frente al desarrollo de nuevas políticas*. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Madrid.
- Resco, P., Iglesias, A., Bardají, I., Sotés, V., 2016. Exploring adaptation choices for grapevine regions in Spain. *Reg. Environ. Chang.* 16, 979–993. <https://doi.org/10.1007/s10113-015-0811-4>
- Reynolds, A., 2015. *Grapevine breeding programs for the wine industry*. Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/C2013-0-16445-8>
- Ribereau-Gayon J. et P., Peynaud E., S.P., 1972. Dosage des anthocyanes dans les vins rouges. *Sci. Tech. du Vin* 1, 497–499.
- Riquelme, F., Martínez-Cutillas, A., 2018. *El Libro de la Monastrell*. ed. Cofradía del vino Reino de la Monastrell.
- Robinson, A.L., Boss, P.K., Solomon, P.S., Trengove, R.D., Heymann, H., Ebeler, S.E., 2014. Origins of grape and wine aroma. Part 1. Chemical components and viticultural impacts. *Am. J. Enol. Vitic.* 65, 1–24. <https://doi.org/10.5344/ajev.2013.12070>
- Rodrigues, H., Sáenz-Navajas, M.P., Franco-Luesma, E., Valentin, D., Fernández-Zurbano, P., Ferreira, V., De La Fuente Blanco, A., Ballester, J., 2017. Sensory and chemical drivers of wine minerality aroma: an application to Chablis wines. *Food Chem.* 230, 553–562. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.036>
- Rodríguez-Nogales, J.M., Fernández-Fernández, E., Vila-Crespo, J., 2009. Characterisation and classification of Spanish Verdejo young white wines by volatile and sensory analysis with chemometric tools. *J. Sci. Food Agric.* 89, 1927–1935. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3674>
- Rolle, L., Río Segade, S., Paissoni, M.A., Giacosa, S., Gerbi, V., 2021. Assessment and control of grape maturity and quality. *White Wine Technol.* 1–16. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823497-6.00001-6>
- Rolle, L., Siret, R., Segade, S.R.S., Maury, C., Gerbi, V., Jourjon, F., 2012. Instrumental

- texture analysis parameters as markers of table-grape and winegrape quality: a review. *Am. J. Enol. Vitic.* 1, 11-28 <https://doi.org/10.5344/ajev.2011.11059>
- Romero-Azorín, P., García-García, J., 2020. The productive, economic, and social efficiency of vineyards using combined drought-tolerant rootstocks and efficient low water volume deficit irrigation techniques under mediterranean semiarid conditions. *Sustain.* 12. <https://doi.org/10.3390/su12051930>
- Romero-Cascales, I., Ortega-Regules, A., López-Roca, J.M., Fernández-Fernández, J.I., Gómez-Plaza, E., 2005. Differences in anthocyanin extractability from grapes to wines according to variety. *Am. J. Enol. Vitic.* 56, 212 LP – 219.
- Romero, P., Botía, P., Navarro, J.M., 2018. Selecting rootstocks to improve vine performance and vineyard sustainability in deficit irrigated Monastrell grapevines under semiarid conditions. *Agric. Water Manag.* 209, 73–93. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2018.07.012>
- Romero, P., Navarro, J.M., Ordaz, P.B., 2022. Towards a sustainable viticulture: the combination of deficit irrigation strategies and agroecological practices in Mediterranean vineyards. A review and update. *Agric. Water Manag.* 259, 107216. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2021.107216>
- Rosli, H.G., Civello, P.M., Martínez, G.A., 2004. Changes in cell wall composition of three *Fragaria x ananassa* cultivars with different softening rate during ripening. *Plant Physiol. Biochem.* 42, 823–831. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2004.10.002>
- Ruiz-García, L., Gago, P., Martínez-Mora, C., Santiago, J.L., Fernández-López, D.J., Martínez, M. del C., Boso, S., 2021. Evaluation and pre-selection of new grapevine genotypes resistant to downy and powdery mildew, obtained by cross-breeding programs in Spain. *Front. Plant Sci.* 12, 1–8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.674510>
- Ruiz-García, Y., Gil-Muñoz, R., López-Roca, J.M., Martínez-Cutillas, A., Romero-Cascales, I., Gómez-Plaza, E., 2013a. Increasing the phenolic compound content of grapes by preharvest application of abscisic acid and a combination of methyl jasmonate and benzothiadiazole. *J. Agric. Food Chem.* 61, 3978–3983. <https://doi.org/10.1021/jf400631m>
- Ruiz-García, Y. 2014. Elicidores: una herramienta para incrementar el color y el aroma de uvas y vinos. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia
- Ruiz-García, Y., López-Roca, J.M., Bautista-Ortín, A.B., Gil-Muñoz, R., Gómez-Plaza,

- E., 2014. Effect of combined use of benzothiadiazole and methyl jasmonate on volatile compounds of monastrell wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 65, 238–243. <https://doi.org/10.5344/ajev.2014.13119>
- Ruiz-García, Y., Romero-Cascales, I., Bautista-Ortín, A.B., Gil-Muñoz, R., Martínez-Cutillas, A., Gómez-Plaza, E., 2013b. Increasing bioactive phenolic compounds in grapes: response of six monastrell grape clones to benzothiadiazole and methyl jasmonate treatments. *Am. J. Enol. Vitic.* 64, 459–465. <https://doi.org/10.5344/ajev.2013.13038>
- Sadras, V., Moran, M., Petrie, P., 2012. A window into hotter and drier futures: phenological shifts and adaptive practices. 93–113. Project SAR 0901.
- Sáenz-Navajas, M.P., Echavarri, F., Ferreira, V., Fernández-Zurbano, P., 2011. Pigment composition and color parameters of commercial Spanish red wine samples: linkage to quality perception. *Eur. Food Res. Technol.* 232, 877–887. <https://doi.org/10.1007/s00217-011-1456-2>
- Sakai, N., Imada, S., Saito, S., Kobayakawa, T., Deguchi, Y., 2005. The effect of visual images on perception of odors. *Chem. Senses* 30, 244–245. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjh205>
- Sam, F.E., Ma, T.Z., Salifu, R., Wang, J., Jiang, Y.M., Zhang, B., Han, S.Y., 2021. Techniques for dealcoholization of wines: their impact on wine phenolic composition, volatile composition, and sensory characteristics. *Foods*. <https://doi.org/10.3390/foods10102498>
- Sánchez-Palomo, E., Alonso-Villegas, R., González Viñas, M.A., 2015. Characterisation of free and glycosidically bound aroma compounds of la Mancha Verdejo white wines. *Food Chem.* 173, 1195–1202. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.148>
- Sánchez-Palomo, E., Delgado, J.A., Ferrer, M.A., Viñas, M.A.G., 2019. The aroma of La Mancha Chelva wines: chemical and sensory characterization. *Food Res. Int.* 119, 135–142. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.01.049>
- Sánchez-Palomo, E., Trujillo, M., García Ruiz, A., González Viñas, M.A., 2017. Aroma profile of malbec red wines from La Mancha region: chemical and sensory characterization. *Food Res. Int.* 100, 201–208. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.06.036>
- Santos, J.A., Fraga, H., Malheiro, A.C., Moutinho-Pereira, J., Dinis, L.T., Correia, C.,

- Moriondo, M., Leolini, L., Dibari, C., Costafreda-Aumedes, S., Kartschall, T., Menz, C., Molitor, D., Junk, J., Beyer, M., Schultz, H.R., 2020. A review of the potential climate change impacts and adaptation options for European viticulture. *Appl. Sci.* 10, 1–28. <https://doi.org/10.3390/app10093092>
- Sarneckis, C.J., Damberg, R.G., Jones, P., Mercurio, M., Herderich, M.J., Smith, P.A., 2006. Quantification of condensed tannins by precipitation with methyl cellulose: development and validation of an optimised tool for grape and wine analysis. *Aust. J. Grape Wine Res.* 12, 39–49. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2006.tb00042.x>
- Schmidtke, L.M., Blackman, J.W., Agboola, S.O., 2012. Production technologies for reduced alcoholic wines. 77. *J. Food Sci.* <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02448.x>
- Slegers, A., Angers, P., Ouellet, É., Truchon, T., Pedneault, K., 2015. Volatile compounds from grape skin, juice and wine from five interspecific hybrid grape cultivars grown in Québec (Canada) for wine production. *Molecules* 20, 10980–11016. <https://doi.org/10.3390/molecules200610980>
- Slegers, A., Angers, P., Pedneault, K., 2017. Volatile compounds from must and wines from five white grape varieties. *J. Food Chem. Nanotechnol.* 03, 8–18. <https://doi.org/10.17756/jfcn.2017-031>
- Socha, R., Gałkowska, D., Robak, J., Fortuna, T., Buksa, K., 2015. Characterization of polish wines produced from the multispecies hybrid and *Vitis vinifera* L. *Grapes. Int. J. Food Prop.* 18, 699–713. <https://doi.org/10.1080/10942912.2013.845784>
- Sollazzo, M., Baccelloni, S., D'Onofrio, C., Bellincontro, A., 2018. Combining color chart, colorimetric measurement and chemical compounds for postharvest quality of white wine grapes. *J. Sci. Food Agric.* 98, 3532–3541. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8864>
- Song, M., Fuentes, C., Loos, A., Tomasino, E., 2018. Free monoterpene isomer profiles of *Vitis vinifera* L. Cv. white wines. *Foods* 7, 1–22. <https://doi.org/10.3390/foods7020027>
- Stanimirović, B., Djordjević, J.P., Pejin, B., Maletić, R., Vujović, D., Raičević, P., Tešić, Ž., 2018. Impact of clonal selection on Cabernet Franc Grape and wine elemental profiles. *Sci. Hortic.* 237, 74–80. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.03.043>
- Styger, G., Prior, B., Bauer, F.F., 2011. Wine flavor and aroma. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 38, 1145–1159. <https://doi.org/10.1007/s10295-011-1018-4>
- Suriano, S., Alba, V., Di Gennaro, D., Suriano, M.S., Savino, M., Tarricone, L., 2016.

- Genotype/rootstocks effect on the expression of anthocyanins and flavans in grapes and wines of Greco Nero n. (*Vitis vinifera* L.). *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 209, 309–315. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.07.004>
- Swiegers, J.H., Bartowsky, E.J., Henschke, P.A., Pretorius, I.S., 2005. Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour. *Aust. J. Grape Wine Res.* 11, 139–173. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2005.tb00285.x>
- Tan, C., Dadmohammadi, Y., Lee, M.C., Abbaspourrad, A., 2021. Combination of copigmentation and encapsulation strategies for the synergistic stabilization of anthocyanins. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 20, 3164–3191. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12772>
- Teixeira, A., Eiras-Dias, J., Castellarin, S.D., Gerós, H., 2013. Berry phenolics of grapevine under challenging environments. *Int. J. Mol. Sci.* 14, 18711–18739. <https://doi.org/10.3390/ijms140918711>
- Teixeira Barcia, M., Pertuzatti, P.B., Rodrigues, D., Gómez-Alonso, S., Hermosín-Gutiérrez, I., Godoy, H.T., 2014. Occurrence of low molecular weight phenolics in *Vitis vinifera* red grape cultivars and their winemaking by-products from São Paulo (Brazil). <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.03.051>
- Teng, B., Petrie, P.R., Smith, P.A., Bindon, K.A., 2020. Comparison of water addition and early-harvest strategies to decrease alcohol concentration in *Vitis vinifera* cv. Shiraz wine: impact on wine phenolics, tannin composition and colour properties. *Aust. J. Grape Wine Res.* 26, 158–171. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12430>
- Theander, O., Aman, P., 1979. Studies on dietary-fibers. Analysis and chemical characterization of water-soluble and water-insoluble dietary-fibers. *J. Agric. Res.* 9, 97–106. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jsfa.2740330407>
- Thompson, J.E., Stephen C, F., 2000. Evidence for covalent linkage between xyloglucan and acidic pectins in suspension-cultured rose cells. *Planta* 211, 275–286. <https://doi.org/10.1007/s004250000287>
- Töpfer, R., Trapp, O., 2022. A cool climate perspective on grapevine breeding: climate change and sustainability are driving forces for changing varieties in a traditional market. *Theor. Appl. Genet.* <https://doi.org/10.1007/s00122-022-04077-0>
- Torres, N., Martínez-Lüscher, J., Porte, E., Kurtural, S.K., 2020. Optimal ranges and thresholds of grape berry solar radiation for flavonoid biosynthesis in warm climates. *Front. Plant Sci.* 11, 1–15. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00931>

- Torres, N., Yu, R., Martinez-Luscher, J., Girardello, R.C., Kostaki, E., Oberholster, A., Kaan Kurtural, S., 2022. Shifts in the phenolic composition and aromatic profiles of Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.) wines are driven by different irrigation amounts in a hot climate. *Food Chem.* 371, 131163. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131163>
- Trouvelot, S., Bonneau, L., Redecker, D., van Tuinen, D., Adrian, M., Wipf, D., 2015. *Arbuscular mycorrhiza* symbiosis in viticulture: a review. *Agron. Sustain. Dev.* 35, 1449–1467. <https://doi.org/10.1007/s13593-015-0329-7>
- Tufariello, M., Capone, S., Siciliano, P., 2012. Volatile components of Negroamaro red wines produced in Apulian Salento area. *Food Chem.* 132, 2155–2164. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.122>
- Ubeda, C., Hornedo-Ortega, R., Cerezo, A.B., Garcia-Parrilla, M.C., Troncoso, A.M., 2020. Chemical hazards in grapes and wine, climate change and challenges to face. *Food Chem.* 314, 126222. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126222>
- Ugliano, M., Henschke, P.A., 2009. Yeasts and wine flavour. *Wine Chem. Biochem.* 313–392. https://doi.org/10.1007/978-0-387-74118-5_17/COVER
- Unterkofler, J., Muhlack, R.A., Jeffery, D.W., 2020. Processes and purposes of extraction of grape components during winemaking: current state and perspectives. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 104, 4737–4755 <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10558-3>
- Van Leeuwen, C., 2022. Terroir: The effect of the physical environment on vine growth, grape ripening, and wine sensory attributes, 2nd ed, *Managing Wine Quality*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-102067-8.00005-1>
- Van Leeuwen, C., Destrac-Irvine, A., 2017. Modified grape composition under climate change conditions requires adaptations in the vineyard. *Oeno One* 51, 147–154. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2016.0.0.1647>
- Van Leeuwen, C., Destrac-Irvine, A., Dubernet, M., Duchêne, É., Gowdy, M., Marguerit, E., Pieri, P., Parker, A., De Rességuier, L., Ollat, N., 2019. An update on the impact of climate change in viticulture and potential adaptations. *Agronomy* 9. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/agronomy9090514>
- Van Leeuwen, C., Roby, J.P., De Rességuier, L., 2018. Soil-related terroir factors: a review. *Oeno One* 52, 173–188. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2018.52.2.2208>
- Varela, C., Dry, P.R., Kutyna, D.R., Francis, I.L., Henschke, P.A., Curtin, C.D., Chambers, P.J., 2015. Strategies for reducing alcohol concentration in wine. *Aust.*

- J. Grape Wine Res. 21, 670–679. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12187>
- Vicente, A.R., Ortugno, C., Rosli, H., Powell, A.L.T., Greve, L.C., Labavitch, J.M., 2007. Temporal sequence of cell wall disassembly events in developing fruits. 2. Analysis of blueberry (*Vaccinium* species), in: Journal of Agricultural and Food Chemistry. American Chemical Society, pp. 4125–4130. <https://doi.org/10.1021/jf063548j>
- Vicente, J., Navascués, E., Calderón, F., Santos, A., Marquina, D., Benito, S., 2021. An integrative view of the role of *lachancea thermotolerans* in wine technology. Foods 10. <https://doi.org/10.3390/foods10112878>
- Vidal, M., Blouin, J., 1978. Dosage colorimétrique rapide de l'acide tartrique dans les mouts et les vives. Rev. Fr. d'O Enol. 16, 39–46.
- Vidal, S., Francis, L., Noble, A., Kwiatkowski, M., Cheynier, V., Waters, E., 2004. Taste and mouth-feel properties of different types of tannin-like polyphenolic compounds and anthocyanins in wine. Anal. Chim. Acta 513, 57–65. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2003.10.017>
- Vidana Gamage, G.C., Lim, Y.Y., Choo, W.S., 2022. Sources and relative stabilities of acylated and nonacylated anthocyanins in beverage systems. J. Food Sci. Technol. 59, 831–845. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-05054-z>
- Vilanova, M., Campo, E., Escudero, A., Graña, M., Masa, A., Cacho, J., 2012. Volatile composition and sensory properties of *Vitis vinifera* red cultivars from North West Spain: Correlation between sensory and instrumental analysis. Anal. Chim. Acta 720, 104–111. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.01.026>
- Vilanova, M., Escudero, A., Graña, M., Cacho, J., 2013. Volatile composition and sensory properties of North West Spain white wines. Food Res. Int. 54, 562–568. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.07.036>
- Vilanova, M., Genisheva, Z., Masa, A., Oliveira, J.M., 2010. Correlation between volatile composition and sensory properties in Spanish Albariño wines. Microchem. J. 95, 240–246. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2009.12.007>
- Vilanova, M., Oliveira, J.M., Rivas, R., Alonso, J.C., Martínez-Zapater, J.M., Ibáñez, J., Cacho, J., 2017. El potencial aromático de las variedades de vid cultivada en Galicia. Editorial: Xunta de Galicia.
- Wang, X. jie, Tao, Y. sheng, Wu, Y., An, R. yan, Yue, Z. ya, 2017. Aroma compounds and characteristics of noble-rot wines of Chardonnay grapes artificially botrytized in the vineyard. Food Chem. 226, 41–50.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.007>

Waterhouse, A.L., Sacks, G., Jeffery, D.W., 2016. Understanding wine chemistry. Editorial: Wiley.

Yang, C., Menz, C., Fraga, H., Costafreda-Aumedes, S., Leolini, L., Ramos, M.C., Molitor, D., van Leeuwen, C., Santos, J.A., 2022. Assessing the grapevine crop water stress indicator over the flowering-veraison phase and the potential yield lose rate in important European wine regions. *Agric. Water Manag.* 261. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2021.107349>

Yecla, C.R., n.d. Denominación de Origen Protegida Yecla [WWW Document]. URL <https://www.yeclavino.com/web/es/dop> (accessed 3.28.22).

Zhang, J., Guo, Y., Han, J., Ji, Y., Zhang, L., 2021. Greenhouse gas emissions and net global warming potential of vineyards under different fertilizer and water managements in North China. *Agric. Water Manag.* 243, 106521. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2020.106521>

Zhang, L., Tao, Y.S., Wen, Y., Wang, H., 2013. Aroma evaluation of young chinese merlot wines with denomination of origin. *South African J. Enol. Vitic.* 34, 46–53. <https://doi.org/https://doi:10.21548/34-1-1080>

Zhang, S., Petersen, M.A., Liu, J., Toldam-Andersen, T.B., Ebeler, S.E., Hopfer, H., 2015. Influence of pre-fermentation treatments on wine volatile and sensory profile of the new disease tolerant cultivar solaris. *Molecules* 20, 21609–21625. <https://doi.org/10.3390/molecules201219791>

Zhang, X.K., He, F., Zhang, B., Reeves, M.J., Liu, Y., Zhao, X., Duan, C.Q., 2018. The effect of prefermentative addition of gallic acid and ellagic acid on the red wine color, copigmentation and phenolic profiles during wine aging. *Food Res. Int.* 106, 568–579. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.12.054>

Zhao, Q., Duan, C.-Q., Wang, J., 2010. Anthocyanins profile of grape berries of *Vitis amurensis*, its hybrids and their wines. *Int. J. Mol. Sci.* 2010, Vol. 11, Pages 2212–2228 11, 2212–2228. <https://doi.org/10.3390/IJMS11052212>