



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE POSTGRADO

**CARACTERIZACIÓN POLIFENÓLICA DE HOLLEJOS DE LAS
VARIEDADES SANGIOVESE, MALBEC, TEMPRANILLO, PETIT VERDOT,
CABERNET FRANC Y CARMÉNÈRE DURANTE LA MADURACIÓN
(TEMPORADA 2019)**

AFE para optar al Título Profesional de Ingeniero Agrónomo y al Grado de
Magíster en Ciencias Agropecuarias.

SUSANA ANDREA ROJAS LEFINAO

Directores de AFE
Elías Obreque Slier
Remigio López Solís

Profesores consejeros
Mariona Gil
Marcela Medel

SANTIAGO - CHILE
2020

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE POSTGRADO**

CARACTERIZACIÓN POLIFENÓLICA DE HOLLEJOS DE LAS VARIETADES
SANGIOVESE, MALBEC, TEMPRANILLO, PETIT VERDOT, CABERNET FRANC Y
CARMÉNÈRE DURANTE LA MADURACIÓN (TEMPORADA 2019)

AFE presentada como parte de los requisitos para optar al Título Profesional de
Ingeniero Agrónomo y al Grado de Magíster en Ciencias Agropecuarias

SUSANA ANDREA ROJAS LEFINAO

	Calificaciones (Memoria de Título)	Calificaciones (Tesis de Grado)
DIRECTORES DE AFE		
Elías Obreque Slier Ingeniero Agrónomo, MS, Ph.D.	7,0	7,0
Remigio López Solís Bioquímico	6,3	6,3
PROFESORES CONSEJEROS		
Marcela Medel Ingeniero Agrónomo, MS, Ph.D.	6,3	6,3
Mariona Gil Lic. en química y enología, MS, Ph.D.	5,1	5,1

Santiago, Chile
2020

AGRADECIMIENTOS

Llegada la finalización de esta larga etapa, llena de desafíos y nuevos aprendizajes, quiero partir agradeciendo a mi familia. Principalmente a mi mamá, María, quién siempre luchó y sacrificó todo para que pudiera seguir adelante, aun cuando no sabía en lo que me estaba metiendo; por siempre creer en mí y alentarme a seguir incluso cuando ya me quería rendir. Gracias por la comida rica y los regalones en mis peores momentos, fueron el aliciente perfecto para poder continuar.

Por otro lado, también está la familia del alma, personas que, sin tener un lazo sanguíneo ni responsabilidad, te brindan su cariño, cuidado y confianza. Es por esto que no puedo dejar de nombrar a quienes son como mis abuelos: Hernán y Cecilia. Gracias totales por todo lo que me brindaron desde siempre y sin condiciones. El haber llegado hasta aquí es en gran parte por ustedes, porque me mostraron un horizonte que yo ni siquiera imaginaba que existía.

También quisiera agradecer a mis amigos quienes de una u otra forma fueron parte de este camino, ya sea con su buena onda o con su ayuda. Gracias a Belén por enseñarme y guiarme en la metodología. A Patricia (potty) por su ayuda en el laboratorio, trabajando a la par conmigo y quedándose hasta casi media noche para poder terminar. A Katty por su buen ánimo, palabras de aliento y por acompañarme a altas horas aun cuando ella ya no tenía más nada que hacer. A Héctor y Lali por siempre brindar guía y ayuda con sus conocimientos cuando lo necesitaba. Asimismo, agradecer a mis amigas del Coro Femenino Deo Gracias, con quienes siempre podía ir a distraerme y pasar un buen rato.

A todos los docentes que fueron parte de mi enseñanza y crecimiento en este proceso y en especial a mi profesor guía, Elías Obreque. Gracias, no solo por sus conocimientos, también por su optimismo y simpatía, por dar calma a mis nervios e inseguridades, por alentarnos a vivir nuevas experiencias y, sobre todo, gracias por aguantar mis dudas de última hora.

Finalmente, agradecer al proyecto Fondecyt 1180975 “Influence of proanthocyanidin fractions from grapes and their barrel-aged wines on the protein fraction of saliva and astringency perception: Assessment of *Vitis vinifera* varieties scarcely cultivated in Chile” por financiar y hacer posible esta investigación.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

INTRODUCCIÓN	1
HIPOTESIS	3
OBJETIVOS	3
Objetivo general	3
Objetivos específicos	3
MATERIALES Y MÉTODOS.....	4
Lugar de Estudio	4
Materiales	4
Metodología.....	5
RESULTADOS.....	7
Análisis básicos generales	7
Intensidad colorante y parámetros CIELab	8
Análisis fenólicos globales	9
Contenido de antocianinas determinadas por HPLC-DAD.....	11
Concentración de fenoles de bajo peso molecular por HPLC-DAD.....	13
Contenido de las fracciones mono, oligo y poliméricas de proantocianidinas.....	17
DISCUSIÓN	19
CONCLUSIONES.....	23
LITERATURA CITADA	24

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Análisis básicos de las bayas de las variedades Sangiovese (SG), Malbec (MB), Tempranillo (TP), Petit Verdot (PV), Cabernet Franc (CF) y Carménère (CR) durante maduración.....	7
Cuadro 2. Perfil de antocianinas glucosiladas, acetiladas y cumariladas (mg/kg hollejo) de los hollejos de las variedades Sangiovese (SG), Malbec (MB), Tempranillo (TP), Petit Verdot (PV), Cabernet Franc (CF) y Carménère (CR) durante maduración.	11
Cuadro 3. Perfil de fenoles de bajo peso molecular (mg/kg hollejo) presentes en los hollejos de las variedades Sangiovese (SG), Malbec (MB), Tempranillo (TP), Petit Verdot (PV), Cabernet Franc (CF) y Carménère (CR) durante maduración.	14

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Propiedades cromáticas de los extractos de hollejos de las variedades en estudio durante maduración.....	9
Figura 2. Análisis fenólicos globales de los extractos de hollejos de las variedades en estudio durante maduración.....	10
Figura 3. Concentración de fracciones de flavan-3-oles de los extractos de hollejos de las variedades en estudio durante maduración..	18

RESUMEN

Chile es un importante productor y exportador de vino a nivel mundial y su oferta varietal de tintos se basa en Cabernet Sauvignon, Merlot, Carménère y Syrah. En el último tiempo, han irrumpido variedades que han mostrado una potencial adaptación a nuestras condiciones edafo-climáticas. Sin embargo, no existe información comparativa de su composición fenólica en nuestro país. Este estudio caracterizó la composición fenólica de los hollejos de las variedades Cabernet Franc, Carménère, Malbec, Tempranillo, Petit Verdot y Sangiovese durante la maduración usando técnicas espectrofotométricas y de HPLC-DAD. Los resultados demostraron que Sangiovese destacó por su alto contenido de cianidina-3-*O*-glucósido, peonidina-3-*O*-glucósido y ácido vainillínico. Malbec presentó altas concentraciones de malvidina-3-*O*-*p*-cumarilglucósido, catequina, ácido trans-*p*-cumárico, procianidinas y astilbina, además de las 3 fracciones de proantocianidinas. Tempranillo destacó por su contenido de kaempferol-3-*O*-galactósido y kaempferol. Petit Verdot por altos valores de antocianos totales, intensidad colorante, delphinidina-3-*O*-glucósido, petunidina-3-*O*-glucósido, malvidina-3-*O*-glucósido y delphinidina-3-*O*-acetilglucósido. Las pieles de Cabernet Franc obtuvieron la mayor concentración total de fenoles de bajo peso molecular, específicamente de quercetina-3-*O*-galactósido, quercetina-3-*O*-glucorónido y quercetina-3-*O*-glucósido. En conclusión, los hollejos de las variedades presentaron una composición fenólica común que no les permitiría distinguirse del resto. Adicionalmente, existiría una concentración particular de ciertos polifenoles en los hollejos de algunas variedades que les permitiría sobresalir del resto de cepas.

Palabras clave: HPLC-DAD, *Vitis vinifera* L., Antocianinas, Tanino, Proantocianidinas

ABSTRACT

Chile is a worldwide leader on wine production and exportation and its varietal offer of red wines is based mainly on Cabernet Sauvignon, Merlot, Carménère and Syrah. Recently new varieties have emerged what have shown a high adaptation potential for our edapho-climatic conditions. However, there is no comparative information on its phenolic composition in our country. This study characterized the phenolic composition of the skins of the Cabernet Franc, Carménère, Malbec, Tempranillo, Petit Verdot and Sangiovese varieties during fruit ripening by using spectrophotometric and HPLC-DAD techniques. The results shown that the Sangiovese variety stands out for its high content of cyanidin-3-*O*-glucoside, peonidin-3-*O*-glucoside and vanillic acid. Malbec had high concentrations of malvidin-3-*O*-*p*-coumarylglucoside, catechin, trans-*p*-coumaric acid, procyanidins and astilbine, in addition to the 3 fractions of proanthocyanidins. Tempranillo stood out for their content of kaempferol-3-*O*-galactoside and kaempferol. Petit Verdot had high values of total anthocyanins and coloring intensity, delphinidin-3-*O*-glucoside, petunidin-3-*O*-glucoside, malvidin-3-*O*-glucoside and delphinidin-3-*O*-acetylglucoside. Cabernet Franc skins got the highest total concentration of low molecular weight phenols, specifically quercetin-3-*O*-galactoside, quercetin-3-*O*-glucuronide and quercetin-3-*O*-glucoside. In conclusion, the skins of the varieties present a similar phenolic composition that would not allow them to be distinguished from the rest of the grape varieties. Additionally, there would be a particular concentration of certain polyphenols in skins that would allow them to stand out from the rest of the wine grape vine.

Key Words: HPLC-DAD, *Vitis vinifera* L., Anthocyanins, Tannin, Proanthocyanidins

INTRODUCCIÓN

Chile es el cuarto país más exportador de vino después de España, Italia y Francia. La vitivinicultura chilena está sustentada en 137.191 hectáreas destinada a vides de vinificación de las cuales un 73% está destinado a variedades tintas, entre las cuales Cabernet Sauvignon, Carménère, Merlot y Syrah agrupan el 70% de la oferta nacional de vinos tintos (SAG, 2020). No obstante lo anterior, existen otras variedades tintas de importancia internacional que han mostrado un crecimiento importante en superficie, tales como Sangiovese de Italia (Canuti *et al.*, 2019), Tempranillo Español (OIV, 2017), Malbec Argentino (Fanzone, *et al.*, 2010) y Cabernet Franc y Petit Verdot de Francia (Benoît *et al.*, 2019). Así, en los últimos diez años, esas variedades han aumentado su superficie cultivada en un 53%, 235%, 103%, 34% y 75%, respectivamente (SAG, 2008; SAG, 2020).

Las bayas de las variedades de uva vinífera están constituidas principalmente por agua, azúcares, ácidos orgánicos, sustancias precursoras de aromas y compuestos fenólicos (Keller, 2003). Estos últimos, están conformados por a lo menos un anillo bencénico y uno o más grupos hidroxilos (Valls y Lampreave, 2000). Estos compuestos son producto de la biosíntesis en las plantas de la vid a través del metabolismo secundario, que sintetiza compuestos que cumplen funciones biológicas en la defensa y dispersión de las distintas especies (Shirley, 1996; Taiz y Zeiger, 2006). Adicionalmente, estos metabolitos participan en propiedades de alta relevancia organoléptica en el vino, tales como la astringencia, amargor, aroma y color (Souquet *et al.*, 2000; Gil *et al.*, 1997). La pulpa, semillas y hollejos de las bayas de la vid (*Vitis vinifera* L.) son una fuente importante de polifenoles (Neveu *et al.*, 2010) y en el caso de los hollejos, corresponden a la fuente primaria de antocianos y flavonoles del vino (Downey *et al.*, 2003; Liang *et al.*, 2008).

Los polifenoles de la uva se clasifican globalmente en 2 grandes grupos: no flavonoides y flavonoides. Entre los polifenoles no flavonoides destacan los ácidos fenólicos como los ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos. Estos compuestos participan en las características de color y amargor de los vinos blancos, además de ser los principales compuestos no flavonoides de los vinos tintos (Garrido y Borges, 2013; Waterhouse, 2006). Por otra parte, el grupo de los flavonoides está representado principalmente por flavonoles, antocianos y flavanoles (Escribano-Bailon *et al.*, 1992). Los flavonoles contribuyen al amargor y actúan como cofactores del fenómeno de copigmentación junto con los antocianos en los vinos tintos (Boulton, 2001; Hermosín-Gutiérrez *et al.*, 2005). Los antocianos son los responsables de la coloración del fruto y posteriormente el vino (Castillo-Muñoz *et al.*, 2007; He *et al.*, 2010; Koponen *et al.*, 2007).

Dentro de los flavanoles, se encuentran los polímeros de flavanoles los cuales reciben el nombre de proantocianidinas o taninos condensados y están compuestos por los monómeros de (+)-catequina, (-)-epicatequina, (+)-galocatequina y (-)-epigalocatequina. Estas dos últimas se encuentran exclusivamente en los hollejos, mientras que la catequina y epicatequina se pueden encontrar tanto en semillas como en hollejos (Monagas *et al.*, 2005). En su conjunto, estos flavanoles participan en la sensación de amargor y astringencia del vino (Dai and Mumper, 2010; McRae *et al.*, 2010).

Diversos estudios han reportado que la concentración y composición fenólica en uvas de vid vinífera depende de variables edafo-climáticas, prácticas culturales y estados fenológicos, entre otros (Bogs *et al.*, 2005; Martínez-Lüscher *et al.*, 2014; Ferrer-Gallego *et al.*, 2012;

Obreque-Slier *et al.*, 2010). Uno de los factores más ampliamente estudiados en la literatura reciente corresponde al efecto varietal sobre la composición fenólica de bayas. Se han reportado diferencias fenólicas cualitativas y cuantitativas entre las variedades de uvas (Otteneder *et al.*, 2004). Así, se ha observado que los hollejos de la variedad Tempranillo muestran una menor cantidad de antocianos con respecto a Merlot (Navarro *et al.*, 2008). Por otro lado, Pantelic' *et al.*, (2016) demostraron la ausencia de resveratrol en los hollejos de Sangiovese y Cabernet Franc y la presencia de una antocianina atípica para la especie *Vitis vinifera* L., correspondiente a malvidina 3,5-*O*-dihexósido. En el caso de los flavonoles, Castillo-Muñoz *et al.*, (2007) demostraron que Petit Verdot y Tempranillo tienen una menor cantidad de estos compuestos en sus hollejos que Cabernet Sauvignon, mientras que los hollejos de Tempranillo presentarían la menor concentración de flavonoles en los hollejos de estas 3 variedades. Por otro lado, Obreque-Slier *et al.*, (2010) mencionan que las bayas Carménère poseerían una mayor concentración de polifenoles totales en pieles y semillas con respecto a Cabernet Sauvignon. En un segundo estudio, estos autores demostraron que las pieles de Cabernet Sauvignon presentaban un mayor contenido de fracción monomérica de flavan-3-oles que las variedades Carménère y Merlot (Obreque-Slier *et al.*, 2013). Para el caso de Petit Verdot, Melo *et al.*, (2015) revelan que los orujos de esta variedad son ricos en contenidos de catequina y epicatequina. Finalmente, Fanzone (2012) demostró que las pieles de bayas de Malbec presentaban una mayor concentración de compuestos fenólicos que Cabernet Sauvignon. Además, el cultivar Malbec destacaría por la relevante presencia de dihidroflavonoles (dihidroquercetina-3-glucósido, dihidroquercetina-3-ramnósido y dihidrokaempferol-3-glucósido), los cuales representarían más del 30% del contenido total de fenoles no-antociánicos en uvas, los que en conjunto podrían ser considerados como parte de un rasgo distintivo de dicha variedad.

A partir de lo anteriormente expuesto, se observa que la oferta varietal de los vinos tintos chilenos está fuertemente concentrada en algunas cepas de vid vinífera. Además, ha sido extensamente reportada la importancia de la composición fenólica en el potencial enológico de la uva y por consiguiente en el vino (Bindon *et al.*, 2013). Sumado a esto, existe escasa información sobre las características fenólicas de nuevas variedades que podrían ser potencialmente relevantes para nuestro país y así poder complementar la oferta varietal existente y aumentar la competitividad de los vinos chilenos en el mercado internacional.

HIPOTESIS

Los hollejos de las variedades Sangiovese, Malbec, Tempranillo, Petit Verdot y Cabernet Franc y Carménère presentan una concentración y composición fenólica total diferencial durante la maduración.

OBJETIVOS

Objetivo general

Caracterizar los compuestos fenólicos totales presentes en los hollejos de bayas de las variedades Sangiovese, Malbec, Tempranillo, Petit Verdot y Cabernet Franc y Carménère en distintas etapas fenológicas de la maduración.

Objetivos específicos

Comparar la concentración y composición fenólica total de los hollejos de las bayas de Sangiovese, Malbec, Tempranillo, Petit Verdot y Cabernet Franc y Carménère en distintos estados fenológicos de la maduración.

Describir la evolución de los compuestos fenólicos totales de los hollejos de las bayas de Sangiovese, Malbec, Tempranillo, Petit Verdot y Cabernet Franc y Carménère durante la maduración.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de Estudio

Este estudio se llevó a cabo en la empresa Agrícola Teno Ltda., la cual se ubica en el kilómetro 69 de la Ruta 5 Sur, VI Región del Libertador Bernardo O'Higgins (Valle del Cachapoal, coordenadas 34°09'57.87'' S y 70°46'10.51''). Posteriormente, los análisis se realizaron en los laboratorios de Análisis Enológico y Análisis Cromatográfico del Departamento de Agroindustria y Enología de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

Materiales

Material biológico

Se utilizaron bayas de *Vitis vinifera* L., cosechadas en la temporada 2019, de las variedades Cabernet Franc, Malbec, Petit Verdot, Tempranillo, Sangiovese y Carménère. Los hollejos se obtuvieron de racimos de plantas de 8 años de edad, establecidas en un marco de plantación de 2 metros entre hilera y 1 metro sobre hilera, bajo sistema de conducción en espaldera. El viñedo presenta una extensión de 24 hectáreas (4 ha cultivadas por variedad) y la producción normal de uva alcanza alrededor de 2,5 kilos por planta ($\pm 0,2$ kg). Los tratamientos se sometieron a similares condiciones hídricas, edafoclimáticas y agronómicas. El riego se suministró mediante un sistema de goteo y se aplicaron cerca de 650 litros de agua por planta durante la temporada. El suelo se caracterizó por su origen aluvial con topografía plana (pendiente 0-1%) y una profundidad efectiva de 70-120 cm. El perfil de suelo en superficie variaba de franco a franco arcilloso y luego era dominado por texturas franco arcillosas y limosas en profundidad. El clima de la zona está clasificado como templado-cálido con estación seca prolongada según Köppen. Las temperaturas fluctuaron entre una media invernal de 8,2°C mientras que en verano la media máxima alcanzó 21,3°C.

No se realizaron desbrotes, despuntes, deshojes ni raleos. La fertilización fue de 65 kg/ha de urea dosificado en 3 aplicaciones (brotación, enero y postcosecha). El control fitosanitario consistió en la aplicación de fungicidas Topas (Syngenta) de manera preventiva a principio de brotación (10 cm de brote). Posteriormente, se realizaron aplicaciones de azufre (18 kg/ha) cada 7-10 días entre brotación y pinta para control de hongos del género *Oidium*.

Equipamiento y reactivos

Los equipos utilizados fueron los siguientes: Espectrofotómetro de marca Shimadzu (modelo UV-1800), Potenciómetro marca Thermo (scientific Orion Star A211, Taiwan), Ultrasonido marca Tecnigen (modelo YJ5120-1), Vortex marca Mixer (modelo VM-2000), Centrifuga marca Hettich (modelo Universal 320, Alemania) y un rotavapor marca Buchi (modelo R-200, Suiza). Adicionalmente se utilizó un cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC-DAD) marca Agilent Technologies (modelo 1200), el cual está constituido por detector de arreglo de diodos (modelo G1315B), bomba cuaternaria (modelo G1311A) y un inyector automático (modelo ALS G1329A). Para la realización del análisis individual de compuestos fenólicos, se utilizó una columna Nova-Pack C18 (4 μ m, 300 x 3,9 mm), mientras que para la cuantificación de antocianinas se utilizó una columna LiChrospher RP-18 (5 μ m, 250 x 4 mm). Los reactivos grado pro-análisis y grado HPLC fueron adquiridos en Merck

(Darmstadt, Alemania), mientras que los estándares de compuestos de bajo peso molecular se adquirieron en Sigma-Aldrich (St. Louis, EE.UU.) y los cartuchos de fraccionamiento Sep-Pak C18 se obtuvieron en Waters (Ireland).

Metodología

Tratamiento y Diseño Experimental

El diseño experimental consistió en un DCA (diseño completamente aleatorizado) con estructura de parcela dividida. Se consideraron 18 tratamientos a partir de dos factores: el factor variedad con 6 niveles (Sangiovese, Malbec, Tempranillo, Petit Verdot, Cabernet y Carménère) y factor estado fenológico con 3 niveles (Muestreo 1, 2 y 3). Las fechas de muestreo fueron 15, 50 y 68 días después de plena pinta para Sangiovese, Malbec y Tempranillo; y 15, 43 y 64 días después de plena pinta para las variedades Petit Verdot, Cabernet Franc y Carménère. La variedad Carménère fue considerada como control por considerarse la variedad emblemática de la vitivinicultura chilena y porque existen algunos estudios previos que describen su perfil polifenólico. La unidad experimental fue un grupo de 20 plantas por variedad y la unidad muestral, un grupo de 200 bayas. Además, cada tratamiento tuvo 3 repeticiones. El modelo estadístico utilizado es el que se detalla a continuación:

Modelo estadístico:

$$Y_{i,j,k} = \mu + V_i + E_j + (V \times E)_{ij} + P_k + \varepsilon_{ijk}$$

μ es la media general

V es el efecto del i-ésimo nivel del factor variedad (6 niveles)

E es el efecto del j-ésimo nivel del factor estado fenológico (3 niveles)

V x E es el efecto de la interacción entre el factor variedad y el factor estado fenológico

P_k es el error de la parcela principal

ε es el error de la subparcela

Manejo del ensayo

Un grupo de 200 bayas fueron colectadas de manera manual. Se tomaron 2 bayas por racimo de 5 racimos por planta de un total de 20 plantas, las cuales fueron inmediatamente resguardadas en un *cooler*. Luego, se separó un grupo de 100 bayas para la realización de análisis básicos generales y las otras 100 bayas fueron congeladas a una temperatura de -4°C para los análisis fenólicos. El segundo grupo de bayas fueron descongeladas y se separó las pieles de la pulpa con ayuda de unas pinzas. Las pieles fueron pesadas y molidas para la elaboración de extractos que fueron preparados en cuatro pasos según lo descrito por Izquierdo-Hernández *et al.*, (2016):

1. Mezclar en un matraz Erlenmeyer los gramos de hollejos provenientes de 100 bayas (Cuadro 1) y 100 ml de solución 1:1 metanol/agua (v/v) ajustada a pH 3,0 con HCL. Dejar macerar durante 1 hora a 20°C mediante agitación mecánica.
2. Repetir el procedimiento anterior con los mismos 10 gr de pieles, pero esta vez con solución de relación 4:1 de acetona/agua (v/v) ajustada a pH 3,0 con HCL.

3. Mezclar ambos extractos y posteriormente centrifugar durante 10 minutos a 800 g. El sobrenadante resultante se filtró utilizando una membrana de 0,45 μm de tamaño de poro.
4. Evaporar el extracto obtenido a 30°C y bajo presión reducida y luego reconstituir con 200 ml de agua destilada para posteriormente ser sometido a los análisis correspondientes.

Variables a medir

Los análisis se dividieron en 2 grupos:

1. Análisis básicos generales, según lo descrito por Bordeau y Scarpa (1998).
 - pH mediante potenciometría.
 - Acidez de titulación mediante indicador ácido-base (NaOH 0,1N)
 - Sólidos solubles mediante refractometría.
2. Análisis polifenólicos según las metodologías descritas a continuación:
 - Fenoles totales, mediante espectrofotometría D.O. 280 nm (García-Barceló, 1990).
 - Antocianos totales, por decoloración con bisulfito (García-Barceló, 1990).
 - Taninos totales, mediante la precipitación con metilcelulosa (Mercurio *et al.*, 2007)
 - Intensidad colorante, por espectrofotometría a D.O. 420, 520 y 620 nm (Glories, 1978)
 - Fenoles de bajo peso molecular mediante HPLC-DAD (Obreque-Slier *et al.*, 2010)
 - Antocianos mediante HPLC-DAD (Obreque-Slier *et al.*, 2013).
 - Fraccionamiento de taninos, mediante el uso de cartuchos sep Pack (Sun *et al.*, 1998).

Análisis estadístico

Los resultados de las muestras fueron sometidos a un análisis de modelos lineales generales y mixtos para detectar diferencias significativas entre tratamientos. Una vez identificadas las diferencias significativas entre los tratamientos, se realizó la prueba de comparaciones múltiples LSD-Fisher con un nivel de significancia de un 5%. Todo esto se realizó con el software estadístico Infostat.

RESULTADOS

Análisis básicos generales

En el Cuadro 1 se muestran los resultados de los análisis básicos determinados en las bayas de uva de las variedades Sangiovese, Malbec, Tempranillo, Petit Verdot, Cabernet Franc y Carménère en distintas fechas de cosecha. Durante el estudio, se observó que el pH y contenido de sólidos solubles aumentaron gradualmente hacia el final del estudio, mientras que la acidez de titulación disminuyó sustancialmente entre el primer y tercer muestreo en todas las variedades. Contrariamente, no se observaron cambios significativos en el peso de hollejos y diámetro de bayas en ninguna de las variedades del estudio, mientras que en el peso de 100 bayas, se observó un aumento solo en las variedades Malbec y Tempranillo.

El análisis comparativo demostró que los hollejos de Tempranillo y Carménère presentaron los mayores pesos y diámetro de bayas, mientras que Petit Verdot y Cabernet Franc los menores valores. El peso de los hollejos de Sangiovese, Tempranillo y Carménère fue mayor que el resto de las variedades en dos muestreos. En el caso del pH, las bayas de Carménère presentaron los mayores valores y Sangiovese los menores valores durante la maduración. Sin embargo, estas diferencias no fueron coincidentes con los resultados de la acidez de titulación, puesto que las bayas de Petit Verdot y Carménère fueron las variedades con mayor y menor valor, respectivamente. Finalmente, las bayas de Cabernet Franc y Malbec presentaron los mayores y menores contenidos de sólidos solubles durante las distintas etapas fenológicas, respectivamente.

Cuadro 1. Análisis básicos de las bayas de las variedades Sangiovese (SG), Malbec (MB), Tempranillo (TP), Petit Verdot (PV), Cabernet Franc (CF) y Carménère (CR) durante maduración.

	Var	Muestreo 1	Muestreo 2	Muestreo 3
Peso (g/100 bayas)	SG	146,52 ± 22,8 B a	149,45 ± 20,13 B a	150,13 ± 16,12 C a
	MB	102,26 ± 12,33 C b	148,17 ± 15,31 B a	160,68 ± 10,87 BC a
	TP	163,91 ± 7,91 AB b	166,09 ± 7,59 AB b	185,73 ± 8,84 A a
	PV	92,8 ± 13,01 C a	93,37 ± 7,60 C a	88,80 ± 1,30 D a
	CF	102,71 ± 5,81 C ab	105,63 ± 6,13 C a	92,19 ± 6,64 D b
	CR	177,25 ± 7,9 A a	182,13 ± 8,40 A a	175,99 ± 14,54 AB a
Peso de hollejos (g/100 bayas)	SG	6,85 ± 2,82 A a	6,68 ± 1,98 A a	7,06 ± 0,80 A a
	MB	5,42 ± 0,73 AB a	5,17 ± 0,29 A a	5,56 ± 0,43 BC a
	TP	7,65 ± 1,17 A a	6,47 ± 0,44 A a	6,89 ± 0,58 AB a
	PV	4,14 ± 0,12 B b	5,05 ± 0,4 A a	3,91 ± 0,58 D b
	CF	4,18 ± 0,18 B a	6,31 ± 2,02 A a	5,03 ± 1,08 CD a
	CR	6,67 ± 1,30 A a	6,21 ± 0,91 A a	8,26 ± 1,19 A a
Diámetro de baya (cm)	SG	1,22 ± 0,05 AB a	1,16 ± 0,02 B a	1,22 ± 0,04 AB a
	MB	1,12 ± 0,12 BC a	1,17 ± 0,05 B a	1,14 ± 0,06 B a
	TP	1,31 ± 0,04 A a	1,26 ± 0,02 A a	1,34 ± 0,09 A a
	PV	1,05 ± 0,07 C a	1,02 ± 0,06 C a	1,08 ± 0,06 B a
	CF	1,09 ± 0,02 C a	1,06 ± 0,01 C a	1,09 ± 0,04 B a
	CR	1,32 ± 0,01 A a	1,32 ± 0,05 A a	1,33 ± 0,22 A a

pH	SG	2,88 ± 0,01	D	b	3,41 ± 0,08	D	a	3,34 ± 0,04	E	a
	MB	2,89 ± 0,02	D	c	3,60 ± 0,04	C	b	3,72 ± 0,05	C	a
	TP	3,25 ± 0,04	B	c	3,86 ± 0,01	A	b	3,95 ± 0,05	B	a
	PV	2,97 ± 0,09	C	c	3,40 ± 0,04	D	b	3,53 ± 0,04	D	a
	CF	3,24 ± 0,03	B	c	3,68 ± 0,03	B	b	3,93 ± 0,07	B	a
	CR	3,57 ± 0,01	A	c	3,93 ± 0,05	A	b	4,05 ± 0,02	A	a
Sólidos solubles (° Brix)	SG	17,93 ± 0,64	C	c	26,27 ± 0,31	BC	b	28,23 ± 0,60	B	a
	MB	16,53 ± 0,42	D	b	23,80 ± 0,53	E	a	24,40 ± 0,53	D	a
	TP	18,53 ± 0,42	C	c	25,60 ± 0,53	CD	b	27,47 ± 0,31	BC	a
	PV	21,37 ± 0,47	A	c	26,70 ± 0,46	B	b	27,93 ± 0,31	B	a
	CF	22,00 ± 0,20	A	c	27,53 ± 0,12	A	b	29,27 ± 0,70	A	a
	CR	20,47 ± 0,58	B	c	24,97 ± 0,35	D	b	26,63 ± 0,51	C	a
Acidez de titulación (gr L⁻¹ de ac. tartárico)	SG	21,58 ± 0,94	B	a	13,44 ± 1,94	A	b	12,72 ± 2,76	A	b
	MB	26,13 ± 0,70	A	a	8,17 ± 0,40	B	b	7,33 ± 0,82	B	b
	TP	19,82 ± 3,74	B	a	5,97 ± 0,29	C	b	5,40 ± 0,08	B	b
	PV	26,82 ± 3,69	A	a	14,29 ± 1,10	A	b	10,77 ± 0,46	A	b
	CF	13,79 ± 0,35	C	a	6,60 ± 0,84	BC	b	5,95 ± 1,36	B	b
	CR	9,47 ± 0,83	D	a	6,67 ± 0,98	BC	b	5,55 ± 0,56	B	b

Promedio ± Desviación estándar. Columnas con letras mayúsculas distintas muestran diferencias estadísticamente significativas entre variedades para un mismo muestreo. Filas con letras minúsculas distintas muestran diferencias estadísticamente significativas entre muestreos para una misma variedad según prueba LSD-Fisher ($p \leq 0,05$).

Intensidad colorante y parámetros CIELab

En la Figura 1 se presentan los valores de los parámetros de CIELab e Intensidad Colorante para los extractos de hollejos de las variedades de este estudio. L* correspondió a la luminosidad y se encuentra entre los valores 0 (opaco) y 100 (transparente), mientras que a* varía desde el rojo ($a^* > 0$) al verde ($a^* < 0$) y b* desde el color amarillo ($b^* > 0$) al color azul ($b^* < 0$). Durante el estudio se observó una disminución significativa de L* y b* en los extractos de Sangiovese, Malbec y Tempranillo. Del mismo modo, estas mismas variedades presentaron valores crecientes de intensidad colorante durante la maduración. Asimismo, se observó un aumento de la componente a* en Sangiovese. En el resto de las variedades no se observaron variaciones en los valores de las componentes del color. Comparativamente, Sangiovese presentó los mayores valores de b* con respecto al resto de variedades en todos los muestreos, mientras que esta misma variedad junto a Cabernet Franc presentaron los mayores valores de a*. En el caso de L* no se observaron diferencias entre las variedades del estudio hacia el último muestreo. En cuanto a la intensidad colorante, se observó que los extractos de hollejos de las variedades Petit Verdot y Cabernet Franc presentaron los mayores valores en la primera y tercera fecha de muestreo.

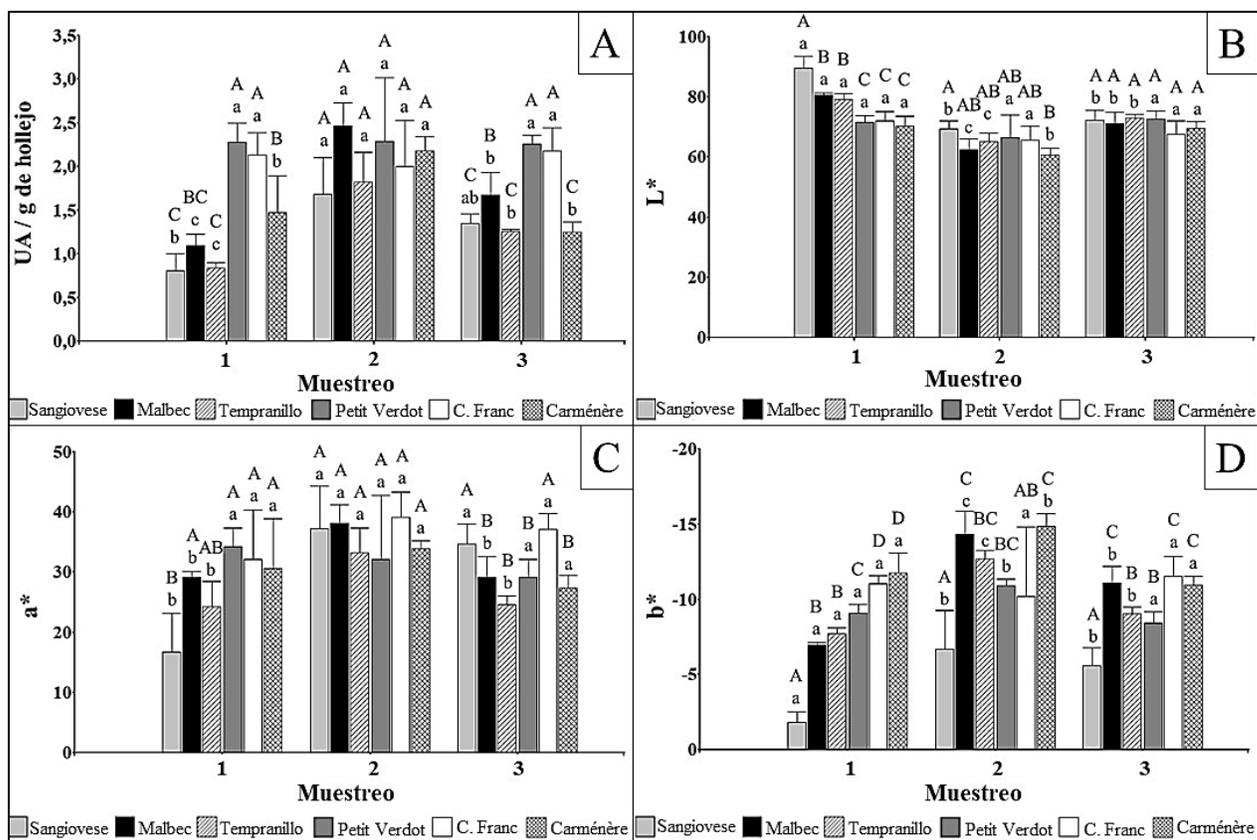


Figura 1. Propiedades cromáticas de los extractos de hollejos de las variedades en estudio durante maduración. Intensidad Colorante (A), luminosidad (B), componente a* (C) y componente b* (D). Letras mayúsculas distintas muestran diferencias estadísticamente significativas entre variedades en un mismo muestreo. Letras minúsculas distintas muestran diferencias estadísticamente significativas entre muestreos en una misma variedad (LSD-Fisher, $p \leq 0,05$). UA, unidades de absorbancia.

Análisis fenólicos globales

En la Figura 2 se muestran los análisis espectrofotométricos de fenoles realizados en los extractos de hollejos de las variedades en estudio. Durante el proceso de maduración se observó que en la mayoría de las variedades aumentó el contenido de fenoles totales (excepto en Cabernet Franc) y en el caso de los antocianos totales se observó que solo tres variedades (Sangiovese, Malbec y Tempranillo) mostraron concentraciones mayores en el último muestreo, mientras que en las otras variedades (Petit Verdot, Cabernet Franc y Carménère), no se observaron cambios en disponibilidad de estos compuestos antocianicos. El contenido de taninos no varió entre la primera y tercera fecha de muestreo, salvo en los hollejos de Malbec, en donde se presenció una disminución hacia el final del estudio.

El análisis comparativo demostró que los hollejos de Petit Verdot presentaron los mayores contenidos de fenoles totales en dos muestreos, mientras que Sangiovese los menores valores durante el estudio. Por su parte, los hollejos de Petit Verdot predominaron en su contenido de antocianos, mientras que Sangiovese y Tempranillo mostraron los menores contenidos de estos compuestos. Finalmente, y a pesar del errático comportamiento de los compuestos tánicos, en el último muestreo los hollejos de Sangiovese y Petit Verdot mostraron los mayores contenidos de taninos totales.

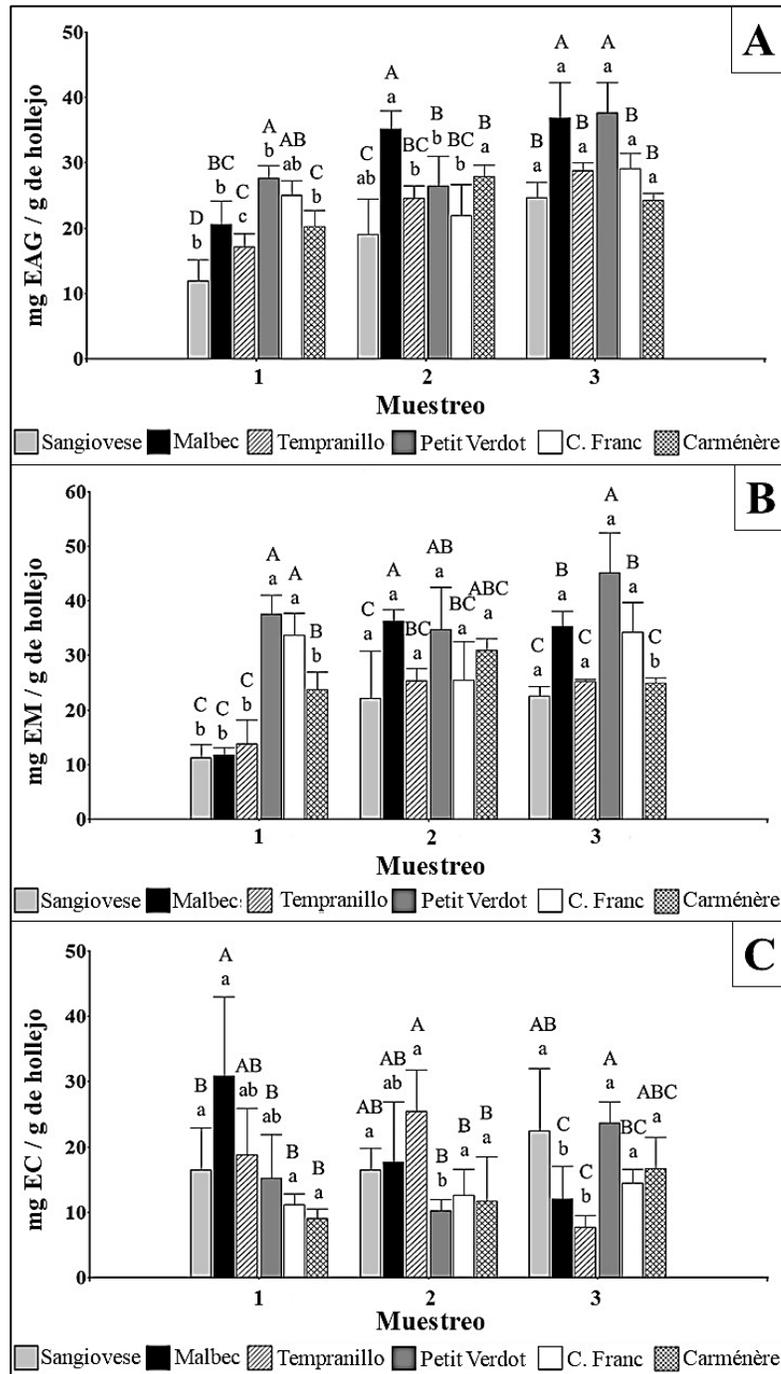


Figura 2. Análisis fenólicos globales de los extractos de hollejos de las variedades en estudio durante maduración. Fenoles totales (A), Antocianos totales (B) y Taninos totales (C). Letras mayúsculas distintas muestran diferencias estadísticamente significativas entre variedades en un mismo muestreo. Letras minúsculas distintas muestran diferencias estadísticamente significativas entre muestreos en una misma variedad (LSD-Fisher, $p \leq 0,05$). EAG, equivalente de ácido gálico; EM, equivalente de malvidina; EC equivalente de (-)-catequina.

Contenido de antocianinas determinadas por HPLC-DAD

En este estudio se identificaron 11 antocianinas: delfinidina-3-*O*-glucósido (Df3Gl), cianidina-3-*O*-glucósido (Ci3Gl), petunidina-3-*O*-glucósido (Pt3Gl), peonidina-3-*O*-glucósido (Po3Gl), malvidina-3-*O*-glucósido (Mv3Gl), delfinidina-3-*O*-acetilglucósido (Df3acGl), cianidina-3-*O*-acetilglucósido (Ci3acGl), petunidina-3-*O*-acetilglucósido (Pt3acGl), malvidina-3-*O*-acetilglucósido (Mv3acGl), petunidina-3-*O-p*-cumarilglucósido (Pt3Cum) y malvidina-3-*O-p*-cumarilglucósido (Mv3Cum) (Cuadro 2). En todas las variedades aumentó la suma total de antocianinas cuantificadas, salvo en los hollejos de Cabernet Franc, en donde no se observó una diferenciación cuantitativa durante la maduración. No obstante lo anterior, los hollejos de Cabernet Franc presentaron el mayor contenido total de estos compuestos junto a Petit Verdot con respecto al resto de las variedades del estudio.

El análisis particular demostró que la malvidina fue la antocianina más abundante de las antocianinas glucosiladas, acetiladas y cumariladas en todas las variedades. Especialmente, la Mv3Gl fue la antocianina más abundante y los hollejos de Petit Verdot mostraron el mayor contenido durante el estudio. Es importante mencionar que solo en las variedades Petit Verdot y Cabernet Franc fueron detectadas las antocianinas Df3acGl y Ci3acGl. De igual forma, solo en las variedades Malbec y Tempranillo se detectó la presencia de Pt3acGl. Comparativamente y considerando sólo el último muestreo, se observó que los hollejos de Petit Verdot presentaron contenidos significativos en cinco de las once antocianinas identificadas, mientras que Sangiovese y Malbec en dos de los compuestos antociánicos identificados. Nótese que la variedad Sangiovese se caracterizó por la ausencia de antocianinas acetiladas y cumariladas.

Cuadro 2. Perfil de antocianinas glucosiladas, acetiladas y cumariladas (mg/kg hollejo) de los hollejos de las variedades Sangiovese (SG), Malbec (MB), Tempranillo (TP), Petit Verdot (PV), Cabernet Franc (CF) y Carménère (CR) durante maduración.

	Var	Muestreo 1		Muestreo 2		Muestreo 3	
Df3Gl	SG	20,65 ± 6,81	BC b	54,66 ± 8,05	AB a	45,14 ± 5,31	B a
	MB	12,75 ± 4,39	BC c	47,22 ± 7,36	B a	27,26 ± 6,13	C b
	TP	31,60 ± 17,83	B b	73,38 ± 11,76	A a	51,73 ± 3,11	B ab
	PV	57,86 ± 11,07	A a	59,72 ± 19,12	AB a	72,75 ± 15,74	A a
	CF	65,35 ± 13,14	A a	56,88 ± 11,50	AB a	58,88 ± 5,82	AB a
	CR	8,26 ± 4,02	C b	23,86 ± 1,82	C a	19,19 ± 3,72	C a
Ci3Gl	SG	36,93 ± 7,71	A a	58,66 ± 48,16	A a	81,43 ± 17,90	A a
	MB	0,24 ± 0,41	C b	2,97 ± 0,58	B a	0,67 ± 1,17	B b
	TP	6,59 ± 3,61	BC a	11,19 ± 1,63	B a	6,53 ± 0,93	B a
	PV	4,23 ± 1,07	BC a	5,40 ± 0,38	B a	3,97 ± 1,41	B a
	CF	9,82 ± 2,03	B a	34,49 ± 39,77	AB a	8,56 ± 1,57	B a
	CR	0,58 ± 0,87	C a	2,41 ± 0,86	B a	4,27 ± 5,06	B a
Pt3Gl	SG	23,07 ± 5,84	B b	55,87 ± 2,17	A a	52,93 ± 5,27	B a
	MB	14,84 ± 4,44	BC c	51,62 ± 6,25	A a	36,10 ± 6,32	C b
	TP	26,27 ± 11,49	B b	58,86 ± 9,86	A a	45,61 ± 1,13	BC a
	PV	44,60 ± 6,16	A a	51,66 ± 15,59	A a	65,79 ± 11,55	A a
	CF	50,00 ± 8,23	A a	49,56 ± 1,79	A a	50,05 ± 5,17	B a
	CR	10,41 ± 3,28	C b	26,09 ± 3,03	B a	20,95 ± 3,74	D a

Po3G1	SG	14,37 ± 6,42	A	b	29,38 ± 17,35	A	ab	43,65 ± 7,17	A	a
	MB	3,81 ± 1,96	B	b	13,19 ± 1,43	B	a	9,72 ± 1,92	C	a
	TP	6,51 ± 3,26	B	b	13,26 ± 2,05	B	a	10,82 ± 1,18	C	ab
	PV	7,96 ± 1,56	B	a	12,67 ± 3,16	B	a	10,60 ± 2,39	C	a
	CF	20,29 ± 3,72	A	a	28,85 ± 6,80	A	a	23,28 ± 2,34	B	a
	CR	3,09 ± 1,28	B	b	8,76 ± 0,89	B	a	8,23 ± 2,60	C	a
Mv3G1	SG	27,70 ± 6,05	B	b	72,73 ± 31,82	B	a	59,86 ± 1,55	C	ab
	MB	35,73 ± 7,66	B	b	120,85 ± 8,44	A	a	107,82 ± 11,93	B	a
	TP	30,62 ± 10,69	B	b	77,05 ± 11,24	B	a	66,97 ± 1,22	C	a
	PV	66,91 ± 5,06	A	c	95,95 ± 19,12	AB	b	126,51 ± 15,40	A	a
	CF	74,44 ± 9,47	A	a	78,02 ± 25,54	B	a	99,71 ± 9,95	B	a
	CR	39,96 ± 6,53	B	b	88,86 ± 14,26	AB	a	70,90 ± 8,15	C	a
Df3acG1	SG	ND			ND			ND		
	MB	ND			ND			ND		
	TP	ND			ND			ND		
	PV	5,07 ± 1,50	A	a	4,84 ± 3,68	A	a	6,43 ± 1,20	A	a
	CF	5,72 ± 1,63	A	a	2,71 ± 2,50	A	a	2,75 ± 1,03	B	a
	CR	ND			ND			ND		
Ci3acG1	SG	ND			ND			ND		
	MB	ND			ND			ND		
	TP	ND			ND			ND		
	PV	0,43 ± 0,53	B	a	2,21 ± 1,63	A	a	0,35 ± 0,19	B	a
	CF	5,91 ± 1,52	A	a	4,04 ± 3,54	A	a	5,53 ± 0,36	A	a
	CR	ND			ND			ND		
Pt3acG1	SG	ND			ND			ND		
	MB	ND			2,61 ± 0,68	A	a	0,85 ± 0,70	A	b
	TP	ND			2,52 ± 0,89	A	a	1,00 ± 0,29	A	b
	PV	ND			ND			ND		
	CF	ND			ND			ND		
	CR	ND			ND			ND		
Mv3acG1	SG	ND			ND			ND		
	MB	7,36 ± 2,19	D	b	28,87 ± 2,32	AB	a	25,14 ± 3,15	C	a
	TP	0,58 ± 0,84	E	c	6,02 ± 0,80	B	a	4,62 ± 0,23	D	b
	PV	32,49 ± 2,58	B	b	48,07 ± 9,56	A	a	59,30 ± 6,03	A	a
	CF	38,02 ± 4,77	A	a	30,36 ± 26,39	A	a	48,33 ± 4,17	B	a
	CR	15,97 ± 2,48	C	c	34,46 ± 6,73	A	a	24,95 ± 2,26	C	b
Pt3Cum	SG	ND			ND			ND		
	MB	ND			2,14 ± 1,98	A	a	2,76 ± 0,21	A	a
	TP	ND			1,57 ± 0,89	A	a	1,19 ± 0,27	B	a
	PV	ND			0,49 ± 0,51	A		ND		
	CF	ND			0,21 ± 0,25	A	a	0,82 ± 0,41	B	a
	CR	0,06 ± 0,05		b	1,79 ± 1,48	A	a	1,27 ± 0,22	B	ab

	SG	ND			ND			ND		
Mv3Cum	MB	11,24 ± 3,80	A	b	30,57 ± 4,47	A	a	22,62 ± 3,63	A	a
	TP	2,70 ± 3,59	B	b	11,74 ± 2,97	BC	a	8,55 ± 0,69	B	a
	PV	3,42 ± 1,73	B	b	6,56 ± 2,82	CD	ab	8,64 ± 0,75	B	a
	CF	6,00 ± 2,37	AB	a	4,63 ± 4,04	D	a	8,92 ± 1,42	B	a
	CR	6,76 ± 4,10	AB	b	14,61 ± 3,22	B	a	9,32 ± 1,29	B	ab
Total	SG	122,71 ± 31,08	B	b	292,32 ± 27,00	A	a	284,61 ± 32,78	BC	a
	MB	86,44 ± 25,41	B	c	300,11 ± 29,41	A	a	232,91 ± 33,45	CD	b
	TP	105,60 ± 52,51	B	b	255,58 ± 41,98	AB	a	197,02 ± 6,71	DE	a
	PV	222,98 ± 30,86	A	b	287,56 ± 66,60	A	ab	354,36 ± 54,21	A	a
	CF	276,07 ± 46,97	A	a	289,79 ± 28,07	A	a	306,83 ± 27,71	AB	a
	CR	85,16 ± 18,97	B	b	201,38 ± 29,49	B	a	159,17 ± 20,30	E	a

Promedio ± Desviación estándar. Columnas con letras mayúsculas distintas muestran diferencias estadísticamente significativas entre variedades para un mismo muestreo. Filas con letras minúsculas distintas muestran diferencias estadísticamente significativas entre muestreos para una misma variedad según prueba LSD-Fisher ($p \leq 0,05$).

Concentración de fenoles de bajo peso molecular por HPLC-DAD

En el Cuadro 3 se reportan los fenoles de bajo peso molecular identificados en los hollejos de las bayas en 3 fechas de muestreo. Se identificó un total de 17 compuestos: ácido gálico (AG), ácido vainillínico (AV), ácido siríngico (AS), ácido trans-*p*-cumárico (APC), quercetina-3-*O*-galactósido (QGa), quercetina-3-*O*-glucorónido (QGr), quercetina-3-*O*-glucósido (QGl), miricetina-3-*O*-galactósido (MGa), miricetina (M), kaempferol-3-*O*-glucósido (KGl), kaempferol-3-*O*-galactósido (KGa), kaempferol (K), rutina (R), catequina (CT), epicatequina-3-*O*-galato (ECG), procianidinas (PD) y astilbina (AST).

Durante la maduración, la concentración total de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular aumentó en las variedades Sangiovese, Malbec y Tempranillo. Es interesante notar que en las variedades Petit Verdot, Cabernet Franc y Carménère no se presentaron diferencias significativas hacia el tercer muestreo. Del mismo modo, se observó que nueve de los compuestos identificados no variaron su concentración en a lo menos 4 variedades, mientras que solo tres de los compuestos presentaron un incremento y dos una concentración decreciente en a lo menos tres de las variedades del estudio durante la maduración.

Por otro lado, las variedades Malbec y Cabernet Franc presentaron el mayor contenido total de fenoles de bajo peso molecular. Contrariamente, Sangiovese el menor contenido total y el menor número de fenoles identificados. El compuesto más abundante en todas las variedades fue la quercetina-3-*O*-glucósido, la cual presentó una concentración predominante en la cepa Cabernet Franc. Adicionalmente, esta cepa tuvo la mayor concentración de 6 de los 17 compuestos identificados. Por otra parte, epicatequina-3-*O*-galato fue identificado solo en las variedades Tempranillo y Carménère. De similar forma, el ácido vainillínico fue identificado solo en las variedades Sangiovese y Cabernet Franc. Finalmente, es importante señalar que la variedad Malbec presentó una concentración, en promedio 16 veces mayor de astilbinas que las demás variedades.

Cuadro 3. Perfil de fenoles de bajo peso molecular (mg/kg hollejo) presentes en los hollejos de las variedades Sangiovese (SG), Malbec (MB), Tempranillo (TP), Petit Verdot (PV), Cabernet Franc (CF) y Carménère (CR) durante maduración.

	Var	Muestreo 1		Muestreo 2		Muestreo 3		
Ac. Hidroxibenzoicos								
AG	SG	6,61 ± 2,55	A a	4,02 ± 1,34	AB a	3,59 ± 0,42	BC a	
	MB	4,56 ± 0,60	A a	4,81 ± 0,31	A a	4,49 ± 0,33	B a	
	TP	3,30 ± 0,50	B a	3,82 ± 0,29	B a	3,61 ± 0,28	BC a	
	PV	5,96 ± 0,25	A a	4,90 ± 0,44	A a	6,37 ± 0,96	A a	
	CF	5,86 ± 0,26	A a	4,21 ± 1,19	AB a	4,99 ± 1,06	AB a	
	CR	3,76 ± 0,74	AB a	3,98 ± 0,59	AB a	3,14 ± 0,34	C a	
AV	SG	0,34 ± 0,20	A a	0,32 ± 0,08	A a	0,35 ± 0,02	A a	
	MB	ND		ND		ND		
	TP	ND		ND		ND		
	PV	ND		ND		ND		
	CF	0,47 ± 0,06	A a	0,37 ± 0,09	A a	0,42 ± 0,08	A a	
	CR	ND		ND		ND		
AS	SG	1,43 ± 0,11	BCD a	1,19 ± 0,46	A a	1,06 ± 0,11	C a	
	MB	1,29 ± 0,09	CD b	1,65 ± 0,10	A a	1,63 ± 0,06	B a	
	TP	1,06 ± 0,15	D a	1,25 ± 0,16	A a	1,19 ± 0,09	C a	
	PV	1,92 ± 0,20	A a	1,88 ± 0,00	A a	2,15 ± 0,23	A a	
	CF	1,82 ± 0,12	AB a	1,31 ± 0,44	A a	1,58 ± 0,35	B a	
	CR	1,63 ± 0,41	ABC a	1,52 ± 0,22	A a	1,22 ± 0,17	C a	
Ac. Hidroxicinámicos								
APC	SG	ND		ND		ND		
	MB	0,79 ± 0,36	A a	1,20 ± 0,19	A a	1,16 ± 0,18	A a	
	TP	0,52 ± 0,24	A a	0,66 ± 0,18	B a	0,65 ± 0,04	B a	
	PV	0,98 ± 0,34	A a	0,65 ± 0,19	B a	0,90 ± 0,18	A a	
	CF	0,95 ± 0,33	A a	0,52 ± 0,20	B a	0,58 ± 0,10	BC a	
	CR	1,31 ± 0,57	A a	0,70 ± 0,18	B ab	0,56 ± 0,04	C b	
Flavonoles								
QGa	SG	2,62 ± 3,16	B a	5,58 ± 1,72	AB a	6,40 ± 0,48	A a	
	MB	3,13 ± 0,57	B b	4,66 ± 0,40	B a	3,59 ± 0,47	BC b	
	TP	3,84 ± 0,73	B b	5,46 ± 0,37	AB a	4,29 ± 0,26	B b	
	PV	4,70 ± 0,39	B a	5,15 ± 1,93	AB a	3,62 ± 0,71	BC a	
	CF	9,95 ± 0,95	A a	8,03 ± 2,27	A a	6,98 ± 1,26	A a	
	CR	3,86 ± 0,81	B ab	5,20 ± 0,40	AB a	3,03 ± 0,64	C b	
QGr	SG	ND		6,18 ± 2,46	A a	5,95 ± 1,47	A a	
	MB	7,26 ± 2,26	B a	4,36 ± 0,47	AB b	3,35 ± 0,33	BC b	
	TP	5,99 ± 0,88	B a	3,24 ± 0,77	B b	2,65 ± 0,42	BC b	
	PV	6,56 ± 0,08	B a	4,07 ± 1,39	AB b	4,56 ± 1,26	AB ab	
	CF	11,58 ± 0,64	A a	5,90 ± 0,74	A b	6,14 ± 2,38	A b	
	CR	2,90 ± 1,24	C a	2,79 ± 0,96	B a	1,77 ± 0,34	C a	

QGI	SG	ND			2,35 ± 1,07	C	a	1,75 ± 0,07	D	a
	MB	9,76 ± 4,40	C	b	16,03 ± 0,99	B	a	12,65 ± 1,58	BC	ab
	TP	13,75 ± 2,89	BC	b	19,26 ± 1,31	B	a	16,09 ± 0,91	B	ab
	PV	14,50 ± 1,55	BC	a	16,73 ± 7,03	B	a	10,23 ± 2,21	C	a
	CF	31,26 ± 3,11	A	a	28,41 ± 0,46	A	ab	22,95 ± 4,15	A	b
	CR	16,55 ± 3,53	B	ab	19,83 ± 3,88	B	a	11,52 ± 2,74	C	b
MGa	SG	1,36 ± 0,43	B	b	5,17 ± 1,28	C	a	4,00 ± 0,60	D	a
	MB	2,60 ± 0,87	B	c	13,42 ± 0,13	A	a	10,30 ± 1,32	A	b
	TP	1,87 ± 1,34	B	b	10,27 ± 0,76	B	a	9,37 ± 0,42	AB	a
	PV	7,12 ± 1,24	A	a	8,53 ± 2,99	BC	a	8,20 ± 1,72	BC	a
	CF	7,52 ± 1,34	A	a	7,83 ± 2,93	BC	a	6,93 ± 0,91	C	a
	CR	6,42 ± 1,23	A	b	10,34 ± 0,51	B	a	6,36 ± 1,06	C	b
M	SG	0,39 ± 0,00	B	a	1,72 ± 1,91	C	a	1,17 ± 0,85	D	a
	MB	1,20 ± 0,33	B	b	6,35 ± 0,27	AB	a	6,68 ± 0,83	A	a
	TP	1,69 ± 0,70	B	b	2,73 ± 0,13	C	a	2,61 ± 0,07	C	a
	PV	2,43 ± 0,59	AB	c	4,36 ± 0,38	BC	b	6,78 ± 1,10	A	a
	CF	2,29 ± 1,51	AB	a	4,10 ± 3,05	BC	a	4,92 ± 0,51	B	a
	CR	3,81 ± 1,12	A	b	7,67 ± 0,63	A	a	5,21 ± 0,47	B	b
KGI	SG	ND			ND			ND		
	MB	0,10 ± 0,13	B	b	2,29 ± 0,07	A	a	2,20 ± 0,31	A	a
	TP	0,04 ± 0,00	B	b	1,19 ± 0,16	B	a	1,17 ± 0,04	BC	a
	PV	0,14 ± 0,12	B	b	1,11 ± 0,44	B	a	1,06 ± 0,20	BC	a
	CF	0,22 ± 0,12	B	a	0,87 ± 0,61	B	a	0,89 ± 0,11	C	a
	CR	1,14 ± 0,32	A	b	2,41 ± 0,58	A	a	1,33 ± 0,26	B	b
KGa	SG	ND			0,56 ± 0,05	CD	a	0,41 ± 0,08	B	a
	MB	0,42 ± 0,00	B	a	0,75 ± 0,18	BC	a	0,42 ± 0,23	B	a
	TP	1,26 ± 0,32	A	b	1,83 ± 0,10	D		1,13 ± 0,13	A	b
	PV	ND			0,38 ± 0,38	D		ND		
	CF	1,11 ± 0,19	A	a	0,99 ± 0,60	BC	a	0,49 ± 0,13	B	a
	CR	0,95 ± 0,18	AB	a	1,24 ± 0,13	B	a	0,39 ± 0,17	B	b
K	SG	1,89 ± 0,79	B	a	4,76 ± 2,85	BC	a	4,23 ± 0,56	C	a
	MB	2,55 ± 1,66	B	b	5,81 ± 0,82	BC	a	4,31 ± 0,87	BC	ab
	TP	6,99 ± 1,70	A	b	9,87 ± 0,37	A	a	7,12 ± 0,68	A	b
	PV	1,68 ± 0,34	B	a	3,65 ± 1,80	C	a	1,64 ± 0,47	D	a
	CF	8,80 ± 1,12	A	a	7,82 ± 2,63	AB	a	5,66 ± 1,25	B	a
	CR	6,79 ± 1,40	A	a	7,57 ± 0,17	AB	a	3,49 ± 0,67	C	b
R	SG	2,16 ± 0,77	AB	a	1,98 ± 0,61	B	a	1,68 ± 0,22	D	a
	MB	1,97 ± 0,22	BC	c	4,20 ± 0,12	A	a	3,40 ± 0,43	A	b
	TP	1,26 ± 0,22	C	b	2,82 ± 0,30	B	a	2,52 ± 0,07	BC	a
	PV	2,72 ± 0,31	A	a	2,87 ± 0,66	B	a	3,16 ± 0,65	AB	a
	CF	2,82 ± 0,39	A	a	2,70 ± 1,00	B	a	2,60 ± 0,47	B	a
	CR	1,76 ± 0,34	BC	b	2,88 ± 0,25	B	a	1,86 ± 0,25	CD	b

Flavan-3-oles										
	SG	ND			ND			ND		
CT	MB	0,77 ± 0,48	A	a	0,67 ± 0,16	A	a	0,46 ± 0,07	A	a
	TP	0,42 ± 0,22	A	a	0,39 ± 0,14	AB	a	0,34 ± 0,02	B	a
	PV	ND			ND			ND		
	CF	ND			ND			ND		
	CR	0,37 ± 0,10	A	a	0,29 ± 0,03	B	a	0,22 ± 0,03	C	a
	SG	ND			ND			ND		
ECG	MB	ND			ND			ND		
	TP	0,78 ± 0,16	A	b	1,22 ± 0,12	A	a	1,16 ± 0,04	A	a
	PV	ND			ND			ND		
	CF	ND			ND			ND		
	CR	1,06 ± 0,12	A	a	1,05 ± 0,15	A	a	0,91 ± 0,14	B	a
	SG	ND			ND			ND		
PD	MB	1,35 ± 1,11	AB	a	4,86 ± 2,34	A	a	2,25 ± 0,54	A	a
	TP	0,53 ± 0,35	B	b	1,55 ± 0,46	B	a	0,84 ± 0,14	B	b
	PV	2,22 ± 0,08	A	a	0,33 ± 0,03	C	b	0,33 ± 0,06	C	b
	CF	2,54 ± 0,43	A	a	0,93 ± 0,40	B	b	0,85 ± 0,19	B	b
	CR	2,35 ± 0,44	A	a	1,81 ± 0,83	AB	ab	1,17 ± 0,42	B	b
Flavanonoles										
AST	SG	2,01 ± 0,78	DE	a	2,05 ± 0,46	B	a	2,00 ± 0,32	CD	a
	MB	22,67 ± 10,0	A	b	59,75 ± 2,91	A	a	31,86 ± 6,66	A	b
	TP	1,43 ± 0,22	E	a	2,08 ± 0,29	B	a	1,62 ± 0,50	D	a
	PV	3,06 ± 0,17	C	a	2,10 ± 0,29	B	b	2,69 ± 0,37	B	a
	CF	5,08 ± 1,44	B	a	2,30 ± 0,97	B	b	2,61 ± 0,40	BC	b
	CR	2,38 ± 0,71	CD	a	2,26 ± 0,15	B	a	2,00 ± 0,13	D	a
Total	SG	19,94 ± 7,98	C	b	39,46 ± 5,29	C	a	35,15 ± 2,28	D	a
	MB	63,54 ± 20,16	B	c	142,11 ± 7,62	A	a	97,15 ± 15,00	A	b
	TP	46,58 ± 8,37	B	b	72,20 ± 5,35	B	a	60,35 ± 2,88	C	a
	PV	65,22 ± 5,68	B	a	65,93 ± 1,28	B	a	63,48 ± 11,98	BC	a
	CF	105,7 ± 9,56	A	a	87,19 ± 23,53	B	a	80,65 ± 14,37	AB	a
	CR	67,56 ± 14,14	B	ab	83,23 ± 8,56	B	a	50,98 ± 5,62	CD	b

Promedio ± Desviación estándar. Columnas con letras mayúsculas distintas muestran diferencias estadísticamente significativas entre variedades para un mismo muestreo. Filas con letras minúsculas distintas muestran diferencias estadísticamente significativas entre muestreos para una misma variedad según prueba LSD-Fisher ($p \leq 0,05$).

Contenido de las fracciones mono, oligo y poliméricas de proantocianidinas

En la Figura 3, se muestran las concentraciones flavánicas mono, oligo y poliméricas de las variedades en estudio durante la maduración. En general, se observó que la fracción polimérica fue la más abundante en todos los hollejos, mientras que la fracción monomérica la menos abundante en todos los extractos de pieles de uva. Durante el estudio se pudo observar que la fracción monomérica no presentó variación en la mayoría de las variedades, excepto en los hollejos de Malbec y Cabernet Franc, en las cuales esta fracción disminuyó hacia el tercer muestreo. Contrariamente, la fracción oligomérica disminuyó en el tiempo, excepto en las variedades Sangiovese y Carménère en las cuales esta fracción se mantuvo inalterable. Nótese que la fracción polimérica no presentó cambios en el tiempo en ninguna de las variedades. El análisis comparativo entre las variedades demostró que los hollejos de la variedad Malbec destacaron por presentar los mayores contenidos de las tres fracciones proantocianidínicas en la gran mayoría de los muestreos. Por su parte, los hollejos de las cepas Cabernet Franc y Carménère presentaron los menores contenidos de la fracción oligomérica. Finalmente, los hollejos de Carménère mostraron las menores concentraciones de la fracción polimérica.

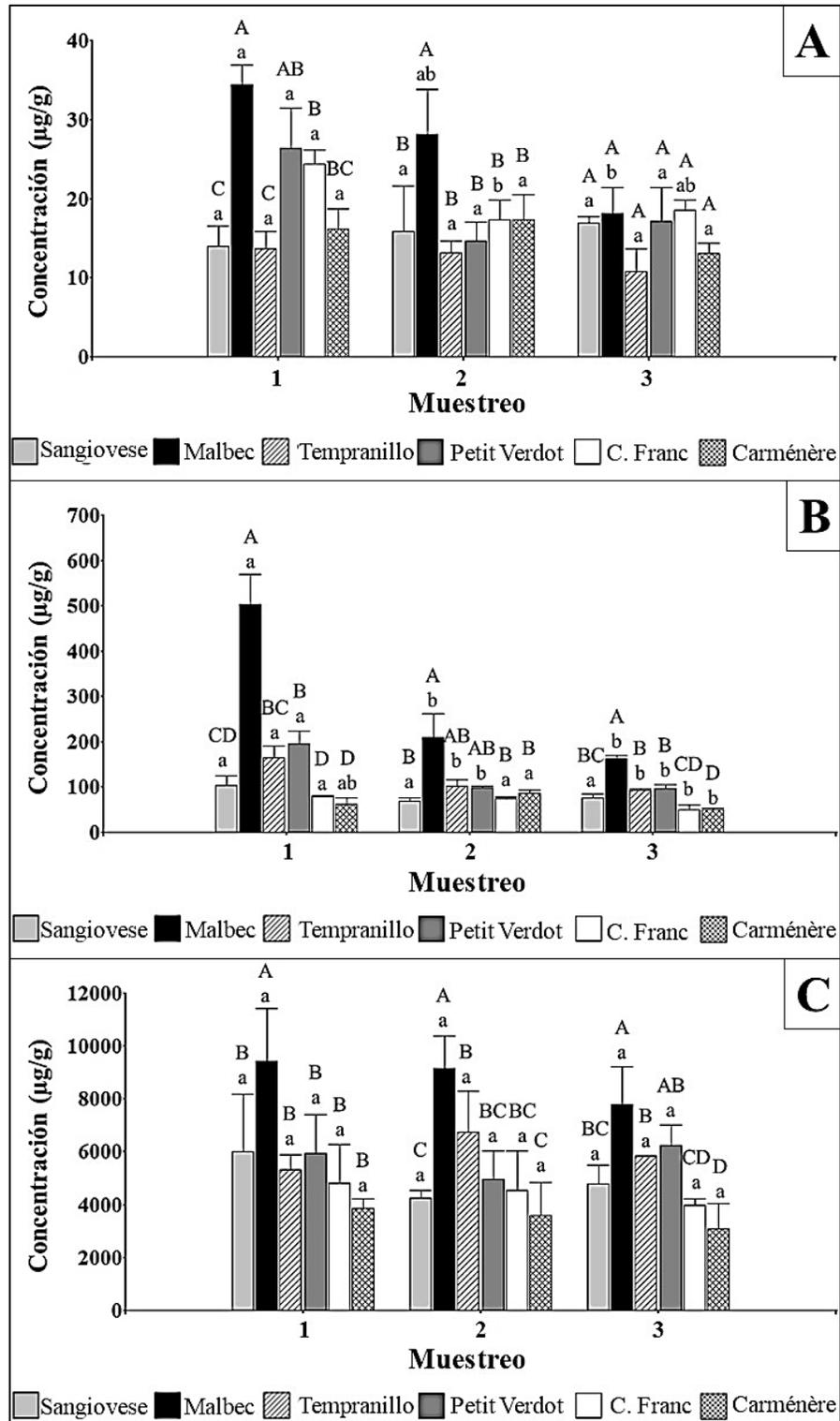


Figura 3. Concentración de fracciones de flavan-3-oles de los extractos de hollejos de las variedades en estudio durante maduración. Fracciones mono (A), oligo (B) y poliméricas (C) de proantocianidinas. Letras mayúsculas distintas muestran diferencias estadísticamente significativas entre variedades en un mismo muestreo. Letras minúsculas distintas muestran diferencias estadísticamente significativas entre muestreos en una misma variedad (LSD-Fisher, $p \leq 0,05$).

DISCUSIÓN

En los distintos países vitivinícolas se cultivan actualmente más de 6.000 variedades de uva *Vitis vinifera* L. (OIV, 2017). Históricamente, algunos países han cultivado algunas variedades de uva que, debido a su alta adaptabilidad a las condiciones edafoclimáticas, han destacado como representativas de las respectivas vitiviniculturas locales. Tal es el caso de la cepa Malbec, la cual corresponde a la variedad emblemática de la vitivinicultura Argentina, país que concentra un 73,6% de la superficie cultivada de esta variedad en el mundo (OIV, 2017). Por otra parte, la cepa Sangiovese, tiene su primera declaración de existencia en 1590 en la Toscana, Italia, país que posee el 90% del cultivo mundial de esta variedad (Crespan *et al.*, 2008; D'Agata, 2014). Asimismo, el 88% de la cepa Tempranillo esta cultivada en España, mientras que Cabernet Franc y Petit Verdot son originarias de Francia, específicamente de las regiones de Aquitania y Medoc respectivamente (Moreno y Vallarino, 2011; Terral *et al.*, 2009).

Reportes previos han mencionado que los polifenoles serían compuestos altamente abundantes en el reino vegetal y que participarían en las propiedades sensoriales de color, amargor, aroma y astringencia de los vinos (Gawel, 1998; Hufnagel *et al.*, 2008; Bindon *et al.*, 2013). Asimismo, debido a su disponibilidad diferencial en las distintas cepas de uvas de vid vinífera, estos compuestos permitirían aportar características particulares a cada variedad de vino (Castillo-Muñoz *et al.*, 2009). En este estudio se caracterizó la composición fenólica de los hollejos de seis variedades de uvas (Cabernet Franc, Petit Verdot, Tempranillo, Sangiovese, Malbec y Carménère) durante la maduración, las que a pesar de su importancia internacional, han sido escasamente estudiadas en Chile. Para ello, se utilizaron técnicas espectrofotométricas y de HPLC para estudiar dos condiciones paralelas: a) la evolución de estos metabolitos secundarios durante la maduración en todas las variedades del estudio; b) Comparar la composición y concentración fenólica entre las variedades durante las tres fechas de muestreo.

Una primera observación derivada de los resultados de este estudio demuestra que algunos de los compuestos químicos presentarían un comportamiento similar en todas las variedades durante la maduración. Así, se observó que los valores de pH y contenido de sólidos solubles totales aumentaron hacia el final del estudio en todas y cada una las variedades. En el caso de los fenoles totales se reportó un comportamiento similar. Contrariamente, los valores de acidez de titulación descendieron durante la maduración en cada una de las bayas del estudio. De cualquier modo, estas observaciones demostrarían que existen compuestos de las bayas de vid que estarían fuertemente vinculados al tiempo de maduración y cuya evolución sería independiente de la variedad de estudio. Estas observaciones serían reforzadas por estudios previos que muestran resultados similares (Navarro *et al.*, 2008; Allegro *et al.*, 2016; Bombai *et al.*, 2016; Garrido *et al.*, 2016; De Rosas *et al.*, 2017)

Una segunda observación derivada de esta investigación muestra que el peso de hollejos y diámetro de bayas se mantuvieron sin cambios en la temporada en todas sus variedades. De la misma manera, algunos polifenoles como cianidina-3-glucósido, quercetina-3-O-galactósido, kaempferol, ácido gálico, catequina, ácido trans-*p*-cumárico y la fracción polimérica de proantocianidinas no mostraron diferencias cuantitativas entre el primer y tercer muestreo. Esto demostraría que algunos de los parámetros estudiados no dependen del proceso de maduración ni de variedad de uva estudiada, puesto que en este estudio mostraron un comportamiento estable e invariable durante las distintas etapas fenológicas.

Una tercera observación del efecto de la maduración muestra que algunos compuestos no evolucionan de la misma manera en todas las variedades, lo cual implicaría que la cepa ejerce algún tipo de efecto sobre la concentración de ciertos compuestos de la uva. Por ejemplo, el aumento del peso de bayas en el tiempo se observó sólo en Malbec y Tempranillo, mientras que el peso de las otras cuatro cepas se mantuvo sin cambios. Del mismo modo, esta tercera observación fue respaldada por la tendencia de algunos polifenoles globales durante la maduración. Así, se observó que a pesar que el contenido de fenoles totales aumentó en las distintas variedades, los hollejos de Cabernet Franc no mostraron cambios significativos de estos compuestos. Es probable que el alto contenido de sólidos solubles desde el inicio del estudio, impidiera observar variaciones en esta variedad específica, a diferencia del resto de las variedades, en donde se observó una acumulación creciente de azúcares durante el estudio. Asimismo, el contenido de antocianos totales aumento hacia el final del estudio, pero solo en los hollejos de Sangiovese, Malbec y Tempranillo, lo que consecuentemente afectó a los valores crecientes de la intensidad colorante. El contenido de taninos totales no mostró variación entre la primera y tercera fecha de muestreo, salvo en los hollejos de Malbec, en donde se presencié una disminución hacia el final del estudio. Los resultados específicos previamente descritos, coinciden parcialmente con algunas investigaciones previas (Ramazotti *et al.*, 2008; Santesteban *et al.*, 2011; Obrique-Slier *et al.*, 2013), pero son contrarios a algunos resultados reportados en otros estudios (Navarro *et al.*, 2008; Allegro *et al.*, 2016; Garrido *et al.*, 2016). Sumado a lo anterior, las concentraciones de delfinidina-3-*O*-glucósido, petunidina-3-*O*-glucósido y peonidina-3-*O*-glucósido en los hollejos de Sangiovese, Malbec y Carménère aumentaron en el tercer muestreo, mientras que la malvidina-3-*O*-glucósido, malvidina-3-*O*-acetilglucósido, malvidina-3-*O*-*p*-cumarilglucósido también aumentaron su concentración pero en los hollejos de Malbec, Tempranillo y Petit Verdot. Por su parte, los fenoles de bajo peso miricetina-3-*O*-galactósido, kaempferol-3-*O*-glucósido y miricetina aumentaron durante la temporada en Malbec, Tempranillo y Petit Verdot, mientras que en las cepas restantes se mantuvieron invariables durante la maduración. Contrariamente, quercetina-3-*O*-glucorónido descendió su concentración en Malbec, Tempranillo y Cabernet Franc. Por último, las concentraciones de proantocianidinas también muestran variabilidad durante el estudio. Es así como la fracción oligomérica descende en el tercer muestreo, excepto en las cepas Sangiovese y Carménère. Estas mismas variedades, sumadas a Tempranillo y Petit Verdot se mantienen sin cambios en la fracción monomérica, en la cual Malbec y Cabernet Franc sufren una disminución de contenido. En conjunto, los resultados expuestos demuestran que el comportamiento de ciertos compuestos fenólicos presentes en los hollejos, variaron en ciertas cepas de uvas mientras que en otras se mostraron inalterables, lo que demostraría que la evolución de la concentración de ciertos compuestos químicos en las pieles de uva, no estarían del todo vinculado al proceso de maduración sino más bien al potencial efecto conjunto de este con el factor varietal.

Una segunda derivada de los resultados de este estudio consistió en describir las potenciales diferencias cualitativas y cuantitativas de los compuestos fenólicos entre los hollejos de las distintas variedades de uva en los distintos estados de madurez. Una primera observación refleja que algunas variedades presentaron algunos compuestos particulares que no fueron identificados en el resto, lo que implicaría un efecto varietal en la composición fenólica de hollejos. Por ejemplo, los hollejos de Petit Verdot y Cabernet Franc fueron los únicos en mostrar la presencia de los antocianos delfinidina-3-*O*-acetilglucósido y cianidina-3-*O*-

acetilglucósido, mientras que solo en Malbec y Tempranillo se identificó petunidina-3-*O*-acetilglucósido. Del mismo modo, solo los hollejos de Sangiovese y Cabernet Franc presentaron ácido vainillínico (Hogan *et al.*, 2009; Somkuwar *et al.*, 2018), mientras que Tempranillo y Carménère destacaron por la presencia de epicatequina-3-*O*-galato. Contrario a lo anterior, los hollejos de Sangiovese carecían de antocianinas acetiladas y cumariladas, estos resultados fueron reforzados con lo descrito en los estudios de Kallithraka *et al.*, (2005), Ramazotti *et al.*, (2008) y Tessarin *et al.*, (2016) quienes encontraron sólo mínimas cantidades. Además, esta cepa de uva no presentó ácido trans-*p*-cumárico, kaempferol-3-*O*-glucósido ni procianidinas, convirtiéndose en la cepa con menor cantidad de fenoles y antocianos identificados. Finalmente, la catequina no fue detectada en los hollejos de Sangiovese, Petit Verdot ni Cabernet Franc.

Otros resultados que refuerzan esta idea, hacen referencia a las diferencias fenólicas cuantitativas entre los hollejos de las cepas del estudio o más bien a la concentración destacada de algunos polifenoles en algunas variedades del estudio. Nótese que algunas de estas cantidades diferenciales fueron respaldadas por otras investigaciones, por ejemplo, el contenido significativo de cianidina-3-*O*-glucósido (Kallitraka *et al.*, 2005), peonidina-3-*O*-glucósido y ácido vainillínico en los hollejos de Sangiovese; concentraciones destacadas de malvidina-3-*O*-*p*-cumarilglucósido, catequina, ácido trans-*p*-cumárico, procianidinas (De Rosas *et al.*, 2017; Fontana *et al.*, 2017) y por sobre todo de astilbinas en los hollejos de Malbec (Alonso *et al.*, 2016); los altos contenidos de kaempferol-3-*O*-galactósido y kaempferol en Tempranillo; relevantes niveles de antocianos totales (Hickey *et al.*, 2018), delfinidina-3-*O*-glucósido, petunidina-3-*O*-glucósido, malvidina-3-*O*-glucósido, delfinidina-3-*O*-acetilglucósido, ácido gálico y ácido siríngico en los hollejos de Petit Verdot, algunos de estos datos concuerdan con estudios realizados en orujos de esta variedad (Melo *et al.*, 2015); y las destacadas concentraciones reportadas en las pieles de Cabernet Franc de delfinidina-3-*O*-glucósido, cianidina-3-*O*-acetilglucósido, quercetina-3-*O*-galactósido, quercetina-3-*O*-glucorónido, quercetina-3-*O*-glucósido y ácido vainillínico (Somkuwar *et al.*, 2018). Bajo las condiciones específicas de este estudio, los resultados demuestran que los hollejos de algunas de las variedades de uva utilizadas presentarían una composición fenólica particular que les permitiría diferenciarse del resto. Sumado a lo anterior, algunos hollejos de uvas presentarían cantidades de ciertos polifenoles que las destacarían del resto. Ambas observaciones reforzarían la idea del efecto de la variedad en la composición y concentración de polifenoles de las pieles de uvas, lo cual ha sido respaldado por algunos estudios (Gonzalez-Neves *et al.*, 2006; Pantelic *et al.*, 2016).

Una segunda idea, que contradice en parte la anterior, estaría relacionada con la escasa relación de los resultados de este estudio con reportes previos. Así, se observaron contradicciones en el contenido de ácido trans-*p*-cumárico y kaempferol-3-*O*-glucósido en Sangiovese, los cuales si fueron detectados por Somkuwar *et al.*, (2018). Adicionalmente, la ausencia de catequina descrita en los hollejos de Sangiovese, Petit Verdot y Cabernet Franc, se contradice con lo indicado por Pantelic *et al.*, (2016) y Obrique-Slier *et al.*, (2013). Además, en el presente estudio no se detectó peonidina-3-*O*-acetilglucósido, cianidina-3-*O*-*p*-cumarilglucósido, delfinidina-3-*O*-*p*-cumarilglucósido y peonidina-3-*O*-*p*-cumarilglucósido, las cuales han sido descritas en las mismas variedades en reportes previos (Arozarena *et al.*, 2002; Fanzone, 2012; Lopez-Giral *et al.*, 2015; De Rosas *et al.*, 2017; Fontana *et al.*, 2017). Estas contradicciones no se darían en el ámbito estrictamente polifenólico, pues también se detectaron contradicciones con otros estudios en el peso de hollejos en donde la variedad Sangiovese no presenta cambios durante el estudio (Allegro *et*

al., 2016). Adicionalmente, al evaluar la proporción de hollejos respecto al peso de las bayas (% p/p), se observó que solo las cepas Malbec y Tempranillo presentaron una disminución de esta relación, mientras que en el resto de las variedades se mantuvo constante. Por otro lado, a pesar que Carménère presentó los mayores peso de hollejos, fue la cepa con menor aporte de estos en relación al peso total de sus bayas. Estos resultados en conjunto, demostrarían que la especificidad fenólica sería en parte dependiente de la variedades, pero habrían otros factores que interferirían de igual o incluso de mayor manera en la disponibilidad de polifenoles en los hollejos, entre ellos, las condiciones medioambientales (Frohnmeier y Staiger, 2003; Koundouras *et al.*, 2006; Rodríguez-Montealegre *et al.*, 2006; De pascali *et al.*, 2014; Cheng *et al.*, 2015; Dewasme *et al.*, 2019), manejos vitivinícolas (Castellarin *et al.*, 2007; Song *et al.*, 2012; Bešlic' *et al.*, 2015; Alonso *et al.*, 2016; Portu *et al.*, 2018) y condiciones metodológicas del ensayo (Izquierdo-Hernandez *et al.*, 2016). Es importante mencionar que no existen metodologías estrictas o estandarizadas internacionalmente para el análisis de polifenoles y más aún para la extracción de estos desde los tejidos vegetales. Izquierdo-Hernandez *et al.*, (2016), demostraron que el método de extracción es un factor crítico en la extractabilidad preferente de ciertos polifenoles desde las semillas y hollejos, lo cual impactaría en el tipo y concentración cuantificada de polifenoles en los extractos. De cualquier modo, las evidentes diferencias en los resultados entre este estudio y reportes previos, se deberían a una gran diversidad de factores que probablemente interactúan entre ellos e impediría establecer una relación clara entre un solo factor y estos metabolitos secundarios.

CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio permiten validar parcialmente la hipótesis planteada, puesto que el perfil fenólico fue similar en los hollejos de las bayas, impidiéndose detectar algún compuesto específico que permita diferenciar a las variedades estudiadas.

No obstante lo anterior, se observó una concentración diferencial de ciertos polifenoles en los distintos hollejos, por ejemplo, la mayor concentración de astilbinas en Malbec, de cianidina-3-*O*-glucósido de Sangiovese, quercetina-3-*O*-glucósido en Cabernet Franc, malvidina-3-*O*-glucósido en Petit Verdot, así como el menor contenido de delfinidina-3-*O*-glucósido en Carménère y de malvidina-3-*O*-acetilglucósido en Tempranillo

Ambas observaciones permiten concluir que, bajo las condiciones específicas de este estudio, la variedad de uva vinífera tiene un vínculo estrecho con la concentración de polifenoles en el hollejo, pero no afecta el perfil fenólico de los hollejos de las cepas de uvas analizadas.

LITERATURA CITADA

- Allegro, G., C. Pastore, G. Valentini, E. Muzzi and I. Filippetti. 2016. Influence of berry ripeness on accumulation, composition and extractability of skin and seed flavonoids in cv. Sangiovese (*Vitis vinifera* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(13): 4553-4559.
- Alonso, R., F. J. Berli, A. Fontana, P. Piccoli and R. Bottini. 2016. Malbec grape (*Vitis vinifera* L.) responses to the environment: Berry phenolics as influenced by solar UV-B, water deficit and sprayed abscisic acid. *Plant Physiology and Biochemistry* 109: 84-90.
- Arozarena, I., B. Ayestarán, M.J. Cantalejo, M. Navarro, M. Vera, and I. Abril. 2002. Anthocyanin composition of Tempranillo, Garnacha and Cabernet Sauvignon grapes from high- and low-quality vineyards over two years. *European Food Research & Technology*, 214(4): 303–309.
- Benoît, L., Amspacher, W. Higgins, L. Ferrara, A. and McGarry, M. 2019. Wine sector: Definitions and nuances from global to country analysis: A comparison between Old World, New World, and emerging wine countries from 2005 to current. (cap. 2, pp.7-32). En: Santini, C. and Cavicchi, A. *Case studies in the wine industry*. 213 p.
- Bešlić, Z., M. Pantelić, D. Dabić, S. Todić, M. Natić and Ž. Tešić. 2015. Effect of vineyard floor management on water regime, growth response, yield and fruit quality in Cabernet Sauvignon. *Scientia Horticulturae* 197: 650–656.
- Bindon, K., C. Varela, J. Kennedy, H. Holt and M. Herderich. 2013. Relationships between harvest time and wine composition in *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon 1. Grape and wine chemistry. *Food Chemistry* 138: 1696–1705.
- Bogs, J., M.O. Downey, J.S. Harvey, A.R. Ashton, G.J. Tanner, and S.P. Robinson, 2005. Proanthocyanidin synthesis and expression of genes encoding leucoanthocyanidin reductase and anthocyanidin reductase in developing grape berries and grapevine leaves. *Plant Physiology* 139: 652–663.
- Bombai, G., F. Pasini, V. Verardo, O. Sevindik, M. Di Foggia, P. Tessarin, A.M. Bregoli, M.F. Caboni and A. D. Rombolà. 2017. Monitoring of compositional changes during berry ripening in grape seed extracts of cv. Sangiovese (*Vitis vinifera* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture* 97(9): 3058-3064.
- Bordeau, E. y J. Scarpa. 1998. *Análisis químico del vino*. Ediciones Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile.
- Boulton, R. 2001. The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: a critical review. *American Journal of Enology and Viticulture* 52: 67-87.

- Canuti, V., Frost, S. Lerno, L. Tanabe, C.K. Zweigenbaum, J. and Zanoni, B. 2019. Chemical Characteristics of Sangiovese Wines from California and Italy of 2016 Vintage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(9): 2647-2659.
- Castillo-Muñoz, N., S. Gómez-Alonso, E. García-Romero, and I. Hermosín-Gutierrez. 2007. Flavonol profiles of *Vitis vinifera* red grapes and their single-cultivar wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 992-1002.
- Castillo-Muñoz, N., Gomez-Alonso, S. García-Romero, E. Velders, A. and Hermosín-Gutierrez, I. 2009. Flavonol 3-*O*-Glycosides Series of *Vitis vinifera* Cv. Petit Verdot Red Wine Grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(1): 209-219.
- Castellarin, S.D., M.A. Matthews, G. Gaspero and G.A. Gambetta. 2007. Water deficits accelerate ripening and induce changes in gene expression regulating flavonoid biosynthesis in grape berries. *Planta* 227: 101-112.
- Cheng, G., J. Q. Fa, Z. M. Xi and Z. W. Zhang. 2015. Research on the quality of the wine grapes in corridor area of China. *Food Science and Technology (Campinas)* 35: 38–44.
- Cheynier, V., M. Duenas-Paton, E. Salas, C. Maury, J. Souquet, P. Sarni-Manchado, and H. Fulcrand. 2006. Structure and properties of wine pigments and tannins. *American Journal of Enology and Viticulture* 57: 298-305.
- Crespan, M., Calò, A., Giannetto, S., Sparacio, A., Storchi, P., Costacurta, A. 2008. 'Sangiovese' and 'Garganega' are two key varieties of the Italian grapevine assortment evolution. *Vitis Journal of Grapevine Research*. 47p.
- D'Agata, I. 2014. *Native Wine Grapes of Italy*, Berkeley CA: University of California Press.
- Dai, J., and R. J. Mumper. 2010. Review. Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules* 15:7313–52.
- De Pascali, S. A., A. Coletta, L. Del Coco, T. Basile, G. Gambacorta and F. P. Fanizzi. 2014. Viticultural practice and winemaking effects on metabolic profile of Negroamaro. *Food Chemistry* 161: 112–119.
- De Rosas, I., M.T. Ponce, E. Malovini, L. Deis, B. Cavagnaro and P. Cavagnaro. 2017. Loss of anthocyanins and modification of the anthocyanin profiles in grape berries of Malbec and Bonarda grown under high temperature conditions. *Plant Science* 258:137-145.
- Dewasme, C., S. Mary, G. Darrietort, L. Audeguin, M. van Helden and C. van Leeuwen. 2019. Impact of Tomato Black Ring Virus (TBRV) on quantitative and qualitative features of *Vitis vinifera* L. cv. Merlot and Cabernet franc. *OENO One* 53(2): 161-169.
- Downey, M.O., J.S. Harvey, and S.P. Robinson. 2003. Synthesis of flavonols and expression of flavanol synthase genes in the developing grape berries of Shiraz and Chardonnay (*Vitis vinifera* L.). *Australian Journal of Grape and Wine Research* 9: 110–121.

- Escribano-Bailon, T., Y. Gutierrez-Fernandez, J.C. Rivas-Gonzalo, and C. Santos-Buelga. 1992. Characterization of procyanidins of *Vitis vinifera* variety tinta del pais grape seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40(10): 1794–1799.
- Fanzone, M.; Peña-Neira, A.; Jofré, V.; Assof, M. and Zamora, F. 2010. Phenolic characterization of Malbec wines from Mendoza Province (Argentina). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(4): 2388-2397.
- Fanzone, M. 2012. Caracterización de la composición fenólica de uvas y vinos de la variedad Malbec (*Vitis vinifera* L.): Su relación con el origen geográfico, factores vitivinícolas y valor comercial. Tesis Doctoral. Tarragona, España: Facultat d'Enologia de Tarragona, Universitat Rovira I Virgili. 357 p.
- Ferrer-Gallego, R., J.M. Hernández-Hierro, J.C. Rivas-Gonzalo, and M.T. Escribano-Bailón. 2012. Influence of climatic conditions on the phenolic composition of *Vitis vinifera* L. cv. Graciano. *Analytica Chimica* 732: 73–77.
- Fontana, A., A. Antonioli, M. A. D. A. Fernández and R. Bottini. 2017. Phenolics profiling of pomace extracts from different grape varieties cultivated in Argentina. *RSC advances*, 7(47): 29446-29457.
- Frohnmeier, H. and D. Staiger. 2003. Ultraviolet-B radiation-mediated responses in plants. Balancing damage and protection. *Plant Physiology* 133: 1420-1428.
- García-Barceló, J. 1990. Técnicas analíticas para vinos. Ediciones FAB. Barcelona, España 1713.
- Garrido, J., and F. Borges. 2013. Wine and grape polyphenols - A chemical perspective. *Food Research International* 54: 1844-1858.
- Gawel, R. Red wine astringency: A review. 1998. *Aust. J. Grape Wine Res.* 4: 74–95.
- Gil, R., E. Gomez-Plaza, A. Martínez, and J. López-Roca. 1997. Evolution of the CIELAB and other spectrophotometric parameters during wine fermentation. Influence of some pre and postfermentative factors. *Food Research International* 30(9): 699–705.
- Glories, Y. 1978. Recherches sur la matière colorante des vins rouge. 364 p. Thèse doctorat d'état, Université de Bordeaux II, Bordeaux, France.
- González-Neves, G., G. Gil, L. Barreiro, M. Ferrer and J. Franco. 2006. Composición fenólica de las uvas de las principales variedades tintas de *Vitis vinifera* cultivadas en Uruguay. *Agrociencia* 10:1-14.
- He, F., L. Mu, G.-L. Yan, N.-N. Liang, Q. -H. Pan, J. Wang, M.J. Reeves, and C.-Q. Duan. 2010. Biosynthesis of anthocyanins and their regulation in colored grapes. *Molecules* 15(12): 9057–9091.

- Hermosín-Gutiérrez, I., Sánchez-Palomo, E. Lorenzo, and A. Vicario Espinosa. 2005. Phenolic composition and magnitude of copigmentation in young and shortly aged red wines made from the cultivars, Cabernet Sauvignon, Cencibel, and Syrah. *Food Chemistry* 92: 269-283.
- Hickey, Cain C., M. T. Kwasniewski and T. K. Wolf. 2018. Leaf Removal Effects on Cabernet franc and Petit Verdot. II. Grape Carotenoids, Phenolics, and Wine Sensory Analysis. *American Journal of Enology and Viticulture* 69(3): 231-246
- Hogan, S., L. Zhang, J. Li, B. Zoecklein, and K. Zhou. 2009. Antioxidant properties and bioactive components of Norton (*Vitis aestivalis*) and Cabernet Franc (*Vitis vinifera*) wine grapes. *LWT-Food Science and Technology* 42: 1269-1274.
- Hufnagel, J. and Hofmann, T. 2008. Orosensory-Directed Identification of Astringent Mouthfeel and Bitter-Tasting Compounds in Red Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56 (4): 1376-1386.
- Izquierdo-Hernández A., A. Peña-Neira, R. López-Splís, and E. Obreque-Slier. 2016. Comparative determination of anthocyanins, low molecular weight phenols, and flavanol fractions in *Vitis vinifera* L. cv Carmenere skins and sedes by differential solvent extraction and high-performance liquid chromatography. *Analytical Letters* 49: 1127-1142.
- Kallithraka, S., A. A. A. Mohdaly, D. P. Makris, and P. Kefalas. 2005. Determination of major anthocyanin pigments in Hellenic native grape varieties (*Vitis vinifera* sp.): association with antiradical activity. *Journal of Food Composition and Analysis* 18(5): 375-386.
- Keller, M. 2003. Grapevine anatomy and physiology. Course text for WSU Professional Certificate in Viticulture, Washington.
- Koponen, J. M., A.M. Happonen, P.H. Mattila, and A.R. Törrönen. 2007. Contents of anthocyanins and ellagitannins in selected foods consumed in Finland. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55(4): 1612–1619.
- Koundouras, S., V. Marinos, A. Gkoulioti, Y. Kotseridis and C. Van Leeuwen. 2006. Influence of vineyard location and vine water status on fruit maturation of nonirrigated cv. Agiorgitiko (*Vitis vinifera* L.). Effects on wine phenolic and aroma components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 5077-5086.
- Liang, Z., B. Wu, P. Fan, C. Yang, W. Duan, X. Zheng, C. Liu, and S. Li. 2008. Anthocyanin composition and content in grape berry skin in *Vitis* germplasm. *Food Chemistry* 111: 837–844.
- López-Giral, N., L. González-Arenzana, C. González-Ferrero, R. López, P. Santamaría, I. López-Alfaro and T. Garde-Cerdán. 2015. Pulsed electric field treatment to improve the phenolic compound extraction from Graciano, Tempranillo and Grenache grape varieties during two vintages. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 28: 31-39.

- Martínez-Lüscher, J., M. Sánchez-Díaz, S. Delrot, J. Aguirreolea, I. Pascual, E. Gomès, 2014. Ultraviolet-B radiation and water deficit interact to alter flavonol and anthocyanin profile in grapevine berries through transcriptomic regulation. *Plant Cell Physiology* 55(11): 1925–1936.
- Mattivi, F., R. Guzzon, U. Vrhovsek, M. Stefanini, and R. Velasco. 2006. Metabolite profiling of grape: flavonols and anthocyanins. *Journal of agricultural and food chemistry* 54(20): 7692-7702.
- McRae, J. M., R.J. Falconer and J.A. Kennedy. 2010. Thermodynamics of grape and wine tannin interaction with polyproline: implications for red wine astringency. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58(23): 12510–12518.
- Melo, P.S., Masarioli, A. P. Denny, C. Dos Santos, L.F. Franchin, M. and Pereira, G.E. 2015. Winery by-products: Extraction optimization, phenolic composition and cytotoxic evaluation to act as a new source of scavenging of reactive oxygen species. *Food Chemistry* 181: 160-169.
- Mercurio, M.D., R.G. Damberg, M.J. Herderich and P.A. Smith. 2007. High throughput analysis of red wine and grape phenolics adaptation and validation of methyl cellulose precipitable tannin assay and modified somers color assay to a rapid 96 well plate format. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 4651-4657.
- Monagas, M., C. Gómez-Cordovés, B. Bartolomé, O. Laureano and J. M. Ricardo da Silva. 2003. Monomeric, oligomeric, and polymeric flavan-3-ol composition of wines and grapes from *Vitis vinifera* L. Cv. Graciano, Tempranillo, and Cabernet Sauvignon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(22): 6475-6481.
- Monagas, M., B. Bartolomé, and C. Gómez-Cordovés. 2005. Updated knowledge about the presence of phenolic compounds in wine. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 45(2): 85-118.
- Moreno, Y. y J. Vallarino, 2011 *Manual de Consulta de Cultivares y Portainjertos de vides para vinificación*. Universidad de Talca. 96 p.
- Navarro, S., M. León, L. Roca-Pérez, R. Boluda, L. Gracia-Ferriz, P. Pérez-Bermúdez, and I. Gadivia. 2008. Characterisation of Bobal and Crujidera grape cultivars, in comparison with Tempranillo and Cabernet Sauvignon: Evolution of leaf macronutrients and berry composition during grape ripening. *Food Chemistry* 108: 182-190.
- Neveu, V., J. Perez-Jiménez, F. Vos, V. Crespy, L. du Chaffaut, L. Mennen, C. Knox, R. Eisner, J. Cruz, D. Wishart and A. Scalbert. 2010. Phenol-Explorer: an online comprehensive database on polyphenol contents in foods. Database, 2010.

Niculcea, M., L. Martínez-Lapuente, Z. Guadalupe, M. Sánchez-Díaz, B. Ayestarán, and M.C. Antolín. 2015. Characterization of phenolic composition of *Vitis vinifera* L. 'Tempranillo' and 'Graciano' subjected to deficit irrigation during berry development. *Vitis* 54(1): 9-16.

Obreque-Slier, E., A. Peña-Neira, R. López-Solís, A. Cáceres-Mella, H. Toledo-Araya and A. López-Rivera. 2013. Phenolic composition of skins from four Carmenet grape varieties (*Vitis vinifera* L.) during ripening. *LWT - Food Science and Technology*. 54: 404-413.

Obreque-Slier, E., A. Peña-Neira, R. López-Solís, F. Zamora-Marín, J. Ricardo da Silva, and O. Laureano. 2010. Comparative study of the phenolic composition of seeds and skins from Carménère and Cabernet Sauvignon grape varieties (*Vitis vinifera* L.) during ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58: 3591-3599.

OIV (Organización Internacional de la Viña y el Vino). 2017. Focus OIV 2017: Distribution of the world's grapevine varieties. [En Línea]. Paris, Francia. 53p. Recuperado en: <<http://www.oiv.int/es/actualidad-de-la-oiv/la-distribucion-de-las-variedades-de-vid-a-nivel-mundial-nuevo-estudio-de-oiv-disponible>> Consultado el: Mayo de 2020.

Otteneder, H., R. Marx, and M. Zimmer. 2004. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 10(1): 3–7.

Pantelić M. M., D. Dabić. S. Davidović, S. Todić, Z. Bešlić, U. Gašić, Z. Tešić and M. Natić. 2016. Identification and quantification of phenolic compounds in berry skin, pulp, and seeds in 13 grapevine varieties grown in Serbia. *Food Chemistry* 211: 243-252.

Portu, J., R. López, P. Santamaría, and T. Garde-Cerdán. 2018. Methyl jasmonate treatment to increase grape and wine phenolic content in Tempranillo and Graciano varieties during two growing seasons. *Scientia Horticulturae* 240: 378-386.

Ramazzotti, S., Filippetti, I. and Intriери, C. 2008. Expression of genes associated with anthocyanin synthesis in red-purplish, pink, pinkish-green and green grape berries from mutated 'Sangiovese' biotypes: A case study. *Journal of Grapevine Research* 47(3): 147-151.

Rodríguez-Montealegre, R., R. Romero-Peces, J. L. Chacón-Vozmediano, J. Martínez-Gascuña, and E. García-Romero. 2006. Phenolic compounds in skins and seeds of ten grape *Vitis vinifera* varieties grown in a warm climate. *Journal of Food Composition and Analysis* 19: 687–693.

SAG (Servicio Agrícola y Ganadero). 2008. Catastro vitícola nacional 2008. Disponible en: <http://www.sag.gob.cl/ambitos-de-accion/catastro-viticola-nacional> (Consultado en agosto 2020).

SAG (Servicio Agrícola y Ganadero). 2020. Catastro vitícola nacional 2018. Disponible en: <http://www.sag.gob.cl/ambitos-de-accion/catastro-viticola-nacional> (Consultado en agosto 2020).

Santesteban, L. G., C. Miranda and J. B. Royo. 2011. Regulated deficit irrigation effects on growth, yield, grape quality and individual anthocyanin composition in *Vitis vinifera* L. cv. 'Tempranillo'. *Agricultural Water Management* 98(7): 1171-1179.

Shirley, B. 1996. Flavonoid biosynthesis: "new" functions for an "old" pathway. *Trends in Plant Science* 1(11): 377-382.

Somkuwar, R. G., Bhange, M. A. Oulkar, D. P. Sharma, A. K. and Ahammed Shabeer, T. P. 2018. Estimation of polyphenols by using HPLC-DAD in red and white wine grape 23 varieties grown under tropical conditions of India. *Journal Food Science Technology*, 55(12): 4994-5002.

Song, J., K.C. Shellie, H. Wang and M.C. Qian. 2012. Influence of deficit irrigation and kaolin particle film on grape composition and volatile compounds in Merlot grape (*Vitis vinifera* L.). *Food Chemistry* 134: 841-850.

Souquet, J., B. Labarbe, C. Le Guernevé, V. Chynier, and M. Mountounet. 2000. Phenolic composition of grape stems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48(4): 1076-1080.

Sun, B.; J. M. Ricardo Da Silva, and I. Spranger. 1998. Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46: 4267-4274.

Taiz, L. y E. Zeiger. 2006. *Fisiología vegetal*. Volumen I. Editorial Publicacions de la Univesitat Jaume I, Castelló de la Plana, España.

Tessarín, P., F. Chinnici, S. Donnini, E. Liquori, C. Riponi and A. D. Rombolà. 2016. Influence of canopy-applied chitosan on the composition of organic cv. Sangiovese and Cabernet Sauvignon berries and wines. *Food Chemistry*, 210: 512-519.

Valls, J., y A. L. Lampreave. 2000. Importancia de los compuestos fenólicos en la calidad de los vinos tintos de crianza. *Alimentación, Equipos Y Tecnología* 3(19): 119-124.

Waterhouse, A. L. 2006. Wine phenolics. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 957: 21-36.