

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE AGRONOMÍA

MEMORIA DE TÍTULO

**CARACTERIZACIÓN POLIFENÓLICA DE HOLLEJOS DE LAS
VARIETADES cv. CABERNET SAUVIGNON, MERLOT, CABERNET
FRANC Y CARMÉNÈRE DURANTE EL PERIODO DE MADURACIÓN**

ROSARIO AURORA CUEVAS GARCÍA

SANTIAGO – CHILE

2004

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE AGRONOMÍA

CARACTERIZACIÓN POLIFENÓLICA DE HOLLEJOS DE LAS VARIEDADES
CABERNET SAUVIGNON, MERLOT, CABERNET FRANC Y CARMÉNÈRE DURANTE
EL PERIODO DE MADURACIÓN

Memoria para optar al Título
Profesional de Ingeniero Agrónomo
Mención: Enología

ROSARIO AURORA CUEVAS GARCÍA

PROFESOR GUÍA	CALIFICACIONES
Sr. Álvaro Peña N. Dr. Ingeniero Agrónomo, Enólogo	6,7
PROFESORES CONSEJEROS	
Sr. Eduardo Loyola M. Dr. Ingeniero Agrónomo, Enólogo	6,5
Sra. Carmen Saenz H. Dr. Químico Farmacéutico	6,5

Santiago, Chile. 2005

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a todas las personas que hicieron posible la realización de esta memoria, y en forma muy especial:

- A mi profesor guía Sr. Álvaro Peña, y a mis profesores consejeros Sra. Carmen Saenz y Sr. Eduardo Loyola, por su disposición y aporte al desarrollo de esta investigación.
- A Viña William Fèvre Chile, y a su enólogo el Sr. Sergio Hormazabal, por su desinteresada colaboración de las muestras que hicieron posible este estudio.
- Al proyecto Fondecyt 1010224, por el financiamiento que hizo posible la realización de esta investigación.
- A toda la gente del departamento de Enología en especial a la Sra. Laura Cabellos, por su ayuda y paciencia en todo momento.
- A todos mis amigos y compañeros que han estado siempre a mi lado, en especial a las “niñas” que las quiero mucho.
- A mis padres; Julio y Aurora, por su constante apoyo, comprensión e incentivo en mi formación profesional.

INDICE

RESUMEN	1
Palabras Claves	3
SUMMARY	4
Key Words	6
INTRODUCCIÓN	7
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	9
Compuestos fenólicos en la uva	9
Características generales	9
Origen y síntesis de los compuestos fenólicos	11
Factores que influyen sobre el contenido y estabilidad de los antocianos y otros flavonoides en la uva	13
Factores genéticos y ambientales	14
Madurez de las uvas y evolución de los compuestos fenólicos	15
Factores culturales	16
MATERIALES Y MÉTODOS	18
Lugar de trabajo	18
Materiales	18
Métodos	18
Descripción del ensayo	18
Determinaciones Analíticas	19
Análisis básicos	19
Análisis de polifenoles	19
Análisis por Cromatografía Líquida de Alta Eficacia (HPLC)	20

Diseño experimental y análisis estadístico	21
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
Análisis básicos en la Baya	24
Peso de 100 bayas	25
Peso del hollejo de 100 bayas	27
Sólidos solubles	28
Acidez	31
pH	32
Composición Fenólica Global en Hollejos	33
Fenoles totales	33
Antocianos totales	35
Intensidad colorante	38
Matiz	39
Análisis Individualizado de Compuestos Fenólicos	41
Evolución de la concentración de compuestos fenólicos de bajo peso molecular	41
Análisis Individualizado de Compuestos Antociánicos	47
Evolución de la concentración de compuestos antociánicos de bajo peso molecular	48
CONCLUSIONES	54
LITERATURA CITADA	56
APÉNDICE	61
Anexo I	61
Anexo II	63
Anexo III	65
Anexo IV	65

Anexo V	68
Anexo VI	69
Anexo VII	71

ABREVIATURAS

m-3- <i>O</i> -galactósido	: miricetina-3- <i>O</i> -galactósido
m-3- <i>O</i> -glucósido	: miricetina-3- <i>O</i> -glucósido
i-3- <i>O</i> -galactósido	: isoramnetina-3- <i>O</i> -galactósido
q-3- <i>O</i> -galactósido	: quercetina-3- <i>O</i> -galactósido
q-3- <i>O</i> -glucósido	: quercetina-3- <i>O</i> -glucósido
k-3- <i>O</i> -glucósido	: kaempferol-3- <i>O</i> -glucósido
k-galactósido	: kaempferol-galactósido
i-3- <i>O</i> -glucósido	: isoramnetina-3- <i>O</i> -glucósido
Dp3Gl	: delphinidina-3-glucósido
Cy3Gl	: cianidina-3-glucósido
Pt3Gl	: petunidina-3-glucósido
Po3Gl	: peonidina-3-glucósido
Mv3Gl	: malvidina-3-glucósido
Dp3acGl	: delphinidina-3-acetilglucósido
Cy3acGl	: cianidina-3-acetilglucósido
Pt3acGl	: petunidina-3-acetilglucósido
Po3acGl	: peonidina-3-acetilglucósido
Mv3acGl	: malvidina-3-acetilglucósido
Dp3pcum	: delphinidina-3- <i>p</i> -cumarilglucósido
Cy3pcum	: cianidina-3- <i>p</i> -cumarilglucósido
Pt3pcum	: petunidina-3- <i>p</i> -cumarilglucósido
Po3pcum	: peonidina-3- <i>p</i> -cumarilglucósido
Mv3pcum	: malvidina-3- <i>p</i> -cumarilglucósido

RESUMEN

En el siguiente estudio se caracterizó la fracción polifenólica de hollejos de las variedades Cabernet Sauvignon, Merlot, Cabernet Franc y Carménère durante el período de maduración, en el valle del Maipo, obteniéndose un perfil característico de cada variedad, que podría permitir reconocerla y evitar fraudes a futuro.

Las bayas fueron recolectadas cada 15 días a partir de pinta hasta 15 días después de cosecha, en fechas independientes para cada variedad. Estas bayas se sometieron a análisis básicos, donde se midió el peso de las bayas, peso del hollejo, sólidos solubles, acidez y pH. Se realizaron, además, análisis específicos para determinar el contenido de polifenoles totales, antocianos totales, intensidad colorante y matiz, a los extractos de hollejos. Para la determinación de compuestos fenólicos de bajo peso molecular y antociánicos se utilizó cromatografía líquida de alta eficacia acoplada a un detector de fotodiodos alineados (HPLC-DAD).

Durante el período de maduración de las bayas fue posible observar una evolución de las características físicas y químicas de éstas. Para las cuatro variedades en estudio, aumentó el contenido de sólidos solubles, el peso de las bayas, peso de los hollejos y el pH, y disminuyó la acidez.

Se pudo observar que la concentración y relación composicional de los polifenoles en los hollejos cambia según la variedad. Carménère fue la variedad que presentó los valores máximos para la mayoría de los análisis efectuados; le siguen Cabernet Sauvignon, Cabernet Franc y por último Merlot. Esto se explicaría por el potencial genético y por la expresión enzimática de cada variedad.

Los compuestos fenólicos de bajo peso molecular de mayor concentración encontrados en las cuatro variedades fueron: miricetina-3-*O*-glucósido; quercetina-3-*O*-galactósido; quercetina-3-*O*-glucósido; kaempferol-3-*O*-glucósido; isoramnetina-3-*O*-glucósido. Entre los compuestos antociánicos destacaron la malvidina-3-glucósido, malvidina-3-acetilglucósido, malvidina-3-*p*-cumarilglucósido y la peonidina-3-glucósido.

En general se pudo apreciar diferencias significativas entre las fechas de muestreo para gran parte de los parámetros medidos durante todo el período estudiado. Fue posible constatar estas diferencias a través del análisis de compuestos fenólicos de bajo peso molecular y antociánicos.

De acuerdo a los resultados obtenidos, se puede concluir que las distintas variedades evolucionan en forma diferente unas de otras en la acumulación y síntesis de polifenoles en los hollejos de las bayas, durante el período de maduración. Por tal motivo, revisten suma importancia estudios complementarios destinados a caracterizar la fracción polifenólica de las semillas de estas variedades, pudiéndose así obtener un perfil completo y con ello dar un sello particular a cada variedad lo que podría beneficiar su comercialización, ya que además de verificar su autenticidad, la calidad de los futuros vinos se vería favorecida al conocer la materia prima con la que se trabaja.

Palabras claves

Antocianos

Compuestos fenólicos

HPLC-DAD

Maduración

Variedad

SUMMARY

The aim of this study it was to analyse the polyphenolic fraction of grape skins belonging to the varieties Cabernet Sauvignon, Merlot, Cabernet Franc and Carménère, during their maturity phase in the Maipo valley, therefore, obtaining a detailed characterization of each variety, which would allow to recognize future frauds.

The berries were collected each 15 days from varaison until 15 days after harvest, in independent dates for each variety. These berries were submitted to basic analysis, establishing weight of the berries, weight of grape skins, soluble solids, acidity and pH. We also carried out specific analysis to determine the content of totals phenols, totals anthocyanins, intensity colour and hue of the skins extracts. Phenolic compounds with a low molecular weight and anthocyanins were determined by using high performance liquid chromatography.

During the berries maturity phase, it was possible to observe an evolution in the physical and chemical parameters. In all four varieties, there was an increase in the content of soluble solids, in the weight of the berries, in the weight of the grape skins, and the pH, but a decrease in the acidity.

We observed that the concentration composition ratio in the polyphenols of the skins changes according to the variety. Carménère was the variety that achieved the maximum values in these analyse, followed by Cabernet Sauvignon, Cabernet Franc and in last place Merlot. This could be explained by the genetic potential and the enzymatic efficiency of each variety.

The major concentrations of low molecular weight phenolic compounds found in the four varieties were the following: myricetin-3-*O*-glucoside, quercetin-3-*O*-galactoside, quercetin-3-*O*-glucoside, kaempferol-3-*O*-glucoside, and isorhamnetin-3-*O*-glucoside. The anthocyanins compounds we discovered concentrations of malvidin-3-glucoside, malvidin-3-acetylglucoside, malvidin-3-*p*-coumaroylglucoside and the peonidin-3-glucoside.

In general we observed significant differences for most of the parameters determined during the period studied. It was possible to find these differences specially by analyzing phenolic compounds with low molecular weights and anthocyanins.

According to our results, we can conclude that the different varieties evolve in different ways during the maturity phase, in relation to the accumulation and synthesis of polyphenols in the peels of the berries. Therefore, it is vital to develop complementary studies that may determine the polyphenolic fraction in the seeds of these varieties, allowing this way to obtain a complete analysis of the characteristics for each variety. By verifying the authenticity of each variety, it would benefit both the wine trade, and the quality in the production of future wines.

Key words

Anthocyanins

Phenolic compounds

HPLC-DAD

Ripening

Variety

INTRODUCCIÓN

En la última década, el concepto de calidad en los vinos tintos ha experimentado un cambio notable, valorándose como factores positivos un color intenso, un aroma en el que predominen las características de la uva y un paladar con cuerpo y estructura. Ante la demanda de este tipo de vinos se ha despertado un enorme interés hacia el estudio de los compuestos fenólicos, responsables en gran medida de dichas características.

El color, juega un papel muy importante dentro de la calidad del vino. Desde el punto de vista enológico los pigmentos rojos no son solamente responsables de las diferencias entre los vinos blancos y tintos, sino que explican en gran medida sus características sensoriales, propias de cada tipo de vino.

Los pigmentos responsables de proporcionar la coloración roja, azul o púrpura a muchas plantas y en especial a muchas flores son los antocianos. Estos están en solución en las vacuolas de las células vegetales de frutos, flores, tallos y hojas. Son los pigmentos que contribuyen a la coloración de las hojas en otoño. Se encuentran ubicados en el hollejo o película del grano de uva y en la pulpa de algunas variedades.

La composición y concentración de compuestos fenólicos varía dependiendo de diferentes factores, siendo uno muy importante la variedad. Es de hacer notar que existen variedades de vid muy ricas en polifenoles (antocianos y flavonoles), como por ejemplo, Cabernet Sauvignon, Malbec y Syrah. En una menor escala se encuentra Merlot o Pinot Noir. Indudablemente que esta riqueza natural en flavonoides se ve influenciada por otros parámetros, como son todas las condiciones ambientales en las que prospera la vid, incluyendo la temperatura, altitud, horas luz y latitud del viñedo.

El estado de maduración de la vid influye considerablemente si se desea obtener vinos de buen color y estructura. Las uvas deben ser cosechadas en un excelente estado sanitario y con una madurez óptima. No siempre se produce la maduración simultánea de los hollejos y células de la

pulpa de la baya, siendo imprescindible el control continuo del estado de madurez óptimo, previo a la cosecha.

El rendimiento es otro factor importante a considerar, ya que es indudable que los altos rendimientos en las uvas a vinificar perjudican la calidad de los vinos obtenidos, y por cierto la materia colorante de los mismos. Esto ocurre sencillamente porque altos rendimientos provocan una verdadera “disolución” de los constituyentes de la uva, tales como antocianos y taninos. En la formación de los elementos del color de las diferentes variedades de vid, como también en su riqueza polifenólica, influyen considerablemente la luminosidad y la temperatura que acompañan el proceso de maduración de la uva.

La industria vitivinícola chilena ha tenido un incremento significativo de las exportaciones y para hacer sustentable en el tiempo esta tendencia, se debe poner énfasis en la calidad y trazabilidad de los productos que salen a competir a los mercados externos. Es por esto que se hace cada día más importante tener conocimiento sobre la composición química del producto final y de las materias primas con las que se elabora, para evitar fraudes y adulteraciones. El análisis de compuestos antociánicos y de otros compuestos fenólicos se ha utilizado recientemente para cumplir con estos objetivos. Por estos motivos se debe estudiar como varían las concentraciones de dichos compuestos en las bayas, identificar cada uno de ellos y obtener un perfil propio de cada variedad que permita reconocerla.

Considerando lo expuesto, se ha planteado ésta investigación que tuvo como objetivo:

- Caracterizar la fracción polifenólica de hollejos de las variedades Cabernet Sauvignon, Merlot, Cabernet Franc y Carménère durante el período de maduración.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Compuestos fenólicos en la uva

Características generales

Las uvas y el vino contienen una gran variedad de compuestos derivados de la estructura básica del fenol (hidroxibenceno) de dos clases distintas: los fenoles no flavonoides y los fenoles flavonoides (Zoecklein *et al.*, 2001).

Dentro de los compuestos fenólicos no flavonoides se encuentran los ácidos fenólicos que se dividen en ácidos benzoicos (C_6-C_1) y ácidos cinámicos (C_6-C_3), estando la mayoría de ellos eterificados con azúcares, ácidos orgánicos o alcoholes. Proceden principalmente de la extracción del mosto y de forma secundaria de la actividad postfermentativa, incluyendo la exposición a los toneles de roble (Flanzy, 2000; Zoecklein *et al.*, 2001).

Los principales ácidos benzoicos de interés enológico son los ácidos gálico, siríngico, protocatéquico, vainillínico y los aldehídos siríngico, protocatéquico, vainillínico (Zamora, 2003).

Los principales ácidos cinámicos son los ácidos caféico, *p*-cumárico, ferúlico (Zamora (2003).

La concentración de la mayoría de los no flavonoides es inferior a su umbral sensorial individual, contribuyendo, sin embargo, en su conjunto al amargor y a la aspereza del vino (Zoecklein *et al.*, 2001).

Los flavonoides son un grupo de compuestos muy diversos. En los vegetales, dichos compuestos están relacionados con un gran número de procesos tales como el crecimiento del

tubo polínico, la relación planta-patógeno y la pigmentación de tejidos. Los principales compuestos flavonoides son los antocianos, flavonoles y flavanoles (Peña, 1999a).

Los flavanoles se localizan principalmente en las semillas y en menor medida en los hollejos y constituyen la base de los taninos condensados. Los antocianos y flavonoles se localizan principalmente en los hollejos, siendo los antocianos los compuestos más relacionados en la pigmentación de los vegetales (Peña, 1999a).

Los antocianos se encuentran dispersos a través de todo el reino vegetal, siendo particularmente evidentes en tejidos de frutas y flores, y son los responsables de los colores rojos, azules y púrpuras. También se encuentran actuando como atrayentes de insectos polinizadores y tienen un activo papel como filtro, reduciendo los niveles de irradiación peligrosa que actúan sobre las células del mesófilo (Burns *et al.*, 2002).

Los antocianos son los responsables del color rojo y azul de las uvas tintas, ubicándose principalmente en las primeras 3-10 capas de células de la superficie de la epidermis de los hollejos, aunque también están presentes en la pulpa de las variedades “tintoreras” (Peña, 1999a). A nivel celular se encuentran en las vacuolas en organelos especializados denominados antocianoplastos (Flanzy, 2000).

Las antocianidinas corresponden a la aglucona (sin glucosa en su molécula) de las antocianinas. Así en la uva es posible encontrar 5 antocianinas, que se presentan monoglucosiladas en el carbono 3 de la estructura de la molécula o diglucosiladas en los carbonos 3 y 5, dependiendo se trate de variedades europeas (*Vitis vinifera* L.) o americanas, respectivamente. Esta característica permite detectar fraudes como la utilización de variedades americanas o de sus híbridos directos en la elaboración de vinos (Peña, 1999a).

Las variedades de *Vitis vinifera* L., además de las combinaciones con glucosa (3-monoglucósidos), pueden presentar combinaciones con ácidos orgánicos tales como el acético (3-acetilglucósidos) y ácidos cinámicos tales como el *p*-cumárico (3-*p*-cumarilglucósido) y cafeico

(3-cafeilglucósidos). Aunque la conjugación puede tomar lugar en los carbonos 3, 5, 7, 3' y 5', ocurre más frecuentemente en el carbono 3 de la molécula. La variedad Pinot Noir es una notable excepción presentando solo formas 3-monoglucosiladas en sus hollejos (Peña, 1999a).

En las uvas tintas, se encuentran generalmente 5 antocianinas las cuales son: 3-D-glucósido de malvidina, de delphinidina, de peonidina, de cianidina y de petunidina; de ellas, el pigmento más común de las variedades de *Vitis vinifera* L. es el 3-D-glucósido de malvidina (Zoecklein *et al.*, 2001).

De las antocianinas totales del vino, solo una porción de ellas se encuentra en forma libre. Esta proporción es cercana al 60 % en el vino joven y puede llegar a un 10 % en un vino de dos años. Las antocianinas se pueden encontrar unidas a taninos condensados, aciladas con ácidos cinámicos o con el ácido acético, unidas al etanal o bien al anhídrido sulfuroso (Mirabel *et al.*, 1999).

Origen y síntesis de los compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos se originan a partir del metabolismo secundario de los vegetales, pueden seguir dos vías principalmente, la vía del ácido siquímico y la vía del ácido malónico (Taiz y Zaiger, 1991; Zamora, 2003).

El ácido siquímico formado a partir de la vía fosfato pentosa da origen a la L-fenilalanina, que junto a la tirosina y al triptofano son los principales aminoácidos aromáticos, los cuales sólo se sintetizan en el reino vegetal (Taiz y Zaiger, 1991).

En la Figura 1 se presenta la ruta de síntesis de los compuestos fenólicos, donde la mayoría son derivados de fenilalanina y tirosina. La enzima fenilalanina amonio liasa (PAL) cataliza la eliminación del amonio de aminoácido, transformándolo en el primer compuesto fenólico de la planta, el ácido cinámico (Taiz y Zaiger, 1991). El ácido cinámico es el fenol base para la síntesis de todos los compuestos fenólicos (Zamora, 2003).

Los compuestos flavonoides se originan por la unión del ácido cinámico con la malonil coenzima A, compuesto generado a partir de la Acetil-CoA, reacción catalizada por la enzima calcona sintetasa (Taiz y Zaiger, 1991).

Recientes investigaciones han identificado parcialmente los genes involucrados en la ruta de síntesis de antocianos y flavonoles, por ejemplo en un estudio llevado a cabo en el cv. Syrah se demostró que la expresión de estos genes ocurría en forma temprana durante el desarrollo de la baya y durante la maduración. La mayoría de estas enzimas de la vía, entre las que se encuentran la fenilalanina amonio liasa, chalcona sintasa, chalcona isomerasa, flavanona-3-hidroxilasa, dihidroxiflavonol reductasa y leucoantocianidina dioxigenasa, estaban expresadas en las flores y bayas para las primeras 2 a 4 semanas post-floración aunque al mismo tiempo no había síntesis de antocianinas que fuera detectada para estos estados de desarrollo de la baya (Robinson y Davies, 2000).

Según los resultados de los trabajos de investigación sobre la vía de biosíntesis de antocianos, se correlacionó en forma absoluta la expresión de UFGT con la síntesis de antocianinas en los tejidos de la uva, y se sugiere que los progenitores de todas las variedades de uvas modernas eran de piel negra y que las uvas blancas aparecieron producto de mutaciones que se siguieron seleccionando durante su cultivo, además según las investigaciones la expresión de los genes antes descritos fue menor en las variedades de uva blancas y no se detectó la expresión de la UFGT en las variedades blancas (Robinson y Davies, 2000).

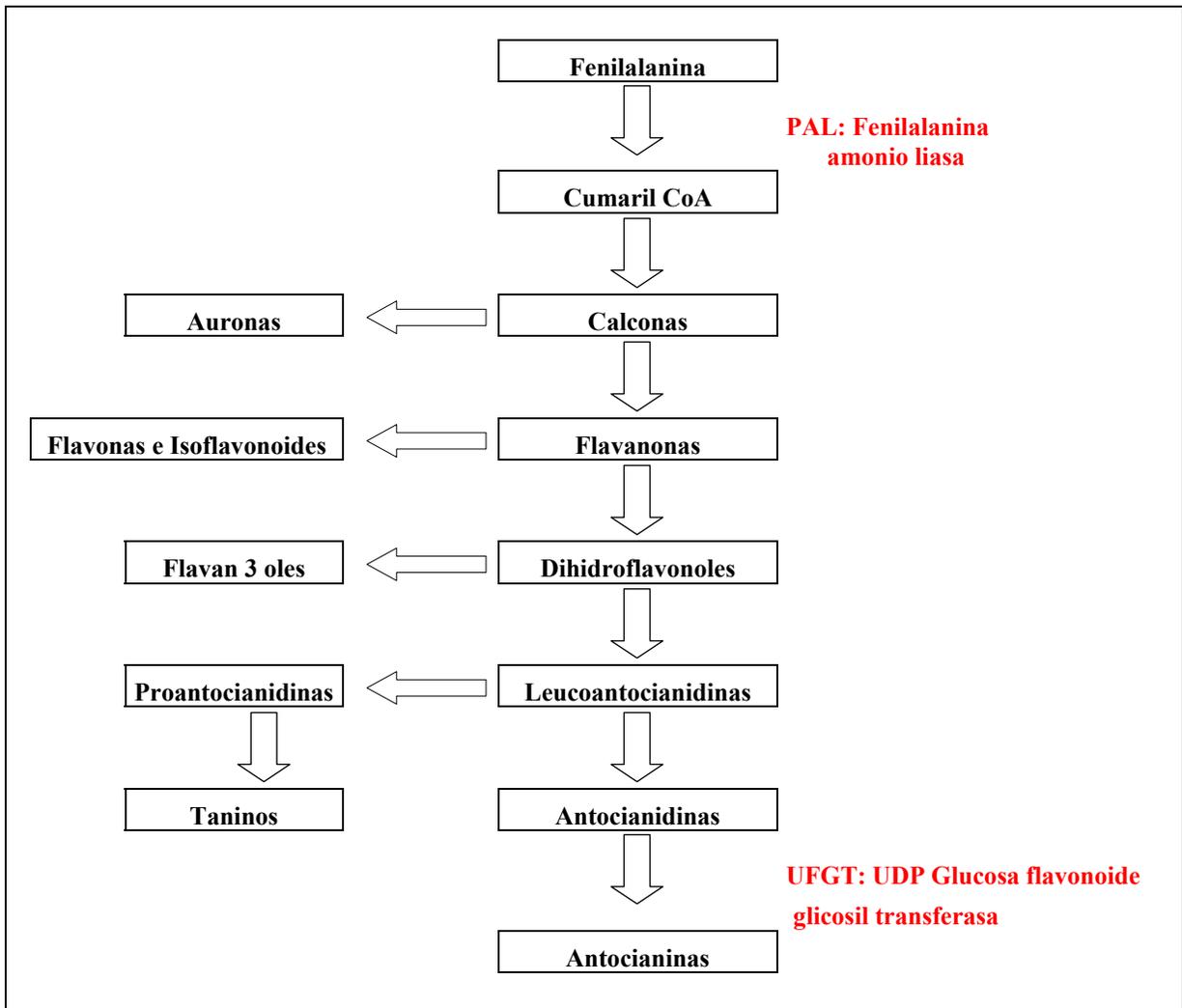


Figura 1. Ruta de síntesis de los compuestos fenólicos.

Factores que influyen sobre el contenido y estabilidad de los antocianos
y otros flavonoides en la uva

La síntesis de compuestos fenólicos durante la maduración de las bayas depende de varios factores entre los que se cuentan factores relativos a la variedad, además de factores de manejo del viñedo, factores ambientales como el clima y otros de los cuales los más representativos se describen a continuación:

Factores genéticos y ambientales: El estado de la membrana de las células vacuolares de los hollejos que contiene los pigmentos antociánicos es responsable de la extractabilidad, la cual es una característica de la variedad. En efecto, en la maduración hay un fenómeno de degradación que influye en la cohesión de las paredes de estas células permitiendo así el escape del contenido vacuolar (liberación de antocianos). Este fenómeno se debe en parte al ataque de estas paredes vacuolares por enzimas (pectinasas), lo que provoca la salida del calcio y la liberación del contenido vacuolar.

Ahora bien, las paredes de estas células son características propias de la variedad, las cuales tendrán aptitudes más o menos fuertes para responder a estos ataques enzimáticos (Reynier, 2002).

El contenido de antocianos también dependerá del potencial genético de la variedad, además de la relación superficie/volumen del grano; por ejemplo, en un estudio realizado en variedades del sudoeste de Francia, se encontró que la variedad Cabernet Sauvignon presentaba 2,1 g de antocianos/kg de bayas, Merlot 2,3 g de antocianos/kg de bayas, Malbec con 3,2 g de antocianos/kg de bayas, con lo cual se aprecia que los contenidos de antocianos difieren según la variedad (Peña, 1999b).

El clima es otro factor importante; por ejemplo, los vinos elaborados de uvas que provienen de climas soleados, en los que se permite su maduración, como es el caso de Chile, poseen un mayor nivel de compuestos flavonoides y entre estos de antocianos. En un estudio realizado por McDonald *et al.*, (1998), se determinó que los vinos chilenos elaborados con las variedades Cabernet Sauvignon, Merlot y Pinot Noir, contienen las más altas concentraciones de flavonoles (quercetina, miricetina, kaempferol y sus compuestos derivados) comparados con los vinos de otros países del mundo de las mismas variedades.

Además, con temperaturas y luminosidad baja o muy elevada no se favorece la síntesis de compuestos antociánicos, por otra parte la oscilación térmica durante la maduración favorece la síntesis de pigmentos antociánicos. Además, cuando la temperatura sobrepasa los 35 °C la vid no

sintetiza antocianos, siendo el óptimo para la acumulación antociánica cercano a 18 °C (Fregoni, 1999).

Lo anterior puede deberse a que la enzima clave en la vía de biosíntesis de los precursores de antocianinas, es la fenilalanina amonio liasa (PAL), la cual es dependiente de la luz y la temperatura, con lo cual un exceso o déficit de estos factores afectara la síntesis de compuestos antociánicos (Haselgrove *et al.*, 2000).

También el contenido de antocianinas de una determinada variedad será mayor si se cultiva en un clima frío que en una región más cálida (Zoecklein *et al.*, 2001).

Con respecto al suelo, con contenidos elevados de calcáreo activo, se observa una disminución de los antocianos y por otro lado el pH ácido del suelo favorece el color tinto de la baya. Finalmente entre ciertos niveles la relación K₂O/MgO del terreno, deprime la síntesis de antocianos, porque el magnesio se convierte en el factor limitante (Fregoni, 1999).

Madurez de las uvas y evolución de los compuestos fenólicos: En el momento del envero, las bayas verdes pierden la clorofila y evolucionan a rojas o menos amarillas. Esta evolución que prosigue durante la maduración permite distinguir las variedades tintas de las blancas. Esta materia colorante, antocianos (rojos) y flavonoides (amarillos) no afecta más que al hollejo; sin embargo, la pulpa de algunas variedades, llamadas tintoreras, acumulan antocianos. Al mismo tiempo, otras sustancias orgánicas, los taninos, sufren modificaciones cuantitativas y cualitativas en los hollejos y semillas (Blouin y Guimberteau, 2004).

La biosíntesis de antocianos comienza solo cuando la maduración de las bayas empieza, o sea, en el envero y normalmente continua a través de la fase de maduración y crecimiento de la baya; al final del periodo de maduración o al principio de la sobremaduración, se produce generalmente una leve disminución de antocianos (Blouin y Guimberteau, 2004). La biosíntesis de antocianos ha sido extensivamente estudiada en petunias, maíz y otros vegetales, lo cual ha llevado a elucidar la vía por la cual varios de los pigmentos antociánicos se sintetizan desde

carbohidratos como resultado del metabolismo secundario de las plantas (Robinson y Davies, 2000).

Además, en un ensayo realizado sobre bayas de los cultivares Cencibel y Garnacha, dos variedades de *Vitis vinifera* L., se estableció que el contenido de antocianos está directamente relacionado con el contenido de azúcares de la baya (Gonzalez y San José, 1991 citado por Contreras, 2001).

En las semillas, los contenidos en taninos alcanzan su máximo antes del envero y van disminuyendo hasta su madurez fisiológica; más tarde, son prácticamente estables (Blouin y Guimberteau, 2004).

Factores culturales: Mediante estudios es posible establecer que el contenido y grado de extractibilidad de antocianos no sería solo un factor determinado por características propias de la variedad sino que también es posible manejar esta variable a través del raleo de racimos. Según Contreras (2001), en un estudio sobre el efecto del raleo sobre la composición fenólica de las uvas del cv. Cabernet Sauvignon observó que durante todo el desarrollo de los racimos el tratamiento más raleado presentó un mayor contenido de antocianos que el tratamiento menos raleado.

El riego afecta el contenido de antocianos en la uva, es así que el déficit hídrico aumenta el color de las bayas en variedades tintas como resultado de un aumento en la producción de antocianinas, aunque no se ha dilucidado si éste es un efecto directo o indirecto del estrés hídrico, debido a una mayor exposición de las bayas a la luz, como resultado de una reducción del crecimiento vegetativo o por aumento en la relación gravimétrica hollejo/pulpa de la baya, resultante del menor crecimiento de esta, sin embargo si el déficit hídrico es mayor puede producirse la falta de síntesis de antocianos (Matthews y Anderson, 1988; citado por Avila, 2002).

En un estudio sobre el efecto del vigor sobre la fracción polifenólica de las bayas de Cabernet Sauvignon se observó que el tratamiento con vigor bajo aumento la concentración de antocianos hacia la cosecha, debido a que los productos de la fotosíntesis van dirigidos hacia la síntesis de azúcares más que a la síntesis proteica y es por esta razón que al haber más azúcares hay más síntesis de antocianos, además de la menor superficie de follaje que permite una mejor entrada de la luz a las bayas, mejorando con esto el color de las mismas (Lisoni, 2001).

Por último, hay que considerar las fertilizaciones, que pueden jugar un rol fundamental, como por ejemplo el nitrógeno, el cual en exceso deprime la coloración de la baya, mientras que el fósforo, potasio, magnesio, boro, manganeso y otros microelementos estimulan la síntesis de los antocianos, dado que favorecen la acumulación de azúcares (Fregoni, 1999).

Los factores antes mencionados, en especial los factores culturales, son importantes de tener en cuenta debido a que se debe cosechar la uva en su punto óptimo de madurez para obtener vinos tintos de buena calidad, es por esto que ahora se habla de “madurez fenólica” en la cual se encuentra un equilibrio entre el índice de taninos y antocianos (Peña, 1999b).

MATERIALES Y MÉTODO

Lugar de trabajo

La uva fue proporcionada por la viña “William Fèvre” ubicada en el valle del Maipo (Pirque). El trabajo experimental se llevó a cabo, en las dependencias y laboratorios del Departamento de Agroindustria y Enología, de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, donde se realizaron los análisis enológicos y caracterización antociánica.

Materiales

El trabajo se realizó con bayas provenientes de plantas del cv. Merlot, Cabernet Sauvignon, Cabernet Franc y Carménère obtenidas por un muestreo al azar de 25 plantas, ubicadas en predios que presentan manejos similares en conducción, poda, carga y producción.

Método

Descripción del ensayo

El experimento constó de cuatro ensayos independientes entre sí (variedades). Cada fecha de muestreo fue conformada de tres repeticiones consistentes en parcelas de veinticinco plantas cada una.

La uva se cosechó en cinco fechas diferentes. A continuación se presentan las distintas fechas en que se realizaron los muestreos:

- Primer muestreo : 85% de pinta
- Segundo muestreo: 15 días después de pinta
- Tercer muestreo: 15 días antes de cosecha
- Cuarto muestreo: Cosecha (fecha tradicional)
- Quinto muestreo: 15 días después de cosecha

Estos muestreos se realizaron en forma aleatoria, de racimos ubicados en distintas partes de las plantas. Por cada tratamiento se tomaron 300 bayas, 100 por repetición.

Determinaciones analíticas

Las muestras se pesaron para obtener el peso de 100 bayas. Además, se pesaron los hollejos correspondientes a 100 bayas en cada fecha de muestreo.

A continuación se detallan las determinaciones analíticas que se utilizaron en las cuatro variedades a estudiar:

Análisis básicos

Bayas: Sólidos Solubles, acidez total, pH y grado alcohólico probable (Bordeau y Scarpa, 2000).

Análisis de polifenoles

Estos análisis se realizaron en las bayas de cada variedad. La pulpa de las bayas presenta cantidades no significativas de polifenoles, debido a esto, se utilizó extractos de hollejos como se ha señalado.

Las determinaciones realizadas fueron:

- Fenoles totales: Mediante análisis espectrofotométrico a DO 280 nm (García Barceló, 1990).
- Antocianos totales: Por decoloración de bisulfito (García Barceló, 1990).
- Intensidad colorante: Mediante análisis espectrofotométrico a DO 420nm+520nm+620nm (Glories, 1978).
- Compuestos fenólicos de bajo peso molecular: Por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) propuesto por Bengoechea *et al.* (1995) modificado por Peña (1998).
- Perfil antociánico: Mediante cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) (Marx *et al.*, 1997).

El análisis de la composición fenólica se realizó sobre extractos de los hollejos de las bayas (Venencie *et al.*, 1997), ya que en dichas partes del fruto se encuentra la mayor concentración de polifenoles de uva.

Análisis por Cromatografía Líquida de Alta Eficacia (HPLC)

Para cada una de las muestras se determinó la concentración de compuestos fenólicos de bajo peso molecular mediante el análisis de individualización por cromatografía líquida de alta eficacia, acoplada a un detector de fotodiodos alineados (HPLC-DAD). Los compuestos fenólicos y antociánicos fueron posteriormente identificados mediante la comparación de su espectro de absorción y tiempo de retención con su respectivo estándar.

El equipo de cromatografía líquida de alta resolución utilizado en este estudio corresponde a un Merck de Hitachi, el cual consta de una bomba modelo L-6200, un inyector automático

modelo L-7200, un detector de arreglo de fotodiodos alineados modelo L-7455, y una columna Waters Nova-pack C₁₈, de 3,9 mm de diámetro interno y con 300 mm de largo.

Para la cuantificación de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular se empleó el método del estándar externo, determinando las concentraciones mediante rectas de calibrados calculadas para las diferentes sustancias patrones disponibles en el mercado (SIGMA, USA), empleando las mismas condiciones descritas para las muestras. Las rectas de calibrado utilizadas se obtuvieron a 280 y 520 nm para los compuestos fenólicos de bajo peso molecular y antociánicos respectivamente.

Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental fue completamente al azar, con cuatro ensayos independientes entre sí, cinco fechas de muestreo, tres repeticiones. La unidad experimental constó de 25 plantas.

Los resultados se analizaron estadísticamente por análisis de varianza (ANDEVA) y de existir diferencias significativas entre las fechas de muestreo se aplicó la prueba de rango múltiple de Duncan a un nivel de significancia del 5%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La maduración de la uva corresponde a la de un fruto no climatérico, es decir, que una vez separado del racimo de la planta el estado de madurez de sus bayas no se modifica (Boss *et al.*, 1996). Es por ello que la correcta determinación de la fecha de vendimia, o de madurez enológica, es fundamental para la producción de vinos de alta calidad. Pero si la uva no fuera vinificada inmediatamente, la composición de la baya se modificaría por procesos como deshidratación o pudriciones por mohos (Pszczólkowski, 2003).

Para determinar la fecha más adecuada de vendimia, es necesario realizar un seguimiento de la maduración de la baya, mediante muestreos sistemáticos y análisis químicos del mosto. El análisis de compuestos fenólicos es fundamental para la producción de vinos tintos de calidad puesto que presenta un criterio analítico más preciso que la simple degustación de las bayas, dada la subjetividad de quien realiza el análisis (Pszczólkowski, 2003). Es por esto que la definición de “madurez fenólica” está tomando cada día mayor importancia en el ámbito enológico, la cual se basa en la evolución de los antocianos y de los taninos a lo largo de toda la maduración de las bayas. Cabe destacar, que no siempre se produce la maduración simultánea de los hollejos y células de la pulpa de la baya (Marquette, 1999).

La zona en que se efectuó el presente estudio (Valle Central), presentó en la temporada 2003 condiciones climáticas excepcionales para la obtención de vino de alta calidad, que favoreció la obtención de uvas sanas con baja incidencia de podredumbre. Esto permitió esperar el momento oportuno para realizar la cosecha, que fue en general bastante tardía y prolongada y con algunas caídas en los rendimientos. La variedad Cabernet Sauvignon presentó un 7% menos de lo esperado, no así las variedades Merlot y Carménère que incrementaron sus rendimientos (Viñas de Chile, 2003).

La brotación de las viñas se adelantó en una semana en algunos sectores, mientras que los estados fenológicos restantes se presentaron en los periodos normales a cada uno de ellos.

En el siguiente cuadro se presentan las fechas en que se realizaron los muestreos para cada variedad estudiada.

Cuadro 1. Fechas de muestreo.

Muestreo		Cabernet Sauvignon	Cabernet Franc	Carménère	Merlot
Primero	85% pinta	6 de Febrero	6 de Febrero	4 de Marzo	6 de Febrero
Segundo	15 dd/pinta	21 de Febrero	21 de Febrero	19 de Marzo	21 de Febrero
Tercero	15 da/cosecha	29 de Marzo	29 de Marzo	3 de Abril	30 de Marzo
Cuarto	Cosecha	16 de Abril	16 de Abril	18 de Abril	14 de Abril
Quinto	15 dd/cosecha	29 de Abril	7 de Mayo	7 de Mayo	27 de Abril

dd: días después; da: días antes.

Es muy importante para el estudio y análisis de cada variedad conocer los manejos que se realizaron a las vides en campo y los rendimientos que se obtuvieron, ya que estos factores pueden influir fuertemente en la concentración de compuestos fenólicos, es por ello, que a continuación se presentan en el Cuadro 2, los rendimientos para cada variedad estudiada.

Cuadro 2. Rendimientos.

Variedad	Año	Raleo ¹	Racimos/planta	Planta/ha	Hectáreas	Kg totales	Toneladas/ha
Cabernet Sauvignon	1997	1%	17	2.850	2,45	28.924	11,8057
Cabernet Franc	1999	33%	14,9	3.268	4	46.650	11,6625
Carménère	1999	0%	5,1	3.268	3,5	7.017	2,0048
Merlot	1997	22%	15,5	2.850	5	40.654	8,1308

¹ El raleo o aclareo se efectuó en dos épocas durante el periodo de maduración, (pinta y 15 días ante de cosecha). Según Reynier (2002) para obtener una baja en los rendimientos y una mejora cualitativa, es necesario suprimir de 30 al 50% de los racimos.

Análisis Básicos

El crecimiento y desarrollo de la baya ha sido descrito como dos ciclos sigmoideos sucesivos, que va desde la formación de la baya hasta su madurez (Coombe y Mc Carthy, 2000).

Esta curva de crecimiento se caracteriza por presentar tres períodos bien definidos: un período de crecimiento herbáceo (etapa I), un período de detención de crecimiento, en el que sólo las semillas continúan su desarrollo (etapa II) y un período de maduración (etapa III) (Martínez De Toda, 1991).

Durante la maduración los racimos sufren diversos cambios físicos y bioquímicos. Entre los físicos se pueden mencionar el aumento del color y del volumen de las bayas; y el ablandamiento de éstas. Y entre las modificaciones bioquímicas, una disminución en la acidez y un aumento en azúcares, compuestos fenólicos (taninos y materia colorante) y en compuestos aromáticos (Reynier, 2002; Robinson y Davis, 2000).

Estos cambios se producen en tres fases las cuales van proporcionándole al fruto las características que el enólogo desea obtener en su producto final. La primera fase se conoce con el nombre de envero, y continúa con la maduración para terminar con una fase de sobremadurez o de deshidratación.

Según Marquette (1999), el período de sobremadurez es la etapa en el cual la baya sufre deshidratación por envejecimiento celular, existiendo una disminución importante de la cohesión de las paredes y membranas celulares; además de una degradación de compuestos fenólicos en los hollejos de las bayas.

Peso de 100 bayas

Según Hernández (2000) el grano o baya aumenta continuamente de volumen y peso desde la cuaja a la madurez. Su crecimiento es irregular y se hace por etapas. En la madurez su tamaño depende en gran parte de la alimentación hídrica de la parra. En general desde la mitad de pinta a la madurez, la baya aumenta alrededor de un 50% en peso. Esto concuerda con lo observado en la Figura 2.

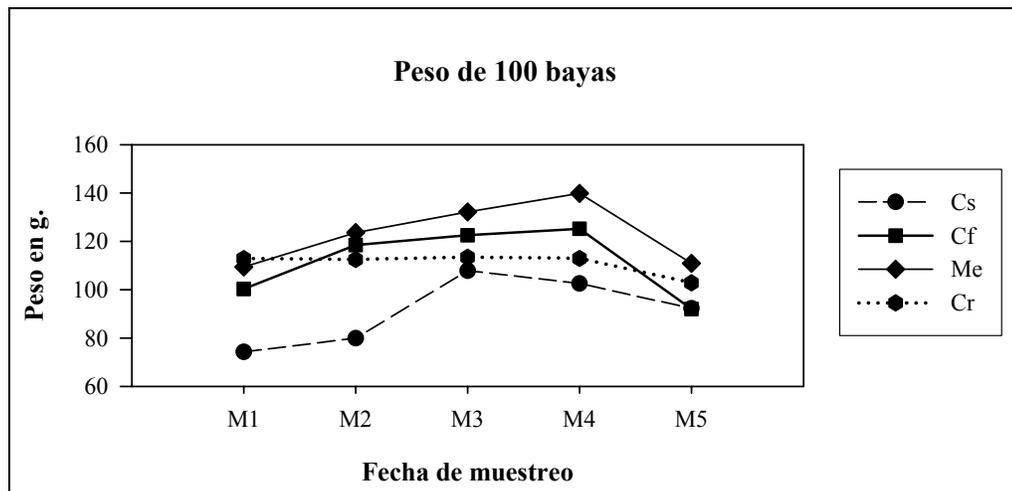


Figura 2. Evolución del peso de 100 bayas durante el período de maduración de la baya.

En el caso de Cabernet Sauvignon (Cs) existe un aumento significativo en el peso de las bayas hasta el tercer muestreo para luego disminuir y entrar probablemente a un período de sobremaduración en el cual la baya comienza a perder peso por deshidratación. Es en el período de sobremadurez donde se encuentra la madurez enológica, es decir, aquella que permite obtener el mejor vino. Las variedades presentan distinto grado de tolerancia a la sobremadurez, así por ejemplo, el Merlot (Me) es la variedad que soporta un período más corto, debiendo ser cosechada a los 7 a 10 días de iniciada la deshidratación de la baya. Le sigue en tolerancia el Cabernet Franc (Cf); en cambio, el Cabernet Sauvignon resiste notablemente un período de sobremadurez (hasta tres semanas). Probablemente Carménère (Cr) sea la variedad más tolerante, siempre y cuando no

existan problemas de pudrición por *Botrytis cinerea*, en cuyo caso debe cosecharse antes que el Cabernet Sauvignon, dada la sensibilidad a la enfermedad (Pszczólkowski, 2003).

Según Pszczólkowski (2003) un período de sobremadurez excesivo conlleva siempre al deterioro de la calidad de la uva, afectando los aromas y los polifenoles, especialmente los antocianos. Es el caso de la Figura 3, donde se muestran los contenidos de antocianos totales *versus* el peso de las 100 bayas en la variedad Cabernet Sauvignon. Al perder peso la baya desde el tercer muestreo, las concentraciones de antocianos totales descienden y, por lo tanto, en el momento de cosecha no se obtuvieron los máximos niveles de dichos compuestos, comportamiento no observado en las otras variedades en estudio.

Cabe destacar que la disminución del tenor en antocianos de los hollejos es lo que ocurre más a menudo en relación con un fenómeno de senescencia de la baya, si bien como se describió anteriormente existe una degradación de las paredes y membranas celulares, lo que favorecería la extracción de antocianos, a pesar de la disminución de la concentración total de dichos compuestos (Marquette, 1999).

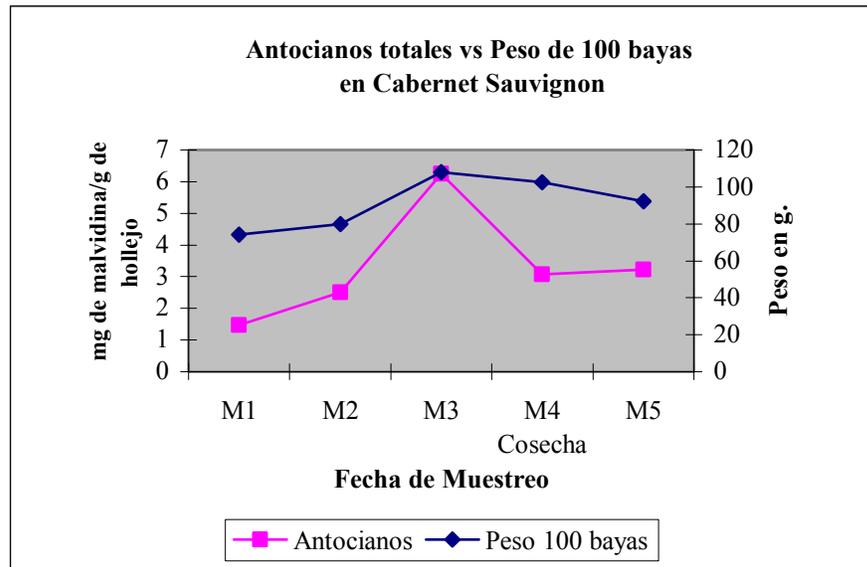


Figura 3. Evolución del contenido de antocianos *versus* (vs) el peso de 100 bayas durante el período de maduración de la baya.

Se debe tomar en cuenta que los antocianos se ubican en los hollejos de las bayas y como se puede observar en la Figura 4, el peso de los hollejos aumenta constantemente para la variedad Cabernet Sauvignon y los antocianos disminuyen, por lo que ambos parámetros no tendrían una relación directa y, por lo tanto, la disminución en el peso de la baya se debería a la deshidratación de estructuras como la pulpa y semillas. La disminución en la concentración de los antocianos podría también explicarse por una dilución del contenido total debido al aumento del peso de los hollejos.

Las variedades Cabernet Franc y Merlot presentan el mismo comportamiento, es decir, el peso aumenta a medida que la baya se desarrolla, hasta un punto en que comienza a disminuir (cosecha). Este descenso se puede deber al igual que en Cabernet Sauvignon a un período de senescencia de la baya en el cual la uva se pasifica, se concentran los azúcares y desaparece parcialmente el ácido málico (Reynier, 2002).

Estadísticamente no existieron diferencias significativas entre las fechas de muestreo para el peso de 100 bayas en las variedades Carménère y Merlot, no así en las variedades Cabernet Sauvignon y Cabernet Franc en las que sí se observaron diferencias (Anexo I).

Peso del hollejo de 100 bayas

Como se aprecia en la Figura 4, las muestras de la variedad Cabernet Sauvignon presentaron un aumento constante en el peso de sus hollejos, no así los de las variedades restantes que aumentan hasta un punto para luego disminuir. Esto podría deberse a que el hollejo representa sólo entre un 8-20% del peso de la baya, y en el período de maduración, aunque el peso del hollejo aumenta, el peso de la pulpa y semillas también aumentan, en especial el de la pulpa donde se concentran los asimilados y agua representando un 85% del total de la baya (Reynier, 2002; Hernández, 2000).

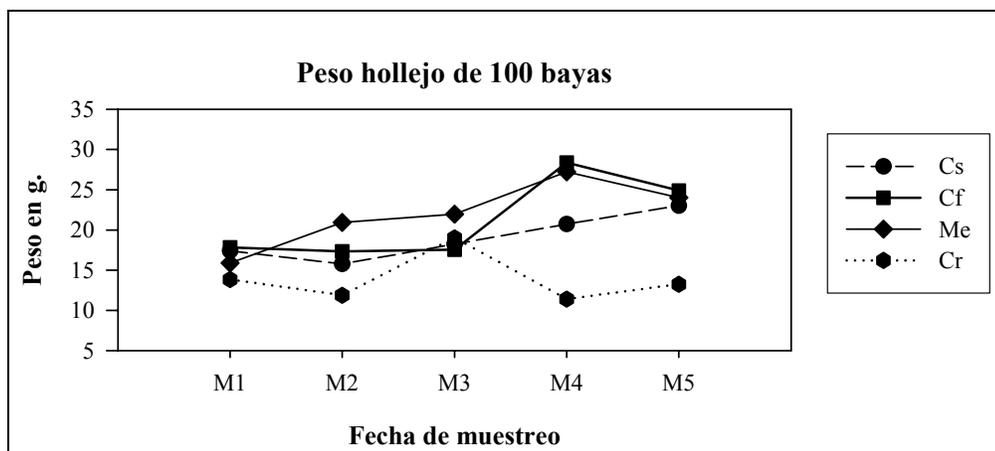


Figura 4. Evolución del peso de los hollejos de 100 bayas en el período de maduración.

En el caso de Carménère se observa a partir del tercer muestreo una disminución en el peso. Esto concuerda con lo expuesto anteriormente, y además en dicho cultivar existiría un aumento considerable del peso de la pulpa en comparación a las otras variedades, ya que se alcanza con anterioridad el punto de inflexión del peso de los hollejos, en el cual comienza la disminución de su peso (Cáceres, 2004)².

Todas las variedades en estudio presentaron diferencias significativas entre las fechas de muestreo para el peso de los hollejos de 100 bayas, estas diferencias se observan en el Anexo I.

Sólidos Solubles

En las variedades *Vitis vinifera* los azúcares predominantes son glucosa y fructosa. Pequeñas cantidades de sacarosa y otros azúcares también están presentes. El contenido de azúcar en las uvas que están madurando es un factor importante en la determinación del momento de cosecha. Además, más del 90% de los sólidos disueltos son azúcares; por lo tanto, la determinación de los sólidos solubles totales es a menudo una medida aproximada del contenido de azúcares (Bordeau y Scarpa, 2000).

² Comunicación Personal. Cáceres A. 2004. Licenciado de Ciencias Agronómicas. Universidad de Chile.

Como se observa en la Figura 5, el contenido de sólidos solubles va aumentando durante todo el proceso de maduración de la baya, lo que concuerda con lo señalado por diversos autores entre ellos Reynier (2002), Marquette (1999), Tesic *et al.*, (2001). Existe una acumulación rápida e importante de azúcares en las bayas desde el envero, lo que se justificaría por migraciones de los productos de la fotosíntesis únicamente hacia los racimos y además de movilizaciones de las reservas en azúcares (sacarosa y principalmente almidón) de la madera y del sistema radicular. El nivel de estas reservas es muy importante para asegurar un buen comienzo de la maduración. Durante la maduración se suma un aporte de azúcares por transformación de ácido málico (Reynier, 2002).

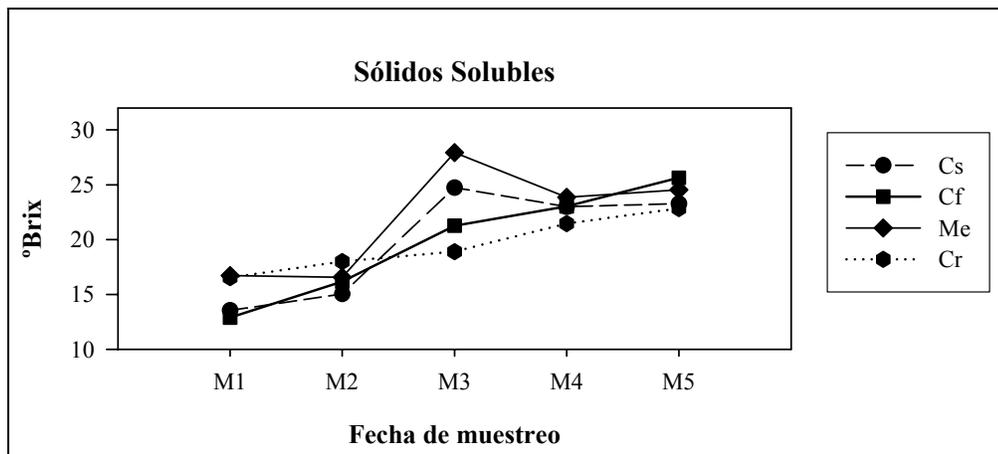


Figura 5. Evolución de los grados Brix a través del período de maduración.

Como se aprecia en el Anexo I, existen diferencias significativas entre las fechas de muestreo para todas las variedades en estudio. También se ve la variabilidad del contenido de azúcares entre las bayas de las distintas variedades; esto depende de su genotipo que condiciona la duración de su ciclo biológico y de su período de maduración, así como de su rendimiento fotosintético (Reynier, 2002).

El aumento y posterior disminución de sólidos solubles que se observa en las variedades Merlot y Cabernet Sauvignon podría deberse a la degradación de azúcares por respiración de las bayas y por la utilización de azúcares en la síntesis de otros compuestos (Reynier, 2002).

La variedad Cabernet Franc se comportó de manera similar a Carménère en la evolución de sólidos solubles, pero con valores mayores, alcanzando su máximo en el quinto muestreo; este comportamiento concuerda con lo observado por Shultz (2002) en la misma variedad, en la zona de Alto Jahuel.

La variedad Carménère presentó menores contenidos de sólidos solubles en relación a las otras variedades en estudio, a pesar de ser la variedad con los rendimientos más bajos. Esto se podría deber a una mala distribución de los azúcares producto del gran vigor de la variedad, lo que provocó que las vides sufrieran corrimiento³ y se perjudicara la producción final y además la acumulación de azúcares en las bayas.

El grado de alcohol probable es una estimación del contenido de azúcar fermentecible de la baya, especialmente de la pulpa (Bordeau y Scarpa, 2000). Como se observa en la Figura 6 la variedad Carménère presenta el menor grado de alcohol probable, ya que es una variedad vigorosa y por lo tanto existiría una dilución de los compuestos por la mayor presencia de agua en las bayas (Lisoni, 2001).

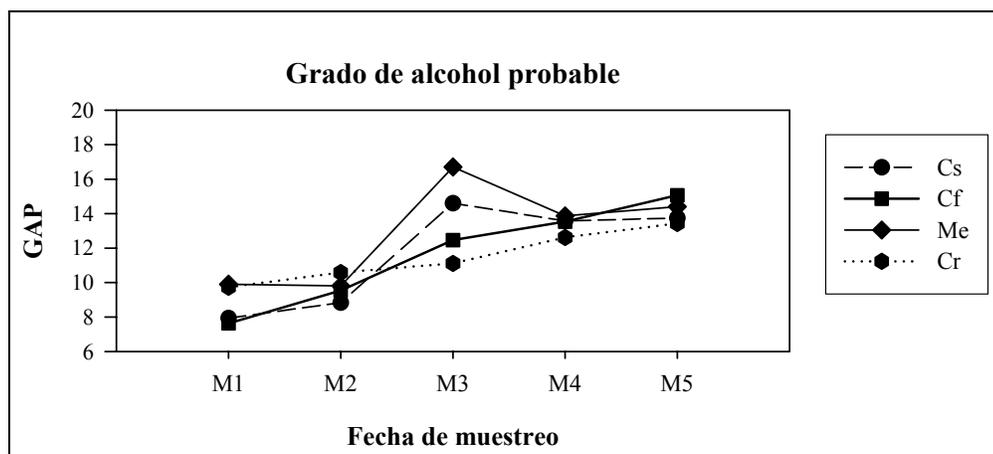


Figura 6. Evolución del Grado de alcohol probable durante el período de maduración.

³ Alteración de la floración que produce una disminución del potencial productivo. Se aplica el término corrimiento a la caída accidental de ovarios fecundados o de bayas jóvenes (Reynier, 2002).

Acidez

En la Figura 7 se observa la evolución de la acidez durante toda la etapa de maduración de la baya, desde envero hasta 15 días después de cosecha.

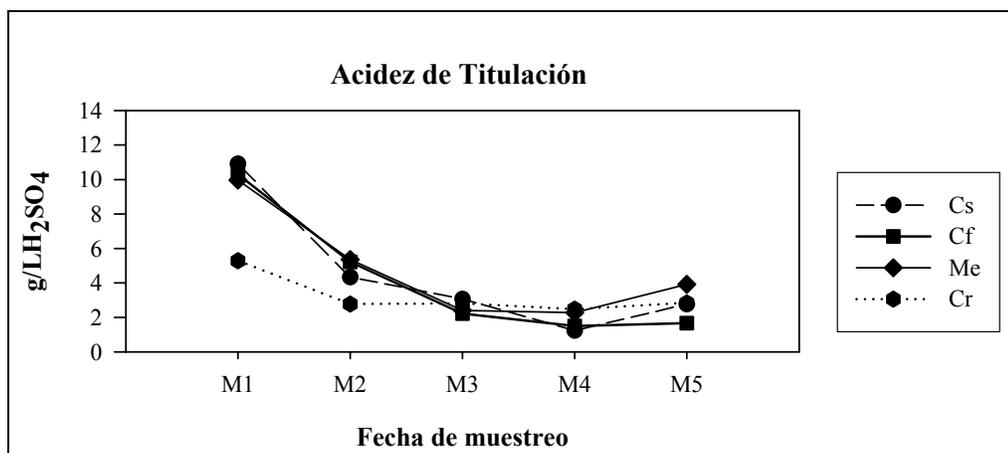


Figura 7. Evolución de la acidez de titulación durante el período de maduración de la baya.

Todas las variedades estudiadas se comportaron de forma similar, apreciándose una disminución en la acidez desde el envero hasta cosecha, para luego aumentar levemente en un período de sobremaduración, lo que podría estar relacionado con una concentración de los ácidos en la pulpa, producto de la pérdida de peso en la baya. Además, existieron diferencias significativas entre las fechas de muestreo para todas las variedades, lo cual se puede observar en el Anexo I.

Las diferencias que se observan en los valores de acidez entre las variedades está predeterminada por las características del medio y la adaptación de la variedad en éste, por las prácticas culturales y por las características propias de cada variedad (Reynier, 2002).

La disminución de la acidez se produce, según Reynier (2002), por una degradación respiratoria de ácidos orgánicos (ácidos málico y tartárico principalmente) que se ve favorecida con el aumento de temperatura (sobre 30 °C). Influye además la síntesis de azúcar a partir de

ácido málico, los fenómenos de dilución y por último la migración de bases procedentes de las raíces.

La variedad Carménère presenta una acidez menor con respecto al resto de las variedades en los dos primeros muestreos, para luego mantenerse y obtener en cosecha una concentración de acidez levemente mayor. Esto se podría atribuir a que la variedad es vigorosa y de madurez tardía y, por lo tanto, existe un mayor crecimiento vegetativo, el cual propiciaría la existencia de un microclima con temperaturas inferiores y, por lo tanto, con una tasa respiratoria menor, además de provocar un retraso fisiológico, un retraso de la maduración y una degradación lenta de los ácidos (Reynier, 2002).

pH

Es una de las determinaciones más importantes ya que ejerce influencia sobre la presencia de microorganismos, sobre el matiz del vino, el sabor, potencial redox, sobre la razón sulfuroso libre/sulfuroso combinado, etc. (Bordeau y Scarpa, 2000). Es por esto que se debe tomar en cuenta la evolución del pH durante la maduración y especialmente en el momento de cosecha.

Para todas las variedades existe diferencia significativa entre las fechas de muestreo para esta variable (Anexo I). Como se aprecia en la Figura 8, el pH se comporta de forma diferente a la acidez, ya que a medida que la baya va madurando el pH va aumentando.

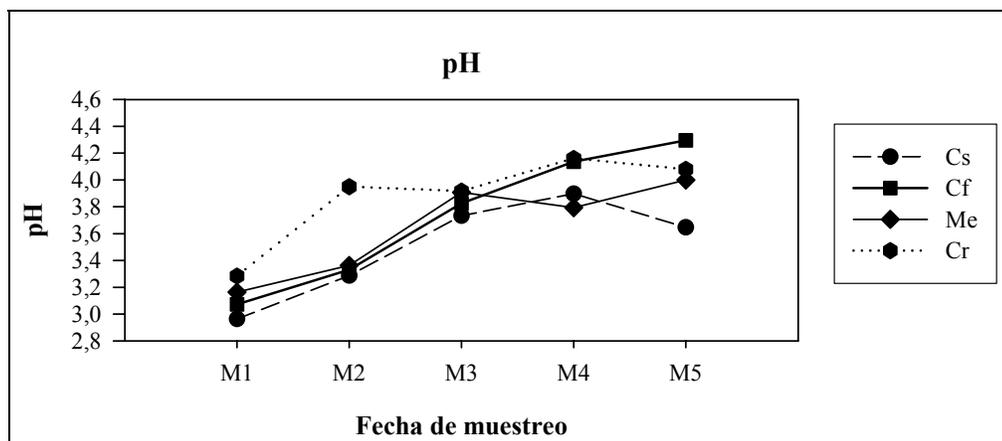


Figura 8. Evolución del pH durante el período de maduración de la baya.

Resulta interesante notar que en el caso del pH no se observan diferencias tan marcadas, en especial para las muestras de la variedad Carménère, como las observadas en los valores de la acidez, en especial en los primeros dos muestreos. Esto indicaría que si bien el contenido total de ácidos orgánicos es distinto entre los cultivares estudiados, el nivel de salificación con potasio y calcio y, por tanto, la concentración de protones libres en el medio sería similar en todas las variedades.

Composición fenólica global en hollejos

Fenoles Totales

Como se observa en la Figura 9 cada variedad se comporta de manera distinta con respecto a la evolución de los fenoles a través de la maduración. Las muestras de las variedades Carménère y Merlot experimentaron una disminución en las concentraciones de compuestos fenólicos en los primeros muestreos para luego aumentar desde cosecha en adelante. Dicho aumento estaría asociado a la evolución y aumento del contenido de antocianos y de fenoles de otros grupos tales como taninos, flavonoles y ácidos fenólicos.

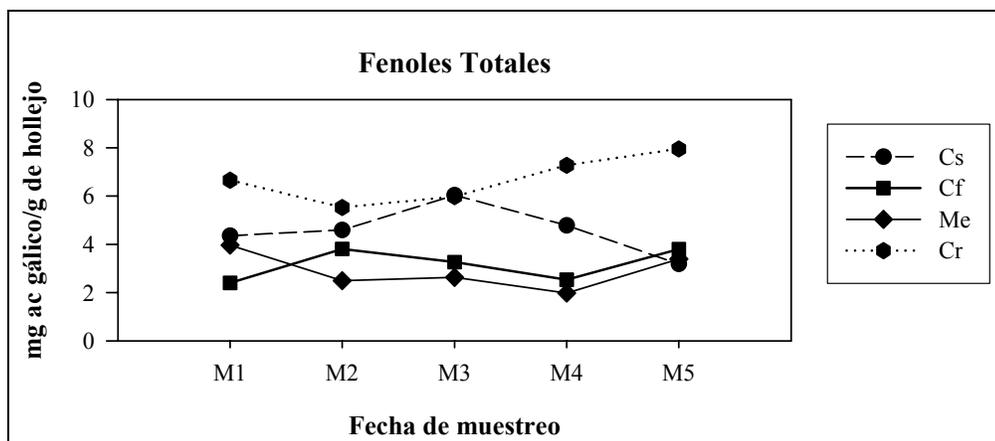


Figura 9. Evolución de los fenoles totales en el hollejo.

La variedad Cabernet Sauvignon presentó un aumento constante en las concentraciones de compuestos fenólicos hasta quince días antes de cosecha, para luego disminuir. Este comportamiento decreciente se puede deber a una degradación de flavonoles (antocianos) por sobremadurez. Según Marquette (1999) y Zamora (2003) la concentración de antocianos aumenta hasta alcanzar un punto máximo después del cual disminuye por una degradación de dichos compuestos. De acuerdo a este criterio la variedad Cabernet Sauvignon sería la única en alcanzar el punto de madurez fisiológica.

En la variedad Cabernet Franc se observó un aumento en las concentraciones de fenoles totales hasta el segundo muestreo, para luego decrecer levemente durante el tercero, a partir del cual volvió a aumentar hasta el quinto muestreo. Duarte (2001) obtuvo el mismo comportamiento en la evolución de los compuestos fenólicos para la variedad Cabernet Sauvignon.

De las variedades estudiadas, Carménère presentó la mayor concentración de fenoles totales durante el proceso de maduración. Esto puede deberse a diversos factores que tendrán una incidencia relevante en la dinámica de concentración de dichos compuestos. Entre los más importantes estarían los factores genéticos, que determinan el tamaño del grano de uva que condicionaría la proporción de pieles y semillas con respecto del volumen del mosto. Además, cada variedad presenta una capacidad potencial para sintetizar compuestos fenólicos diferente; y

según su carga genética se manifiestan características que también incidirían en la cantidad y calidad de dichos compuestos como son el vigor y la productividad (Zamora, 2003). Es importante recordar que la variedad Carménère presenta una madurez tardía y rendimientos muy bajos, lo que pondría de manifiesto su comportamiento en la síntesis de fenoles en los hollejos.

La influencia del potencial genético sobre la acumulación de compuestos fenólicos se ve reflejada en el caso de las variedades Cabernet Sauvignon y Cabernet Franc, que a pesar de tener rendimientos similares (11 Ton/ha), se observaron valores distintos en las concentraciones de polifenoles. Siendo la variedad Cabernet Sauvignon la más rica en dichos compuestos.

Otro factor que influye en la evolución de los fenoles son las condiciones edafoclimáticas, que en este estudio no tienen real importancia ya que todas las variedades muestreadas pertenecían a la misma localidad geográfica. No obstante a lo anterior, los factores culturales podrían haber influido en la acumulación y composición de compuestos fenólicos puesto que cada variedad se maneja de forma diferente según los objetivos a alcanzar.

La composición global de fenoles de los hollejos presentó diferencias significativas entre las fechas de muestreo en todas las variedades con excepción de la variedad Carménère (Anexo II).

Antocianos Totales

Los antocianos (del griego *anthos* flor y *kyanos* azul) son los responsables del color rojo azulado de la piel de las uvas tintas. Su ubicación se limita a los hollejos y pulpa de variedades tintoreras (Zamora, 2003). El equilibrio de estos compuestos está determinado por la acidez del medio. A pH superior a 3,0, es visible menos del 50% del color rojo potencial y a pH inferior a 4,0, las principales formas de equilibrio son el ion flavilium de color rojo y su pseudobase incolora (Peña, 1999a).

La Figura 10, muestra la evolución de los antocianos totales durante el transcurso de la maduración. Como se aprecia, las cuatro variedades estudiadas tienen un comportamiento y una acumulación de antocianos diferente una de otra. Esta diferencia estaría dada principalmente por la variedad; además de las prácticas de manejo del viñedo que influirían directamente en la cantidad y composición de estos compuestos (Peña, 1999a).

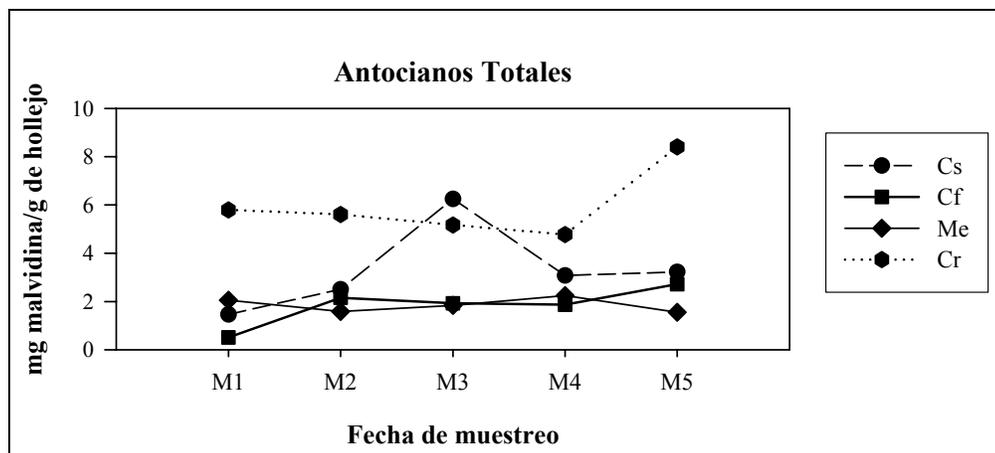


Figura 10. Evolución de los Antocianos totales en la baya durante el período de maduración de las bayas.

Es importante señalar además, que se encontraron diferencias significativas entre las fechas de muestreo en todas las variedades en estudio, lo cual se puede observar en el Anexo II.

En la variedad Cabernet Sauvignon las antocianinas del hollejo de la baya se incrementan rápidamente a partir de pinta y durante la madurez, alcanzando un máximo, para luego disminuir en un período de sobremaduración (Marquette 1999; Zamora 2003).

Las muestras del cultivar Carménère disminuyeron levemente sus concentraciones hasta el cuarto muestreo, que corresponde a cosecha (madurez industrial), para luego aumentar significativamente. Cabe destacar, que esta variedad es la que obtuvo mayores concentraciones de antocianos al momento de cosecha. Esto está determinado por la variedad, ya que como se ha dicho, presenta una maduración tardía y, por lo tanto, la acumulación de compuestos fenólicos es lenta y su madurez fisiológica se alcanza en una fecha posterior a la de otras variedades.

Merlot y Cabernet Franc presentan las menores concentraciones de antocianos al momento de cosecha. Estas variedades se caracterizan por presentar una riqueza natural en constituyentes colorantes inferior a otras. Además la síntesis de antocianinas estaría influenciada fuertemente por otros parámetros como son todas las condiciones ambientales en que prospera la vid, incluyendo la temperatura, altitud, horas luz y latitud del viñedo, así como aspectos edáficos y manejos agronómicos (Reynier, 2002).

Cabe mencionar que los antocianos son parte de los fenoles totales y, por lo tanto, las diferencias de magnitud entre fenoles totales y antocianos totales se deberían a otras familias fenólicas tales como flavanoles y flavonoles existentes en los hollejos, como ya se ha hecho mención.

Recientes investigaciones han identificado parcialmente los genes involucrados en la ruta de síntesis de antocianos y la participación de enzimas específicas en dicho proceso. La expresión de estos genes se presenta en forma temprana en la baya y durante la maduración. Desde el envero en adelante como se muestra en la Figura 10, existiría una inducción coordinada de todos los genes, incluyendo la UDPglucosa flavonoide glicosil transferasa (UFGT), lo cual coincidiría con la aparición de los pigmentos antociánicos en los hollejos de las bayas. El gen UFGT, el cual codifica a la enzima glucosil transferasa, es el último paso en la vía de síntesis de antocianos como se muestra en la Figura 1 (Robison y Davis, 2000).

La eficiencia del aparato enzimático y su nivel de actividad son determinados por el medio en que se desarrolla la vid y principalmente por el potencial genético de la variedad. Es por ello que se observan diferencias entre las cuatro variedades en estudio, siendo Carménère la que presentaría la mayor actividad enzimática, ya que como se mencionó con anterioridad, es la variedad que presenta la concentración más elevada de antocianos.

La cantidad y composición de antocianos de los hollejos tendrá una influencia directa en la intensidad colorante y matiz de los vinos tintos.

Intensidad Colorante

Los responsables de darle la coloración al vino son una gama de compuestos químicos que difieren en su composición y por lo tanto, tendrán una evolución en el tiempo acorde a su naturaleza (Zamora, 2003).

El espectro de absorción del vino presenta un máximo hacia los 520 nm, que corresponde al color rojo, amarillo (420 nm) y azul (620 nm). La intensidad colorante (IC) corresponde a la suma de cada uno de los componentes y permitirá tener una idea de cuánto color posee el vino y en este caso las bayas (hollejos) (Zamora, 2003).

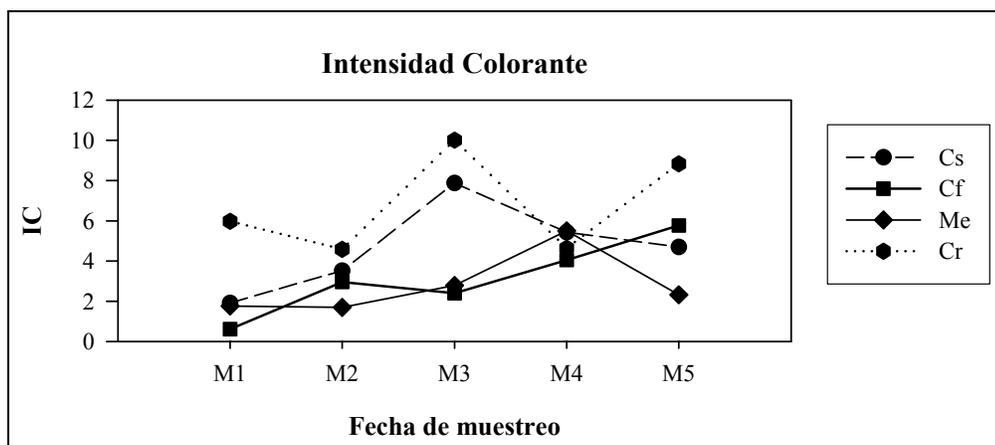


Figura 11. Evolución de la Intensidad colorante en los hollejos durante el período de maduración.

La variedad Carménère alcanza una máxima IC durante el tercer muestreo para luego disminuir fuertemente, y volver a aumentar en el quinto muestreo. Este comportamiento estaría dado por la síntesis y degradación de los compuestos responsables de cada una de las absorbancias relacionada con la intensidad colorante. La concentración de antocianos totales no presenta la misma tendencia durante la maduración debido a que la intensidad colorante involucra en su determinación la medición de absorbancias a 520 nm y 620 nm relacionados con los antocianos del fruto, pero además mediciones a 420 nm relacionados con la componente amarilla

del vino que está dada por otra clase de compuestos conocidos como flavonoles y flavanoles fundamentalmente.

En el momento de cosecha, Carménère presentó un valor de IC menor al resto de las variedades. Esto se debe a que la absorbancia a 520 nm presentó valores mayores que a 420 y 620 nm y, por lo tanto, las otras variedades a pesar de tener valores inferiores que Carménère a 520 nm presentarían valores mayores para las componentes amarilla y azul.

Cabernet Sauvignon presenta el mismo comportamiento de los antocianos totales a través de la maduración, aumentando los valores hasta el tercer muestreo para luego disminuir. Esto se debe a que la fracción roja en la determinación de la intensidad colorante predomina fuertemente y el aporte de las otras fracciones es mínimo.

Para el caso de Merlot y Cabernet Franc la máxima absorbancia se alcanza en el momento de cosecha, y luego disminuye. Como ya se mencionó, esta disminución estaría asociada a una degradación de compuestos.

Los resultados estadísticos reflejan que para todas las variedades existió diferencia significativa entre las fechas de muestreo (Anexo II). En el Anexo III se observa la evolución de la intensidad colorante a 420nm, 520nm, 620nm de las cuatro variedades en estudio durante la maduración de la baya.

Matiz

Es el cociente entre la absorbancia a 420 nm y la absorbancia a 520 nm (A_{420}/A_{520}). Representa la proporción de color amarillo en relación al rojo de la solución (Bordeau y Scarpa, 2000).

En la Figura 12, se muestra la evolución del matiz a través de la maduración. La variedad Carménère, parte con una proporción mayor de flavanoles y flavonoles (A_{420} nm), luego existe

una disminución y desde el segundo muestreo sigue la misma tendencia que las otras variedades. Es interesante observar que si bien las concentraciones de los compuestos responsables de las absorbancias a 420 y 520 nm son distintas para cada variedad a partir del segundo muestreo tendrían una proporción similar.

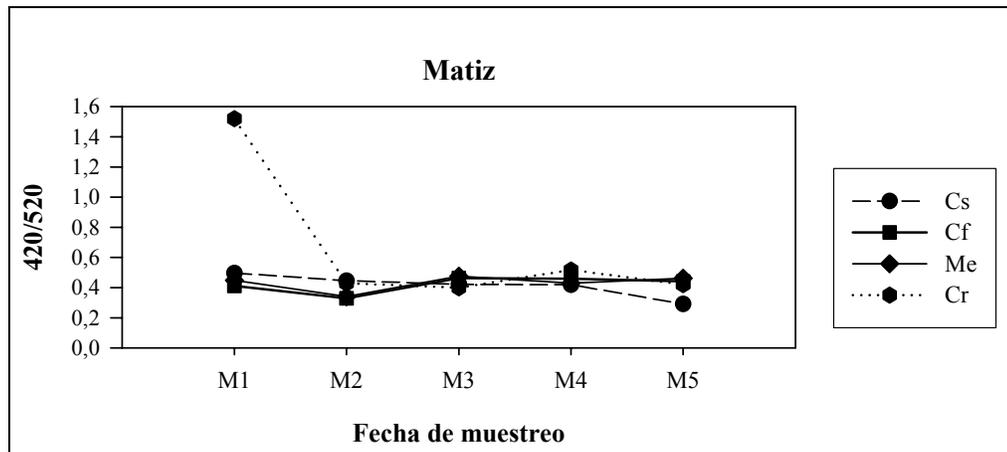


Figura 12. Evolución del Matiz en los hollejos durante la maduración de las bayas.

Las variedades Cabernet Franc y Merlot no presentaron diferencias significativas, mientras que las variedades Cabernet Sauvignon y Carménère sí presentaron diferencias significativas entre las fechas de muestreo, lo cual se presenta en el Anexo II.

Análisis individualizado de compuestos fenólicos

El análisis individualizado se realizó mediante cromatografía líquida de alta eficacia acoplada a un detector de fotodiodos alineados (HPLC-DAD). Los compuestos encontrados a través de este análisis, fueron identificados por medio de su espectro UV y por su tiempo de retención. En la Figura 13 se presentan los espectros UV de algunos de los compuestos de bajo peso molecular identificados en los extractos de hollejos.

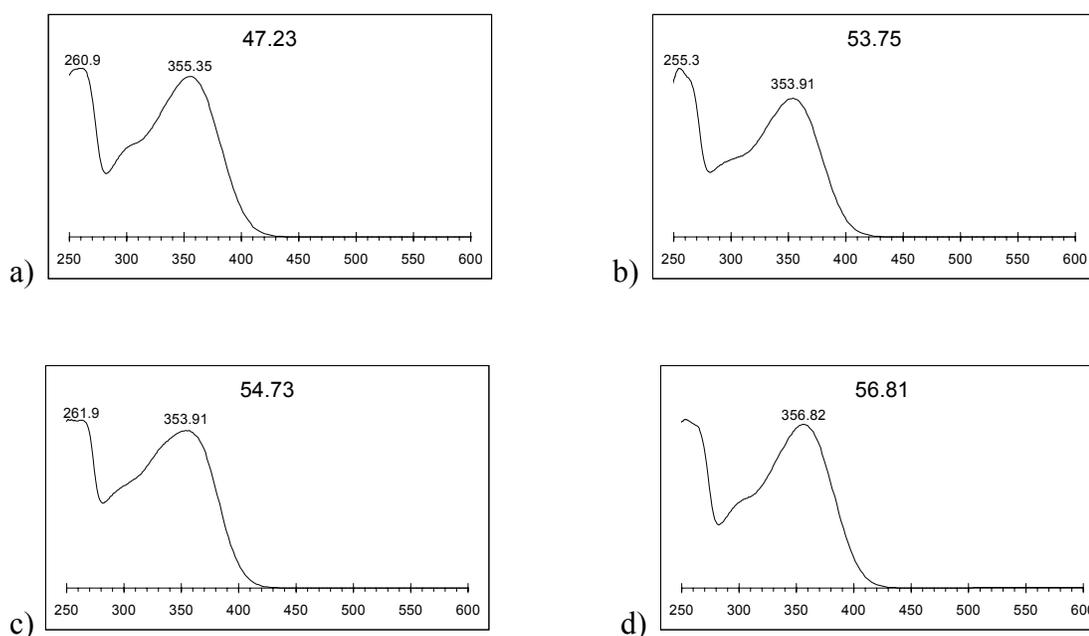


Figura 13. Espectros con sus tiempos de retención (borde superior) y longitud de onda (borde inferior) característicos en el hollejo: a) miricetina-3-*O*-glucósido, b) quercetina-3-*O*-galactósido, c) quercetina-3-*O*-glucósido, d) kaempferol-3-*O*-galactósido.

Evolución de la concentración de compuestos fenólicos de bajo peso molecular en los hollejos.

La Figura 14 muestra un cromatograma tipo de un extracto de hollejo. Los siguientes compuestos fueron identificados en las muestras analizadas en orden a su tiempo de aparición en el cromatograma: (1) (+)-catequina, (2) ácido sirínico, (3) (-)-epicatequina, (4) miricetina-3-*O*-galactósido, (5) miricetina-3-*O*-glucósido, (6) quercetina-3-*O*-galactósido, (7) quercetina-3-*O*-

glucósido, (8) ácido-p-cumárico + kaempferol-3-glucósido, (9) kaempferol-3-*O*-galactósido (10) kaempferol-3-*O*-glucósido, (11) isoramnetina-3-*O*-glucósido, (12) quercetina-3-ramnosido.

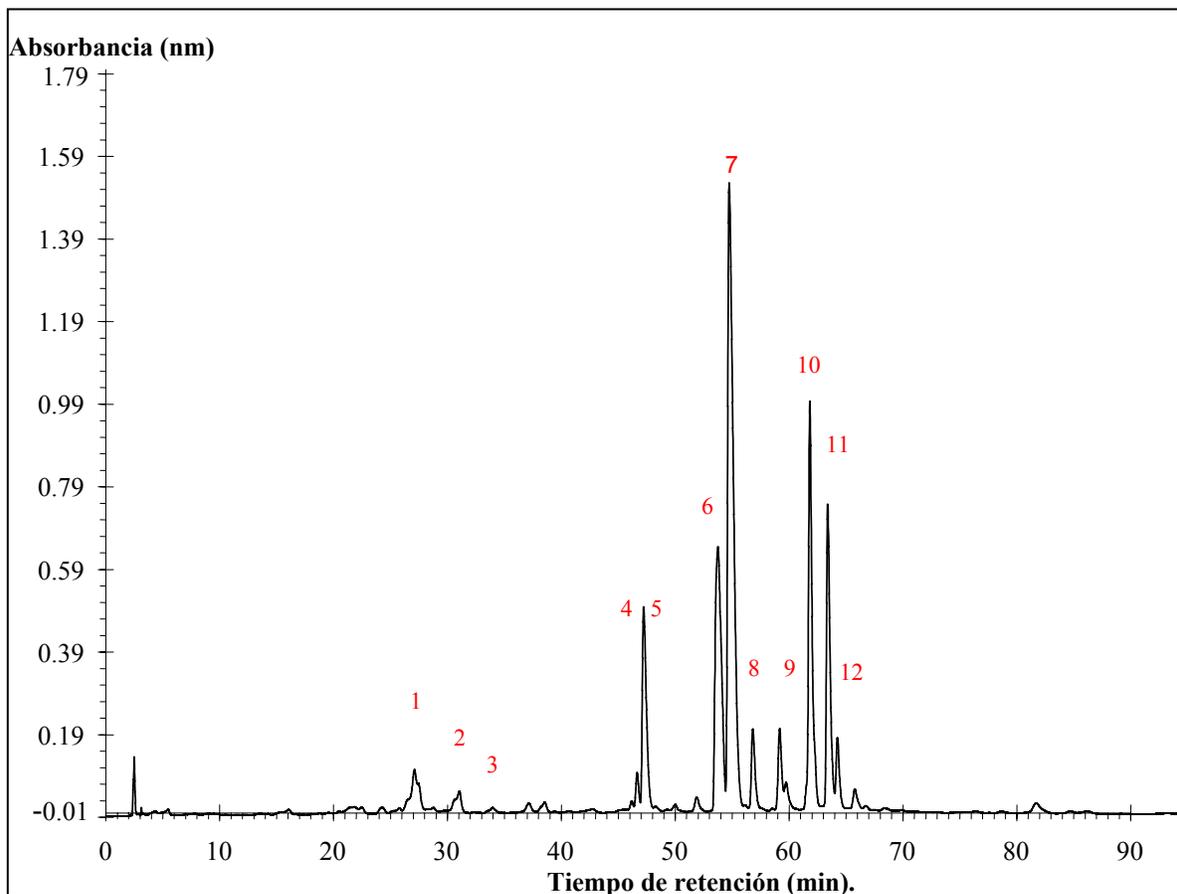


Figura 14. Cromatograma (280nm) de compuestos fenólicos de bajo peso molecular identificados en un extracto de hollejo del cv. Cabernet Franc.

En el Anexo IV se presenta la evolución de estos compuestos durante el período de maduración de la baya para cada una de las variedades a estudiar. Como se puede apreciar los compuestos más importantes en cuanto a su concentración fueron: miricetina-3-*O*-glucósido; quercetina-3-*O*-galactósido; quercetina-3-*O*-glucósido; kaempferol-3-*O*-glucósido; isoramnetina-3-*O*-glucósido, los cuales mostraron diferencias significativas entre las distintas fechas de muestreo en todas las variedades.

Los principales flavanoles identificados en este estudio correspondieron a (+)-catequina y su isómero (-)-epicatequina los cuales presentaron valores inferiores respecto a otros compuestos fenólicos, flavonoles específicamente, ya que se localizan principalmente en las semillas de las bayas.

Para todas las variedades se observó que la concentración de (+)-catequina en los hollejos es mayor que la de (-)-epicatequina durante la maduración de la baya, lo que coincide con estudios realizados por Peña-Neira *et al.* (2004) en el cv. Cabernet Sauvignon (Anexo IV).

En la Figura 15 se observa que la variedad Carménère aumenta su concentración de miricetina-3-*O*-glucósido (flavonol) hasta el tercer muestreo para luego disminuir; el mismo comportamiento fue observado por Sepúlveda (2003), en la variedad Cabernet Sauvignon. Este descenso en la concentración se podría deber a que la miricetina es parte en la ruta de síntesis de compuestos antociánicos como la delfinidina, petunidina y malvidina (Brossaud, 1999).

La evolución antes descrita no se observó para el resto de las variedades en estudio, ya que la concentración de dicho compuesto alcanzó su máximo durante el cuarto muestreo para luego disminuir.

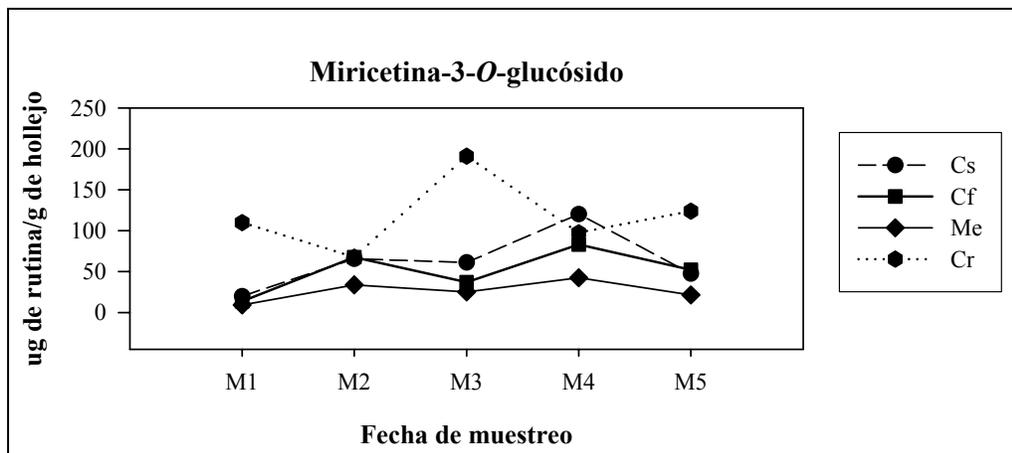


Figura 15. Evolución de la miricetina-3-*O*-glucósido durante la maduración de la baya.

La quercetina es un compuesto presente en los hollejos de las bayas y es una de las responsables del color amarillo en los vinos. Este compuesto, al igual que otros flavonoles tiene un reconocido efecto antioxidante en humanos (Leighton, 2002). Los niveles de quercetina están sobre los de la miricetina, señalando la abundancia relativa de este componente en la uva. El mayor contenido de quercetina se obtuvo en Carménère, seguido por Cabernet Franc, Cabernet Sauvignon y Merlot, encontrándose diferencias significativas entre las fechas de muestreo en las cuatro variedades en estudio.

Como se puede observar en la Figura 16, las concentraciones de quercetina-3-*O*-glucósido para las variedades Cabernet Franc y Cabernet Sauvignon presentaron una curva sigmoidea con altos y bajos a medida que la baya se iba desarrollando. Hasta el segundo muestreo aumentó su concentración para luego disminuir levemente durante el tercer muestreo, a partir del cual volvió a aumentar para luego nuevamente disminuir hasta el quinto muestreo.

Los compuestos analizados en las muestras de las variedades Carménère y Merlot se comportan de forma similar, presentando la máxima concentración de quercetina en el primer muestreo; luego se observa un descenso constante en las concentraciones hasta el último muestreo.

La disminución en la concentración de quercetina durante el período de maduración de la baya se debería a que este compuesto al igual que la miricetina participa en la biosíntesis de compuestos antociánicos, dando origen a la cianidina y peonidina. Además podría existir una degradación de dicho compuesto por oxidación (Brossaud, 1999).

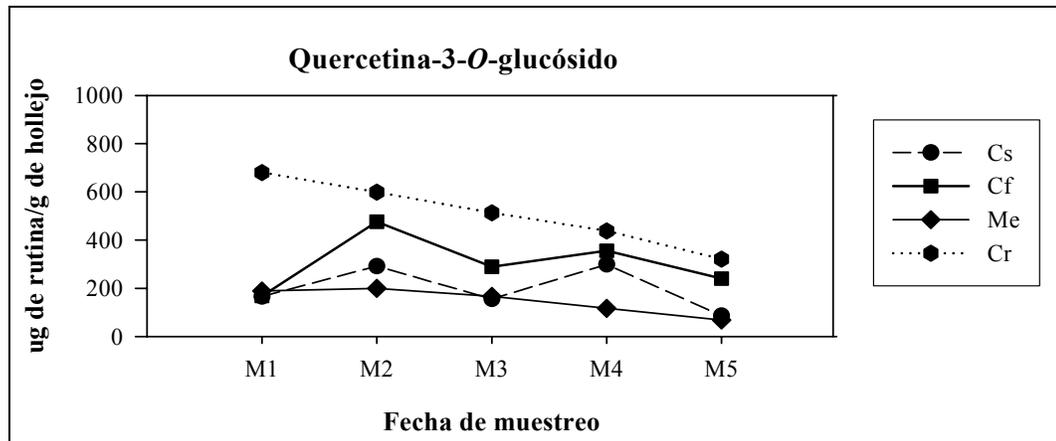


Figura 16. Evolución de la quercetina-3-O-glucósido durante la maduración de la baya.

La Figura 17 muestra la evolución de la quercetina-3-O-galactósido durante la maduración de la baya. Se observó que este compuesto disminuye su concentración desde pinta a cosecha en todas las variedades analizadas. Además se encontraron entre las fechas de muestreo de cada variedad diferencias significativas (Anexo V).

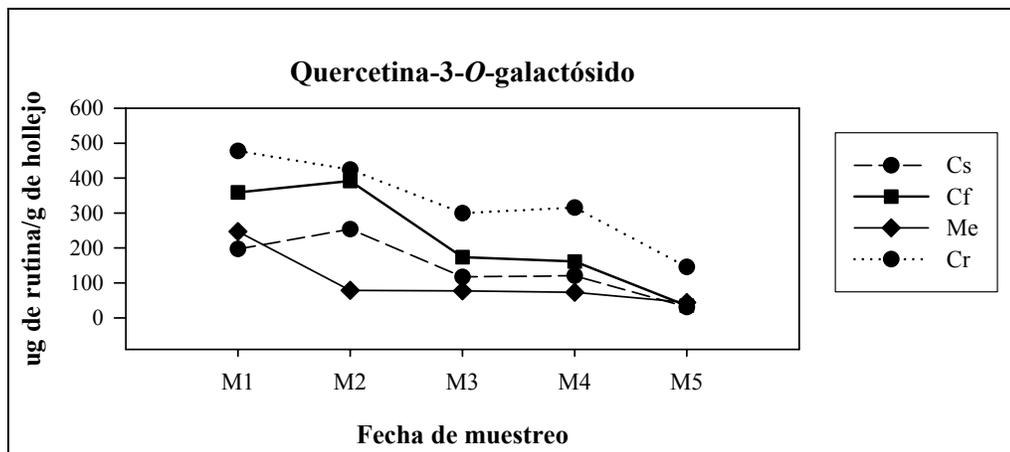


Figura 17. Evolución de la quercetina-3-O-galactósido durante la maduración de la baya.

El kaempferol glucósido presenta una curva similar a la miricetina-3-O-glucósido para la variedad Carménère, con una concentración máxima durante el tercer muestreo para luego disminuir hasta el último muestreo. En esta variedad se puede observar una disminución

considerable de este compuesto, lo que podría indicar que se estarían sintetizando otros flavonoles.

Con respecto al resto de las variedades, tienden a decrecer pero de manera mucho más leve que Carménère; esto se debería a que no presentan la alta eficiencia enzimática que posee dicha variedad.

Para todas las variedades existió diferencia significativa entre las fechas de muestreo (Anexo V).

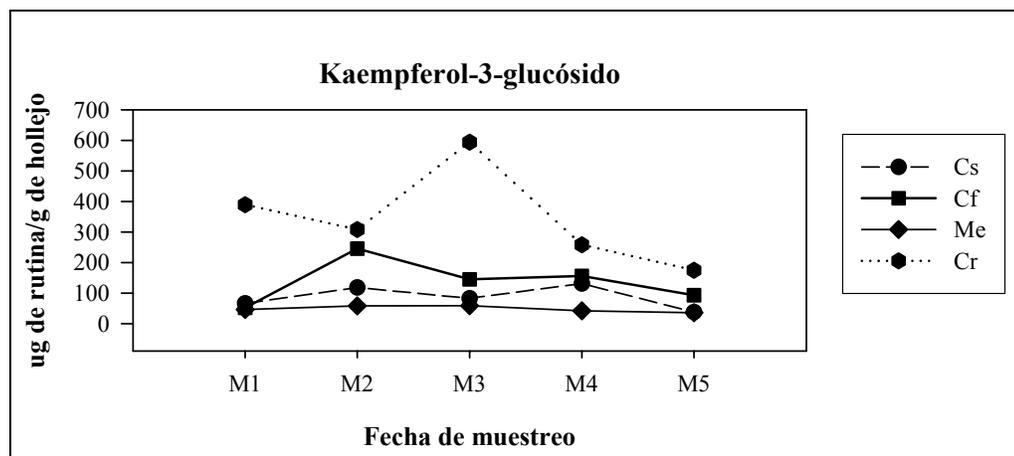


Figura 18. Evolución del kaempferol-3-*O*-glucósido durante la maduración de la baya.

Análisis individualizado de compuestos antociánicos

El análisis individualizado se realizó mediante cromatografía líquida de alta eficacia acoplada a un detector de fotodiodos alineados (HPLC-DAD). Los compuestos antociánicos al igual que los compuestos fenólicos fueron identificados por medio de su espectro UV y por su tiempo de retención. En la Figura 19 se presentan los espectros UV de las principales antocianinas encontradas en las cuatro variedades en estudio.

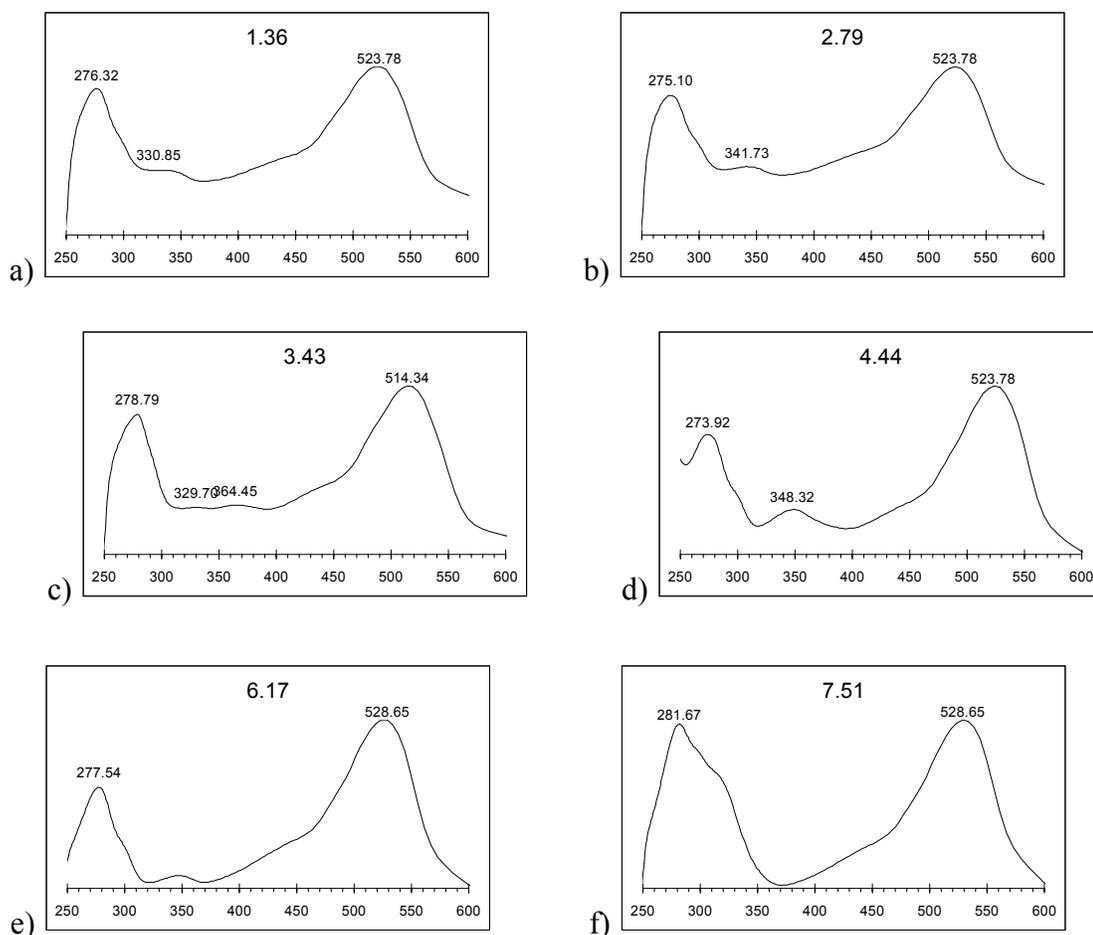


Figura 19. Espectros con sus tiempos de retención (borde superior) y longitud de onda (borde inferior) característicos en el hollejo: a) delfinidina-3-glucósido, b) petunidina-3-glucósido, c) peonidina-3-glucósido, d) malvidina-3-glucósido, e) malvidina-3-acetilglucósido, f) malvidina-3-*p*-cumarilglucósido.

Evolución de la concentración de compuestos antociánicos en los hollejos.

La Figura 20 muestra un cromatograma tipo de un extracto de hollejo del cv. Cabernet Franc. Los siguientes compuestos fueron identificados en las muestras analizadas en orden a su tiempo de aparición en el cromatograma: (1) delfinidina-3-glucósido, (2) cianidina-3-glucósido, (3) petunidina-3-glucósido, (4) peonidina-3-glucósido, (5) malvidina-3-glucósido, (6) delfinidina-3-acetilglucósido, (7) petunidina-3-acetilglucósido, (8) peonidina-3-acetilglucósido, (9) malvidina-3-acetilglucósido, (10) delfinidina-3-*p*-cumarilglucósido, (11) peonidina-3-*p*-cumarilglucósido, (12) malvidina-3-*p*-cumarilglucósido.

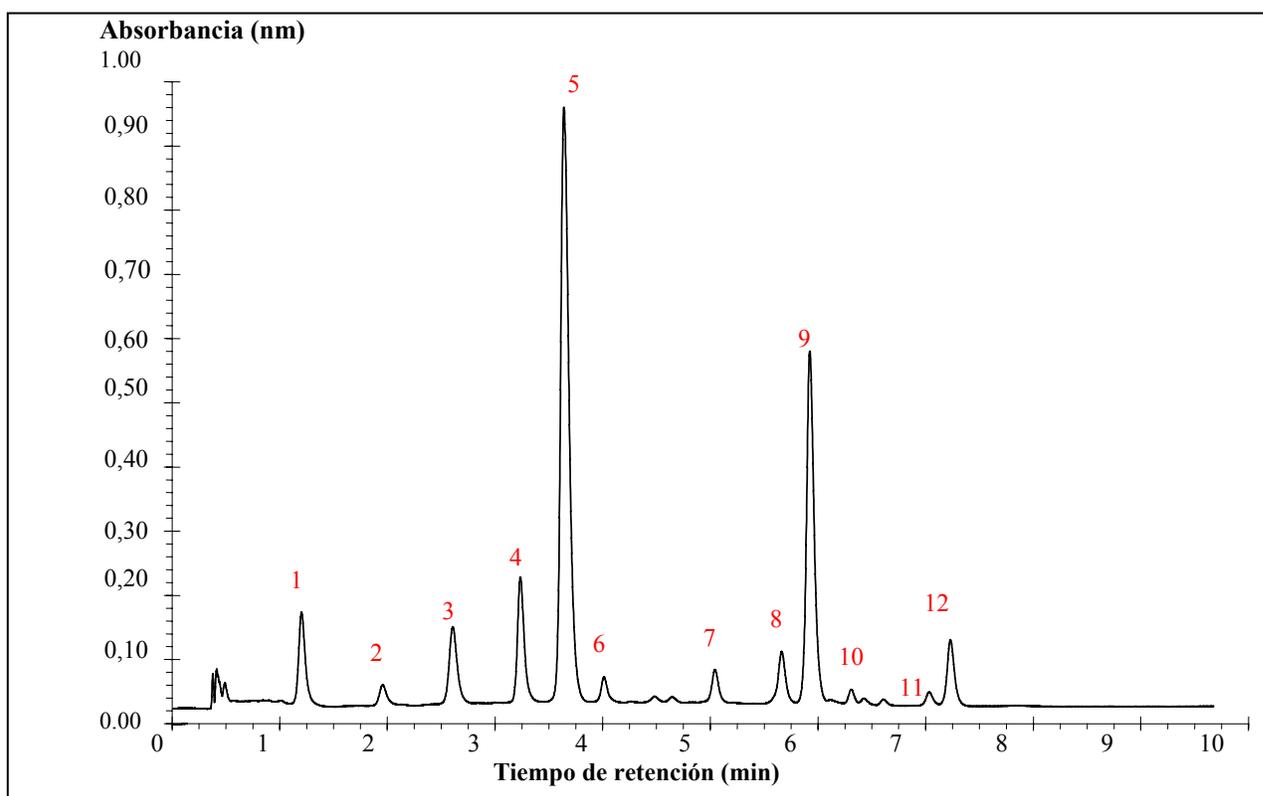


Figura 20. Cromatograma (520nm) de compuestos antociánicos identificados en un extracto de hollejo del cv. Cabernet Franc.

En el Anexo VI se presentan las concentraciones de estos compuestos y la evolución de los mismos durante el período de maduración de la baya para cada una de las variedades

estudiadas. Como se puede apreciar los compuestos más importantes en cuanto a su concentración fueron: malvidina-3-glucósido, malvidina-3-acetilglucósido, malvidina-3-*p*-cumarilglucósido, peonidina-3-glucósido y petunidina-3-glucósido.

En todas las variedades en estudio se reconocieron las cinco antocianinas monoglucosiladas derivadas de las antocianidinas (delfinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina) que generalmente se encuentran en la vid. Además se encontraron los derivados de las antocianinas unidas a ácidos orgánicos tales como el acético (3-acetilglucósidos) y ácidos cinámicos tales como el *p*-cumárico (3-*p*-cumarilglucósido) encontrándose en mayor concentración las formas monoglucosiladas, específicamente la malvidina-3-glucósido (Anexo VI).

Como se observa en la Figura 21, el contenido y la composición de antocianos en la uva varían enormemente en función de la variedad. La variedad Carménère presenta las mayores concentraciones de malvidina-3-glucósido, alcanzando su máximo durante el cuarto muestreo para luego disminuir, al igual que la variedad Cabernet Sauvignon.

Los cultivares Cabernet Franc y Merlot presentan concentraciones inferiores con respecto a las variedades ya descritas, obteniéndose en el tercer muestreo las mayores concentraciones.

Entre las fechas de muestreo se observaron diferencias significativas para todas las variedades en estudio, con excepción de la variedad Cabernet Franc (Anexo VII).

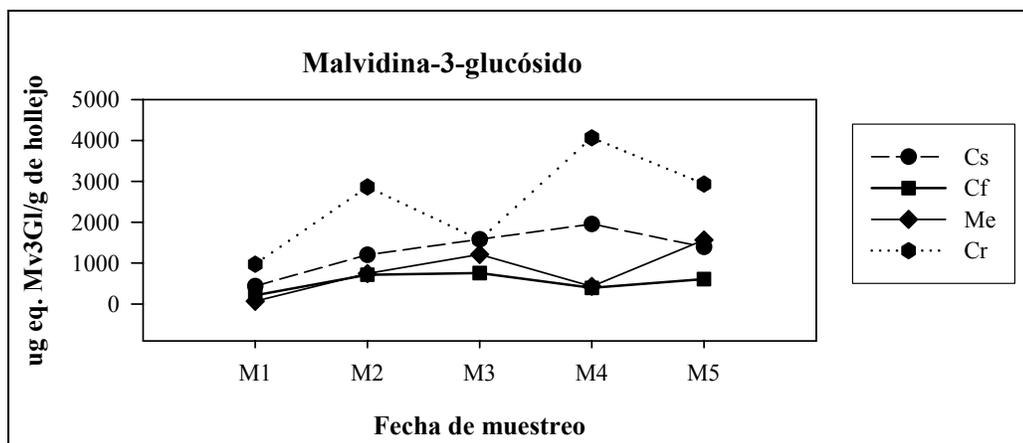


Figura 21. Evolución de la malvidina-3-glucósido durante la maduración de la baya.

En la Figura 22 se observa la evolución de la malvidina-3-acetilglucósido durante la maduración de la baya, presentando un aumento constante de su concentración desde pinta a cosecha en todas las variedades. El mayor contenido de este compuesto se obtuvo en las muestras del cv. Carménère, seguido por las del cv. Cabernet Sauvignon, Cabernet Franc y Merlot, encontrándose diferencias significativas entre las fechas de muestreo en las cuatro variedades en estudio.

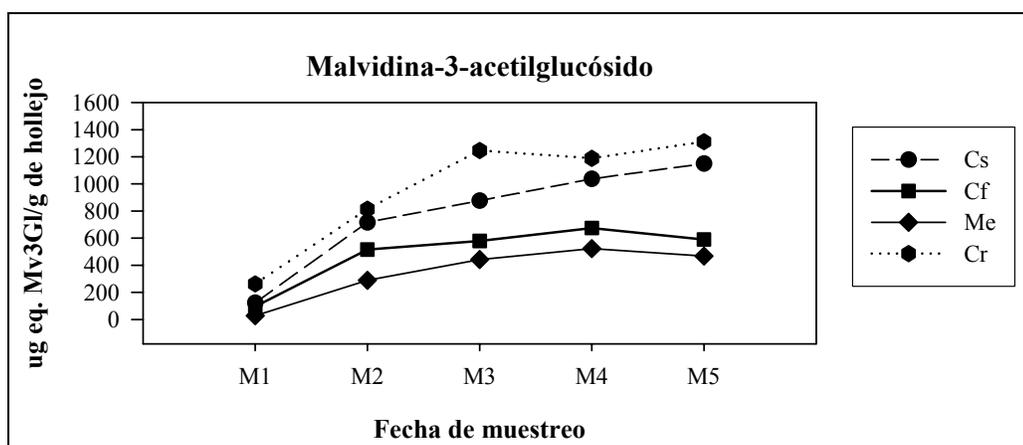


Figura 22. Evolución de la malvidina-3-acetilglucósido durante la maduración de la baya.

En la Figura 23 se puede observar que la malvidina-3-*p*-cumarilglucósido en la variedad Carménère presenta un aumento constante de su concentración hasta el tercer muestreo, disminuyendo en el cuarto (cosecha), para finalmente incrementarse en el quinto muestreo. Merlot sigue la misma tendencia pero con concentraciones menores a las presentadas por Carménère.

Cabernet Sauvignon y Cabernet Franc se comportan de manera similar ya que ambas aumentan sus concentraciones desde pinta hasta cosecha, para luego disminuir en el quinto muestreo correspondiente a quince días después de cosecha.

Se encontraron diferencias significativas entre las fechas de muestreo en las cuatro variedades estudiadas, como se pueden observar en el Anexo VII.

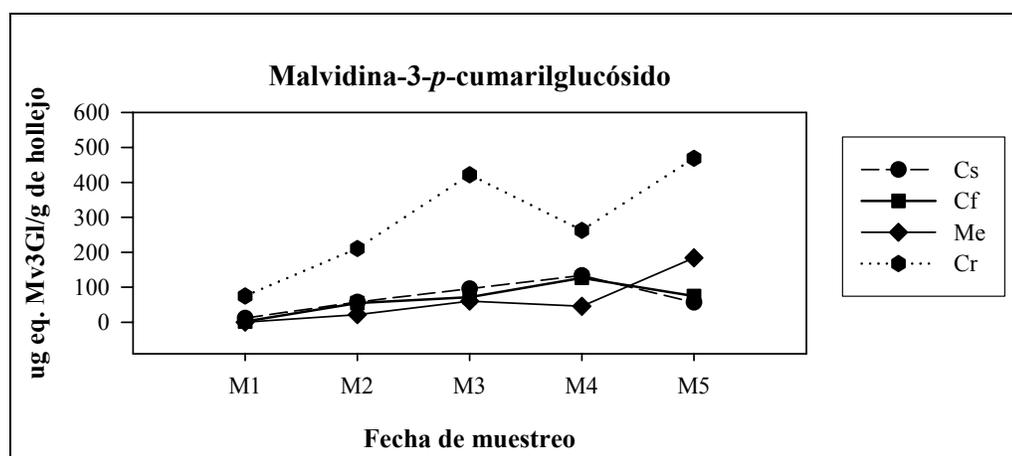


Figura 23. Evolución de la malvidina-3-*p*-cumarilglucósido durante la maduración de la baya.

Otros compuestos que predominan en los hollejos son la petunidina-3-glucósido y peonidina-3-glucósido que se observan en las Figuras 24 y 25 respectivamente. En ellas se muestran la evolución de estos compuestos durante la maduración de la baya. La petunidina-3-glucósido obtiene mayores concentraciones que la peonidina-3-glucósido en todas las variedades.

Carménère obtiene las máximas concentraciones para ambos compuestos, pero sus comportamientos difieren ya que la petunidina disminuye su concentración hasta el cuarto muestreo (cosecha) para luego aumentar significativamente. En cambio la peonidina tiende a aumentar constantemente hasta el tercer muestreo para luego mantenerse.

Las variedades Merlot y Cabernet Sauvignon se comportan en forma muy similar para ambos compuestos. La primera aumenta hasta el tercer muestreo para luego disminuir sus concentraciones y la segunda aumenta paulatinamente sus concentraciones.

Cabernet Franc aumenta su concentración de petunidina-3-glucósido hasta el segundo muestreo y luego disminuye para nuevamente aumentar levemente su concentración en el último muestreo. En el caso de la peonidina-3-glucósido alcanza una máxima concentración durante el segundo y cuarto muestreo, para luego disminuir.

Estadísticamente ambos compuestos presentan diferencias significativas entre las fechas de muestreo en las cuatro variedades en estudio (Anexo VII).

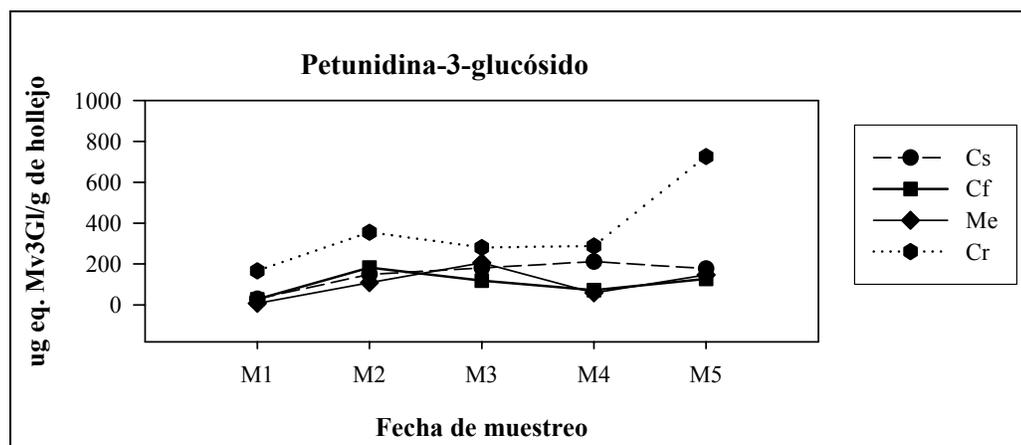


Figura 24. Evolución de la Petunidina-3-glucósido durante la maduración de la baya.

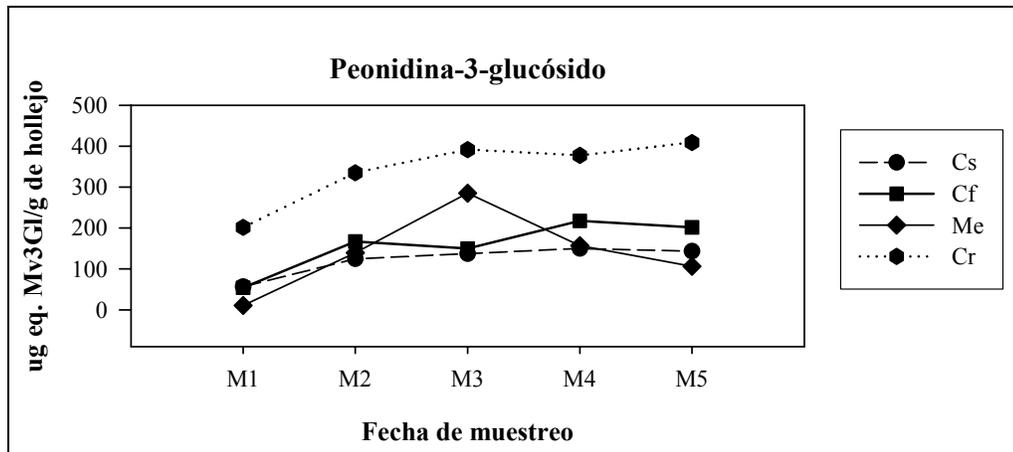


Figura 25. Evolución de la Peonidina-3-glucósido durante la maduración de la baya.

CONCLUSIONES

Durante el período de maduración se observó una evolución en los parámetros físicos y químicos de las bayas en las cuatro variedades en estudio. El contenido de sólidos solubles, peso de los hollejos, peso de las bayas y el pH aumentaron su valor, mientras que la acidez disminuyó.

Adicionalmente a lo anterior, se pudo constatar diferencias significativas entre las fechas de muestreo de los parámetros físicos y químicos de las bayas en todas las variedades, con excepción de Carménère y Merlot que no presentaron diferencias significativas para el peso de 100 bayas.

Se pudo observar que la concentración y relación composicional de los polifenoles en las bayas está fuertemente influenciada por la variedad, esto quedaría de manifiesto en el caso de las variedades Cabernet Sauvignon y Cabernet Franc, que a pesar de tener rendimientos similares, obtuvieron valores distintos en las concentraciones de polifenoles. Esto se podría deber al potencial productivo y a la eficiencia del aparato enzimático y su nivel de actividad, los cuales son determinados por el medio en que se desarrolla la vid y principalmente por el potencial genético de la variedad. Es por ello que se observaron diferencias entre las cuatro variedades en estudio, siendo Carménère la que presentaría la mayor concentración.

A través de los análisis de cromatografía líquida se pudieron observar diferencias en la composición y concentración de compuestos fenólicos de bajo peso molecular y antociánicos en los hollejos para cada variedad durante todo el período de maduración de la baya, pudiendo obtenerse un perfil propio para cada variedad en el cual se observan los compuestos predominantes y sus respectivas concentraciones.

Además, se puede concluir que la evolución de los compuesto fenólicos durante el proceso de maduración es independiente para cada compuesto, aunque pertenezcan a la misma familia o grupo (flavonoles o antocianos).

LITERATURA CITADA

ASOCIACION DE VIÑAS DE CHILE A.G. 2003. Informe General Vendimia 2003. [en línea] disponible en: >http://www.vinasdechile.cl/cast/pdf/informe_vendimia_2003.pdf> (consulta: 23 Junio 2004).

ÁVILA, D. 2002. Efecto del manejo del riego sobre la composición de la baya y la calidad del vino variedad Syrah. Memoria Ing. Agr. Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. Santiago, Chile. 61 p.

BORDEU, E. y SCARPA, J. 2000. Análisis químico del vino, Ed. U. Católica de Chile, 253 p.

BOSS, P K.; DAVIES, C.; ROBINSON, S. 1996. Analysis of the expression of anthocyanins pathway genes in developing *Vitis vinifera* L. cv. Shiraz grape berries and the implications for pathway regulation. *Plant Physiology*. 111: 1059-1066.

BLOUIN, J. y GUIMBERTEAU, G. 2004. Maduración y madurez de la uva. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. 151 p.

BROSSAUD, F. 1999. Composition en flavonoides des baies et des vins de *Vitis vinifera* L. var. Cabernet Franc. Thèse de Doctorat ENSA de Rennes. L'Ecole nationale supérieure agronomique de Rennes. France. 231 p.

BURNS J.; MULLEN, W.; LANDRAULT, N.; TEISSEDRE, P-L., LEAN, M. and 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 (14): 4096-4102.

COOMBE B.G. y McCARTHY, M.G. 2000. Dynamics of grape berry growth and physiology of ripening. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 6, 131-135.

CONTRERAS, E. 2001. Efecto del raleo sobre la composición química, física y sensorial de bayas y vinos del cv. Cabernet Sauvignon en el valle del Cachapoal. Memoria Ing. Agr. Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. Santiago, Chile. 92 p.

DUARTE, A. 2001. Efecto del vigor y grado de madurez de las bayas sobre la fracción polifenólica del cv. Cabernet Sauvignon del Valle del Maipo. Memoria Ing. Agr. Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. Santiago, Chile. 67 p.

FLANZY, C. 2000. *Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos*. AMV. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. 783 p.

FREGONI, M. 1999. Maduración de la uva- Desarrollo y metabolismo de la baya, evolución de los componentes: polímeros y aromas. Seminario Internacional “Hacia la Enología del siglo XXI”. Mendoza-Argentina. p. 31 – 49.

GARCÍA-BARCELÓ. J. 1990 “Técnicas analíticas para vinos”. Ediciones FAB. Barcelona, España. 1713 p.

GLORIES, Y. 1978. *Recherches sur la matière colorantes des vins rouges*. Thèse doctorat d'état, Université de Bordeaux II. 364 p.

HASELGROVE, L.; BOTTING, D.; VAN HEESWIJCK, R.; HOJ, P.; DRY, P.; FORD, C. and ILAND, P. 2000. Canopy microclimate and berry composition: The effect of bunch exposure on the phenolic composition of *Vitis vinifera* L. cv Shiraz grape berries. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. (6): 141-149.

HERNÁNDEZ, A. 2000. Introducción al Vino de Chile. Segunda Edición. Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. 101 p.

LISONI, N. 2001. Efecto del vigor y del grado de madurez de las bayas sobre la fracción polifenólica de los hollejos en el cv. Cabernet Sauvignon (L.). Memoria Ing. Agr. Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. Santiago. p. 57.

LEIGHTON, F. 2002. Proyecto ciencia, vino y salud. [en línea] disponible en:>http://www.bioplanet.net/magazine/bio_mayjun_2002/bio_2002_mayjun_desarrollo1.htm> (consulta:12 Noviembre 2002).

McDONALD, M.S.; HUGHES, M.; BURNS, J.; LEAN, M.; MATTHEWS, D. and CROZIER, A. 1998. Survey of the free and conjugates myricetin and quercetin content of red wine of different geographical origins. J. Agric. Food Chem. 46: 368-375.

MARQUETTE, B. 1999. La madurez fenólica. Seminario Internacional de Microbiología y Polifenoles del vino. U. de Chile, Depto. de Agroindustria y Enología. Santiago, Chile. p. 25-29.

MARTINEZ DE TODA, F. 1991. Biología de la vid. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. 346 p.

MIRABEL, M.; SAUCIER, C.; GUERRA and GLORIES. 1999. Copigmentation in model wine solution: occurrence and relation to wine aging. Am. J. Enol. Vitic. 50 (2): 211-218.

PEÑA, A. 1998. "Contribución al conocimiento del origen de problemas sensoriales en vinos. Su relación con la composición fenólica y la presencia de compuestos organoclorados". Tesis Dr. Ing. Agr. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España. 345 p.

PEÑA, A. 1999a. Los componentes del color de los vinos tintos. pp 49-65 IN: Seminario Internacional de Microbiología y Polifenoles del vino. U. de Chile, Depto. de Agroindustria y Enología. Santiago, Chile. 125 p.

PEÑA, A. 1999b. Polifenoles del vino. pp 1-14 IN: Seminario Internacional de Microbiología y Polifenoles del vino. U. de Chile, Depto. de Agroindustria y Enología. Santiago, Chile. 125 p.

PEÑA, A., DUEÑAS, M., DUARTE, A., HERNANDEZ, T., ESTRELLA, I. and LOYOLA, E. 2004. Effects of ripening stages and of plant vegetative vigor on the phenolic composition of grapes (*Vitis vinifera* L.) cv. Cabernet Sauvignon in the Maipo Valley (Chile). *Vitis* 43 (2): 51-57.

PSZCZÓLKOWSKI, P. 2003. Informe Técnico. Calidad del vino, madurez de cosecha. *Vendimia*. 5 (29): 14-17.

REYNIER, A. 2002. Manual de Viticultura. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. 407 p.

ROBINSON, S. and DAVIES, C. 2000. Molecular biology of grape berry ripening. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 6 (2): 175-187.

SEPÚLVEDA, C. 2003. Caracterización de la composición fenólica de las bayas del cv. Cabernet Sauvignon provenientes de dos zonas en los valles del Maipo y Cachapoal. Memoria Ing. Agr. Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. Santiago. 80 p.

SHULTZ, M. 2002. Evaluación de las características de uvas y vinos de las variedades Cabernet Franc y Syrah para la zona de Alto Jahuel. Memoria Ing. Agr. Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. Santiago. 68 p.

TAIZ, L. and ZEIGER, E. 1991. Plant physiology. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. (California). 565 p.

TESIC, D., WOOLLEY, D., HEWETT, E. and MARTIN, D. 2001. Environmental effects on cv. Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.) grown in Hawke, New Zealand. 1. Phenology and characterisation of viticultural environment. Australian Journal of Grape and wine Research, 8:15-16.

VENENCIE, C.; UVEIRA, M. et GUISET, S. 1997. Maturité poliphénolique du raisin mûre en place d'une méthode d'analyse de routine. Revue française d'œnologie, (167): 36-41.

ZAMORA, F. 2003. Elaboración y crianza del vino tinto: Aspectos científicos y prácticos. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. 224 p.

ZOECKLEIN, B.; FUGELSANG, K.; GUM, B. y NURY, F. 2001. Análisis y producción de vino. Editorial Acribia. S.A. Zaragoza, España. 613 p.

APÉNDICE

Anexo I

Cuadro 3. Análisis estadístico de varianza, desviación estándar (D.E.) y la prueba de rango múltiple de Duncan para los distintos tipos de análisis básicos, en las distintas fechas de muestreo en Cabernet Sauvignon.

Análisis Básicos	Cosecha									
	M1	D.E.	M2	D.E.	M3	D.E.	M4	D.E.	M5	D.E.
Peso promedio de 100 bayas en g.	74,23c	4,37	79,86c	3,99	107,83a	2,61	102,51a	6,94	92,21b	1,52
Peso promedio de hollejos de 100 bayas en g.	17,41bc	2,69	15,75c	2,6	18,23bc	1,93	20,71ab	1,64	23,01a	2,37
Sólidos Solubles (°Brix)	13,53b	0,66	15,03b	0,15	24,73a	1,1	23a	1,73	23,26a	1,1
Acidez titulable g/L H2SO4	10,90a	1,6	4,33b	0,3	3,06bc	0,23	1,23d	0,11	2,76c	0,4
pH	2,96e	0,05	3,28d	0,03	3,73b	0,02	3,89a	0,05	3,64c	0,06

Promedios para las distintas fechas de muestreo, seguidos de letras iguales en las filas, no difieren significativamente ($p < 0.05$).

Cuadro 4. Análisis estadístico de varianza, desviación estándar (D.E.) y la prueba de rango múltiple de Duncan para los distintos tipos de análisis básicos, en las distintas fechas de muestreo en Cabernet Franc.

Análisis Básicos	Cosecha									
	M1	D.E.	M2	D.E.	M3	D.E.	M4	D.E.	M5	D.E.
Peso promedio de 100 bayas en g.	100,3b	1,36	118a	4,74	122a	1,93	125a	2,2	92,03b	12,77
Peso promedio de hollejos de 100 bayas en g.	17,82b	1,32	17,34b	2,51	17,55b	1,19	28,37a	2,85	24,89a	2,6
Sólidos Solubles (°Brix)	12,9e	1,08	16,16d	0,15	21,26c	0,25	23,03b	0,66	25,63a	0,65
Acidez titulable g/L H2SO4	10,28a	0,78	5,22b	0,57	2,21c	0,2	1,5c	0,34	1,66c	0,25
pH	3,07d	0,07	3,33c	0,23	3,82b	0,05	4,13a	0,06	4,29a	0,17

Promedios para las distintas fechas de muestreo, seguidos de letras iguales en las filas, no difieren significativamente ($p < 0.05$).

Cuadro 5. Análisis estadístico de varianza, desviación estándar (D.E.) y la prueba de rango múltiple de Duncan para los distintos tipos de análisis básicos, en las distintas fechas de muestreo en Merlot.

Análisis Básicos	Cosecha									
	M1	D.E.	M2	D.E.	M3	D.E.	M4	D.E.	M5	D.E.
Peso promedio de 100 bayas en g.	109,41a	18,16	123,63a	1,7	132,19a	2,87	139,85a	3,26	110,93a	36,79
Peso promedio de hollejos de 100 bayas en g.	15,87d	1,07	20,94c	1,73	21,95bc	0,36	27,22a	1,34	24,02b	1,39
Sólidos Solubles (°Brix)	16,73c	1,43	16,56c	0,55	27,93a	1,61	23,86b	0,57	24,53b	0,7
Acidez titulable g/L										
H2SO4	9,96a	0,76	5,35b	0,39	2,40d	0,16	2,28d	0,19	3,91c	0,09
pH	3,16c	0,09	3,36b	0,03	3,90a	0,03	3,79a	0,06	2,03d	0,08

Promedios para las distintas fechas de muestreo, seguidos de letras iguales en las filas, no difieren significativamente ($p < 0.05$).

Cuadro 6. Análisis estadístico de varianza, desviación estándar (D.E.) y la prueba de rango múltiple de Duncan para los distintos tipos de análisis básicos, en las distintas fechas de muestreo en Carménère.

Análisis Básicos	Cosecha									
	M1	D.E.	M2	D.E.	M3	D.E.	M4	D.E.	M5	D.E.
Peso promedio de 100 bayas en g.	112,85a	2,81	112,49a	11,67	113,44a	3,83	112,97a	2,64	102,83a	10,43
Peso promedio de hollejos de 100 bayas en g.	13,84b	3,48	11,87b	1,3	19a	1,1	11,4b	0,89	13,24b	1,42
Sólidos Solubles (°Brix)	16,53d	0,64	18c	0,72	18,9c	0,36	21,46b	0,75	22,83a	0,35
Acidez titulable g/L										
H2SO4	5,29a	0,35	2,77b	0,31	2,80b	0,15	2,48b	0,05	2,84b	0,35
pH	3,28d	0,04	3,95c	0,04	2,80b	0,03	4,16a	0,04	4,08b	0,03

Promedios para las distintas fechas de muestreo, seguidos de letras iguales en las filas, no difieren significativamente ($p < 0.05$).

Anexo II

Cuadro 7. Análisis estadístico de varianza, desviación estándar (D.E.) y la prueba de rango múltiple de Duncan para los distintos tipos de análisis de compuestos fenólicos, en las distintas fechas de muestreo en Cabernet Sauvignon.

Análisis fenólicos	Cosecha									
	M1	D.E.	M2	D.E.	M3	D.E.	M4	D.E.	M5	D.E.
Fenoles totales en hollejos mg de ac. gálico/g de hollejo	4,35b	0,32	4,59b	0,21	6,03a	1,14	4,78b	0,34	3,18c	0,37
Intensidad colorante 420+520+620 nm.	1,91d	0,42	3,52c	0,75	7,87a	1,27	5,42b	0,84	4,69bc	0,45
Antocianos totales mg de malvidina/g de hollejo	1,45c	0,08	2,5bc	0,08	6,26a	1,14	3,06b	0,56	3,22b	0,25
Matiz	0,49a	0,05	0,44a	0,05	0,42a	0	0,41a	0,01	0,29b	0,07

Promedios para las distintas fechas de muestreos, seguidos de letras iguales en las filas no difieren significativamente ($p < 0.05$).

Cuadro 8. Análisis estadístico de varianza, desviación estándar (D.E.) y la prueba de rango múltiple de Duncan para los distintos tipos de análisis de compuestos fenólicos, en las distintas fechas de muestreo en Cabernet Franc.

Análisis fenólicos	Cosecha									
	M1	D.E.	M2	D.E.	M3	D.E.	M4	D.E.	M5	D.E.
Fenoles totales en hollejos mg de ac. gálico/g de hollejo	2,39c	0,2	3,81a	0,35	3,26b	0,3	2,53c	0,31	3,80a	0,21
Intensidad colorante 420+520+620 nm.	0,61d	0,05	2,96c	0,32	2,39c	0,44	5,76b	0,57	4,04a	0,53
Antocianos totales mg de malvidina/g de hollejo	0,5c	0,04	2,15b	0,14	1,92b	0,36	1,86b	0,35	2,71a	0,29
Matiz	0,41a	0,31	0,32a	0,08	0,46a	0	0,45a	0,01	0,44a	0

Promedios para las distintas fechas de muestreos, seguidos de letras iguales en las filas no difieren significativamente ($p < 0.05$).

Cuadro 9. Análisis estadístico de varianza, desviación estándar (D.E.) y la prueba de rango múltiple de Duncan para los distintos tipos de análisis de compuestos fenólicos, en las distintas fechas de muestreo en Merlot.

Análisis fenólicos	Cosecha									
	M1	D.E.	M2	D.E.	M3	D.E.	M4	D.E.	M5	D.E.
Fenoles totales en hollejos mg de ac. gálico/g de hollejo	3,96a	0,24	2,49cd	0,23	2,63c	0,15	1,98d	0,47	3,38b	0,15
Intensidad colorante 420+520+620 nm.	1,76c	0,28	1,69c	0,5	2,78b	0,18	5,50a	0,29	2,32bc	0,46
Antocianos totales mg de malvidina/g de hollejo	2,04a	0,07	1,58b	0,31	1,84ab	0,2	2,23a	0,23	1,55b	0,15
Matiz	0,44a	0,03	0,34b	0,1	0,47a	0,01	0,42ab	0,01	0,46a	0,01

Promedios para las distintas fechas de muestreos, seguidos de letras iguales en las filas no difieren significativamente ($p < 0.05$).

Cuadro 10. Análisis estadístico de varianza, desviación estándar (D.E.) y la prueba de rango múltiple de Duncan para los distintos tipos de análisis de compuestos fenólicos, en las distintas fechas de muestreo en Carménère.

Análisis fenólicos	Cosecha									
	M1	D.E.	M2	D.E.	M3	D.E.	M4	D.E.	M5	D.E.
Fenoles totales en hollejos mg de ac. gálico/g de hollejo	6,65ab	1,88	5,52b	0,25	5,96b	0,07	7,27ab	0,2	7,95a	0,83
Intensidad colorante 420+520+620 nm.	5,97b	1,15	4,58b	0,7	10,01a	0,9	4,63b	0,25	8,83a	1,75
Antocianos totales mg de malvidina/g de hollejo	5,79b	2,05	5,6b	0,24	5,17b	0,21	4,77b	0,39	8,40a	0,51
Matiz	1,52d	0,03	0,42bc	0,02	0,39c	0	0,51a	0,01	0,42bc	0

Promedios para las distintas fechas de muestreos, seguidos de letras iguales en las filas no difieren significativamente ($p < 0.05$).

Anexo III

Cuadro 11. Evolución de la Intensidad colorante a 420nm, 520nm, 620nm de las cuatro variedades estudiadas durante la maduración de la baya.

Muestreo	Cabernet Sauvignon			Cabernet Franc			Merlot			Carménère		
	420	520 (nm)	620	420	520 (nm)	620	420	520 (nm)	620	420	520 (nm)	620
1	0,05	0,12	0,01	0,01	0,04	0,005	0,05	0,11	0,01	0,16	0,38	0,05
2	0,09	0,22	0,02	0,06	0,2	0,02	0,03	0,11	0,01	0,12	0,29	0,03
3	0,21	0,49	0,07	0,06	0,15	0,01	0,08	0,17	0,02	0,25	0,06	0,09
4	0,14	0,34	0,05	0,11	0,25	0,03	0,15	0,35	0,04	0,14	0,27	0,04
5	0,09	0,33	0,04	0,16	0,36	0,05	0,06	0,14	0,01	0,23	0,56	0,086

Anexo IV

Cuadro 12. Evolución de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular de los hollejos medidos por HPLC-DAD de la variedad Cabernet Sauvignon, *ug/g* de hollejo.

Compuesto	Cuantificación	Muestreo 1	Muestreo 2	Muestreo 3	Muestreo 4	Muestreo 5
ácido gálico	ac gálico	0,03	0,84	N.D.	0,61	0,71
(+) catequina	catequina	0,81	3,6	22,95	2,36	2,53
ácido siríngico	ac siríngico	0,23	0,59	1,01	1,19	0,53
epicatequina	epicatequina	0,71	0,81	3,45	0,64	0,95
m-3-0-galactósido	rutina	2,27	3,81	0,54	8,44	4,01
m-3-0-glucósido	rutina	19,85	65,54	60,99	120,17	47,48
epicatequina galato	epicatequina	1,15	0,89	2,81	0,74	0,18
i-3-0-galactósido	rutina	1,01	1,17	N.D.	27,06	2,49
q-3-0-galactósido	rutina	197,01	253,66	117,37	120,32	30,72
q-3-0-glucósido	rutina	165,6	291,48	155,75	298,98	85,96
k.galactósido	rutina	21,65	35,15	60,27	222,93	7,13
ácido p-cumárico	ac p-cumárico	0,4	1,61	2,74	3,76	1,58
k.-3-glucósido	rutina	65,9	117,93	82,23	130,75	36,92
i-3-0-glucósido	rutina	16,88	54,23	46,38	61,69	27,56

N.D.: Compuesto no detectado.

Cuadro 13. Evolución de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular de los hollejos medidos por HPLC-DAD de la variedad Cabernet Franc, *ug/g* de hollejo.

Compuesto	Cuantificación	Muestreo 1	Muestreo 2	Muestreo 3	Muestreo 4	Muestreo 5
ácido gálico	ac gálico	N.D.	0,35	N.D.	0,22	0,24
(+) catequina	catequina	1,56	0,32	3,36	0,83	2,63
ácido siríngico	ac siríngico	0,22	0,15	0,81	0,48	0,21
epicatequina	epicatequina	0,35	0,61	0,45	0,3	0,82
m-3-0-galactósido	rutina	4,14	12,05	3,54	8,72	5,21
m-3-0-glucósido	rutina	13,59	67,7	36,94	83,03	52,29
epicatequina galato	epicatequina	0,24	0,19	0,1	0,25	0,48
i-3-0-galactósido	rutina	1,4	3,78	0,56	7,97	5,8
q-3-0-galactósido	rutina	359,03	391,62	173,68	161,26	35,3
q-3-0-glucósido	rutina	168,45	475,52	289,09	355,29	239,91
k.galactósido	rutina	25,66	64,43	24,15	23,52	18,23
ácido p-cumárico	ac p-cumárico	0,1	0,97	1,59	2,64	1,89
k.-3-glucósido	rutina	51,53	245,46	144,48	155,95	92,7
i-3-0-glucósido	rutina	20,55	110,76	72,49	105,83	78,65

N.D.: Compuesto no detectado.

Cuadro 14. Evolución de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular de los hollejos medidos por HPLC-DAD de la variedad Merlot, *ug/g* de hollejo.

Compuesto	Cuantificación	Muestreo 1	Muestreo 2	Muestreo 3	Muestreo 4	Muestreo 5
ácido gálico	ac gálico	N.D.	N.D.	0,08	0,08	0,21
(+) catequina	catequina	N.D.	1,12	0,63	5,37	4,42
ácido siríngico	ac siríngico	0,17	0,84	0,12	1,94	1,29
epicatequina	epicatequina	N.D.	1,27	0,32	0,93	0,5
m-3-0-galactósido	rutina	N.D.	4,3	0,53	2,8	1,5
m-3-0-glucósido	rutina	9,37	33,86	25,1	42,38	21,49
epicatequina galato	epicatequina	1,71	0,44	0,44	0,16	0,55
i-3-0-galactósido	rutina	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
q-3-0-galactósido	rutina	247,33	78,98	77,05	73,43	44,08
q-3-0-glucósido	rutina	188,765	199,42	166,91	116,77	68,62
k.galactósido	rutina	8,35	18,52	13,35	9,37	7,89
ácido p-cumárico	ac p-cumárico	0,14	0,61	1,09	1,64	1,05
k.-3-glucósido	rutina	45,74	58,06	58,4	41,52	35,39
i-3-0-glucósido	rutina	4,00	18,51	32,29	27,49	22,51

N.D.: Compuesto no detectado.

Cuadro 15. Evolución de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular de los hollejos medidos por HPLC-DAD de la variedad Carménère, *ug/g* de hollejo.

Compuesto	Cuantificación	Muestreo 1	Muestreo 2	Muestreo 3	Muestreo 4	Muestreo 5
ácido gálico	ac gálico	0,11	0,76	1,38	0,89	N.D.
(+) catequina	catequina	5,83	3,03	12,25	15,39	10,44
ácido siríngico	ac siríngico	1,11	5,26	3,46	3,69	0,65
epicatequina	epicatequina	0,36	0,51	0,5	3,55	0,76
m-3-0-galactósido	rutina	7,00	6,69	18,57	10,46	11,51
m-3-0-glucósido	rutina	109,92	67,65	191,1	97,48	123,74
epicatequina galato	epicatequina	0,82	0,31	0,6	6,84	7,18
i-3-0-galactósido	rutina	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
q-3-0-galactósido	rutina	477,43	423,83	299,7	315,28	145,59
q-3-0-glucósido	rutina	680,23	598,73	513,24	438,22	321,1
k.galactósido	rutina	72,35	54,85	188,49	80,4	29,28
ácido p-cumárico	ac p-cumárico	2,92	3,12	7,4	5,31	4,49
k.-3-glucósido	rutina	389,04	308,06	593,98	257,65	174,69
i-3-0-glucósido	rutina	67,71	75,29	178,27	80,89	59,11

N.D.: Compuesto no detectado.

Anexo V

Cuadro 16. Análisis estadístico de varianza, desviación estándar (D.E.) y la prueba de rango múltiple de Duncan para los principales compuestos fenólicos, en las distintas fechas de muestreo para las cuatro variedades estudiadas.

	M1	D.E.	M2	D.E.	M3	D.E.	M4	D.E.	M5	D.E.
Cabernet Sauvignon										
m-3-0-glucósido	19,85c	6,77	65,54b	11,2	60,99b	11,79	120,17a	5,17	47,48b	16,35
q-3-0-galactósido	197,01ab	74,26	253,66a	49,8	117,37bc	13,27	120,32bc	82,59	30,72c	8,98
q-3-0-glucósido	165,6b	36,49	291,48a	28,63	155,75b	24,87	298,98a	24,4	85,96c	18,08
k.-3-glucósido	65,9ab	27,86	117,93a	36,74	82,23ab	14,33	130,75a	57,04	36,92b	11,32
Cabernet Franc										
m-3-0-glucósido	13,59d	2,42	67,7ab	12,2	36,94c	7,78	83,03a	13,34	52,29bc	10,74
q-3-0-galactósido	359,03a	68,76	391,62a	49,56	173,68b	27,11	161,26b	32,32	35,3c	2,66
q-3-0-glucósido	168,45d	25,23	475,52a	55,04	289,09bc	36,07	355,29b	72,24	239,91cd	6,22
k.-3-glucósido	51,53c	9,13	245,46a	32,36	144,48b	15,21	155,95b	35,06	92,7c	3,19
Merlot										
m-3-0-glucósido	9,37c	0,08	33,86ab	7,83	25,1b	6,88	42,38a	6,67	21,49bc	12,11
q-3-0-galactósido	247,33a	18,94	78,98b	12,11	77,05bc	19,46	73,43bc	5,22	44,08c	25,07
q-3-0-glucósido	188,765a	10,67	199,42a	37,43	166,91ab	42,55	116,77bc	19,19	68,62c	13,88
k.-3-glucósido	45,74ab	3,65	58,06a	9,45	58,4a	15,23	41,52b	3,36	35,39b	4,26
Carménère										
m-3-0-glucósido	109,92ab	92,13	67,65b	44,9	191,1a	4,14	97,48ab	41,17	123,74ab	61,64
q-3-0-galactósido	477,43a	74,85	423,83a	22,76	299,7b	34,23	315,28b	87,18	145,59c	43,85
q-3-0-glucósido	680,23a	132,91	598,73ab	9,34	513,24ab	27,26	438,22bc	118,75	321,1c	89,73
k.-3-glucósido	389,04b	51,39	308,06bc	8,63	593,98a	69,73	257,65cd	82,45	174,69d	48,28

Promedios para las distintas fechas de muestreos, seguidos de letras iguales en las filas no difieren significativamente ($p < 0.05$).

Anexo VI

Cuadro 17. Evolución de los compuestos antociánicos de los hollejos medidos por HPLC-DAD de la variedad Cabernet Sauvignon, *ug/g* de hollejo.

Compuesto	Cuantificación	Muestreo 1	Muestreo 2	Muestreo 3	Muestreo 4	Muestreo 5
Dp3Gl	Mv3Gl	47,36	121	486,835	852,67	185,6
Cy3Gl	Mv3Gl	8,84	45,09	39,34	33,59	96,74
Pt3Gl	Mv3Gl	29,49	149,29	180,62	211,95	176,95
Po3Gl	Mv3Gl	56,39	124,31	136,98	149,65	143,29
Mv3Gl	Mv3Gl	436,1	1204,73	1579,8	1954,87	1396,28
Dp3acGl	Mv3Gl	12,04	47,75	46,62	45,5	45,52
Cy3acGl	Mv3Gl	1,93	3,49	7,94	12,39	19,67
Pt3acGl	Mv3Gl	17,59	57,61	56,56	55,52	54,71
Po3acGl	Mv3Gl	23,58	52,72	54,01	55,3	45,54
Mv3acGl	Mv3Gl	122,6	714,35	875,43	1036,51	1148,96
Dp3pcum	Mv3Gl	3,86	11,36	22,6	33,84	46,12
Cy3pcum	Mv3Gl	1,07	2,67	2,98	3,29	1,11
Pt3pcum	Mv3Gl	0,41	4,15	8,46	12,78	6,28
Po3pcum	Mv3Gl	1,01	6,25	6,85	7,46	4,99
Mv3pcum	Mv3Gl	11,57	57,74	95,65	133,57	56,8

Cuadro 18. Evolución de los compuestos antociánicos de los hollejos medidos por HPLC-DAD de la variedad Cabernet Franc, *ug/g* de hollejo.

Compuesto	Cuantificación	Muestreo 1	Muestreo 2	Muestreo 3	Muestreo 4	Muestreo 5
Dp3Gl	Mv3Gl	56,57	126,8	63,68	70,33	47,06
Cy3Gl	Mv3Gl	14,65	46,47	16,72	18,5	26,75
Pt3Gl	Mv3Gl	28,17	182,71	119,21	72,09	127,175
Po3Gl	Mv3Gl	53,79	167,14	149,58	217,38	201,72
Mv3Gl	Mv3Gl	214,64	719,65	758,22	397,02	612,01
Dp3acGl	Mv3Gl	6,94	55,78	22,00	22,38	25,26
Cy3acGl	Mv3Gl	0,35	7,42	1,5	9,54	3,98
Pt3acGl	Mv3Gl	10,41	75,06	42,53	57,83	34,55
Po3acGl	Mv3Gl	22,73	86,47	67,43	102,45	81,98
Mv3acGl	Mv3Gl	95,77	514,88	578,88	674,67	590
Dp3pcum	Mv3Gl	0,84	3,22	17,43	18,11	15,95
Cy3pcum	Mv3Gl	N.D.	3,51	1,45	6,03	3,57
Pt3pcum	Mv3Gl	N.D.	2,62	2,04	8,86	5,47
Po3pcum	Mv3Gl	0,67	17,99	10,01	23,24	11,89
Mv3pcum	Mv3Gl	1,73	55,11	72,04	126,96	75,16

N.D.: Compuesto no detectado.

Cuadro 19. Evolución de los compuestos antociánicos de los hollejos medidos por HPLC-DAD de la variedad Merlot, *ug/g* de hollejo.

Compuesto	Cuantificación	Muestreo 1	Muestreo 2	Muestreo 3	Muestreo 4	Muestreo 5
Dp3Gl	Mv3Gl	8,45	130,2	143,69	52,21	156,01
Cy3Gl	Mv3Gl	4,92	44,3	71,92	14,27	35,63
Pt3Gl	Mv3Gl	8,06	108,71	206,41	59,14	147,44
Po3Gl	Mv3Gl	10,46	139,48	285,08	156,48	106,19
Mv3Gl	Mv3Gl	69,66	745,83	1213,61	432,31	1568,53
Dp3acGl	Mv3Gl	0,78	35,76	44,07	28,13	27,4
Cy3acGl	Mv3Gl	0,57	12,2	10,57	10,11	10,55
Pt3acGl	Mv3Gl	0,18	50,46	59,08	43,68	41,42
Po3acGl	Mv3Gl	1,26	37,01	68,19	45,51	42,4
Mv3acGl	Mv3Gl	27,2	288,84	442,14	521,95	467,38
Dp3pcum	Mv3Gl	N.D.	9,6	27,71	27,12	20,28
Cy3pcum	Mv3Gl	N.D.	0,41	1,5	3,31	8,87
Pt3pcum	Mv3Gl	N.D.	0,26	3,26	4,03	5,78
Po3pcum	Mv3Gl	N.D.	0,84	7,21	7,44	11,2
Mv3pcum	Mv3Gl	0,58	21,5	60,42	45,88	184,42

N.D.: Compuesto no detectado.

Cuadro 20. Evolución de los compuestos antociánicos de los hollejos medidos por HPLC-DAD de la variedad Carménère, *ug/g* de hollejo.

Compuesto	Cuantificación	Muestreo 1	Muestreo 2	Muestreo 3	Muestreo 4	Muestreo 5
Dp3Gl	Mv3Gl	227,09	519,69	332,31	50,89	398,266
Cy3Gl	Mv3Gl	98,91	150,25	83,97	57,35	122,08
Pt3Gl	Mv3Gl	166,76	355,56	280,62	288,4	725,87
Po3Gl	Mv3Gl	201,68	335,13	391,39	377,48	408,87
Mv3Gl	Mv3Gl	975,06	2866,39	1572,21	4064,79	2935,15
Dp3acGl	Mv3Gl	31,12	67,89	100,68	4,93	124,37
Cy3acGl	Mv3Gl	189,96	58,52	5,75	12,98	20,54
Pt3acGl	Mv3Gl	33,05	128,38	129,9	37,22	160,76
Po3acGl	Mv3Gl	64,59	63,27	122,25	88,01	90,56
Mv3acGl	Mv3Gl	261,93	813,17	1246,17	1187,95	1309,91
Dp3pcum	Mv3Gl	9,79	26,37	59,4	41,25	93,95
Cy3pcum	Mv3Gl	4,7	2,46	9,6	2,36	34,94
Pt3pcum	Mv3Gl	1,89	2,15	16,89	7,89	23,23
Po3pcum	Mv3Gl	7,71	13,58	17,56	17,47	24,00
Mv3pcum	Mv3Gl	75,07	211,14	421,88	262,96	468,44

Anexo VII

Cuadro 21. Análisis estadístico de varianza, desviación estándar (D.E.) y la prueba de rango múltiple de Duncan para los principales compuestos antociánicos, en las distintas fechas de muestreo para las cuatro variedades estudiadas.

	M1	D.E.	M2	D.E.	M3	D.E.	M4	D.E.	M5	D.E.
Cabernet Sauvignon										
Pt3Gl	29,49b	26,04	149,29ab	37,47	180,62a	36,12	211,95a	35,73	176,95a	155,9
Po3Gl	56,39b	14,4	124,31a	26,63	136,98a	16,87	149,65a	10,69	143,29a	26,57
Mv3Gl	436,1b	192,19	1204,73ab	231,21	1579,8a	132,61	1954,87a	115,17	1396,28ab	99,8
Mv3acGl	122,6c	99,97	714,35b	132,06	875,43ab	81,8	1036,51a	88,75	1148,96c	195,88
Mv3pcum	11,57c	13,09	57,74bc	20,21	95,65ab	18,26	133,57a	21,75	56,8bc	47,69
Cabernet Franc										
Pt3Gl	28,17b	24,39	182,71a	10,18	119,21ab	13,15	72,09b	109,69	127,175ab	12,5
Po3Gl	53,79d	7,69	167,14bc	1,58	149,58c	17,54	217,38a	45,4	201,72ab	24,89
Mv3Gl	214,64a	44,49	719,65a	183,55	758,22a	248,82	397,02a	195,89	612,01a	274,34
Mv3acGl	95,77c	19,31	514,88b	27,62	578,88ab	120,05	674,67a	118,33	590ab	2,66
Mv3pcum	1,73c	2,8	55,11b	46,73	72,04b	8,52	126,96a	25,19	75,16b	1,74
Merlot										
Pt3Gl	8,06c	13,97	108,71abc	91,38	206,41a	40,1	59,14bc	67,46	147,44ab	71,7
Po3Gl	10,46c	18,11	139,48b	39,61	285,08a	27,64	156,48b	40,36	106,19b	1,93
Mv3Gl	69,66d	56,84	745,83bc	178,45	1213,61ab	204,35	432,31cd	54,3	1568,53a	45,49
Mv3acGl	27,2c	0,675	288,84b	59,04	442,14a	85,28	521,95a	36,11	467,38a	16,17
Mv3pcum	0,58c	1,01	21,5bc	17,42	60,42b	17,62	45,88b	37,88	184,42a	14,22
Carménère										
Pt3Gl	166,76b	107,28	355,56b	246,35	280,62b	211,661	288,4b	36,016	725,87a	94,47
Po3Gl	201,68b	68,67	335,13a	51,3	391,39a	36,62	377,48a	28,16	408,87a	51,77
Mv3Gl	975,06b	304,52	2866,39ab	647,7	1572,21ab	478	4064,79a	198	2935,15ab	201,3
Mv3acGl	261,93c	83,38	813,17b	187,4	1246,17a	18,65	1187,95a	86,96	1309,91a	162,8
Mv3pcum	75,07c	22,1	211,14c	39,46	421,88ab	19,5	262,96bc	29,5	468,44a	50,01

Promedios para las distintas fechas de muestreos, seguidos de letras iguales en las filas no difieren significativamente ($p < 0.05$).