

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

MEMORIA DE TÍTULO

**ACIDEZ MÁLICA Y TARTÁRICA EN FRUTA DE DISTINTAS SELECCIONES DE
VID ‘CABERNET SAUVIGNON’**

VALENTINA FERNANDA CASTRO LÓPEZ

SANTIAGO, CHILE

2017

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

MEMORIA DE TÍTULO

**ACIDEZ MÁLICA Y TARTÁRICA EN FRUTA DE DISTINTAS SELECCIONES DE
VID 'CABERNET SAUVIGNON'**

**MALIC AND TARTARIC ACIDITY IN FRUIT OF DIFFERENT SELECTION OF VID
'CABERNET SAUVIGNON'**

VALENTINA FERNANDA CASTRO LÓPEZ

SANTIAGO, CHILE

2017

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

**ACIDEZ MÁLICA Y TARTÁRICA EN FRUTA DE DISTINTAS SELECCIONES DE
VID ‘CABERNET SAUVIGNON’**

Memoria para optar al título profesional de:
Ingeniero Agrónomo.

VALENTINA FERNANDA CASTRO LÓPEZ

PROFESOR GUÍA

Sra. María Cecilia Peppi Aronowsky
Ingeniero Agrónomo, M.S.,PhD.

CALIFICACIONES

5,5

PROFESORES EVALUADORES

Sr. Rodrigo Callejas Rodríguez
Ingeniero Agrónomo, Dr. Agr. Sc.

6,4

Sr. Fernando Santibáñez Quezada
Ingeniero Agrónomo, Dr.

6,0

SANTIAGO, CHILE

2017

AGRADECIMIENTOS

Al llegar a este momento, mirar atrás y pensar sobre los 6 años más rápidos de mi vida, es difícil centrarse y decidir a quién agradecer por que fueron muchas personas quienes aportaron un granito de arena a ser la persona que ahora soy.

Primero, agradezco a mis padres, por su constante lucha y entrega hacia sus hijos. Su amor incondicional y entrega de valores que nos definieron a mí y a mis hermanos en quienes somos hoy como adultos. Gracias por su paciencia, consejos y apoyo en los momentos más difíciles, por mostrarme que la familia es el primer cimiento de la vida y que ante cualquier situación los tengo conmigo.

A mis hermanos, Pablo, Javier y Tomás, por los buenos momentos, las risas, el valor de la hermandad que hemos buscado siempre mantener a pesar de nuestras diferencias. Los quiero mucho.

Mis abuelos, Manuel López y Juan Castro (Q.E.P.D) quienes me enseñaron a ser feliz y mis abuelas Eugenia Avaria y Nora Gutiérrez, por enseñarme el amor a la familia y a una misma.

A mi pequeña familia, porque nunca ha dejado de apoyarme y me ha levantado en los peores momentos.

Desde el 2011 a este año, agradecerles a mis amigos de la vida y de la U, por su apoyo, buenos momentos, risas y amistad cuando más lo necesité y que lo tuve sin pedirlo. Ellos saben quiénes son y los quiero mucho.

A Jimena Balic por permitirnos hacer este estudio y la ayuda recibida durante todo el proceso. Agradecer a cada profesor que me brindó su enseñanza, en especial a mi profe guía Cecilia Peppi, por la paciencia, los retos, consejos y confianza depositada en mí

“La alegría de ver y entender es el más perfecto don de la naturaleza” (A.Einstein)

Gracias totales. FIN.

RTA

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
Hipótesis	4
Objetivos	4
MATERIALES Y MÉTODOS	5
Lugar de estudio	5
Materiales	5
Métodos	6
Análisis de datos	8
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	10
Diagrama de perfiles multivariados	10
Concentración de ácidos orgánicos evaluados por cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC)	15
Composición de la acidez en la baya	21
Análisis de conglomerado	23
Análisis de componentes principales	26
Correlación entre distintos métodos de medición de acidez málica	33
CONCLUSIONES	36
LITERATURA CITADA	37
ANEXOS	40

RESUMEN

Existen, en un predio en la Región de O'Higgins, selecciones de 'Cabernet Sauvignon' recolectadas de antiguos viñedos de la zona central y centro-sur de Chile que temporadas previas han mostrado aparentes diferencias en la acidez de la fruta. Durante la temporada 2016 se analizaron estas selecciones con el fin de determinar posibles diferencias en la acidez y en su composición.

El ensayo contempló nueve selecciones de 'Cabernet Sauvignon' establecidas en la misma localidad, en el mismo suelo y bajo el mismo manejo, donde cada selección se encontraba en una hilera que se subdividió en tres grupos. Se midió semanalmente el peso de baya, sólidos solubles, pH, acidez titulable y acidez málica por método enzimático, comenzando el 12 de enero y terminando en cosechas diferenciadas según valores de °Brix de cada selección (23°Brix). Además, en tres fechas fenológicas (post cuaja, envero y cosecha) se midió la concentración de ácidos málico y tartárico por HPLC.

El análisis estadístico de los datos se realizó con estadística descriptiva, diagramas de perfiles multivariados, Análisis Multivariado de Componentes Principales y Análisis de Conglomerado. Las variables analizadas semanalmente se comportaron según lo esperado; peso de bayas, sólidos solubles y pH, fueron aumentando conforme la baya fue madurando, mientras que la acidez titulable, acidez málica y tartárica fueron disminuyendo.

A partir de la caracterización de las selecciones, se obtuvieron diferencias en cuanto a su momento de cosecha, siendo algunas selecciones más tempranas y otras más tardías, y con diferencias en su acidez total.

Las diferencias obtenidas de este estudio muestran la potencial diversidad de vinos que se pueden obtener de una misma cepa, en este caso de 'Cabernet Sauvignon', establecidas en el mismo lugar.

Palabras Clave: selecciones, ácido málico, ácido tartárico, cosecha.

ABSTRACT

There are, on a farm in the O'Higgins Region, selections of 'Cabernet Sauvignon' collected from old vineyards in the central and south-central Chile that previous seasons have shown apparent differences in fruit acidity. During the 2016 season, these selections were analyzed in order to determine possible differences in acidity and composition.

The trial included nine selections of 'Cabernet Sauvignon' established in the same locality and soil, and managed with the same practices, where each selection was in a row subdivided into three groups. The berry weight, soluble solids, pH, titratable acidity and malic acidity by enzymatic method were evaluated weekly, beginning on January 12 and finishing on different harvest dates according to ° Brix values of each selection (23 ° Brix). Additionally, the concentration of malic and tartaric acids by HPLC was measured at three phenological dates (post-berry set, veraison and harvest).

Statistical analysis of the data was performed with descriptive statistics, multivariate profile diagrams, Multivariate Analysis of Principal Components and Conglomerate Analysis. The variables analyzed weekly performed as expected; berry weight, soluble solids and pH, increased as the berry ripened, while titratable acidity, malic acid and tartaric acid decreased.

Based on the characterization of the selections, differences were observed in the time of harvest, with some early and late selections, and with differences of their total acidity.

The differences obtained from this study demonstrate the diversity of wines that can be obtained from the same cultivar, in this case Cabernet Sauvignon, established in the same place.

Key words: selections, malic acid, tartaric acid, harvest.

INTRODUCCIÓN

‘Cabernet Sauvignon’ (*Vitis vinifera* L.) es una de las principales cepas cultivadas para la producción de vinos en nuestro país y en el mundo, debido a su adaptabilidad a diferentes suelos y climas. El catastro del Servicio Agrícola y Ganadero del año 2014 posiciona a ‘Cabernet Sauvignon’ como la variedad más producida en Chile, representando un 32,11% de la superficie total destinada a la vitivinicultura, lo que corresponde a 44.176 hectáreas productivas (SAG,2014).

La baya de vid, bajo una buena elección del *terroir*, posee un contenido de azúcar, taninos y antocianinas que, en conjunto con los ácidos orgánicos, entregan características ideales para la producción y calidad del vino (Jones, 2000; Pszczólkowski, 2015; Wolpert et al., 1995).

Los ácidos orgánicos se encuentran presentes en todos los órganos de la vid, siendo los más abundantes el ácido málico y el tartárico, que en la baya corresponden al 90% de la concentración total de ácidos. Otros ácidos presentes, aunque en menor concentración, son el ácido cítrico, oxálico, ascórbico entre otros (Blouin y Guimberteau, 2012; Kliewer,1966).

El ácido málico está presente en diferentes especies frutales. Su concentración está regulada por condiciones climáticas, y es parte fundamental del metabolismo de la planta. En el caso de la vid, el ácido málico es sintetizado en la baya por glicólisis, a partir de tres vías: transformación de ácido cítrico, fijación de CO₂ por la ribulosa 1,5-difosfato o bien por la fijación de CO₂ por ácido pirúvico en reacción reversa catalizada por la enzima málica (Olego et al., 2015; Volschenk et al., 2006). Este ácido es degradado a través de la respiración celular a medida que la baya va madurando (Ford, 2012), lo que hace variar sustancialmente la acidez total al momento de cosecha. El contenido de ácido málico en la madurez varía según la variedad y temperatura durante la maduración, esperando encontrar para zonas templadas valores entre 1 a 2 gramos por litro y en zonas templadas frescas valores entre 4 y 8 gramos por litro (Blouin y Guimberteau, 2012).

El ácido tartárico, por su parte, es menos frecuente en la naturaleza. En vides el ácido tartárico se sintetiza en la baya a partir del ácido ascórbico y se acumula en las vacuolas (DeBolt et al., 2006). La acumulación de este ácido comienza desde la formación de la baya hasta aproximadamente 40-50 días después de anthesis. En general el ácido tartárico no se pierde, su contenido es estable en el tiempo, aunque existe evidencia que sugiere que con temperaturas sobre 30°C hay una disminución (Ford, 2012). El contenido en la baya varía entre 3 y 9 gramos por litro según la variedad y condiciones ambientales (Blouin y Guimberteau, 2012).

Existen diversos estudios en los que se analizan las transformaciones de ácido málico y ácido tartárico en bayas de vid. El grado de interceptación de la luz produce variaciones en la concentración de los distintos ácidos. Menores niveles de luz, en general, determinan menos síntesis y acumulación de éstos (DeBolt, 2008).

A mayor temperatura ambiental, menor es la acidez de la baya, particularmente respecto al ácido málico, ya que este se cataboliza (Ferrer et al., 2011). Por esta razón, fruta proveniente de climas cálidos es de menor acidez y presenta una menor relación málico/tartárico.

Por otro lado, las variedades de uva para vino presentan diferentes niveles de concentración de acidez total, lo que determina en parte la condición climática bajo la que se podrían desarrollar. Por ejemplo, Colombard es una variedad comparativamente de alta acidez y por eso recomendable para climas cálidos, mientras que Burger es un ejemplo de variedad que naturalmente tiende a una baja acidez (Bettiga et al., 2003) y por tanto no da buenos resultados en climas muy cálidos. No obstante, además de la concentración total de ácidos, la composición de la acidez determinará en gran medida cuán adaptable es esa variedad a distintas condiciones climáticas. En general, variedades con altos contenidos de ácido málico serían más apropiadas para climas cálidos, donde la degradación del ácido málico es más rápida (Sotés, 2004).

Asimismo, existen antecedentes de variaciones en la acidez entre clones de una misma variedad (Alonso et al., 2004; Burin et al., 2011; Fidelibus et al., 2006; Wolpert et al., 1995). La importancia de conocer las variaciones en la acidez de distintos clones permite definir con precisión dónde es mejor plantar cada clon y adicionalmente diferenciar y optimizar la calidad de vinos de una misma variedad.

Es importante conocer la composición de acidez de las bayas, debido a que, desde el punto de vista de la enología, el ácido málico influirá en los sabores metálicos y será sustrato del proceso de fermentación maloláctica, dando origen al ácido láctico, mientras que el ácido tartárico aportará sensación gustativa mineral y gustos cítricos al vino (Ford, 2012).

Existe en la Región de O'Higgins una selección de plantas de 'Cabernet Sauvignon' que está comenzando a ser caracterizada y donde uno de los aspectos que aparentemente presenta diferencias es la acidez de la fruta. Por este motivo, utilizando nueve selecciones de 'Cabernet Sauvignon' establecidas en una misma localidad y con el mismo manejo, se evaluó la composición y concentración de la acidez de la fruta de estas selecciones para determinar si respecto a estos parámetros existen diferencias que pudieran cambiar la aptitud para distintas zonas.

Hipótesis

Existen diferencias en la composición de los ácidos orgánicos en nueve selecciones de 'Cabernet Sauvignon' establecidas en una misma localidad, bajo el mismo manejo.

Objetivos

Comparar la concentración de ácido málico y ácido tartárico, pH, acidez titulable y sólidos solubles de nueve selecciones de la variedad 'Cabernet Sauvignon', establecidas bajo las mismas condiciones edafoclimáticas y de manejo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de estudio

El estudio se realizó durante la temporada 2015-2016 en un predio de la viña Santa Carolina establecido en Totihue, comuna de Requinoa, en la Provincia de Cachapoal de la Región Del Libertador General Bernardo O'Higgins. Las vides corresponden a selecciones de 'Cabernet Sauvignon' recolectadas de distintos viñedos antiguos de la zona centro y centro-sur de Chile y plantadas en el año 2012. El suelo es de origen aluvial, con presencia de arcillas en superficie y grava y presencia de carbonato.

El lugar posee un clima mediterráneo, con lluvias en invierno, llegando a 355 mm de precipitación acumulada, y veranos de altas temperaturas, con máximas que pueden alcanzar 36,5°C en el mes de febrero (Meteovid, 2016).

Las selecciones están establecidas a una distancia de plantación de 2,2 x 1m en hileras orientadas norte-sur. Los riegos comenzaron en octubre, terminando en mayo (post cosecha), reponiendo semanalmente el 80% de lo evapotranspirado. Al año se aplican 46 unidades de N y 40 unidades de K. El control de malezas y control de plagas y enfermedades como araña roja, oídio y botritis, se lleva a cabo según la programación de labores del predio.

Las plantas se podaron durante julio y agosto con dos cargadores de 10 yemas cada uno, y se protegieron los puntos de corte con pasta de poda (PODASTIK® MAX, Arysta). La carga se reguló post-cuaja a 10 racimos por cargador.

Materiales

Se utilizaron nueve selecciones de *Vitis vinifera* L. 'Cabernet Sauvignon', establecidas en nueve hileras contiguas, donde cada una representa una selección. Existen 53 plantas por hilera, las cuales se separaron en tres grupos de 14 plantas cada uno (a, b y c). Los muestreos se realizaron en bayas de distintos racimos.

Para la medición de acidez se utilizó el método de titulación con una solución de NaOH 0,1 N con uso de potenciómetro hasta pH 8,2.

Los sólidos solubles se midieron con un refractómetro termocompensado (RHB-32 ATC, Huake®).

Métodos

El muestreo de bayas fue de la parte media del racimo. Previo al muestreo de bayas se realizaron, en plantas no marcadas, estimaciones de cuántas bayas eran necesarias para obtener el volumen requerido para las distintas mediciones en laboratorio. Se marcaron, en los respectivos grupo de cada selección y en ambos lados de la hilera (este y oeste), 20 racimos para las mediciones en los tres momentos determinados como “post-cuaja”, “envero” y “cosecha”, y 10 racimos por lado para las evaluaciones semanales. Las bayas de los distintos racimos constituyeron una muestra compuesta la cual se utilizó para las distintas evaluaciones, variando la cantidad de bayas ocupadas a lo largo de la temporada. Las muestras se dispusieron en bolsas plásticas, se transportaron en una nevera portátil, fueron llevadas a laboratorio y se realizaron los análisis correspondientes.

Peso de bayas

Se evaluaron semanalmente 10 bayas de la muestra compuesta, utilizando una balanza electrónica con 0,1 g de precisión (MD 150, Veto) y se registró el peso promedio por baya.

Acidez málica por método enzimático

Se midió una vez por semana la concentración de ácido málico usando un kit comercial (Biotest, Biolan, ES) que se analiza con un equipo biosensor múltiple (Biowine 300, Biolan, ES). Para esto se agregaron 30 μL de jugo a 60 ml de solución de medición, compuesta por una enzima de activación y solución salina. Cada 30 muestras se calibró el equipo utilizando un patrón de ácido málico. Con lecturas con rango sobre 4 g L^{-1} se diluyó la solución y se analizó nuevamente.

Sólidos solubles

El muestreo fue semanal, comenzando en “post cuaja” (bayas de aproximadamente 5-6 mm). Se utilizaron 15 ml de jugo extraídos de las bayas recolectadas.

La extracción de jugo de bayas se hizo moliendo éstas por compresión, para luego colarlas y obtener el jugo necesario para las respectivas mediciones.

Se midió la concentración de sólidos solubles con un refractómetro termocompensado, que fue llevado a valor 0 con agua destilada. Se utilizó aproximadamente 1mL, cubriendo por completo el lente del refractómetro y luego se limpió entre muestras con agua destilada.

La cosecha de cada selección fue determinada por la viña (23° Brix).

pH

Para la medición semanal de pH se utilizó el mismo jugo extraído para evaluar sólidos solubles. Se midió con un potenciómetro (PP-203, GOnDO, TW) calibrado con soluciones de pH 7,0 y 4,0, donde se diluyeron 10 mL de jugo en 90 mL de agua destilada. Esta solución fue llevada a un agitador magnético utilizando un imán dentro de un vaso precipitado. Se hizo girar la muestra y se midió, registrando un valor estabilizado. Luego de cada muestra se limpió el electrodo con agua destilada. Se procuró que el electrodo nunca estuviera seco.

Acidez titulable

Con la misma solución de jugo utilizada para medir pH se midió semanalmente la acidez (AOAC oficial method 942.15, 2005), a través de la titulación de NaOH, hasta el valor pH de 8,2 (potenciómetro PP-203, GOnDO, TW). Se expresó el gasto de NaOH en g de ácido tartárico, utilizando la fórmula:

$$\text{Ácido tartárico (g)} \cdot 100 \text{ (mL)}^{-1} = (\text{gasto NaOH (mL)} \cdot 0,1 \cdot 0,075 \cdot 100) \cdot \text{volumen muestra (mL)}^{-1}$$

La solución de NaOH de 0,1M se formuló a partir de 4 g de NaOH granulado, masados en una balanza electrónica, diluido en un litro de agua destilada.

Concentración de ácidos málico, tartárico y cítrico por HPLC

La concentración de los ácidos orgánicos se determinó por medio de cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC), en el laboratorio de postcosecha del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA-La Platina). Se tomaron muestras en tres fechas de medición (cerca de “post-cuaja”, “envero” y “cosecha”) y se procedió a coleccionar aproximadamente 25 g de bayas por selección y grupo. Se estimó un total por muestra de 80 bayas en “post-cuaja”, 50 bayas en “envero” y 30 bayas en “cosecha”. Las muestras se transportaron con el mismo procedimiento descrito en métodos. Una vez entregadas al laboratorio, se congelaron hasta tener recolectadas todas las muestras a final de temporada para realizar el análisis.

Para determinar la concentración de ácidos orgánicos se utilizó el método de Pérez et al. (1997). Se homogenizó 10 g de bayas con piel en un triturador con 25 mL de etanol frío al 95% durante 3 a 5 minutos. La muestra se centrifugó a 2000 g_n durante 20 minutos y se filtró al vacío pasando el sobrenadante a través de dos capas de papel filtro Whatman n°1 (Whatman, Inglaterra). Posteriormente el producto filtrado se ajustó a un volumen de 50 mL añadiendo etanol al 80%. A continuación, se tomó una alícuota de 10 mL, que se seca bajo una corriente de nitrógeno a 50°C. Este material seco se disolvió en 2 mL de H₂SO₄ a 0,2 N con 0,05% de EDTA. La muestra se cargó en un cartucho (Waters, Sep-Pak® Light C18, Massachusetts, EE.UU.) activado con metanol, rescatándose el efluente. La muestra se eluyó del cartucho con 4 mL de solución H₂SO₄ 0,2 N con 0,05 EDTA. Posteriormente lo eluido se filtró a través de un filtro de 0,45 µm y se analizó por HPLC (laboratorio INIA) provisto con un detector de rango ultravioleta-visible (Jasco UV-20 75 Plus, Tokio, Japón) a una longitud de onda de 195 nm (Jasco LC-NET III/ADC, Tokio, Japón). La

separación de ácidos se realizó usando una columna de 4,6 mm x 250 mm x 5,0 μm (Waters Symmetry C18, Massachusetts, EE.UU.). Los datos fueron expresados en mg g^{-1} y analizados con el programa Chrompass (Jasco, Tokio, Japón). La identificación fue por comparación de tiempos de retención con estándares puros (Sigma Aldrich). Para la cuantificación se utilizaron curvas de calibración realizadas con los mismos estándares.

Se expresó el valor de concentración en peso/peso (mg/g). Para efectos de evaluación, la concentración se expresó finalmente en gramos de ácido por litro a partir de la estimación de contenido y composición.

Contenido y composición de ácidos málico, tartárico y cítrico

Para observar y describir cada ácido orgánico en cada selección, se determinó el contenido de cada ácido y la composición de la acidez total

El contenido se determinó a partir del peso de baya de las mediciones semanales de “post-cuaja”, “envero” y “cosecha” y los datos de concentración obtenidos de los análisis de laboratorio (HPLC). La composición es el porcentaje que representa un ácido orgánico dentro de la baya con respecto a la suma de los ácidos evaluados, en este caso, la suma de los ácidos málico, tartárico y cítrico, que corresponden a la acidez total.

Para expresar las concentraciones de ácidos orgánicos en volumen de muestra (g L^{-1}) se consideró el volumen de jugo por baya medido en “post-cuaja”, “envero” y “cosecha”. La suma de ácidos orgánicos correspondió a la acidez total y se calculó el porcentaje de cada ácido.

Análisis de datos

El registro y análisis de datos fue realizado con el software Excel® (Microsoft, 1997) y con el software estadístico InfoStat (InfoStat, 2017).

Los datos fueron analizados con estadística descriptiva y diagramas de perfiles multivariados con el objetivo de describir la evolución de los ácidos en la temporada en cada una de las selecciones. Este análisis entrega el seguimiento de las variables evaluadas en función del tiempo muestreado (hasta 12 semanas en un caso dependiendo de la fecha de cosecha).

Además, se incluyó dentro del análisis de perfiles multivariados los datos entregados por el análisis en HPLC de los ácidos málico, tartárico y cítrico, tanto para concentración como para su contenido estimado. Estos ácidos fueron analizados en tres fechas que se determinaron en “post-cuaja”, luego se estableció una fecha común de “envero” para las selecciones, y “cosecha”, momento que fue determinado cuando las selecciones individualmente presentaron 23°Brix , establecido por la viña como el momento de cosecha.

Para analizar la composición de los ácidos orgánicos se utilizó la herramienta de gráficos de barra en donde se ocupó el error estándar como medida de variabilidad.

Además, se aplicó Análisis multivariado de Componentes Principales (en cada fecha de muestreo), con el objetivo de explicar la variabilidad de todas las variables evaluadas (pH, acidez titulable, sólidos solubles, ácido málico semanal, peso bayas) y así poder relacionar las diferentes selecciones. Estos resultados se mostraron mediante gráficos Biplot creados con el software estadístico InfoStat (InfoStat, 2017). El análisis de componentes principales (ACP) y los gráficos conocidos como Biplot son técnicas generalmente utilizadas para reducción de dimensión. Las técnicas de reducción de dimensión permiten examinar todos los datos en un espacio de menor dimensión que el espacio original de las variables. Con el ACP se construyen ejes artificiales (Componentes Principales), que permiten obtener gráficos de dispersión y visualizar observaciones y variables en un mismo espacio con propiedades óptimas para la interpretación (el prefijo “Bi” en el nombre Biplot refleja esta característica). Así es posible identificar asociaciones entre observaciones, entre variables y entre variables y observaciones. Los ángulos entre los vectores que representan las variables pueden ser interpretados en términos de las correlaciones lineales entre las variables. Es decir, ángulos de 90° entre dos variables indican que ambas no se encuentran correlacionadas. Valores alejados a 90° indican correlación, tanto positiva (valores menores) como negativa (valores mayores).

Complementario al ACP se realizó un análisis de conglomerado, con el objetivo de formar grupos entre las selecciones que sean más parecidas entre sí en cuanto a los resultados entregados según cada variable. Este análisis es mostrado a través de un dendograma que es una representación de los datos en forma de árbol, que organiza los datos (selecciones) en subcategorías que se van subdividiendo hasta llegar al nodo siguiente, parecido a las ramas de un árbol que van dividiéndose. La longitud de las ramas que conectan las selecciones analizadas indica la magnitud de la distancia entre ellas, agrupándolas de manera jerárquica desde las más parecidas a las más diferentes.

Finalmente se realizó un análisis de correlación entre los distintos métodos de medición de acidez málica, es decir, entre los resultados de concentración de acidez málica obtenidos por método enzimático a través del kit comercial (Biotest, Biolan ES) y la concentración obtenida por método de cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC). Ambos métodos de medición fueron analizados bajo la misma expresión de concentración (g L^{-1}). Este análisis tuvo como objetivo asociar ambas variables de medición.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de laboratorio correspondieron a los promedios de los grupos 1, 2 y 3 para cada selección y que fueron analizados con InfoStat ® acorde a lo mencionado en análisis de datos.

Diagrama de perfiles multivariados

Peso de baya

El resultado del seguimiento del peso de bayas (Figura 1) muestra una tendencia a aumento del peso según el crecimiento y desarrollo de la baya a lo largo de la temporada.

En la Figura 1 se observa que las selecciones se muestran muy variables a lo largo de la temporada. La variación dentro de una misma selección se puede explicar porque en cada evaluación no se pesaron las mismas bayas, sino que se utilizó un grupo de 10 bayas por grupo. En general no se observan grandes diferencias entre las selecciones.

El peso de la baya desde “post-cuaja” sigue la curva doble sigmoidea esperada. En esta curva, descrita por Jackson (2014), se diferencian tres etapas de desarrollo: la etapa I donde se produce una rápida división celular; la etapa II donde el crecimiento es más lento, el embrión termina de desarrollarse y se endurecen las semillas, culminando esta etapa con el envero (cambio de color de la baya), y luego la etapa III donde, además del crecimiento y división celular de la baya, la semilla termina de madurar, acumulándose azúcares y disminuyendo la acidez. El mismo autor menciona que la variedad ‘Cabernet Sauvignon’ tiene una curva de crecimiento en la etapa III más pronunciada que otras cepas.

Las bayas en general aumentaron su peso de baya en 1 gramo desde “post-cuaja” a “cosecha”

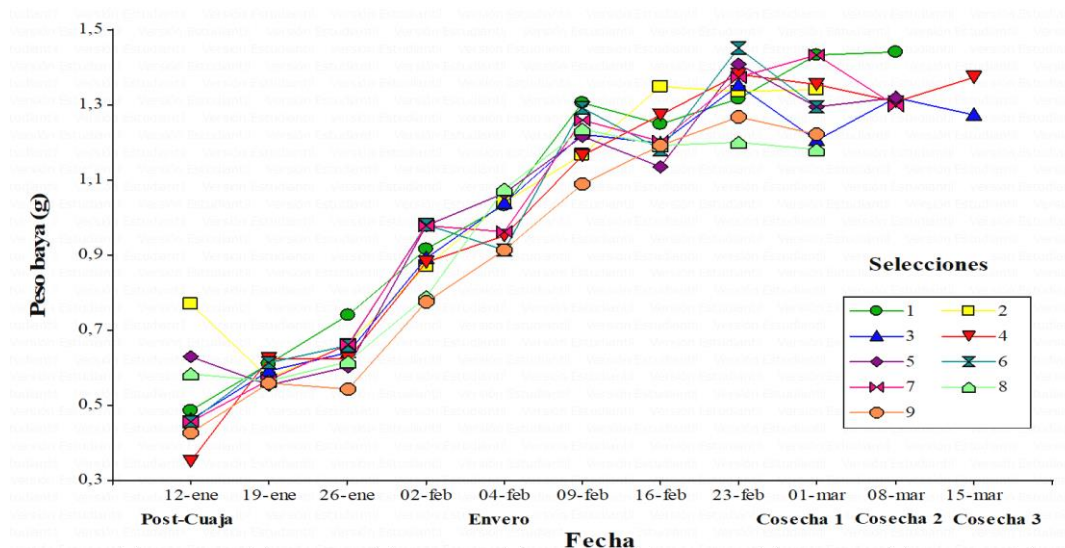
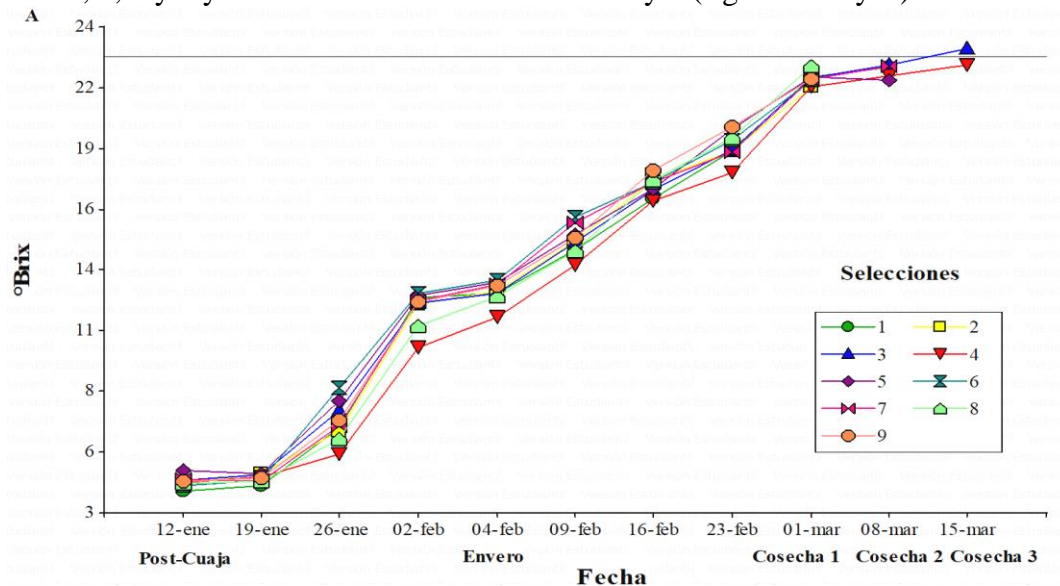


Figura 1. Evolución del peso de bayas evaluado semanalmente. “Post-cuaja” = 12 enero; “Envero”= 4 febrero; Cosecha 1= 1 marzo (selecciones 2, 6, 8 y 9); Cosecha 2= 8 marzo (selecciones 1,5 y 7); Cosecha 3= 15 marzo (selecciones 3 y 4).

Sólidos solubles

El azúcar presente en la baya en el momento de la cosecha será fundamental en las características del vino, determinando el porcentaje de alcohol a obtener durante la fermentación del mosto, ya que es la fuente de energía de *Saccharomyces cerevisiae*, principal levadura utilizada durante la fermentación (Jackson, 2014). Es por esto que en los vinos tintos se determina una concentración de 23°Brix como momento de cosecha (criterio de la viña) y así lograr aproximadamente 13 % vol. de alcohol probable. Las selecciones fueron cosechadas cuando los muestreos realizados por la viña determinaron 23°Brix o cercano. Sin embargo, las evaluaciones de la fruta cosechada mostraron en general valores menores, por ejemplo, las selecciones 2 y 5, cuyo promedio de valores no sobrepasa los 22 °Brix. Según las fechas de cosecha las selecciones más tempranas fueron las selecciones 2, 6, 8 y 9 y las más tardías las selecciones 3 y 4 (figuras 2 A y B).



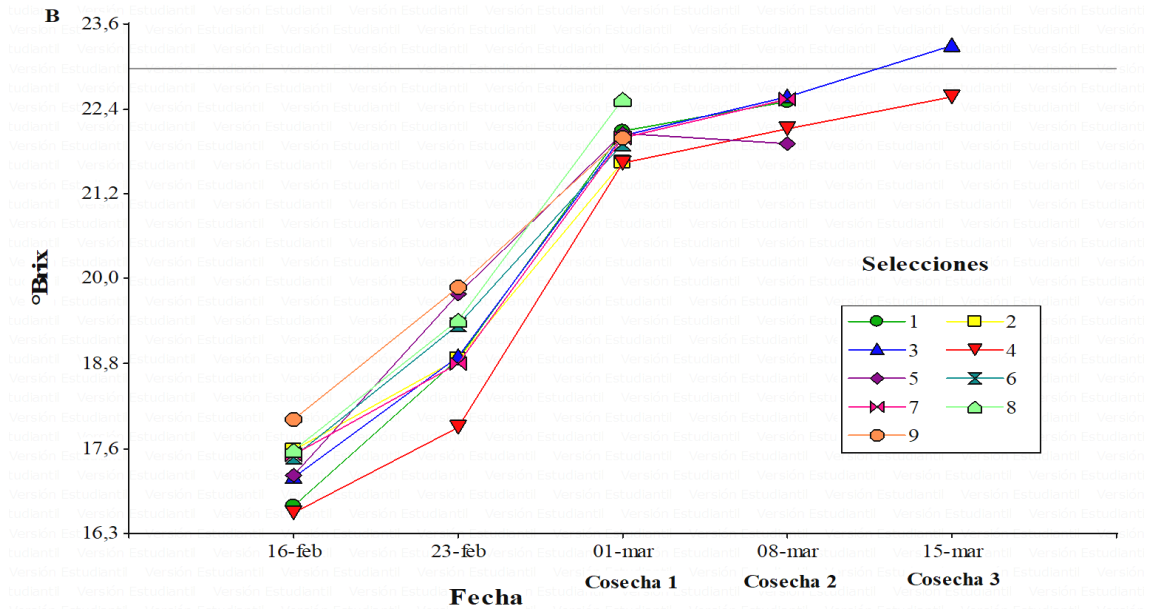


Figura 2, A y B. Evolución de los sólidos solubles de las distintas selecciones a lo largo de la temporada. A. Evolución sólidos solubles durante la temporada. B. Detalle sólidos solubles últimas cinco semanas de medición. “Post-cuaja”= 12 enero; “Envero”= 4 febrero; “Cosecha”1= 1 marzo (selecciones 2, 6, 8 y 9); “Cosecha” 2= 8 marzo (selecciones 1,5 y 7); “Cosecha” 3= 15 marzo (selecciones 3 y 4).

pH

Como lo muestra la Figura 3, el pH se comportó de manera esperable a lo largo de la temporada, aumentando hasta la fecha de madurez. Selecciones 4 y 1 presentan pH inferiores en etapas más avanzadas, no así las selecciones 5 y 7 que poseen valores más elevados de pH a madurez, a pesar de haber sido cosechadas con apenas una semana de diferencia. De todas formas, la diferencia entre las selecciones es mínima y no afecta el proceso enológico posterior, encontrándose los valores dentro del rango de 3,0 y 4,0 considerado adecuado para la fermentación y estabilidad del vino según Sims (1984).

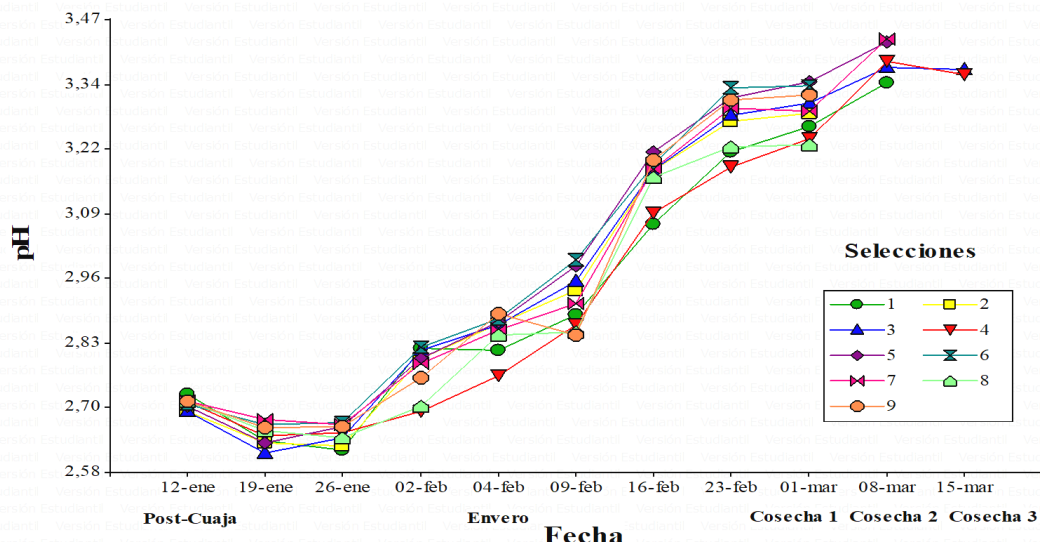


Figura 3. Evolución del pH de las distintas selecciones a lo largo de la temporada. “Post-cuaja”= 12 enero; Enero= 4 febrero; Cosecha 1=1 marzo (selecciones 2, 6, 8 y 9); Cosecha 2= 8 marzo (selecciones 1,5 y 7); Cosecha 3= 15 marzo (selecciones 3 y 4)

Acidez titulable

La acidez titulable se define como el número de protones recuperados durante una valoración de la muestra con una base fuerte (en este estudio por NaOH) a un punto final especificado (pH de 8,2) (Boulton, 1980). La acidez titulable fue disminuyendo en función al crecimiento y aumento de concentración de azúcares de la baya (Figura 4). La disminución de la acidez titulable puede ser explicada por la degradación y disminución del ácido málico en la madurez (Chervin, 2002; Ford 2012). Se observa variabilidad entre las selecciones en etapas tempranas, pero luego a cosecha la acidez se estabiliza entre 6,5 y 5 g L⁻¹, valores cercanos a lo mencionado por Burin (2011) en su estudio que caracterizó diferentes clones de “Cabernet Sauvignon”.

Al observar la Figura 4, la selección 7 es una selección de baja acidez titulable en el momento de la cosecha, al igual que la selección 3, que además tiene menor concentración de ácido málico independiente del método de medición (figuras 5 y 6). Además, esta selección, junto con la selección 4 fueron las últimas cosechadas en la temporada (Figura 2B). Sin embargo, la selección 4 tiene una acidez comparativamente más alta.

Las variables de concentración de sólidos solubles (TSS) (Figura 2 A y B) y acidez titulable (AT) (Figura 4), determinan el índice de madurez (MI =TSS/AT) que debe ser cercana a los 40 (Amerine et.al., 1980; Burin, 2011). De acuerdo con esto, la selección 3 tiene un alto índice de madurez, correspondiendo a una selección tardía de baja acidez y la selección 4, también tardía pero de acidez comparativamente alta, tiene relativamente un menor MI.

La selección 8, al compararla con el resto, es de mayor acidez (Figura 4) y fue de las primeras selecciones cosechadas con una concentración de azúcares cercana a los 23°Brix con un índice de madurez bajo, indicando que esta selección pudo cosecharse en los días posteriores.

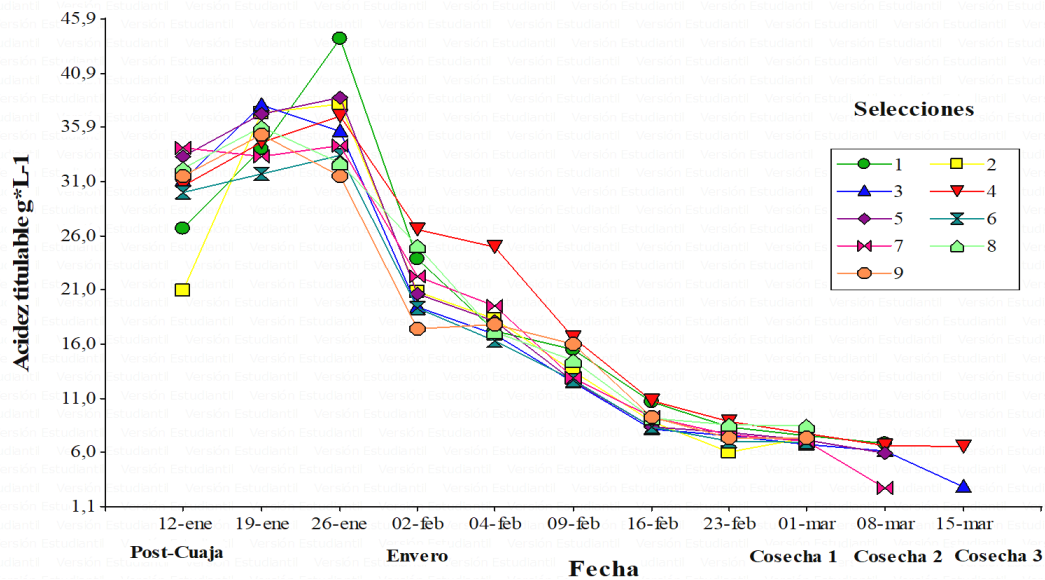


Figura 4. Evolución de la acidez titulable de las distintas selecciones a lo largo de la temporada. “Post-Cuaja”= 12 enero; Enero= 4 febrero; Cosecha 1=1 marzo (selecciones 2, 6, 8 y 9); Cosecha 2= 8 marzo (selecciones 1,5 y 7); Cosecha 3= 15 marzo (selecciones 3 y 4).

Acidez málica por método enzimático

La acidez málica fue medida semanalmente de acuerdo con lo explicado anteriormente en materiales y métodos, con un método enzimático utilizando un kit comercial (Biowine 300) que entrega valores de acidez málica expresada en gramos por litro⁻¹ (Figura 5). Se observa en general una evolución y variabilidad similares a la de acidez titulable, que se puede relacionar con la disminución del ácido málico que influye directamente en la acidez titulable (Chervin, 2012).

Al analizar los resultados obtenidos en la Figura 5, se observó que desde la fecha 26 de enero al 2 de febrero, la acidez málica disminuyó considerablemente su concentración, lo que indica que el 26 de enero ocurrió el envero y no el 4 de febrero como se determinó para los análisis.

La acidez málica a cosecha se mostró bastante pareja entre las selecciones, donde no destacó ninguna selección. No obstante, en muestreos previos, al observar las fechas cercanas al “envero” (4 de febrero), la selección 4 posee una acidez málica más alta que el resto, congruente a su acidez titulable (Figura 4), y con menor concentración de azúcares en las mismas fechas (Figura 2 A) y que luego, al mirar los valores de las mismas variables a cosecha, concluyen en que es una selección de alta acidez y tardía según su momento de cosecha con una concentración de azúcares cercana a los 23 °Brix.

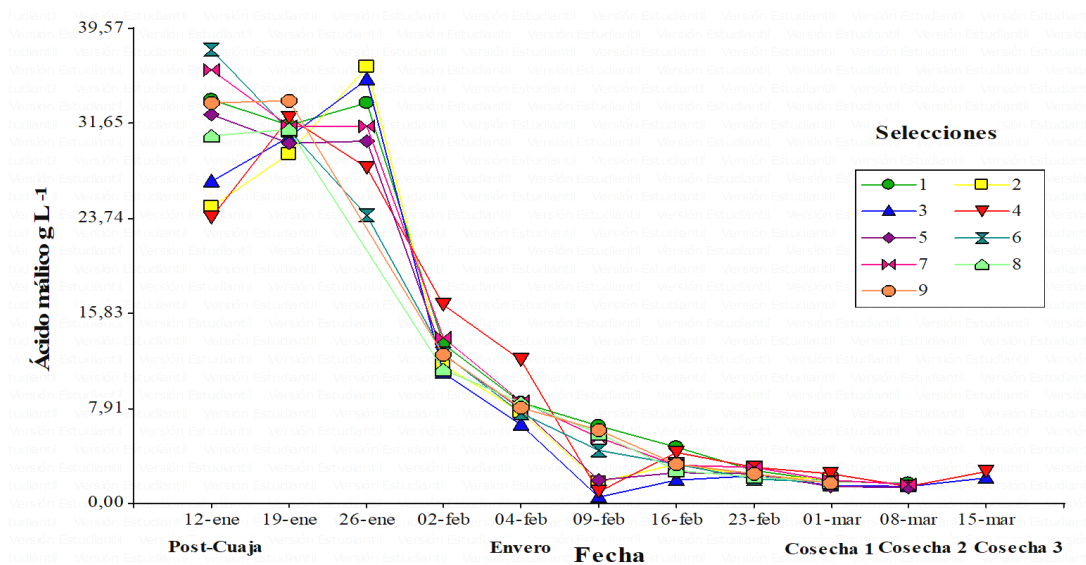


Figura 5. Evolución de la acidez málica medida por método enzimático de las distintas selecciones a lo largo de la temporada. “Post-cuaja”= 12 enero; “Envero”= 4 febrero; “Cosecha” 1= 1 marzo (selecciones 2, 6, 8 y 9); “Cosecha” 2= 8 marzo (selecciones 1,5 y 7); “Cosecha” 3= 15 marzo (selecciones 3 y 4)

Concentración de ácidos orgánicos evaluados por cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC)

De acuerdo con lo explicado en materiales y métodos, se obtuvo la concentración de los ácidos málico, tartárico y cítrico a partir del método de Pérez et al. (1997) realizado en el laboratorio de postcosecha del INIA y expresados, a partir de la estimación de contenido de ácidos detallado en materiales y métodos, en gramos por litro (g L^{-1}).

En la selección 2 en la fecha de cosecha no se presentan datos por pérdida de las muestras a evaluar. Sin embargo, de acuerdo con las variables anteriormente evaluadas, esta selección no destaca por sobre ninguna.

Acidez málica

En la Figura 6 se observa una disminución del ácido málico desde los primeros muestreos, es decir, entre la etapa establecida como “post cuaja” a “envero”, ambas etapas determinadas para todas las selecciones por igual. Sin embargo, es esperable que el ácido málico disminuya su concentración desde envero a madurez (Burin, 2011) en donde este ácido es degradado, entre otros factores, por la interceptación de luz y elevadas temperaturas (DeBolt, 2008) que llevan a una mayor respiración celular a medida que la baya va madurando (Ford, 2012).

En las figuras 4 y 5 se concluyó que el envero había ocurrido en los días cercanos al 26 de febrero, por lo que, para el momento del análisis de HPLC, y al observar la Figura 5, la acidez málica ya había comenzado a disminuir para el “envero” (4 de febrero). Esto indica que en el intervalo entre el 12 de enero y el 26 de enero la acidez málica pudo ser más alta. Para las selecciones 3 y 9, la acidez titulable (Figura 4) comienza a disminuir antes, por lo que su envero fue días previos al 26 de enero, explicando la drástica disminución de la concentración de ácido málico y posterior estabilización de este (Figura 6), que presentaron ambas selecciones durante la temporada.

La concentración de acidez málica que presenta la selección 4 es comparativamente más alta que otras selecciones (Figura 6) indicando en la figura 5 que su elevada acidez titulable se debe a su elevada concentración de ácido málico.

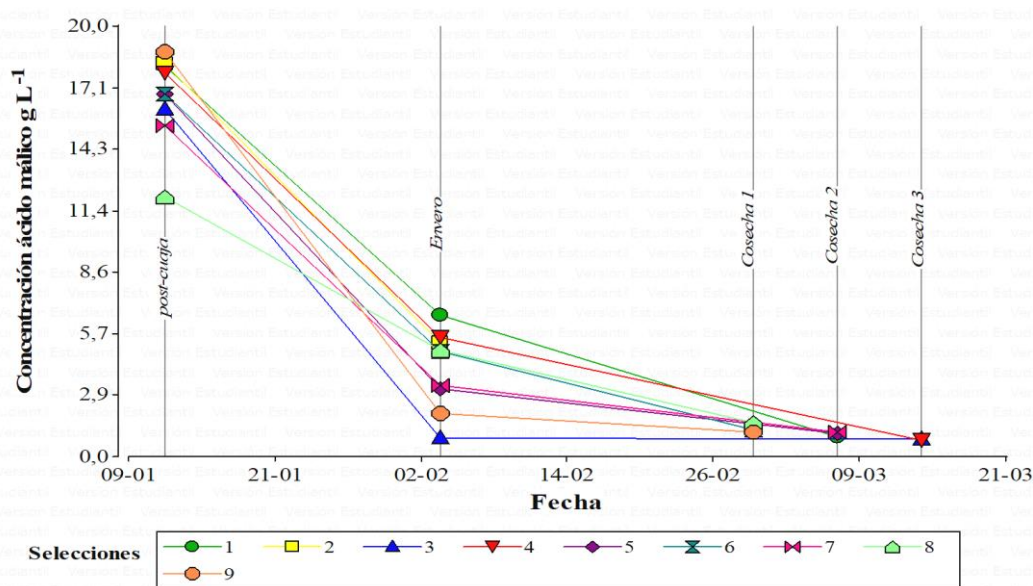


Figura 6. Acidez málica medida en tres etapas. Las etapas corresponden a: “Post-cuaja”, fecha 12-01-2016; Envero, fecha 04-02-2016; cosecha1, fecha 01-03-2016; cosecha 2, fecha 08-03-2016; cosecha 3, fecha 15-03-2016.

Contenido estimado de ácido málico en la baya

Al igual que la concentración de ácido málico, el contenido de este ácido disminuye desde envero a cosecha, como lo postuló Ford (2012). Al observar la Figura 7, y al igual que en la Figura 6, se observa una disminución drástica del contenido de ácido málico. En las selecciones 1 y 6 esta disminución fue menor y presentaron un contenido de ácido málico elevado entre “envero” a “cosecha”, pero finalmente, al ser cosechadas, no presentan diferencia aparente en el contenido de ácido málico al resto de las selecciones.

La selección 3, por su lado, presenta menor contenido de ácido málico en los muestreos de “envero” y se mantienen bajos a “cosecha”. En la Figura 4, esta selección se definió como una selección de baja acidez, debido a su evolución de acidez titulable en la temporada y posterior concentración de ácido málico (Figura 5) correspondiendo a una selección tardía (Figura 2) de baja acidez, presentando además menor contenido de ácido málico por baya que el resto de las selecciones (Figura 7).

Según Bettiga et al. (2003) aquellas variedades que tienden a una baja acidez no son aptas para climas cálidos, por lo que la selección 3 sería comparativamente más adecuada para el cultivo en climas templados fríos.

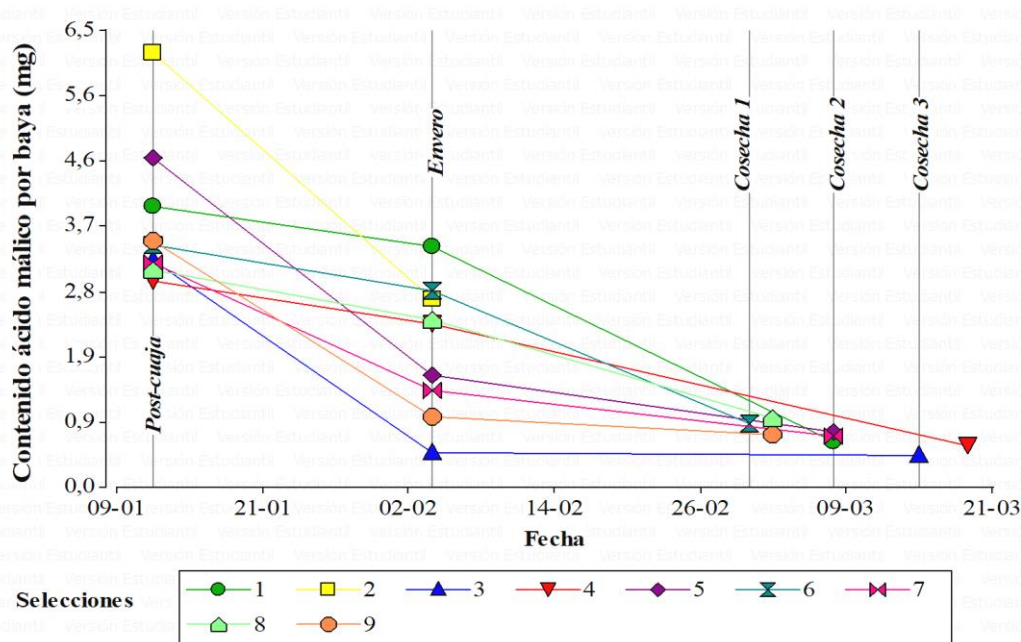


Figura 7. Contenido estimado de ácido málico en la baya en tres etapas. Las etapas corresponden a: “Post-cuaja”, fecha 12-01-2016; Envero, fecha 04-02-2016; “Cosecha” 1, fecha 01-03-2016; “Cosecha” 2, fecha 08-03-2016; “Cosecha” 3, fecha 15-03-2016.

Acidez tartárica

Según la literatura existente, Ford (2012) postula que el ácido tartárico comienza a acumularse hasta aproximadamente 45-50 días después de anthesis, y en general es estable en el tiempo, aunque existe evidencia de que con temperaturas sobre los 30°C disminuye, al igual que la interceptación de la luz que puede afectar su concentración (DeBolt, 2008). De igual manera el ácido tartárico se mantiene más estable a madurez que el ácido málico, tal como se puede observar en la Figura 8 donde los valores comienzan en el rango de 12-13 g L⁻¹, disminuyendo luego a “envero” con valores entre 3-4 g L⁻¹. Diakou (1997) evidenció que la concentración de este ácido comienza a disminuir desde envero alcanzando valores menores a 5g L⁻¹, donde las selecciones evaluadas se encontraron a madurez con valores cercanos a 2 g L⁻¹, siendo esta disminución de menor proporción que lo que disminuye el ácido málico.

La Figura 8 muestra que la concentración de este ácido fue distinto entre las selecciones evaluadas, al igual que el estudio de Burin (2011) quien determinó que el ácido tartárico se puede presentar muy distinto entre clones de la misma variedad.

Si bien algunas selecciones mostraron una disminución mayor hacia “envero” y luego estable a “cosecha” se puede explicar debido a que “envero” fue establecida para todas las selecciones por igual, donde pudo haber existido diferencias entre ellas.

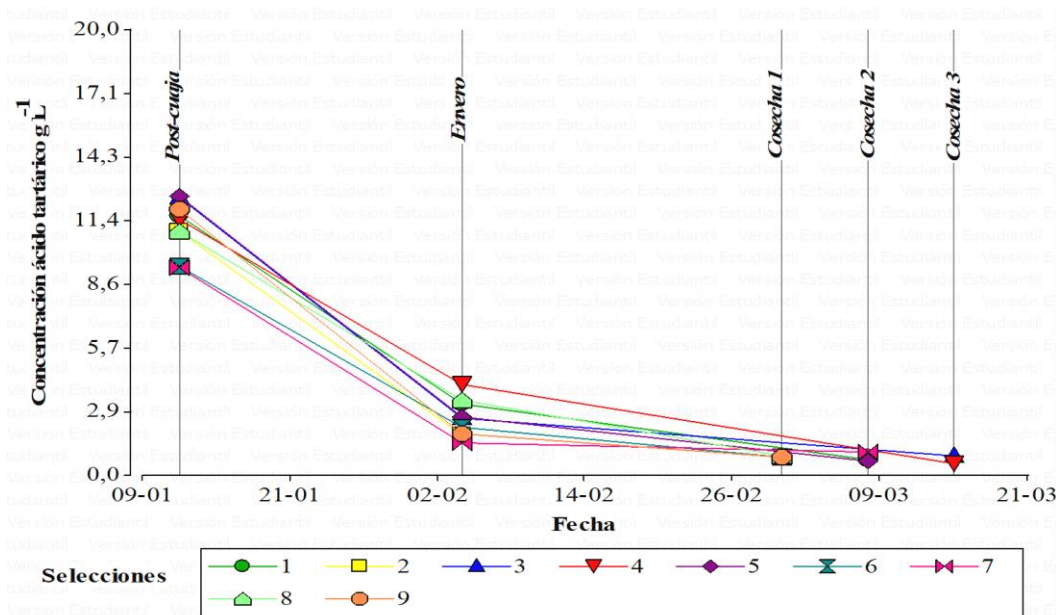


Figura 8. Acidez tartárica medida en tres etapas. Las fechas de cada etapa corresponden a: “Post -cuaja”, fecha 12-01-2016; “Envero”, fecha 04-02-2016; cosecha 1, fecha 01-03-2016; cosecha 2, fecha 08-03-2016; cosecha 3, fecha 15-03-2016.

Contenido estimado de ácido tartárico en la baya

En lo referente al contenido de ácido tartárico, estimado por la concentración obtenida por cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) y el peso estimado de baya medido semanalmente, se puede observar en la Figura 9, que el contenido de este ácido con referencia al ácido málico es menor. En general, el contenido de este ácido se presenta en mayor proporción en “post-cuaja” y va disminuyendo hacia “envero” para luego mantenerse relativamente estable hacia “cosecha”, tal como lo postuló Ford (2012).

La selección 7 tiende a tener un contenido de ácido tartárico por baya levemente mayor al resto de las selecciones a cosecha, no así la selección 4 cuyo contenido de este ácido por baya fue menor.

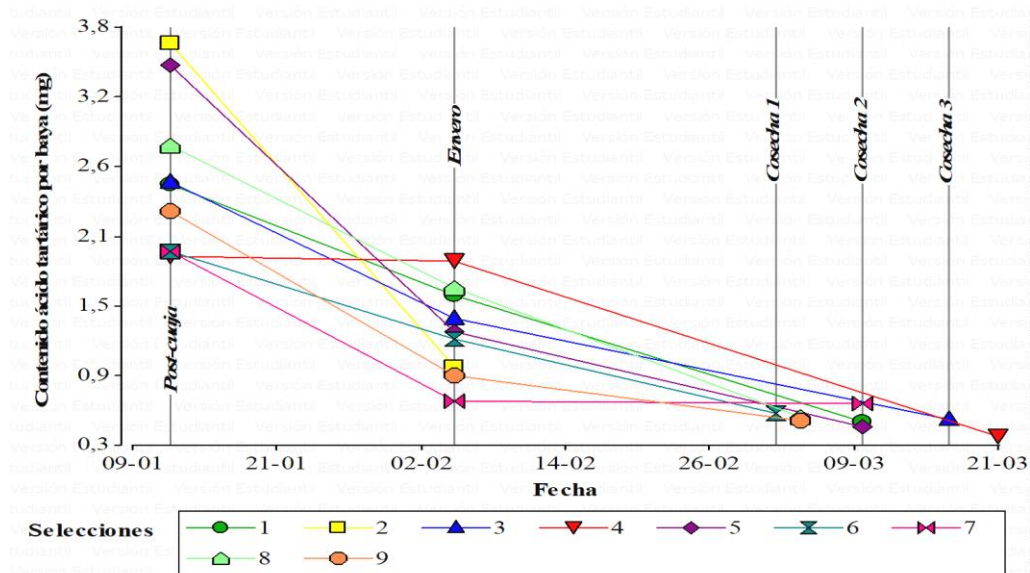


Figura 9. Contenido estimado de ácido tartárico en la baya en tres etapas. Las etapas corresponden a: “Post-cuaja”, fecha 12-01-2016; Enero, fecha 04-02-2016; cosecha1, fecha 01-03-2016; cosecha 2, fecha 08-03-2016; cosecha 3, fecha 15-03-2016.

Acidez cítrica

Según Diakou (1997) la concentración de ácido cítrico en ‘Cabernet Sauvignon’ presentará valores bajos, pudiendo aumentar desde post-cuaja a enero y luego disminuir a cosecha, valores que pueden estar en el rango de los 0,2 y 0,8 g L⁻¹ a cosecha. Existe evidencia de incluso en uva de mesa donde con menos concentración de azúcares y mayor acidez en donde la acidez cítrica presenta rangos no detectables (Muñoz-Robredo et.al., 2011).

En la Figura 10 se observa que los valores son muy por debajo del rango descrito, incluso la mayoría de las selecciones en los rangos cercanos a cero. Además, se observa que la acidez cítrica aumenta desde “post-cuaja” a “enero” y luego disminuye a “cosecha” por lo que algunas selecciones, como la selección 1, efectivamente se habrían encontrado cercano al enero fisiológico en el momento establecido, no así por ejemplo las selecciones 2 y 5 donde posiblemente el enero fue antes, como se postuló anteriormente en la Figura 6.

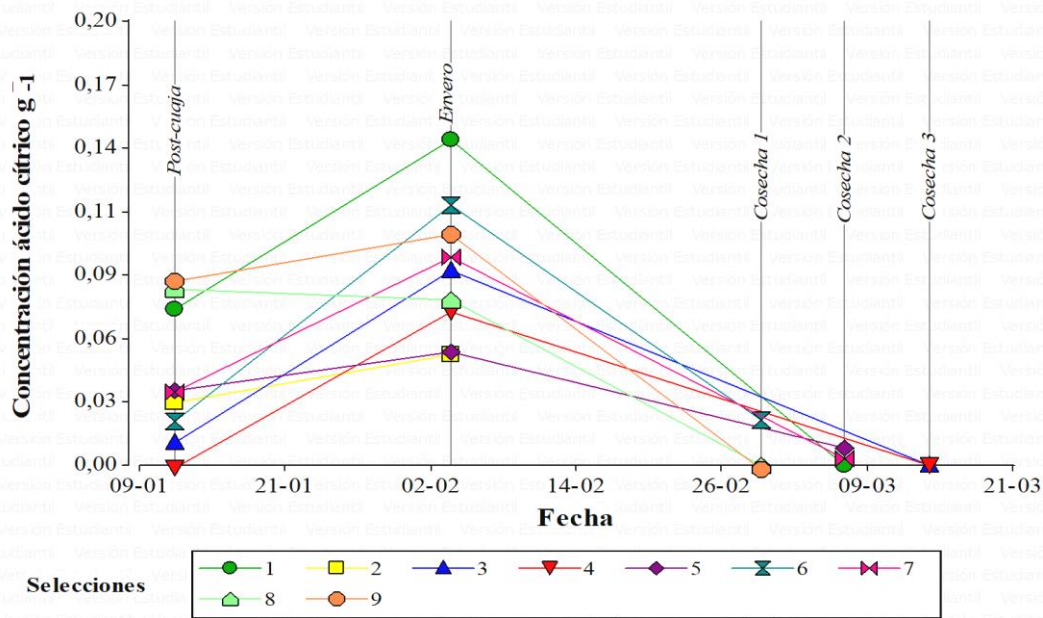


Figura 10. Acidez cítrica medida en tres etapas. Las fechas de cada etapa corresponden a: “Post-cuaja”, fecha 12-01-2016; “Envero”= Fecha 04-02-2016; Cosecha 1= Fecha 01-03-2016; Cosecha 2= Fecha 08-03-2016; Cosecha 3= Fecha 15-03-2016.

Contenido estimado de ácido cítrico en la baya

En la Figura 11, los valores de ácido cítrico en la baya que presentan las selecciones son bajos con respecto al contenido de los otros ácidos orgánicos. Estos valores aumentan desde “post-cuaja” a “envero” y luego disminuyen hacia el momento de “cosecha”.

Las selecciones 1 y 6, en general poseen mayor contenido de ácido cítrico en la baya, sobre todo en el momento de “envero”, no así las selecciones 2 y 5 cuyos contenidos fueron menores para esa fecha y posteriormente la selección 5 a cosecha mantuvo su contenido relativamente estable (Figura 11).

Al igual que en la Figura 10, las selecciones que destacan por su mayor contenido de ácido cítrico se encontraban probablemente en envero fisiológico, no así aquellas selecciones cuyo contenido es menor, donde el envero fisiológico pudo haber sido antes.

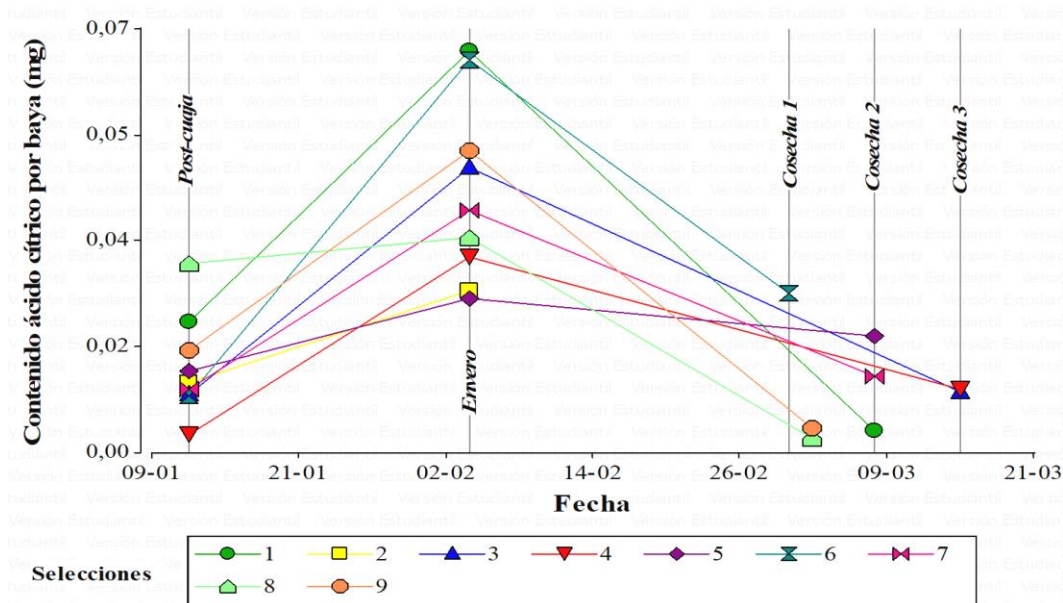


Figura 11. Contenido estimado de ácido cítrico en la baya en tres etapas. Las etapas corresponden a: “Post-cuaja”, fecha 12-01-2016; Envero, fecha 04-02-2016; “Cosecha” 1, fecha 01-03-2016; “Cosecha” 2, fecha 08-03-2016; “Cosecha” 3, fecha 15-03-2016.

Composición de la acidez en la baya

La composición de ácidos orgánicos fue estimada para las tres fechas correspondientes a “post-cuaja”, “envero” y “cosecha”, en donde se puede apreciar que en general las bayas están compuestas mayoritariamente por ácido málico. La composición es graficada con un gráfico de barras donde el eje X corresponde a las selecciones (promedio de tres grupos) evaluadas y el eje Y al valor máximo valor expresado en %, donde la suma de los tres ácidos orgánicos, graficados en las barras gris (ácido málico), gris oscuro (ácido tartárico) y negro (ácido cítrico), corresponde al 100%.

En las figuras 12, 13 y 14 se puede observar que en general las selecciones presentan alto porcentaje de ácido málico y tartárico y muy bajo de ácido cítrico, por lo que la composición de la acidez total estará representada por sobre el 90% por el ácido málico y tartárico.

Composición de la acidez en “post-cuaja”

La composición de la acidez en “post-cuaja” muestra que las selecciones están compuestas principalmente por ácido málico en esta fecha, correspondiendo a más del 50% de la acidez total (Figura 12).

En los gráficos de barra, que corresponden al promedio de las mediciones, se observa el error estándar para cada selección. En general se observa que el error estándar, para la mayoría de las selecciones, fue bajo, salvo la selección 8 que presenta un error estándar elevado. Esta misma selección 8 presenta una proporción de ácidos málico y tartárico pareja, ambas cercanas al 50%,

pero el error estándar muestra una fluctuación cercana al 10%.

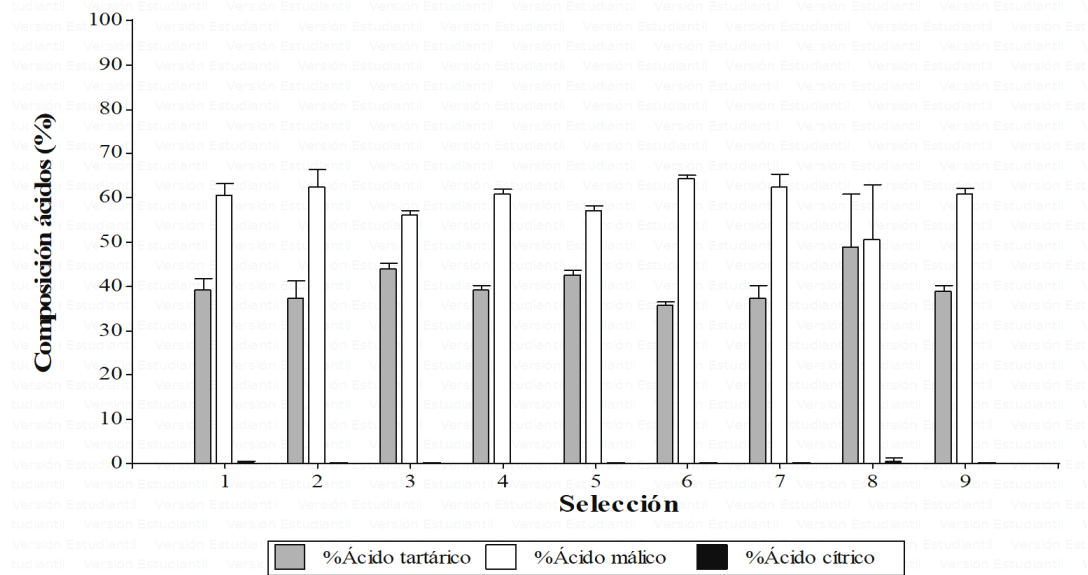


Figura 12. Composición de ácidos orgánicos en “post-cuaja” de cada selección.

Composición de la acidez en “envero”

La composición de la acidez en “envero” muestra que en esta fecha la composición fue variable entre selecciones. Por ejemplo, la proporción de ácido tartárico de la selección 3 es mayor que la del ácido málico, no así en la selección 6 donde el ácido málico sigue siendo mayor. Al observar los errores estándares de ambas selecciones se puede ver que la variabilidad de muestreo no fue tan alta como en otras selecciones, como por ejemplo la selección 1 y 7 donde se observa mayor variabilidad de muestreo (Figura 13) variando en casi un 10%.

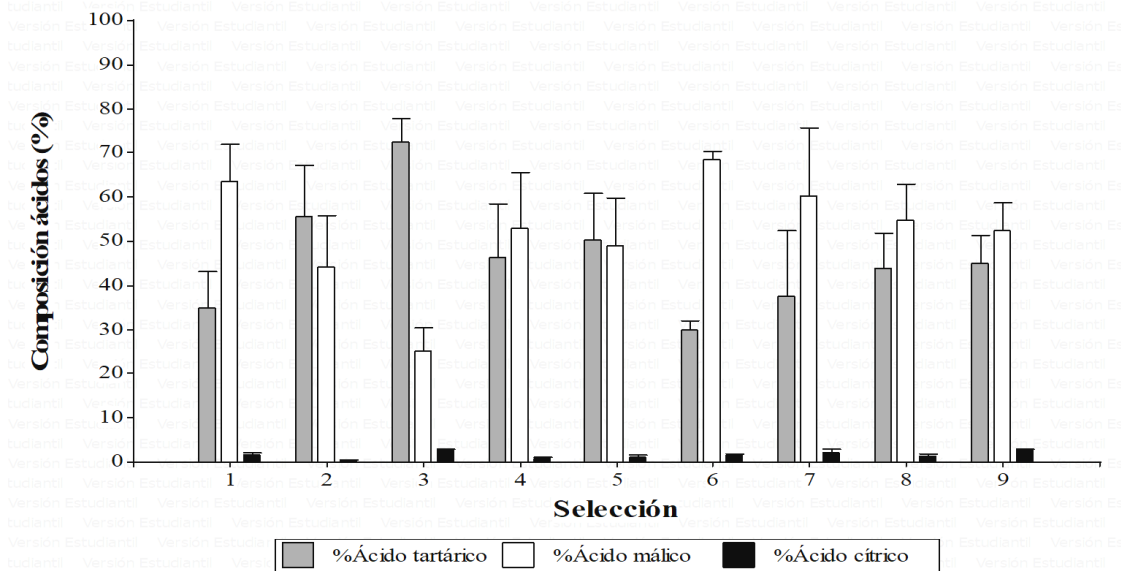


Figura 13. Composición de ácidos orgánicos en “envero” de cada selección.

Composición de la acidez en “cosecha”

Los resultados observados en la Figura 14 muestran que en esta fecha algunas selecciones presentan una composición similar en relación ácido málico y ácido tartárico, siendo de todas formas mayor la proporción de ácido málico. La selección 3 presenta menor porcentaje de ácido málico que las otras selecciones y además corresponde a una selección tardía de baja acidez. La selección 4 también es una selección tardía, pero con acidez más elevada que la selección 3, y a su vez presenta un mayor porcentaje de ácido málico.

La selección 8 posee alto porcentaje de ácido málico, sin embargo, también posee un error estándar elevado. Esta selección es temprana de acidez relativamente alta.

Las muestras de la selección 2 a cosecha se perdieron.

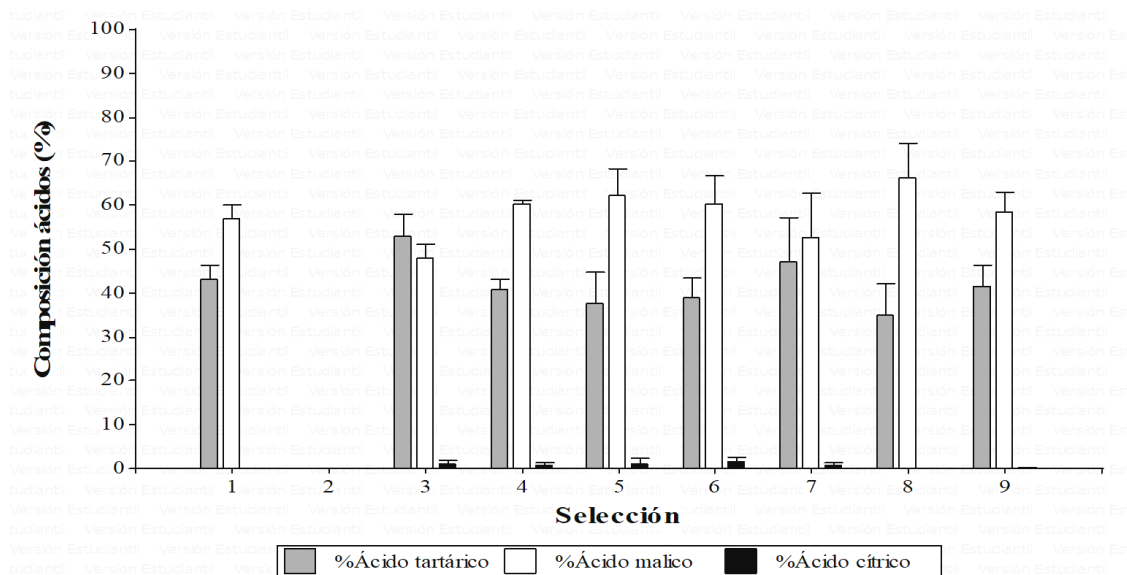


Figura 14. Composición de ácidos orgánicos en “cosecha” de cada selección.

Análisis de conglomerado

Con el objetivo de determinar selecciones similares considerando las variables evaluadas, se realizó un análisis de conglomerado por cada momento de medición. Dado a que las variables evaluadas están en diferentes unidades de medida, se procedió a estandarizar las variables.

El análisis de conglomerado permite agrupar las selecciones evaluadas por su conjunto de variables. Si es analizado en conjunto al análisis de componentes principales se puede afirmar que el gráfico Biplot puede acercarse a la agrupación entregada en un dendograma.

En la fecha “post-cuaja” se observan tres agrupaciones formadas con el dendograma, donde las selecciones 9 y 4 son las más parecidas entre sí uniéndose las selecciones 3, 5 y 1 formando estas 5 selecciones un gran grupo (Grupo A: verde). Luego las selecciones 6, 7 y 8 forman otro grupo (Grupo B: rojo) y finalmente la selección 2 por si sola forma el último grupo (Grupo C: azul) (Figura 15).

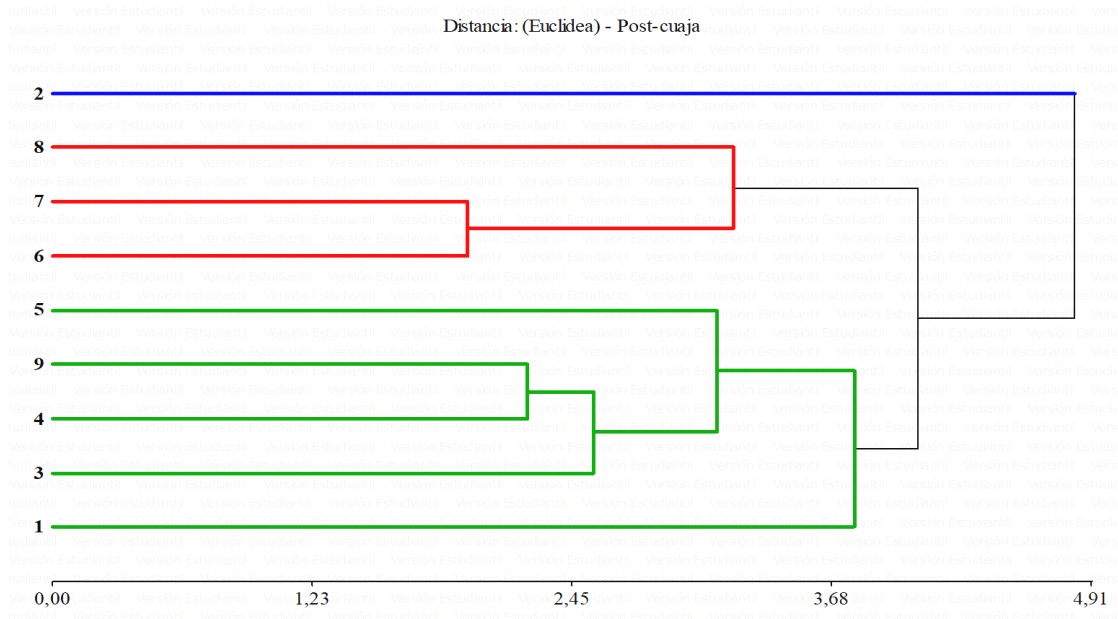


Figura 15. Dendrograma resultante del análisis de conglomerado obtenido a partir de la matriz de la distancia euclídea para la fecha “Post-cuaja”.

En la fecha “envero” las selecciones 1 y 8 representan a un grupo (Grupo A: verde), luego las selecciones 2, 5, 6, 7 y 9 forman un grupo (Grupo C: azul) y finalmente la selección 4 representa el último conglomerado y además el más alejado del resto de las selecciones según la distancia Euclídea, lo que indicaría que esta selección es diferente en ciertas variables que las otras selecciones para este momento (Grupo B: rojo) (Figura 16).

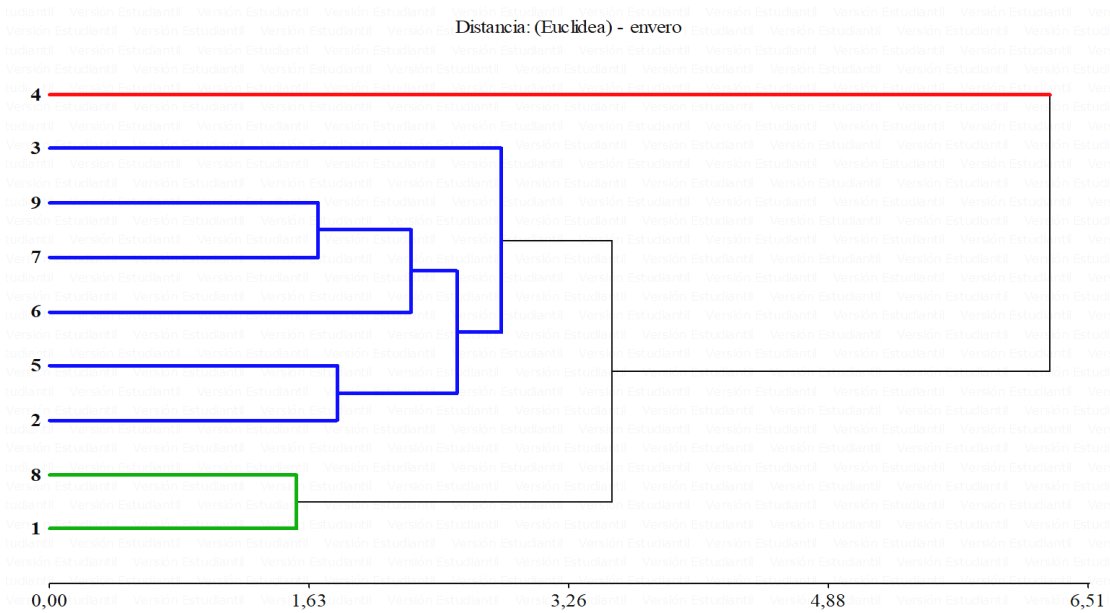


Figura 16. Dendrograma resultante del análisis de conglomerado obtenido a partir de la matriz de la distancia euclídea para la fecha “Envero”.

Finalmente, en la fecha “Cosecha” las selecciones 1, 3, 5, 6, 7, 9 forman un conglomerado (Grupo A: Verde). Luego la selección 8 representa otro conglomerado (Grupo B: rojo) y finalmente la selección 4 un último grupo (Grupo C: azul) (Figura 17).

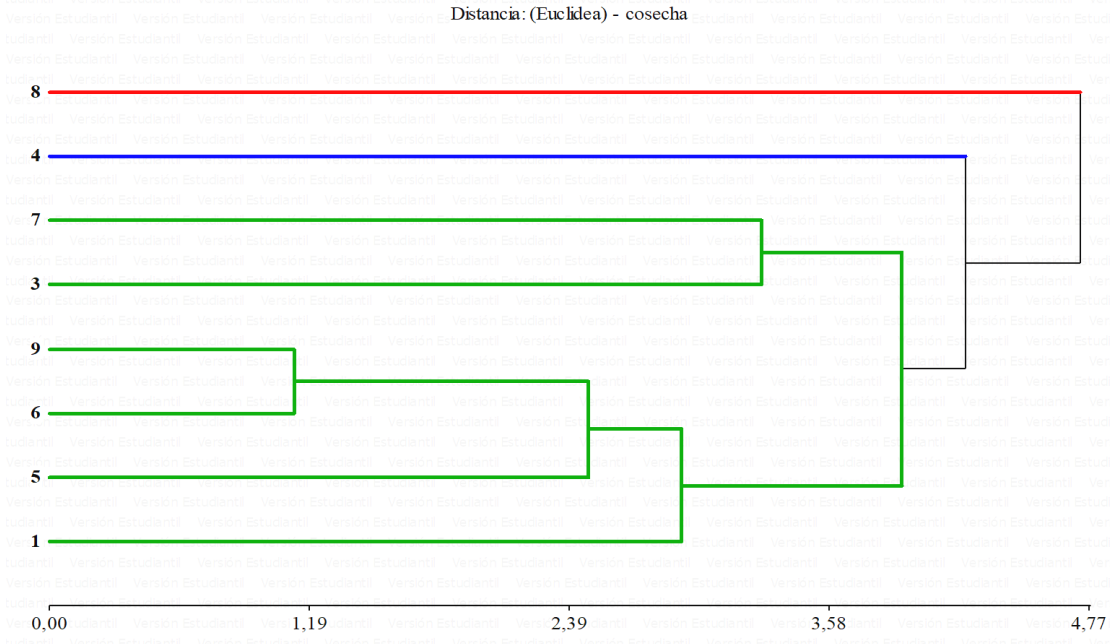


Figura 17. Dendrograma resultante del análisis de conglomerado obtenido a partir de la matriz de la distancia euclídea para la fecha “Cosecha”.

Análisis de componentes principales

La concentración de ácido málico por HPLC para este análisis fue transformada a contenido volumétrico según lo explicado en materiales y métodos, donde al determinar la composición en base a la acidez total, el ácido málico es porcentualmente mayor al ácido tartárico. Los resultados para las tres fechas medidas del análisis de componentes principales muestra que las variables acidez málica por HPLC y acidez total están correlacionadas, siendo estadísticamente significativas (Anexo 1, matriz de correlación “post-cuaja”, “envero” y “cosecha”).

En la Figura 18, el gráfico Biplot explica el 58,7% de la variabilidad de todos los datos entre sus dos ejes para la etapa determinada como “post-cuaja”. Debido a la distribución en el gráfico de las variables y las selecciones, la primera componente (CP1) explica el gráfico separando las variables acidez titulable, pH y ácido málico medido por método enzimático, de peso de baya, ácido tartárico por HPLC, ácido málico por HPLC y acidez total. Además, al observar la matriz de correlación (Anexo 1), se confirman ciertas correlaciones entre variables observadas también en el Biplot. Así, por ejemplo, las variables pH, ácido málico medido por método enzimático y acidez titulable se observan correlacionadas positivamente entre sí y negativamente con las variables peso de baya, ácido málico por HPLC, acidez total y ácido tartárico por HPLC, pero al observar sus valores de correlación y significancia, las únicas variables que presentan una correlación estadísticamente significativa son acidez málica HPLC y acidez total ($r=0,9$; $p\text{-valor}=0,001$). Por otro lado, la acidez málica por método enzimático y acidez málica por HPLC no presentan una correlación estadísticamente significativa, lo que puede explicarse por las diferencias entre los métodos de medición y por el hecho que no se utilizaron las mismas bayas para medir con ambos métodos. El contenido de azúcares expresado como el total de sólidos solubles (TSS) y la acidez titulable (AT) determinan el índice de madurez (TSS/AT) (Burin, 2011), el cual, en los primeros muestreos, es bajo para todas las selecciones, corroborándose en el ACP a través de la relación obtenida entre sólidos solubles y acidez titulable.

Al observar el Cuadro 1, que muestra la media de los tres grupos evaluados por selección con su respectivo error estándar, en este momento “post-cuaja” las selecciones presentan alta acidez y a su vez mayor ácido málico comparativamente a los siguientes momentos de medición. Por otro lado, la acidez málica determinada por método enzimático presenta un error estándar muy alto y variable, lo que explica en parte que la CP1 separe esta variable del ácido málico HPLC (Figura 15).

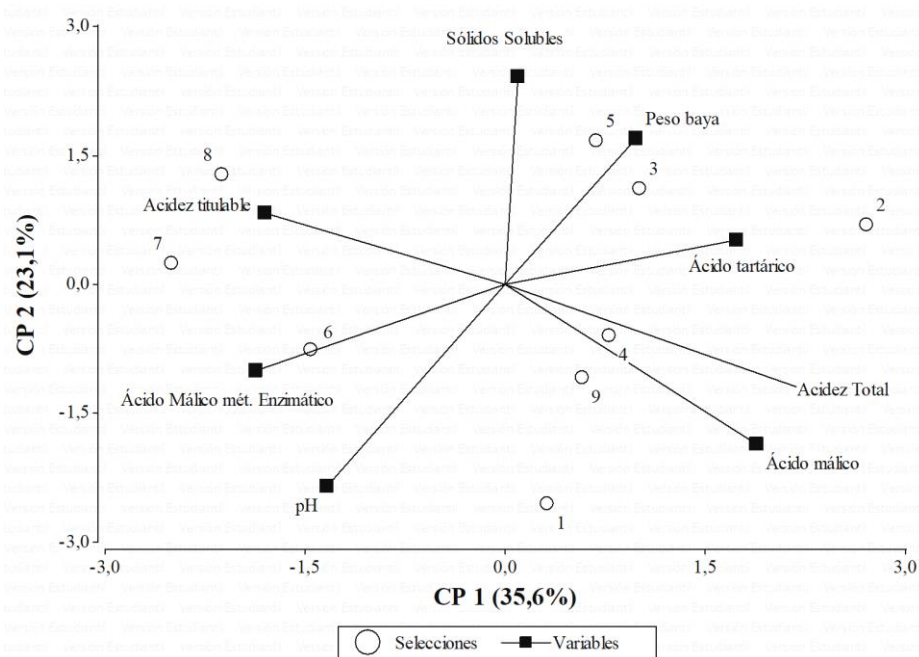


Figura 18. Biplot del Análisis de componentes principales en “Post-Cuaja”, fecha 12-01-2016. Cuadrados negros corresponden a variables medidas: Peso de baya, ácido málico HPLC, pH, ácido málico medido por método enzimático, acidez titulable, sólidos solubles, acidez total y acidez tartárica HPLC. Círculos blancos corresponde a las selecciones evaluadas (1-9)

Los grupos entregados en el análisis de conglomerado (Figura 15) son confirmados en el biplot de la Figura 18, formando los mismos grupos antes definidos.

Grupo A: Formado por las selecciones 1, 3, 4, 5 y 9, donde las selecciones 9 y 4 se encuentran más cercanas entre sí, presentado similitudes entre las variables evaluadas como concentración de ácido málico HPLC. Luego, en el dendograma, se les unen las selecciones 3, 5, y 1. Al observar el Biplot (Figura 18) estas selecciones se encuentran cercanas hacia las variables acidez málica por HPLC, ácido tartárico HPLC, acidez total y peso de baya y más alejadas de las variables acidez titulable, ácido málico por método enzimático y pH.

Grupo B: Formado por las selecciones 6, 7 y 8 que presentan una acidez titulable y acidez málica determinada por método enzimático mayor que el resto de las selecciones (Cuadro 1). Estas selecciones se encuentran hacia la izquierda de la CP1 en el gráfico Biplot, cercanas a las variables acidez titulable, ácido málico por método enzimático y pH (Figura 18).

Grupo C: Formado por la selección 2 que se presenta cercanía hacia las variables acidez málica por HPLC, ácido tartárico HPLC, acidez total y peso de baya, alejada del resto de las selecciones (Figura 18). Al analizar el cuadro 1, esta selección fue variable en sus muestreos y presenta una acidez titulable y una concentración de ácido málico determinado por método enzimático menor que el resto de las selecciones.

Cuadro 1. Medias de variables de la fruta de selecciones de ‘Cabernet Sauvignon’, Totihue, 12 enero 2016

Medias muestras evaluadas y error estándar								
Sel.	Ácido málico met. enzimático	Ácido málico HPLC	Ácido tartárico HPLC	Acidez total	Acidez titulable	Peso Baya	Sólidos solubles	pH
	-----g L ⁻¹ -----					---g---	---°Brix-	
1	33,6 ±2,6	18,1 ±1,3	11,6 ±0,7	29,8 ±1,4	26,6 ±2,2	0,5 ±0,1	3,8 ±0,1	2,7 ±0
2	24,7 ±2,2	18,2 ±1,6	10,9 ±1,2	29,2 ±1,8	20,9 ±0,7	0,7 ±0,1	4,2 ±0,1	2,7 ±0
3	26,8 ±1,8	16,1 ±2,8	12,4 ±1,5	28,6 ±4,3	31,0 ±2,8	0,4 ±0,1	4,3 ±0,1	2,7 ±0
4	23,8 ±1,7	17,8 ±0,8	11,4 ±1,0	29,2 ±1,8	30,5 ±1,2	0,3 ±0,1	4,2 ±0,1	2,7 ±0
5	32,4 ±5,0	16,8 ±0,4	12,5 ±0,6	29,4 ±1,0	33,2 ±0,7	0,6 ±0,1	4,8 ±0,1	2,7 ±0
6	37,7 ±1,8	16,8 ±0,4	9,40 ±0,4	26,2 ±0,7	29,9 ±1,2	0,5 ±0,1	4,1 ±0,1	2,7 ±0
7	36,1 ±2,2	15,3 ±0,2	9,30 ±1,1	24,6 ±1,2	34,0 ±3,1	0,5 ±0,1	4,4 ±0,1	2,7 ±0
8	30,6 ±4,2	12,0 ±3,6	10,9 ±2,3	23,0 ±3,8	32,1 ±0,2	0,6 ±0,0	4,2 ±0,1	2,7 ±0
9	33,3 ±1,1	18,8 ±1,6	11,9 ±0,6	30,7 ±2,1	31,4 ±0,7	0,5 ±0,1	4,3 ±0,0	2,7 ±0

En la Figura 19, el gráfico Biplot explica el 77,7% de la variabilidad de todos sus datos entre sus dos ejes para la etapa determinada como “envero”. La primera componente (CP1) separa las variables pH y sólidos solubles de ácido málico medido por método enzimático, ácido tartárico por HPLC, ácido málico por HPLC, acidez titulable. Al analizar la matriz de correlación para esta fecha (Anexo 2) resulta que existen correlaciones tanto positivas como negativas y que son estadísticamente significativas. Por ejemplo, las variables pH y sólidos solubles se encuentran correlacionadas positivamente entre sí ($r=0,82$; $p\text{-valor}=0,0014$) y ambas variables tienen una correlación negativa con la variable acidez málica determinada por método enzimático (pH: $r=-0,87$; $p\text{-valor}=0,0006$; sólidos solubles: $r=-0,79$; $p\text{-valor}=0,018$), es decir, a medida que el pH y la concentración de azúcares aumenta, la concentración de acidez málica, determinada por método enzimático, disminuye.

Nuevamente se obtiene una correlación positiva entre la variable de acidez málica por HPLC y acidez total ($r=0,93$; $p\text{-valor}=0,003$). Esta correlación es esperable, ya que la acidez total corresponde a la suma de los ácidos málico, tartárico y cítrico.

En el Cuadro 2 se observan las medias de los grupos evaluados por selección con su respectivo error estándar. Destacan diferencias en la acidez de las selecciones, presentando gran variabilidad de muestreo para la acidez málica por HPLC y por ello también, de la acidez total. La selección 3 tiene una menor acidez general que el resto de las selecciones para esta fecha, tanto para los ácidos orgánicos como en la acidez titulable.

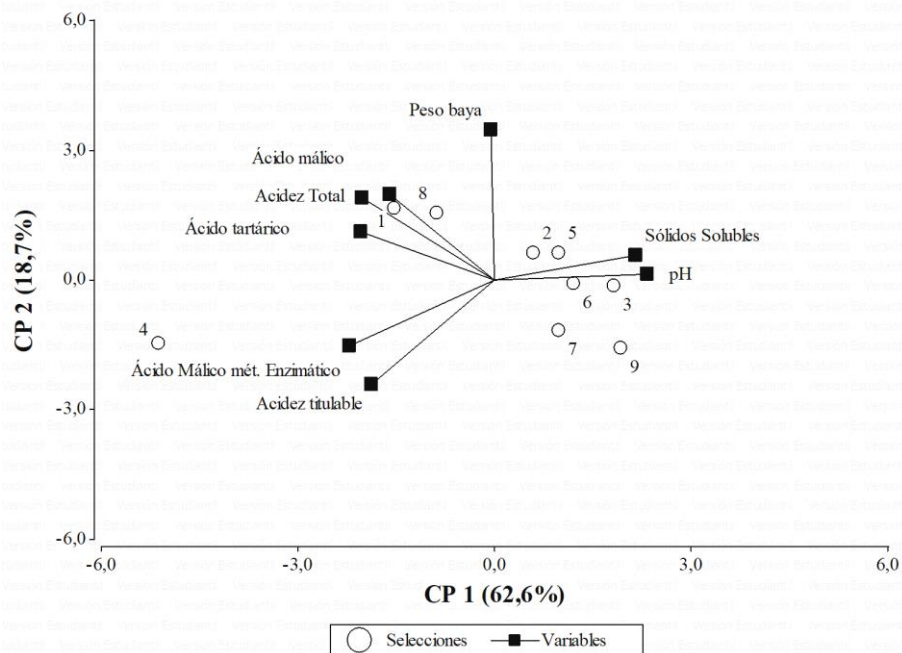


Figura 19. Análisis de componentes principales en “Envero”, fecha 04-02-2016. Cuadrados negros corresponde a variables medidas: Peso de baya, ácido málico HPLC, pH, ácido málico medido por método enzimático, acidez titulable, sólidos solubles y acidez tartárica HPLC. Círculos blancos corresponde a las selecciones evaluadas (1-9).

Los grupos formados en el análisis de conglomerado (Figura 16) se confirman en el biplot de la Figura 19, formando 3 agrupaciones diferenciadas

Grupo A: Conformado por las selecciones 1 y 8. Estas selecciones se encuentran muy cercanas a las variables ácido málico y tartárico por HPLC, y por lo mismo a acidez total (Figura 19). Ambas selecciones presentan medias relativamente más altas que el resto de las selecciones para las variables antes mencionadas (Cuadro 2).

Grupo B: Conformada por la selección 4. Esta selección se encuentra cercana a las variables ácido málico medido por método enzimático y acidez titulable, y alejada de sólidos solubles y pH (figura 19). Al observar la Figura 2 (a y b) la selección 4 posee una menor concentración de azúcares en envero que el resto de las selecciones y mayor acidez titulable y concentración de ácido málico determinado por método enzimático (figuras 4 y 5).

Grupo C: Conformada por las selecciones 2, 3, 5, 6, 7 y 9. En dendograma agrupa a las selecciones 2 y 5, y luego 7 y 9 como las más parecidas entre ellas, luego uniéndose la selección 6 y finalmente la selección 3 (Figura 16). Al observar el Biplot (Figura 19) este grupo de selecciones se encuentra a la derecha de la CP1, hacia las variables sólidos solubles y pH. Además, al analizar su cuadro de medias (Cuadro 2) estas selecciones presentan valores similares. Las pequeñas diferencias en sus medias se pueden apreciar en el biplot donde por ejemplo la selección 6 presenta mayor concentración de azúcares que la selección 9.

Cuadro 2. Medias de variables de la fruta de selecciones de ‘Cabernet Sauvignon’, Totihue, 4 de febrero 2016

Medias muestras evaluadas y error estándar								
Sel.	Ácido málico mét. enzimático	Ácido málico HPLC	Ácido tartárico HPLC	Acidez total	Acidez titulable	Peso Baya	Sólidos solubles	pH
	-----g L ⁻¹ -----					--g--	--°Brix--	
1	8,4 ±0,1	6,5 ±1,7	3,2 ±0,1	9,8 ±1,6	17,1 ±1,4	1,0 ±0,02	12,6 ±0,2	2,82 ±0,01
2	7,5 ±0,3	5,2 ±3,5	1,8 ±0,6	6,4 ±3,0	18,2 ±1,4	1,0 ±0,06	12,6 ±0,1	2,87 ±0,01
3	6,5 ±0,5	0,8 ±0,2	2,5 ±0,4	3,4 ±0,4	16,9 ±0,7	1,0 ±0,04	12,6 ±0,3	2,87 ±0,01
4	11,9 ±0,5	5,5 ±1,9	4,1 ±0,3	9,6 ±1,6	24,9 ±0,5	0,9 ±0,09	11,5 ±0,2	2,77 ±0,01
5	7,9 ±1,0	3,1 ±1,4	2,6 ±0,1	5,7 ±1,3	18,0 ±1,5	1,0 ±0,02	13,0 ±0,2	2,87 ±0,02
6	7,5 ±0,4	4,8 ±0,2	2,1 ±0,1	7,0 ±0,3	16,2 ±0,2	1,0 ±0,03	13,1 ±0,3	2,88 ±0,04
7	8,5 ±0,5	3,3 ±1,4	1,4 ±0,3	4,8 ±1,5	19,5 ±1,0	0,9 ±0,05	12,9 ±0,2	2,86 ±0,03
8	8,4 ±0,1	4,9 ±1,8	3,3 ±0,8	8,3 ±2,5	17,1 ±0,8	1,0 ±0,02	12,4 ±0,2	2,85 ±0,02
9	7,9 ±0,4	2,0 ±0,1	1,8 ±0,5	3,8 ±0,6	17,8 ±0,3	0,9 ±0,06	12,9 ±0,3	2,89 ±0,01

En la Figura 20, el gráfico Biplot explica el 76,9% de la variabilidad de todos sus datos entre sus dos ejes para la etapa general determinada como cosecha. La primera componente (CP1) separa las variables acidez titulable, ácido tartárico por HPLC y ácido málico por HPLC de ácido málico medido por método enzimático, sólidos solubles, peso de baya y pH. Por ejemplo, las variables ácido tartárico por HPLC, ácido málico por HPLC, acidez titulable y acidez total se encuentran correlacionadas positivamente entre sí y negativamente con las variables ácido málico medido por método enzimático, sólidos solubles, peso de baya y pH. Al analizar su matriz de correlación (Anexo 3) se observa que las variables peso de baya y acidez total y las variables pH y acidez titulable se encuentran correlacionadas negativamente (Peso baya/acidez total: $r=-0,71$; p -valor=0,04; pH/ ac.titulable: $r=-0,72$; p -valor=0,04) es decir, a medida que aumente el peso de la baya y el pH de ésta, la acidez titulable disminuye y así también lo hace la acidez total que representa el total de ácidos orgánicos evaluados.

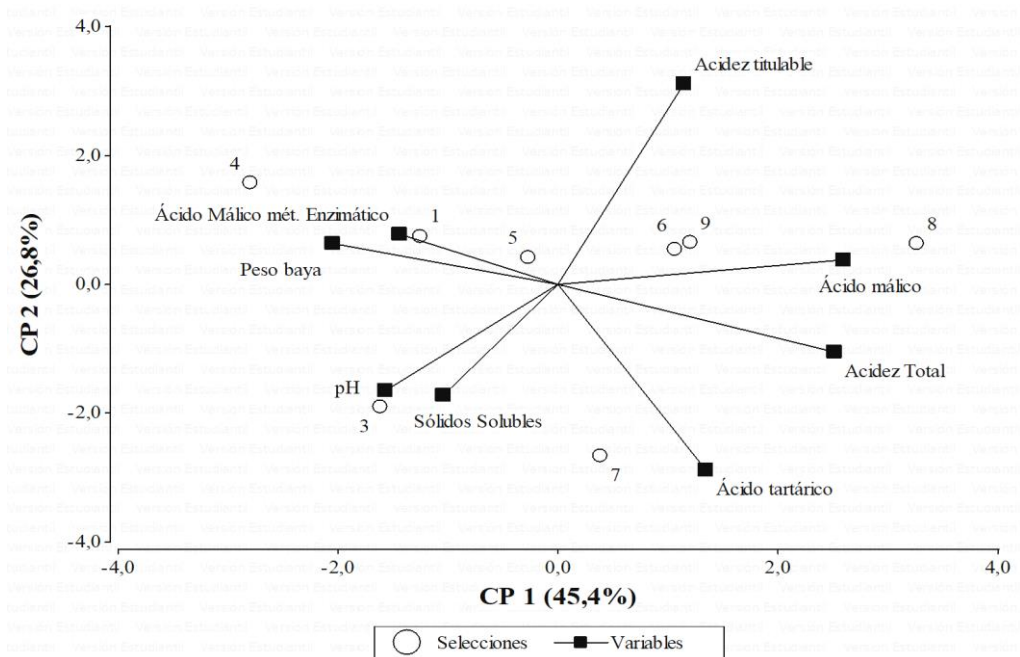


Figura 20. Análisis de componentes principales en “cosecha”, fechas diferenciadas donde selecciones 2,6,8 y 9 fueron cosechadas en la semana 9 de evaluación (01-03-2016) luego en la semana 10 de evaluación (08-03-2016) se cosecharon las selecciones 1, 5 y 7 y finalmente, en la semana 11 (15-03-2016) se cosecharon las selecciones 3 y 4. Cuadrados negros corresponde a variables medidas: Peso de baya, ácido málico HPLC, pH, ácido málico medido por método enzimático, acidez titulable, sólidos solubles y acidez tartárica HPLC. Círculos blancos corresponde a las selecciones evaluadas (1-9)

Al igual que en las fechas anteriores, el ácido málico por HPLC y la acidez total muestran una correlación positiva esperable debido a lo que representa en la acidez total (suma de los tres ácidos orgánicos evaluados) ($r=0,9$; $p\text{-valor}=0,021$) (Anexo 3).

En este momento de medición la variabilidad de muestreo de cada selección disminuye y finalmente se observan diferencias entre selecciones. La selección 3 por fecha de cosecha, fue una selección tardía, pero que junto a la selección 7 presentan menor acidez en general, no así por ejemplo la selección 8 que presenta una acidez en general mayor, pero corresponde a una selección cosechada de las primeras en la temporada, por su concentración de azúcares.

Los grupos formados en el análisis de conglomerado (Figura 17) se confirman en el biplot de la figura 20, formando 3 agrupaciones diferenciadas.

Grupo A: Este conglomerado lo forman las selecciones 1, 3, 5, 6, 7 y 9. En el dendograma se observa que las selecciones 6 y 9 son las más cercanas entre sí, luego se le unen la selección 5 y 1 por separado, y finalmente las selecciones 3 y 7, que entre ellas son más cercanas (Figura 17). Al observar el gráfico Biplot (Figura 20) las selecciones 6 y 9 son las más cercanas entre sí, encontrándose entre las variables acidez titulable y ácido málico por HPLC. Luego las selecciones 1 y 5 están más cercanas entre ellas y a las variables ácido málico determinado por método enzimático. Finalmente, el Biplot muestra a las selecciones 3 y 7 distantes entre sí, donde la

selección 3 es cercana a la variable pH y sólidos solubles y la selección 7 está más cercana a ácido tartárico que a sólidos solubles.

Grupo B: Conglomerado formado por la selección 8, siendo la selección más distinta al resto según el dendograma (Figura 17). Al observar el gráfico Biplot (Figura 20) la selección 8 se encuentra cercana al ácido málico por HPLC, hacia la derecha del gráfico separado por la CP1. Las medias de esta selección (Cuadro 3) muestran que esta selección tiene mayor concentración de ácido málico por HPLC y acidez total que el resto de las selecciones. Según el gráfico 2 (a y b) esta selección fue cosechada de las primeras en la temporada, correspondiendo a una selección temprana de alta acidez.

Grupo C: Conglomerado formado por la selección 4, que contrario a la selección 8 se encuentra más cercana al grupo A (Figura 17). El gráfico de Biplot muestra a la selección 4 hacia la izquierda de la CP1, cercana a las variables ácido málico determinado por método enzimático y al peso de la baya (Figura 20). De acuerdo con las medias de esta selección (Cuadro 3) su acidez málica medida por método enzimático es mayor que las otras selecciones, pero presenta una acidez total (que corresponde a la suma de los ácidos málico, tartárico y cítrico medidos por HPLC) menor en comparación que la selección, por lo que explica que en el gráfico Biplot, ambas se encuentren en ambos extremos del gráfico. Por lo demás esta selección corresponde a la una selección tardía según su concentración de azúcares (Figura 2 a y b) de relativamente alta acidez.

Cuadro 3. Medias de variables de la fruta de selecciones de ‘Cabernet Sauvignon’, Totihue, “Cosecha” 1: 1 marzo 2016, “Cosecha” 2: 8 marzo 2016, “Cosecha” 3: 15 marzo 2016

Medias muestras evaluadas y error estándar								
Sel.	Ácido málico mét. enzimático	Ácido málico HPLC	Ácido tartárico HPLC	Acidez total	Acidez titulable	Peso baya	Sólidos solubles	pH
	-----g L ⁻¹ -----				---g---	--°Brix--		
1	1,7 ±0,1	0,9 ±0,05	0,7 ±0,08	1,6 ±0,08	6,8 ±0,2	1,4 ±0,05	22,5 ±0,4	3,3 ±0,02
2	2,0 ±0,1	sd*	sd*	sd*	7,4 ±0,3	1,3 ±0,01	21,6 ±0,2	3,3 ±0,01
3	2,1 ±0,1	0,8±0,07	0,9 ±0,10	1,6 ±0,20	2,8 ±0,0	1,2 ±0,04	23,3 ±0,5	3,3 ±0,06
4	2,6 ±0,1	0,8 ±0,08	0,5 ±0,03	1,3 ±0,10	6,5 ±0,1	1,3 ±0,04	22,6 ±0,1	3,3 ±0,01
5	1,3 ±0,1	1,1 ±0,10	0,6 ±0,10	1,7 ±0,10	6,0 ±0,0	1,3 ±0,05	21,9 ±0,3	3,4 ±0,01
6	1,7 ±0,1	1,2 ±0,10	0,8 ±0,10	2,0 ±0,10	6,9 ±0,4	1,3 ±0,06	21,9 ±0,1	3,3 ±0,01
7	1,5 ±0,1	1,1 ±0,10	1,0 ±0,30	2,2 ±0,10	2,7 ±0,0	1,3 ±0,06	22,5 ±0,0	3,4 ±0,01
8	1,7 ±0,2	1,5 ±0,20	0,8 ±0,20	2,4 ±0,30	8,4 ±0,7	1,1 ±0,04	22,5 ±0,2	3,2 ±0,02
9	1,7 ±0,0	1,1 ±0,20	0,8 ±0,10	1,9 ±0,20	7,3 ±0,2	1,2 ±0,10	22,0 ±0,3	3,3 ±0,03

*sd= Sin datos

Correlación entre distintos métodos de medición de acidez málica

Se realizó un análisis de correlación independiente de las selecciones evaluadas entre los distintos métodos de medición de acidez málica, es decir, entre método de obtención de concentración de acidez málica por método enzimático (Biowine 300, Biolan, ES) y método de concentración de acidez málica por cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC).

La correlación entre las variables fue evaluada en los tres momentos determinados como “post-cuaja”, “envero” y “cosecha” donde se observa una gran dispersión de los datos generales ya que no muestra ni medias ni selecciones. Al analizar los tres momentos por si solos se observa que no hubo correlación entre ambos métodos. Sin embargo, al evaluar todos los datos sin discriminar por fecha, se obtuvo una correlación positiva y estadísticamente significativa (Figura 24).

En la Figura 21 se puede observar que en las evaluaciones realizadas en “post cuaja”, independiente de las selecciones evaluadas, las variables acidez málica por HPLC y acidez málica por método enzimático no presentaron una correlación lineal estadísticamente representativa ($r=0,12^{ns}$).

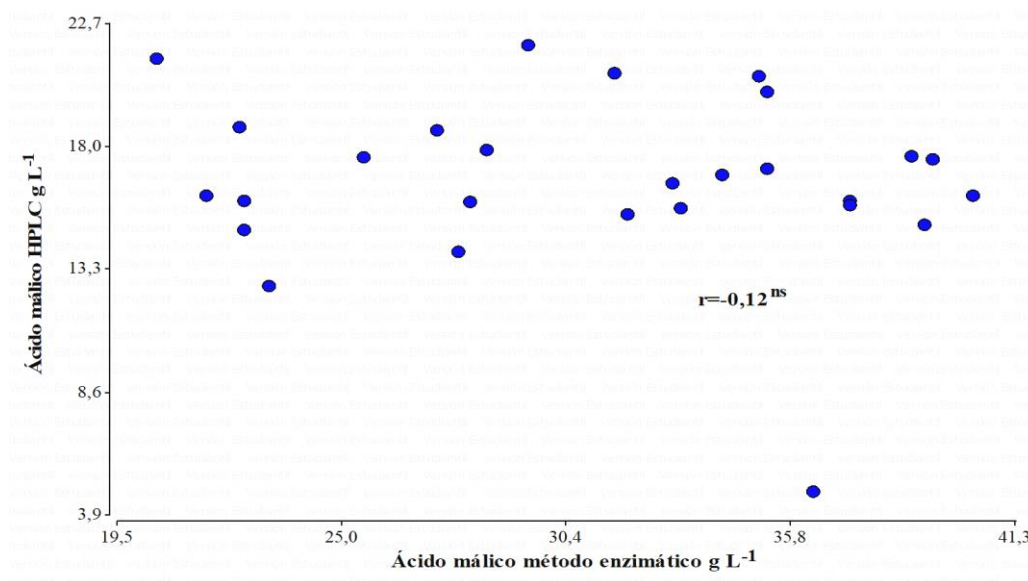


Figura 21. Análisis de correlación entre las variables acidez málica HPLC y acidez málica enzimática, independiente de la selección evaluada en la fecha de “post-cuaja” (12-01-2016). ns: coeficiente de correlación lineal de Pearson estadísticamente no significativo (p-valor $>0,05$)

En la Figura 22, se puede observar que los datos obtenidos en el momento “envero”, independiente de las selecciones evaluadas, las variables acidez málica por HPLC y acidez málica por método enzimático no presentaron una correlación lineal estadísticamente significativa ($r=0,38^{ns}$).

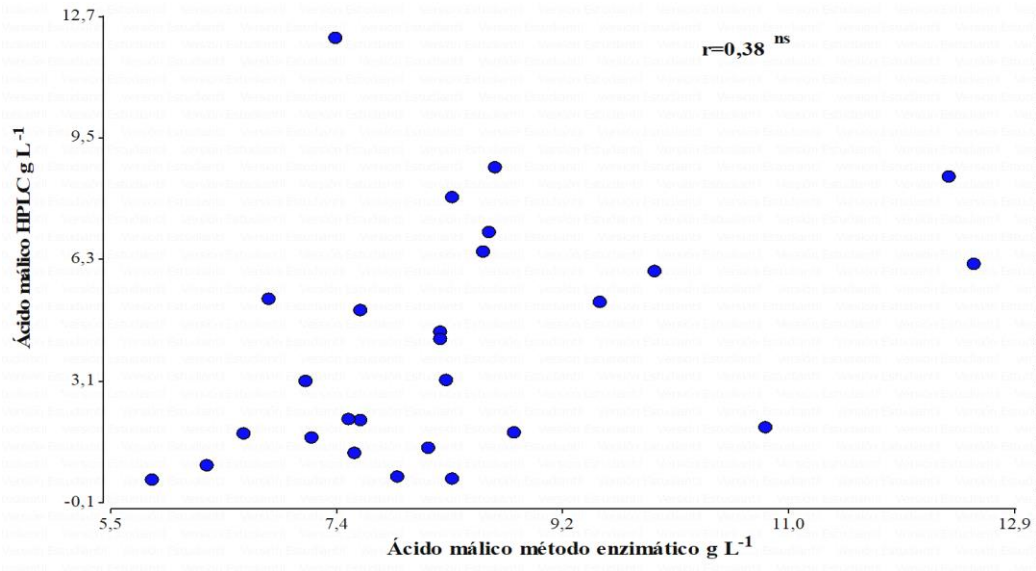


Figura 22. Análisis de correlación entre las variables acidez málica HPLC y acidez málica enzimática, independiente de la selección evaluada en la fecha de “envero” (4-02-2016). ns: coeficiente de correlación lineal de Pearson estadísticamente no significativo (p-valor >0,05)

En la Figura 23 se puede observar que, en las evaluaciones realizadas en cosecha, al igual que en post cuaja y envero, las variables acidez málica por HPLC y acidez málica por método enzimático no presentaron una correlación lineal estadísticamente significativa ($r = -0,34^{ns}$)

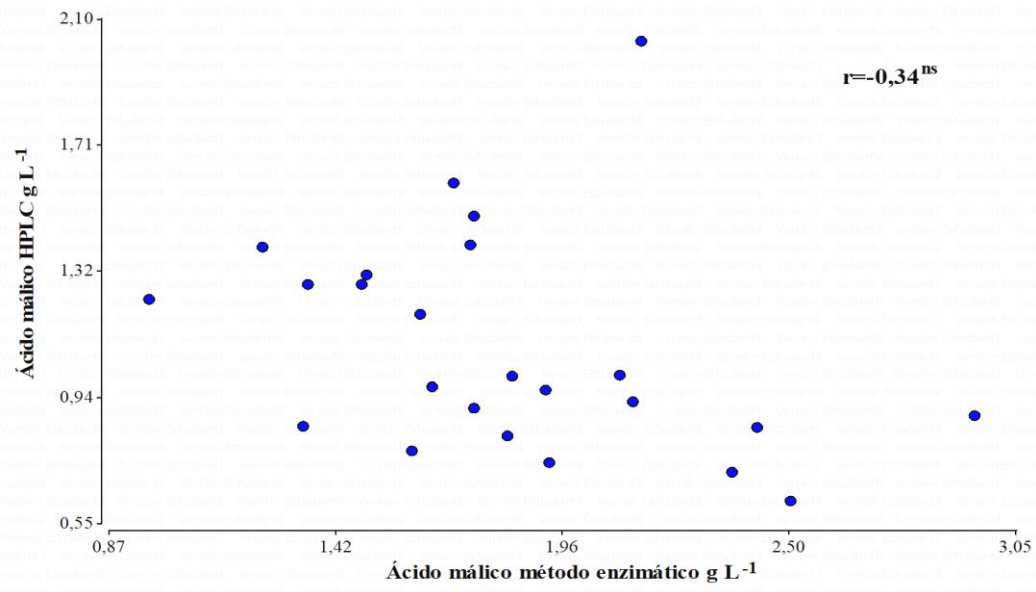


Figura 23. Análisis de correlación entre las variables acidez málica HPLC y acidez málica enzimática, independiente de la selección evaluada en la fecha de “Cosecha”. ns: coeficiente de correlación lineal de Pearson estadísticamente no significativo (p-valor >0,05)

De acuerdo con lo analizado anteriormente, no existe correlación lineal estadísticamente significativa entre acidez málica por HPLC y acidez málica por método enzimático en ninguna de las fechas evaluadas. No obstante, en la Figura 24 se observa que, si analizamos la correlación de los distintos métodos de medición en las tres fechas en un mismo gráfico, con todos los datos evaluados de acidez málica por método enzimático y por HPLC, obtenemos que existe una correlación positiva entre los distintos métodos de medición, particularmente hacia la madurez, donde la variabilidad de los datos es menor y se observa la disminución de la concentración del ácido independiente que método de medición se ocupe.

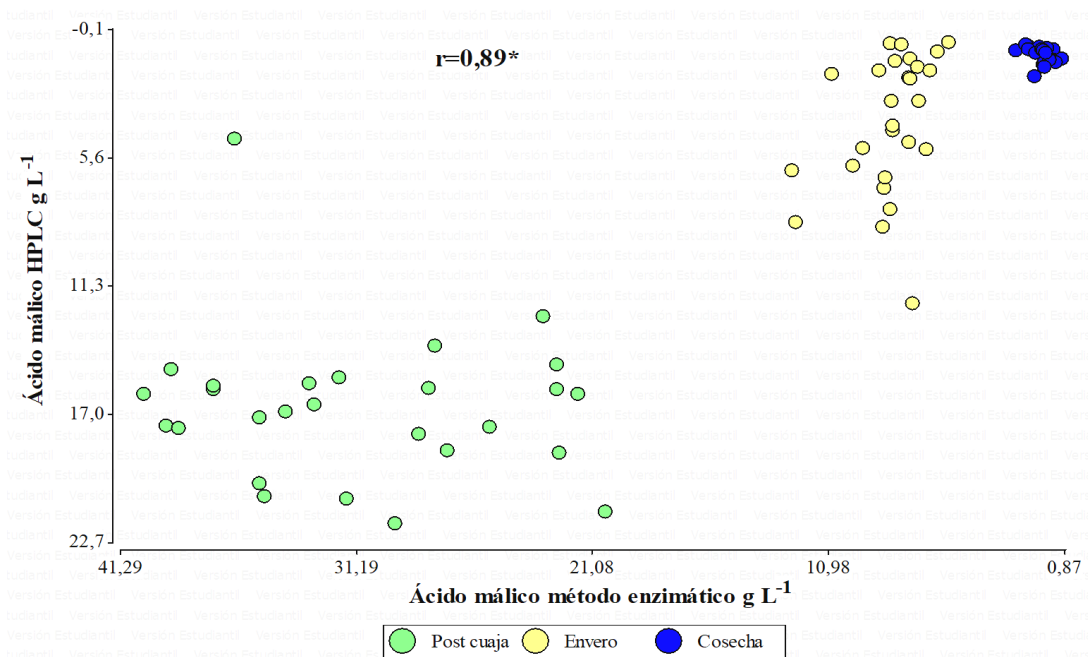


Figura 24. Análisis de correlación entre las variables acidez málica HPLC y acidez málica enzimática, independiente de la selección evaluada en las tres fechas de medición. * coeficiente de correlación lineal de Pearson estadísticamente significativo (p-valor <0,05)

Si bien las figuras 21, 22 y 23 muestran que no existen correlaciones entre los dos métodos de medición del ácido málico, de acuerdo con los resultados observados en la Figura 24, ambos métodos entregan valores confiables durante la temporada, por lo que cualquiera de ellos sirve para determinar la concentración de ácido málico en la baya. Las diferencias entre los métodos de medición se pueden resumir en que el método enzimático para determinar acidez málica es relativamente más simple de usar, rápido en su análisis y de menor costo que la cromatografía líquida de alta eficacia. Si bien el HPLC permite determinar con gran precisión los valores de los ácidos presentes, resulta una metodología poco practica para incluir en el manejo de campo.

CONCLUSIONES

En las condiciones de este estudio de selecciones de ‘Cabernet Sauvignon’ se concluye que existen diferencias en la composición de los ácidos orgánicos, destacando las selecciones 3, 4 y 8.

La selección 3 corresponde a una selección comparativamente tardía según su momento de cosecha establecido por concentración de azúcares, y de baja acidez según lo observado en acidez titulable y acidez málica, que además disminuyó tempranamente en la temporada y se mantuvo baja hasta su cosecha, explicando que esta selección se encontró en envero antes de la fecha establecida como “envero” (4 de febrero de 2016). De acuerdo con la bibliografía, esta selección se adaptaría mejor a climas templados.

La selección 4 corresponde también a una selección de ‘Cabernet Sauvignon’ tardía según su momento de cosecha, y de acidez elevada tanto en la acidez titulable, acidez málica y acidez total a cosecha, por lo que daría mejores resultados en climas templados más cálidos.

La selección 8 corresponde a una selección de ‘Cabernet Sauvignon’ temprana según su momento de cosecha por concentración de sólidos solubles, y de elevada acidez tanto málica, acidez total y acidez titulable a cosecha. Bajo estos resultados, esta selección, al igual que la selección 4 podría cultivarse en zonas comparativamente cálidas. No obstante, esta selección pudo ser cosechada más tarde, variando su concentración de ácidos orgánicos.

En las condiciones de este estudio, es decir, las selecciones establecidas en el mismo lugar y bajo el mismo manejo, las diferencias obtenidas en las selecciones en cuanto a la composición de los ácidos orgánicos ejemplifican la diversidad de vinos que se pueden obtener de ‘Cabernet Sauvignon’ en el país.

En vista del cambio climático y la importancia del ‘Cabernet Sauvignon’ a nivel nacional, la disponibilidad de selecciones de mayor acidez puede contribuir a mantener la calidad y prestigio de esta cepa emblemática.

LITERATURA CITADA

Alonso, S. B.; J. Blanco and M. Rodriguez. 2004. Intravarietal agronomic variability in *Vitis vinifera* L. cv. Albariño. *American Journal of Enology and Viticulture*, 55(3): 279-282.

Amerine, M.A., H.W. Berg, R.E. Kunkee, C.S. Ough, V.L. Singleton, and A.D. Webb. 1980. The technology of wine making. Fourth edition. AVI Publishing Company Inc. USA. 794 p.

AOAC International. 2005. Acidity (Titratable) of Fruit Products. Official method of Analysis of AOAC International: AOAC Official Method 942.15. fifteen edition. USA. Editorial Board (Chap 37, p. 10).

Bettiga L.J; L. P. Christensen; NK. Dokoozlian; D.A. Golino; G. McGourty; R. J. Smith et al. 2003. In: Christensen, N. K. Dokoozlian, M. A. Walker and J. Wolpert (eds.). Wine grape varieties in California. L. P. ANR Publication 3419, Oakland, CA, USA. 189 p.

Blouin J.; G. Guimberteau. 2012. Principales componentes de la uva y evolución durante la maduración, Ácidos orgánicos (cap. V; pp. 57-66) En: Maduración y Madurez de la uva. Madrid, España: Mundi prensa. 151 p.

Boulton R. 1980. The relationship between total acidity, titratable acidity and pH in grape tissue. *Vitis*, 19(2): 113-120.

Burin, V. M.; A. Silva; L. Malinovski; J. Rosier; L. Falcão and M. Bordignon-Luiz. 2011. Characterization and multivariate classification of grapes and wines of two Cabernet Sauvignon clones. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 46(5): 474-481.

Chervin C.; A. El-Kereamy; H. Ibrahim; M. Garcia; F. Dedieu; C. Romieu; N. Ollat and J.P. Roustan. 2002. Ethanol application at veraison decreases acidity in Cabernet Sauvignon grapes. *Vitis*, 41(3): 155-156.

DeBolt S.; D. Cook ; C. Ford. 2006. L-tartaric acid synthesis from vitamin C in higher plants. *Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America*, 103(14): 5608-5613.

DeBolt S. 2008. Altered light interception reduces grape berry weight and modulates organic acid biosynthesis during development. *HortScience*, 43(3): 957-961.

Diakou P.; A. Moing; L. Svanella; N. Ollat; D.B. Rolin; M. Gaudillere and J.P. Gaudillere. 1997. Biochemical comparison of two grape varieties differing in juice acidity. *Australian Journal of Grape and Wine research*, 3(3): 1-10

Ferrandino A. y S. Guidoni. 2010. Anthocyanins, flavonols and hydroxycinnamates: an attempt to use them to discriminate *vitis vinífera* L. cv 'Barbera' clones. *European Food Research Technology*, 230 (3): 417-427

Ferrer M.; G. Gonzales; G. Echeverría; G. Gamussi; R. Avondet; M. Fourment; G. Favre y J. Salvarrey. 2011. Efecto del estrés climático sobre la respuesta de la planta y la composición de la uva de Tannat (*Vitis vinifera* L.) en viñedos del Uruguay. *Revista Enología*, (6):1-12.

Fidelibus M.; P. Christensen; D. Katayama and P.T. Verdenal. 2006. Yield components and fruit composition of six 'Cabernet Sauvignon' grapevine selections in the central San Joaquin valley, California. *Journal American Pomological Society*, 60(1): 32-36

Ford M. 2012. The Biochemistry of Organic Acid in the Grape. (Chap. IV; pp. 67-88). In: Gerós, H.; M. Chaves; S. Delrot (eds.). *The Biochemistry of the Grape Berry*. Bentham Science Publishers, U.A.E., 290 p.

INFOSTAT. [en línea]. Córdoba, Argentina: Universidad Nacional de Córdoba. Versión 2015. Recuperado en < <http://www.infostat.com.ar> >. Consultado el 12 de enero del 2016.

Jackson R. Chemical constituents of grapes and wine. (Chap. VI; pp. 352) In: *Wine science* (Fourth edition): Principles and applications. Elsevier Publisher. USA. 960 p.

Jones G. and R. Davis. 2000. Climate influences on grapevine phenology, grape composition, and wine production and quality for Bordeaux, France. *American Journal of Enology and Viticulture*, 51(3): 249-261.

Kliewer M. 1966. Sugar and organic acids of *Vitis vinifera*. *Plant Physiology*, 41(6): 923-931

Meteovid, 2015. Chile. Resumen estadísticas anuales de condiciones climáticas. Recuperado en: <<http://190.153.235.148:8080/livedata/collection.jsf?template=weather&trendduration=Y&node=2172&month=y&year=2015&view=statistic>>. Consultado el: 21 de enero del 2016.

Muñoz-Robredo P.; P. Robledo; D. Manriquez; R. Molina and B. Defilippi. 2011. Characterization of sugar and organic acids in commercial varieties of table grapes. *Chilean Journal of Agricultural Research*. 71 (3): 452-458.

Olego M.; J. Álvarez.; A. Tobes.; J. de Paz; J. Coque and E. Garzón-Jimeno. 2015. Determining optimum harvest time under mediterranean conditions: developing a new model of measuring L-malic acid concentration in red grapes. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 22(2): 232-239.

Pérez, A.G., R. Olías, J. Espada, J.M. Olías, and C. Sanz. 1997. Rapid determination of sugars, nonvolatile acids, and ascorbic acid in strawberry and other fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(9): 3545-3549.

Pszczółkowski P. 2015. “Sauvignon Blanc, Cabernet-Sauvignon y Carmenère, cepas claves de la viticultura actual de Chile” / “Sauvignon Blanc, Cabernet-Sauvignon and Carmenère: three key grape varieties in current viticulture of Chile”. *Revista Iberoamericana de Viticulture, Agroindustria y Ruralidad*, 4(2): 1-17.

Servicio Agrícola y Ganadero (SAG). 2014. Catastro vinifero 2014. Recuperado en: <<http://www.sag.cl/ambitos-de-accion/catastro-viticola-nacional/1490/publicaciones>>. Consultado el 11 de enero del 2016.

Sims C.A. and J.R. Morris. 1984. . Effects of pH, sulfur dioxide, storage time, and temperature on the color and stability of red muscadine grape wine. *American Journal of Enology and Viticulture*. 35(1): 35-39.

Sotés V. 2004. Comportamiento fisiológico de la Vid en climas cálidos y en partículas durante el periodo de maduración de la uva. En: 1° Workshop Internacional de Pesquisa. A produção de vinhos em regiões Tropicais. 75-83 p.

Volschenk H.; H. van Vuuren and M. Viljoen-bloom. 2006. Malic acid in wine: origin, function and metabolism during vinification. *South African Journal of Enology and Viticulture.*, 27(2): 123-134.

Wolpert, J. A., A. Kasimatis and P. Verdegal. 1995. Viticultural performance of seven Cabernet Sauvignon clones in the northern San Joaquin Valley, California. *American Journal of Enology and Viticulture*, 46(4): 437-441.

Zamus S.; M.C. Martinez; M. Villanova. 2007. Primary study of enological variability of wines from different clones of *Vitis vinifera* L. cv. ‘Albariño’ grown in Misión biológica de Galicia (GSIC). *Journal of Food Composition and Analysis*, 20 (7): 591-595

ANEXOS

1. Matriz de correlación para fecha “post-cuaja”

Matriz de correlación/Coeficientes

	Ácido Málico mét. Enz.	Peso baya	Sólidos Solubles	pH	Acidez titulable	Ácido tartárico	Ácido málico	Acidez Total
Ácido Málico mét. Enz	1							
Peso baya	-0,21	1						
Sólidos Solubles	-0,02	0,15	1					
pH	0,51	-0,44	-0,44	1				
Acidez titulable	0,43	-0,54	0,55	0,24	1			
Ácido tartárico	-0,48	0,08	0,28	-0,17	-0,01	1		
Ácido málico	-0,13	-0,11	-0,11	-0,04	-0,46	0,25	1	
Acidez Total	-0,32	-0,05	0,04	-0,11	-0,37	0,65	0,9	1

Matriz de correlación/Probabilidades

	Ácido Málico mét. Enz.	Peso baya	Sólidos Solubles	pH	Acidez titulable	Ácido tartárico	Ácido málico	Acidez Total
Ácido Málico mét. Enz								
Peso baya	0,582							
Sólidos Solubles	0,963	0,703						
pH	0,165	0,238	0,234					
Acidez titulable	0,251	0,130	0,129	0,531				
Ácido tartárico	0,187	0,830	0,46	0,654	0,983			
Ácido málico	0,743	0,784	0,782	0,921	0,209	0,51		
Acidez Total	0,405	0,905	0,913	0,78	0,33	0,058	0,001	

2. Matriz de correlación para fecha “envero”

Matriz de correlación/Coeficientes

	Ácido Málico mét. Enz.	Peso baya	Sólidos Solubles	pH	Acidez titulable	Ácido tartárico	Ácido málico	Acidez Total
Ácido Málico mét. Enz	1							
Peso baya	-0,25	1						
Sólidos Solubles	-0,79	-0,07	1					
pH	-0,87	0,04	0,89	1				
Acidez titulable	0,91	-0,25	-0,78	-0,77	1			
Ácido tartárico	0,65	0,27	-0,8	-0,82	0,47	1		
Ácido málico	0,49	0,09	-0,36	-0,57	0,23	0,44	1	
Acidez Total	0,64	0,15	-0,57	-0,76	0,35	0,74	0,93	1

Matriz de correlación/Probabilidades

	Ácido Málico mét. Enz.	Peso baya	Sólidos Solubles	pH	Acidez titulable	Ácido tartárico	Ácido málico	Acidez Total
Ácido Málico mét. Enz								
Peso baya	0,519							
Sólidos Solubles	0,011	0,862						
pH	0,003	0,923	0,0014					
Acidez titulable	0,0006	0,51	0,0136	0,016				
Ácido tartárico	0,058	0,474	0,01	0,007	0,203			
Ácido málico	0,183	0,813	0,341	0,109	0,554	0,23		
Acidez Total	0,066	0,696	0,106	0,017	0,352	0,023	0,0003	

3. Matriz de correlación para fecha “cosecha”

Matriz de correlación/Coeficientes

	Ácido Málico mét. Enz.	Peso baya	Sólidos Solubles	pH	Acidez titulable	Ácido tartárico	Ácido málico	Acidez Total
Ácido Málico mét. Enz.	1							
Peso baya	0,16	1						
Sólidos Solubles	0,53	0,05	1					
pH	-0,19	0,49	-0,02	1				
Acidez titulable	-0,02	-0,13	-0,56	-0,72	1			
Ácido tartárico	-0,38	-0,49	0,26	0,01	-0,5	1		
Ácido málico	-0,5	-0,67	-0,44	-0,59	0,51	0,38	1	
Acidez Total	-0,54	-0,71	-0,19	-0,43	0,14	0,74	0,9	1

Matriz de correlación/Probabilidades

	Ácido Málico mét. Enz.	Peso baya	Sólidos Solubles	pH	Acidez titulable	Ácido tartárico	Ácido málico	Acidez Total
Ácido Málico mét. Enz.								
Peso baya	0,702							
Sólidos Solubles	0,174	0,906						
pH	0,651	0,216	0,96					
Acidez titulable	0,956	0,761	0,151	0,042				
Ácido tartárico	0,357	0,222	0,532	0,96	0,204			
Ácido málico	0,202	0,07	0,277	0,121	0,197	0,347		
Acidez Total	0,166	0,049	0,644	0,293	0,748	0,035	0,002	