

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA
AGRONÓMICA Y DEL MEDIO NATURAL



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



Escola Tècnica Superior
d'Enginyeria Agronòmica i del Medi Natural

Efecto de la aplicación de caolina en el viñedo en la composición química y sensorial de los vinos del cultivar Monastrell

Trabajo Fin de Grado en Ingeniería Agroalimentaria y del Medio Rural

Curso académico: 2019-2020

Alumna: Aroa Zamora Sahuquillo

Tutora: M^aInmaculada Álvarez Cano

Valencia, 6 de julio de 2020

Resumen

Se ha estudiado el efecto de la aplicación de arcilla blanca (caolín, caolina o caolinita) en el viñedo, sobre la composición convencional, polifenólica y sensorial de los vinos de Monastrell. Para ello se ha aplicado la caolina, en dos dosis distintas, pulverizada sobre la parte aérea de las plantas de la variedad Monastrell, durante la maduración de la uva, con la finalidad de generar una fina película que proteja a los racimos del exceso de radiaciones solares, ya que la viticultura mediterránea es especialmente sensible a los efectos del cambio climático, y para minimizar su efecto, puede ser interesante aplicar un protector solar para el viñedo. Esto nos permite reducir la temperatura y conservar la calidad de nuestros vinos. Una vez vendimiada la uva, se procedió a hacer tres protocolos de vinificación por triplicado, un protocolo control con uva sin tratar, y dos protocolos con las uvas de las distintas dosis de caolín aplicadas. Una vez elaborados los vinos se estudió su composición química y organoléptica para ver el efecto de los tratamientos aplicados en el viñedo. Los resultados muestran que la caolina contribuye significativamente a mejorar la intensidad colorante, concentración de antocianos totales y coloreados de los vinos, quedando más protegido frente a las reacciones oxidativas, debido a las propiedades antioxidantes de estos compuestos y otorgando una mayor cantidad de color y más estable

Palabras clave: caolina, viñedo, Monastrell, vino, polifenoles, análisis sensorial

Abstract

The effect of applying white clay (kaolin, kaolin or kaolinite) in the vineyard related to the conventional, polyphenolic and sensorial composition of Monastrell wines has been studied. For this, kaolin has been applied, in two different doses, sprayed on the aerial part of the plants, during the maturation of the grape, in order to generate a thin film that protects the bunches from excess solar radiation. Since Mediterranean viticulture is especially sensitive to the effects of climate change, and to minimize its effect, it may be interesting to apply a sunscreen for the vineyard. This allows us to reduce the temperature and preserve the quality of our wines. Once the grapes were harvested, three vinification protocols were carried out in triplicate, a control protocol with grapes without treatment, and two protocols with the grapes of the different doses of kaolin applied. Once the wines were made, their chemical and organoleptic composition was studied to see the effect of the treatments applied in the vineyard. The results show that kaolin contributes significantly to improving the color intensity, concentration of total and colored anthocyanins in wines, being more protected against oxidative reactions, due to the antioxidant properties of these compounds and giving a greater amount of color and more stable.

Key words: Kaolin, vineyard, Monastrell, wine, polyphenols, sensory analysis.

Agradecimientos

En primer lugar, darle las gracias a Inma, mi tutora, por su ayuda, disponibilidad y apoyo a la hora de realizar este proyecto. Sin ella habría sido imposible realizar este proyecto.

Gracias, a continuación, a Juan y Bodegas Enguera por hacer realidad estos proyectos de investigación en viticultura ecológica que tanto me apasionan y sobre todo por haberme permitido ser parte del equipo.

Y por último agradecerle a mi familia, especialmente a mi madre y Alberto por apoyarme y ayudarme en todo lo que estuviese en sus manos y acompañarme durante todo el proceso.

Índice

<u>1.</u>	1. INTRODUCCIÓN	1
	1.1. La viticultura en la actualidad	1
	1.2. Tendencia climatológica y consecuencias para la viticultura.....	1
	1.2.1. El clima y el vino	2
	1.2.2. Efectos climáticos en la viticultura.....	2
	1.2.3. Estrategias vitícolas de adaptación	3
	1.3. Aplicación de caolín y sus efectos en el viñedo	6
<u>2.</u>	2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.....	8
	2.1. Problemática	8
	1.4. Objetivos	9
<u>3.</u>	3. Materiales y métodos.....	10
	3.1. Zona de estudio.....	10
	3.2. Diseño experimental.....	10
	3.3. Análisis de mostos y vinos.....	13
	3.3.1. Análisis general de los mostos y vinos.....	13
	3.3.2. Análisis de polifenoles en vino:	13
	3.4. Análisis sensorial	18
	3.5. Análisis estadístico	19
<u>4.</u>	4. Resultados y discusión.....	21
	4.1. Efectos de los tratamientos sobre la producción del viñedo de Monastrell. ..	21
	4.2. Efectos de los tratamientos sobre la madurez tecnológica de las uvas de Monastrell.....	21
	4.3. Seguimiento de las fermentaciones.....	22
	4.4. Efectos de los tratamientos sobre la composición de los vinos de Monastrell.	23
	4.4.1. Análisis convencionales de los vinos.....	23
	4.4.2. Análisis polifenólicos de los vinos	24
	4.5. Análisis sensorial.....	26
	4.6. Aplicación del Análisis de Componentes Principales a la diferenciación de los vinos	27
<u>5.</u>	5. Conclusiones.....	30
<u>6.</u>	6. Bibliografía.....	31

Índice de tablas

Tabla 1: efectos del cambio climático en la vid (Fuente: Yuste, 2017)	3
Tabla 2: Ficha descriptiva de la cata.....	19
Tabla 3: Media, desviación estándar y ANOVA de la vendimia de Monastrell con y sin tratamiento de caolín. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas al 95%	21
Tabla 4: Media, desviación estándar y ANOVA de la composición de los mostos de uva Monastrell con y sin tratamiento de caolín. Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas al 95%	21
Tabla 5: Media, desviación estándar y ANOVA de los parámetros convencionales de los vinos de Monastrell, Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas al 95%	23
Tabla 6: Media, desviación estándar y ANOVA de los parámetros polifenólicos relacionados con el color en los vinos de Monastrell. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas al 95%.....	24
Tabla 7: Media, desviación estándar y ANOVA de la composición polifenólica de los vinos de Monastrell. Letras distintas en la misma filas indican diferencias significativas al 95%.....	25
Tabla 8: Media, desviación estándar y ANOVA de los parámetros relacionados con los taninos en los vinos de Monastrell. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas al 95%.....	26
Tabla 9: Media, desviación estándar y ANOVA de los parámetros sensoriales de los vinos de vinos de Monastrell. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas al 95%.26	

Índice de ilustraciones

Ilustración 1: Maduración óptima de la uva (Fuente: Nicholas, 2015)	8
Ilustración 2: Maduración en condiciones cálidas (Fuente: Nicholas, 2015).....	9
Ilustración 3: situación de la parcela.....	10
Ilustración 4: Diagrama de flujo del proceso	12

Índice de gráficos

Gráfica 1: Evolución de la densidad durante la fermentación alcohólica.....	22
Gráfica 2: Evolución de la temperatura durante la fermentación	23
Gráfica 3: Grafico radial del análisis sensorial de los vinos de uva Monastrell.....	27
Gráfica 4: Análisis de los componentes principales (PCA) realizado sobre los parámetros analíticos y sensoriales de los vinos: gráfica de puntuaciones para los vinos en función del depósito en el que han sido elaborados	29
Gráfica 5: Análisis de los componentes principales (PCA) realizado sobre los parámetros analíticos y sensoriales de los vinos: y gráfico de cargas donde se aprecia la distribución de los componentes de los vinos.....	29

1. INTRODUCCIÓN

1.1. La viticultura en la actualidad

Durante las últimas décadas el mundo de la vitivinicultura ha sufrido muchos cambios debido a los desafíos tecnológicos y climáticos a los que se enfrenta. Este cambio no solo ha sucedido a nivel español o europeo, sino a nivel mundial, pero debido a la tradición vitivinícola de países como Francia, Italia y España este desafío puede ser aún mayor, pues los métodos tradicionales de trabajo están muy arraigados en agricultores y bodegueros, aunque poco a poco se van integrando los progresos técnicos a nivel agronómico y enológico, incorporando también las nuevas prácticas provenientes del nuevo mundo (Medina-Albaladejo et al., 2014).

Los vinos del nuevo mundo irrumpieron en los mercados mundiales a comienzos de la década de 1980, asestando un duro golpe a la vieja tradición europea y acrecentando la competitividad en el mercado mundial y más aún, las necesidades de mejora. Aunque el proceso de renovación e innovación enológica se inició tempranamente en algunas regiones, que vieron modificar muchas de sus reglamentaciones, la incorporación de España a la Comunidad Europea en 1986 y la competencia internacional terminaron por incidir en los sistemas de producción y comercialización de los vinos españoles que, en su conjunto, mejoraron en calidad y competitividad (Martínez-Carrión, 2013).

España, desde entonces, ha sufrido una renovación casi total de su viñedo. Las ayudas oficiales para la reconversión y reestructuración contemplaban principalmente la reconversión varietal, la reimplantación de viñedos, las mejoras en las técnicas de gestión y mecanización y la instauración del sistema conductivo en espalderas. En general, según el IVICAM, esto implica un uso más intensivo de la tierra, al incorporar, casi de forma generalizada, un riego de apoyo que mejora los rendimientos de la explotación y la mecanización de las labores de poda y vendimia, principalmente (Ruiz-Pulpón, 2013).

Estos cambios en el sistema del cultivo implican nuevas dinámicas en el comportamiento de las plantas y por lo tanto a la hora de trabajarlas, instaurándose nuevas prácticas en el manejo vitícola español, como por ejemplo los métodos de poda (limitando la producción y consiguiendo mayor ventilación en la planta y por lo tanto menor incidencia de las enfermedades criptogámicas) y el control de las necesidades hídricas de la planta (que persigue un mayor control sobre el crecimiento y la maduración de la uva).

Desafortunadamente, junto con los cambios en los sistemas de cultivo también lo está haciendo la climatología, lo que nos lleva a nuevos cambios y retos en la agronomía en general y en la viticultura en particular.

1.2. Tendencia climatológica y consecuencias para la viticultura

El Panel Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático (IPCC) ha definido el cambio climático como una variación estadísticamente significativa de la media en las variables de estado que definen el clima (temperatura y precipitación) o en su variabilidad, que persiste durante un extenso periodo de tiempo (décadas o periodos más largos).

La producción vegetal está determinada por las condiciones de temperatura, pluviometría, calidad del agua, radiación solar, etc., y el cambio climático implica una variación en todos estos factores claves, aumentando la frecuencia e intensidad de fenómenos climáticos adversos, como sequías o inundaciones, que puede conllevar importantes consecuencias sobre la producción vegetal.

Las consecuencias del cambio climático ya se comienzan a notar en las zonas productoras de vino, tales como la gestión del agua, elección de variedades y patrones más resistentes, desequilibrios en la fisiología y maduración de la uva, cambios en la fenología y composición de la uva, aumento de la incidencia de las plagas y enfermedades, etc. Conocer el posible impacto de estos cambios permite diseñar posibles escenarios y así comenzar a estudiar las posibles soluciones para mitigarlo.

1.2.1. El clima y el vino

El clima es el factor más determinante en la producción vitivinícola debido a su influencia en la fisiología de la vid a través de la temperatura, la lluvia, evapotranspiración potencial, horas de sol y viento, estando la duración del período de crecimiento directamente relacionada con la temperatura del aire, con la humedad del suelo y con las técnicas de cultivo aplicadas al viñedo. En general, la composición de la uva y el tipo y estilo de vino que se obtiene en una región determinada, son el resultado de la interacción clima/suelo junto a la actividad humana, mientras que la variabilidad del clima interanual marca las diferencias de calidad entre añadas (Sotés, 2018).

Según las previsiones realizadas a escala global (Jones et al, 2005), el aumento de las temperaturas y la disminución de precipitaciones, junto a la irregularidad de la distribución de estas, incidirán de forma muy negativa en la agricultura mediterránea. Todas estas alteraciones no sólo influirán en la fenología de la vid, sino también en los patrones de plagas y enfermedades y en el equilibrio en la maduración, y por lo tanto en el rendimiento y la calidad de la cosecha obtenida (Schultz, 2000; Jones et al., 2005).

El clima español es muy variado, consiguiendo así vinos de muy diversas características (Sotés et al, 2012). Como consecuencia del calentamiento global, las precipitaciones tienden a la baja, lo que provoca un aumento de la evapotranspiración y una menor disponibilidad y calidad del agua; pero no es solo la cantidad de precipitación anual, sino el volumen medio diario de estas. Las precipitaciones se vuelven torrenciales (más de 150mm /día) ocasionando la erosión del suelo, pérdidas de cultivos, escorrentía y percolación del agua de lluvia, lo que imposibilita entre a formar parte de la reserva hídrica del suelo. Al contrario, ocurre con la temperatura, las previsiones apuntan a un calentamiento continuo y asimétrico, siendo más acusado en las zonas interiores, sobre todo en la meseta peninsular y algunas zonas de montaña (Sotés, 2018).

1.2.2. Efectos climáticos en la viticultura

Ante el cambio climático, la variabilidad meteorológica cada vez será mayor, creando mayores dificultades para prever cada uno de los estados fenológicos, programar la gestión del cultivo o el momento de vendimia. Los ciclos vegetativos serán potencialmente más largos, alternando periodos cálidos y húmedos, el periodo cálido en el que la vid se puede desarrollar será mayor y su periodo de reposo invernal menos frío; otro cambio importante es la alteración

de los perfiles de maduración, fecha de incidencia y severidad de las plagas y enfermedades. En la tabla 1 se resumen los efectos del cambio climático en la vid (Yuste, 2017)

Tabla 1: efectos del cambio climático en la vid (Fuente: Yuste, 2017)

Superficie foliar	Adelanto de la parada de crecimiento vegetativa (entre el cuajado y el envero)
	Reducción de la superficie foliar
	Variaciones en la tasa fotosintética
	Aumento de la evapotranspiración
	Incremento del déficit hídrico
	Envejecimiento y caída de hoja prematura
	Exceso de exposición solar de los racimos
Maduración y calidad de la uva	Reducción del tamaño y peso de la baya
	Adelanto y acortamiento de las fases de crecimiento y maduración de la baya (desequilibrio en la síntesis de compuestos)
	Disminución del rendimiento parcelario
	Exceso de azúcares y grado alcohólico (exceso de maduración tecnológica de la pulpa)
	Disminución de la acidez total, en especial de la acidez málica
	Aumento del contenido en K, lo que se asocia a un aumento del pH
	Desfase de la maduración fenólica y aromática de la piel y la semilla con respecto a la pulpa
	Vendimia en épocas más cálidas, la uva entra en bodega más caliente favoreciendo el riesgo de oxidaciones
	Disminuye el contenido aromático debida a una menor síntesis y la pérdida de los precursores en la baya
	Predominio de aromas herbáceos por el desfase entre la madurez de la pulpa y la madurez fenólica y aromática
	Reducción de la síntesis y/o reducción y mayor inestabilidad de los compuestos coloreados
	Menor estructura del vino debido a la disminución de la acumulación de taninos maduros
	Menor concentración de ciertas sustancias en la uva, otorgando vinos más alcohólicos, menos ácidos, complejos y armónicos, volviéndose poco aptos para el envejecimiento

1.2.3. Estrategias vitícolas de adaptación

Las circunstancias frente al cambio climático en el territorio español son muy distintas en las diferentes regiones vitícolas, pues existen regiones muy condicionadas para el cultivo de la vid (zonas frías, con mucha precipitación...) que con un aumento de la temperatura se encontrarán en una situación más favorable, mientras que en otras regiones se encuentran las zonas negativamente afectadas por el aumento de las temperaturas y el déficit de agua. Para enfrentarse al impacto que va a generar esta situación es necesario ajustarse a cada mesoclima o microclima y buscar sistemas de adaptación, que van desde las prácticas en el cultivo hasta las técnicas enológicas (Sotés, 2017).

Las medidas de adaptación a corto plazo pueden ser consideradas como la primera estrategia de protección contra el cambio climático y deberán centrarse en amenazas específicas, estas prácticas en su mayoría se centran en las técnicas enológicas (Lobell et al., 2006). Las medidas a medio plazo se tendrán que basar en la gestión del viñedo, lo que puede

mejorar la adaptación ante cambios más acusados. Más a largo plazo las medidas de adaptación incluyen principalmente cambios de variedades y cambios de ubicación de los viñedos (Malheiro et al., 2010), lo que supone grandes problemas de inversión. En cualquier caso, las estrategias de cultivo deben ir dirigidas a atenuar tanto los efectos de la radiación, como las altas temperaturas en hojas y racimos, y el déficit hídrico. Así pues, las variedades cultivadas deberían estar bien adaptadas a los excesos de insolación y temperatura, y a ser posible, a la sequía. Por ejemplo, el manejo del suelo y el desarrollo de cubiertas vegetales o laboreos mínimos son los más adecuados para evitar erosión ante lluvias fuertes, pero la cubierta implica un mayor consumo de agua, lo que puede ser un gran inconveniente en zonas áridas. Sin embargo, una cobertura del suelo con mulching de paja puede tener efectos positivos sobre el contenido en agua del suelo. Por otro lado, cambios en los sistemas de poda pueden ayudar a mejorar la protección de los racimos contra la insolación excesiva (Yuste, 2017).

El riego será otra estrategia básica en la gestión del viñedo, pero debería establecerse con métodos y controles que permitan disminuir el consumo de agua (estrategias de riego deficitario, desecación parcial de raíces, o riego con déficit sostenido), y con indicadores del estado hídrico a nivel del suelo y de la planta. Una gestión sostenible del agua (junto con la disponibilidad de agua) puede ser una estrategia económicamente rentable para el productor de uva, proporcionando una solución de compromiso entre los costos ambientales y los requisitos de la planta en agua, que es muy pertinente en virtud de las cada vez mayores necesidades hídricas en el sur de Europa. Aun así, esta estrategia presenta problemas, puesto que la disponibilidad de agua para riego es cuestionable debido a la hidrogeología, a la competencia entre usuarios y la propia aplicación de la Directiva Marco del Agua (Directiva 2000/60/CE). Esto dificulta no sólo el futuro de los regadíos existentes, sino que limita la posibilidad de incrementar la superficie regada, por consideraciones económicas, sociales y medioambientales (Sotés, 2017).

Más a largo plazo, las medidas de adaptación incluyen cambios de variedades y de ubicación de los viñedos (Malheiro et al., 2010), aunque estas medidas plantean problemas de inversión a los bodegueros y viticultores, además de problemas normativos con las Denominaciones de Origen. Cambios a sitios más frescos, a altitudes más altas y latitudes mayores, implican cambios en las condiciones mesoclimáticas y microclimáticas del viñedo, por lo que las plantaciones en las zonas cálidas serían más convenientes en valles frescos o terrenos con laderas expuestas de norte a este, tratando de evitar las laderas de exposición a mediodía y poniente que acentúan las altas temperaturas. Las orientaciones de las filas del viñedo se pueden desviar hacia el este con N-S +20°, N-S + 30° o más, para exponer menos la cara durante la tarde que resulta más calurosa, con menor higrometría y con las hojas con un estado hídrico más desfavorable (Yuste, 2017).

Las estrategias que conciernen a la influencia de los cambios en la maduración (Yuste, 2017), buscan:

- Reducir los excesos térmicos en hojas y racimos.
- Evitar el déficit hídrico inadecuado o excesivo.
- Regular el crecimiento durante el periodo vegetativo, conseguir que la maduración se produzca con temperaturas adecuadas.
- Controlar y restringir la acumulación de azúcares y potasio.

- Equilibrar la maduración tecnológica (de la pulpa) con la fenólica y aromática, promoviendo estas últimas.

1.2.3.1. Estrategias para el control de la madurez tecnológica

El análisis de maduración ha sido un instrumento clásico para determinar la calidad de la uva (Martínez de Toda, 2011), en él se incluyen parámetros como la concentración de azúcares y principales ácidos y el pH. Esto es lo que ha pasado a denominarse índice de madurez tecnológica, haciendo alusión exclusivamente a la madurez de la pulpa, sin incluir los compuestos existentes en el hollejo (Yuste, 2017).

La influencia de las estrategias de cultivo dependerá de si se llega al equilibrio vegetativo-productivo (Yuste, 2015), y por otra parte al microclima de la planta (Jackson y Lombard, 1993), ya que estas estrategias pueden modificar el microclima de la cepa y consecuentemente la maduración de la uva. Una temperatura elevada favorece el enriquecimiento en azúcares, la subida del pH y la reducción de ácidos. La falta de luz incrementa el contenido en K, mientras que el exceso de humedad proporciona condiciones favorables para los ataques criptogámicos y problemas en la maduración (Jackson y Lombard, 1993). El adecuado uso de las podas en verde, el riego o el estrés hídrico, son operaciones que nos permiten regular el crecimiento vegetal en la planta, mientras que un estrés hídrico severo perjudicará gravemente a la madurez tecnológica (Yuste, 2017).

1.2.3.2. Estrategias para el control de la madurez fenólica

El análisis de maduración tecnológica no aporta información sobre el estado de madurez de la piel ni de la semilla, de ahí la conveniencia de conocer la evolución de la maduración fenólica, pues los compuestos fenólicos se concentran en el hollejo, la pepita y el raspón. Los compuestos fenólicos son diversos, aunque se considera que los más importantes están incluidos en el grupo de los flavonoides (flavonoles, antocianos y taninos). El nivel de acumulación y el momento de máxima concentración de dichos compuestos varía en función de diversos factores (variedad, zona, año, técnicas de cultivo), siendo además independiente la evolución de los antocianos con respecto a la de los taninos (Yuste, 2017).

La influencia de las estrategias vitícolas en la maduración fenólica será consecuencia de los efectos que puedan ejercer, por una parte, en el nivel de producción, dependiendo a su vez de la relación superficie foliar/producción, como han mostrado diversos estudios realizados en diferentes situaciones climáticas, y, por otra parte, en el microclima de la cepa (Jackson y Lombard 1993). Asumiendo que el clima es un factor destacado en la síntesis de compuestos fenólicos, el microclima de la cepa será determinante para favorecer o dificultar la síntesis y la acumulación de estos, entendiendo que cada sustancia fenólica no tiene por qué responder de la misma manera a la variación de los diversos parámetros componentes del clima (Martínez de Toda, 2011).

1.2.3.3. Estrategias para el control aromático

El aroma de un vino se debe a la presencia de numerosos compuestos volátiles, cuyas concentraciones son muy variables, y de ello depende, entre otros factores, que el olfato humano pueda detectarlos. Además de los compuestos dotados de aroma, existen otros, llamados precursores aromáticos, provenientes de la uva en su mayor parte, que son inodoros

pero que son susceptibles de liberar moléculas aromáticas bajo la influencia de diversos factores. Ambos constituyen el potencial aromático del vino (Yuste, 2017).

Los diversos factores que afectan al desarrollo de la baya tienen una gran influencia sobre la composición aromática de la misma, a través del proceso fotosintético y de las rutas metabólicas de síntesis relacionadas con los compuestos y precursores aromáticos. En este sentido, las estrategias de cultivo ejercerán una influencia en el aroma potencial del vino, dependiendo, por una parte, de la relación fuente/sumidero en la cepa, la cual está estrechamente asociada al equilibrio entre la superficie foliar y la carga de cosecha, y por otra parte del microclima, que afecta al canopy y, en particular, a los racimos, como ha sido observado en diversos estudios realizados en diferentes situaciones climáticas (Vilanova, 2014).

Diversos autores han mostrado que la exposición a la luz de hojas y frutos produce un aumento de monoterpenos libres y glicosilados en la baya (Smart, 1987), lo que puede resultar importante para la calidad del vino, porque terpenos y C13-norisoprenoides son los compuestos aromáticos más destacados en cuanto al aroma varietal floral y frutal. Por tanto, las prácticas que contribuyan a mejorar la exposición del fruto a la luz solar serán indicadas como favorables para incrementar el aroma frutal y disminuir los aromas vegetales en el vino, siempre y cuando no sea excesivo y se produzca *sunburn* en las bayas (Vilanova, 2010).

1.3. Aplicación de caolín y sus efectos en el viñedo

Tal como se ha comentado, el exceso de temperatura, la elevada insolación y la escasez de agua, son bien conocidos como factores de estrés ambiental, que limitan la producción vitícola y que se están volviendo más frecuentes a causa del cambio climático (Fraga et al., 2014). La elevada insolación incluye una elevada radiación UV, que es absorbida por los componentes celulares como las proteínas y ácidos nucleicos, lo que resulta en la reducción de biomasa, alteración de la fotosíntesis, reducción de la síntesis proteica, daños en el ADN y otras funciones de los cloroplastos (Dinis et al., 2016).

Además, el exceso de temperatura conduce al estrés oxidativo por la interrupción de las actividades metabólicas y por la activación de la NADPH oxidasa localizada en la membrana (Majer y Hideg, 2012). Es bien conocido que los radicales de oxígeno son remarcablemente reactivos y citotóxicos en todos los organismos, ya que pueden reaccionar con los ácidos grasos insaturados y así inducen la peroxidación de los lípidos esenciales de la membrana u orgánulos intracelulares. La peroxidación conduce a roturas celulares, rápida deshidratación y muerte celular. El daño en las membranas puede influir en la respiración mitocondrial e inducir a la degradación de pigmentos, así como a una pérdida de la capacidad de fijación de CO₂ y la fotoinhibición (Dinis et al., 2016)

Los impactos negativos de los cambios climatológicos impulsaron la búsqueda de estrategias de mitigación a corto plazo a través de la aplicación de compuestos exógenos que podrían mantener o incluso mejorar la productividad de la planta bajo condiciones de estrés ambiental. A partir de una serie de experiencias con diversos compuestos, la aplicación exógena de caolín, que es un mineral químicamente inerte con excelentes propiedades reflectantes, ha dado resultados prometedores (Dinis et al., 2016).

El caolín es una arcilla blanca ($\text{Al}_4\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_8$) registrada en Estados Unidos para el control de plagas (psylla del peral, trips, cicadélidos, curculiónidos y mosca de los cítricos). Su uso también está autorizado en España, Italia, Grecia, Argentina, Nueva Zelanda y Australia para reducir el “golpe de sol” y el estrés térmico de los cultivos (Serrano y Ruiz, 2006).

El caolín redujo la temperatura de la superficie foliar y mejoró la maduración y calidad de la fruta en la manzana, y redujo la temperatura de la superficie de la hoja y aumentó las tasas de asimilación de CO_2 en las olivas. En el tomate, la aplicación de caolín redujo el número de frutas quemadas por el sol y exhibió propiedades protectoras contra el ataque de insectos, e influyó en la respuesta fisiológica a la salinidad. También, en la uva Merlot, la aplicación de caolín mejoró la cantidad total de antocianinas de las bayas y en la Touriga Nacional indujo un efecto protector sobre la estructura y función del fotosistema II (Dinis et al., 2016).

Las propiedades protectoras del caolín hacen que sea imperativo investigar con más detalle sus propiedades protectoras en la vid contra las olas de calor, la alta irradiación y la escasez de agua. Sin embargo, la aplicación de una película de partículas de caolín en la vid induce temperaturas más frías, tasas más bajas de conductancia estomática en condiciones no limitantes de humedad del suelo, protección de la estructura y función del sistema fotosintético en hojas expuestas al calor y a la alta radiación solar, y cambia los componentes de calidad de la uva, como el contenido total de sólidos solubles y la cantidad de polifenoles y antocianinas (Dinis et al., 2016).

Glenn et al. (2010) establecen que la película de partículas de caolín en la superficie de la hoja o en la uva disminuye el estrés térmico sin restringir el intercambio de gases, y Glenn and Puterka (2005) encontraron que mientras la hoja está interceptando la radiación fotosintéticamente activa (PAR) a través de la película de partículas, la película puede reflejar radiación infrarroja desde la superficie (Kok y Bal, 2018).

2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

2.1. Problemática

El clima influye intensamente en la viticultura y como hemos visto lo hace a varias escalas: el macroclima de la región, condicionado por la geografía, que determina las temporadas de cultivo, la temperatura y las pautas de precipitaciones, el mesoclima de la parcela en concreto y el microclima de los racimos de uvas bajo la cobertura foliar. Con el calentamiento global algunas regiones se están volviendo aptas para la viticultura, como Inglaterra, y otras zonas cálidas de tradición vinícola están luchando contra las altas temperaturas y las frecuentes sequías que llevan a producciones irregulares, niveles de alcohol demasiado altos y sabores desequilibrados. Estos desequilibrios se generan por una maduración anormal de la uva. A medida que las uvas maduran, su nivel de azúcar aumenta y la acidez disminuye, como se observa en la ilustración 1. Su composición global está influida por otros compuestos y en su momento de madurez óptima, el sabor debería alcanzar su máximo al mismo tiempo que lo hacen el color, los ácidos y los azúcares (Nicholas, 2015).

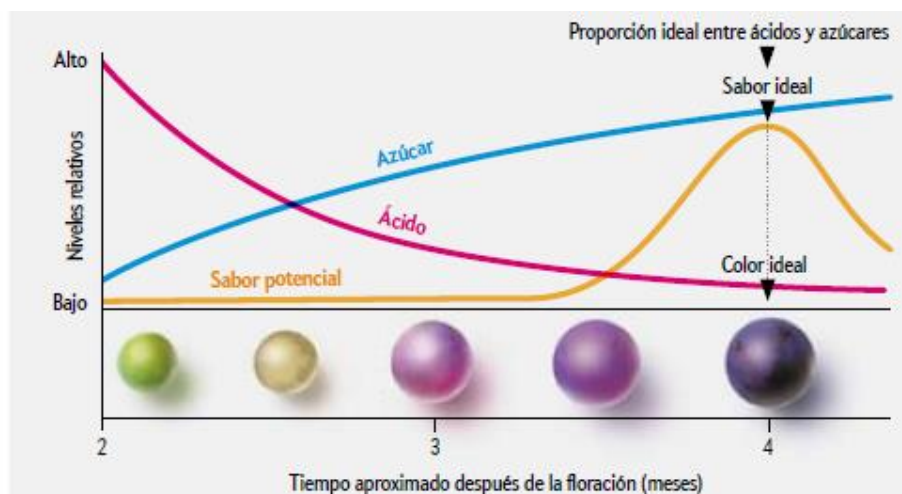


Ilustración 1: Maduración óptima de la uva (Fuente: Nicholas, 2015)

En cambio, a medida que las temperaturas se vuelven más cálidas, la proporción de ácidos y azúcares se alcanza prematuramente durante la fase de crecimiento. El momento de sabor ideal también se adelanta, pero no lo suficiente, dejando un espacio entre este y el momento óptimo de ácidos y azúcares, no llegando a adquirir el color ideal (Nicholas, 2015), tal como se puede observar en la ilustración 2.

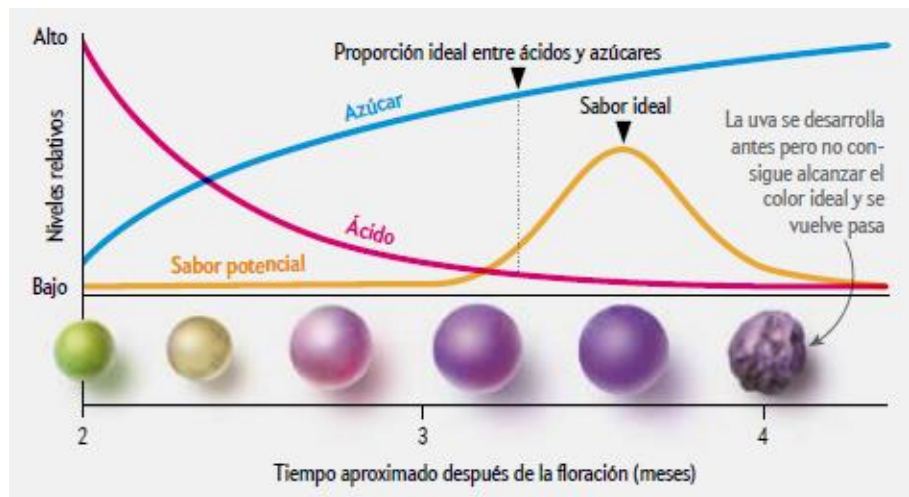


Ilustración 2: Maduración en condiciones cálidas (Fuente: Nicholas, 2015)

Por tanto, el mesoclima contribuye al sabor del vino, condicionado por las temperaturas ambientales que determinan el equilibrio entre azúcares y ácidos de las uvas. En la uva los compuestos fenólicos se generan por exposición al sol; las investigaciones sugieren que los cambios de la temperatura media no son lo único que cuenta y un aumento por encima de unos determinados límites puede ocasionar consecuencias no lineales que disminuirán la cantidad de antocianinas. El microclima determina la composición en taninos, que dan la textura al vino. Un excesivo calor o insolación pueden reducir la cantidad de taninos, dando vinos menos equilibrados (Nicholas, 2015).

1.4. Objetivos

Por todo ello se propone este proyecto para estudiar el efecto de la aplicación foliar de caolín sobre el microclima de la planta, como método de adaptación al cambio climático, y comprobar si los efectos previamente estudiados de este mineral son efectivos en la variedad Monastrell en las condiciones climáticas de Fontanars dels Alforins, pues cada uno de los cultivares podría responder de diversas maneras en función de la adaptación y de la climatología, y estudiar su efecto sobre la calidad final de los vinos.

Por tanto, los objetivos de este trabajo son los siguientes:

1. Determinar el efecto del caolín en los parámetros generales de mosto y vino
2. Conocer si tiene influencia sobre la concentración polifenólica de los vinos.
3. Determinar, cuantitativa y cualitativamente, la influencia sobre la composición aromática y organoléptica de los vinos.

3. Materiales y métodos.

3.1. Zona de estudio.

El presente estudio se realizó en una parcela de Monastrell localizada en el término municipal de Fontanars dels Alforins de la provincia de Valencia (ilustración 3). Las coordenadas de la parcela son 38º 43' 19,0" Norte y 0º 48' 20,3" Oeste. La zona donde se ubica la parcela tiene un clima mediterráneo-continental que se caracteriza por inviernos fríos y húmedos y veranos calurosos y secos. La temperatura media anual ronda los 14 °C, y presenta temperaturas mínimas bajas por lo que hay un gran riesgo de heladas. La precipitación media anual está aproximadamente en 525 mm.



Ilustración 3: situación de la parcela

La explotación vitícola, propiedad de Bodegas Enguera, consta de 3 ha de vid de la variedad Monastrell injertada sobre el patrón fercal, de 15 años de antigüedad. El viñedo está plantado en espaldera, la parte aérea de la planta se conduce por medio de doble cordón royat, no hay implantado riego por goteo y se realiza un manejo del cultivo en ecológico.

Esta variedad es una uva tinta bien aclimatada a las zonas cálidas, es un cultivar que, con la madurez adecuada, puede dar vinos de gran personalidad, con mucho cuerpo, color y alta graduación. Su mayor problema es que para conseguir la maduración adecuada de pieles y semillas necesita un largo periodo de maduración, y esto trae consigo elevadas concentraciones de azúcar en la uva y vinos con altos grados alcohólicos, próximos a los 16 °C. Conseguir uvas de Monastrell con moderada concentración de azúcar y buena madurez polifenólica, es un reto para alcanzar y es uno de los objetivos de este trabajo.

3.2. Diseño experimental.

La parcela estudiada fue dividida en secciones, y de ellas se seleccionaron tres, en las que se incluyen 8 filas de plantas en cada una. Dos de esas tres secciones fueron tratadas y la otra se dejó como control. Se realizaron dos tratamientos con un atomizador "octopus", uno tras el invierno (27 de julio de 2019) y otro casi un mes antes de recolectar (30 de agosto de 2019). Las

8 filas de la primera sección fueron tratadas con una dosis de 15 kg/ha de caolín (Surround WG de BASF), las 8 de la segunda sección con una dosis de 30 Kg /ha con un gasto de caldo medio de 800 L/ha, mientras que las uvas de la tercera sección se utilizaron como control y no fueron tratadas.

El momento de la vendimia se estableció a priori para una madurez glucométrica de 13º Bé y se realizó el seguimiento de la maduración mediante un refractómetro de campo. La primera uva que alcanzó los 13 º Bé fue la uva control, que se vendimió el 27 de septiembre de 2019, recogiendo únicamente la mitad de la uva de esa sección (control 1), tres días después las uvas de las secciones primera y segunda alcanzaron un º Bé similar al control, procediéndose a recolectar los dos tratamientos, al mismo tiempo que se vendimiaba el resto de las uvas de la tercera sección, para que actuaran también de control (control 2). Se obtuvieron unos 134 kg de uva por cada uno de los 4 subgrupos de muestras.

La uva se llevó a la bodega del campus de Vera de la UPV, donde se pesaron y homogeneizaron las uvas de cada una de las muestras y se procedió a su despalillado y estrujado, colocando la pasta en depósitos siempre llenos de acero inoxidable de 50 L, donde se llevaron a cabo las vinificaciones. En total se realizaron 12 microvinificaciones, 2 controles (control 1 y control 2) y 2 tratamientos (caolín 15 y caolín 30), todos ellos por triplicado.

Una vez llenos los depósitos, se toman muestras para realizar los análisis generales del mosto, se añade anhídrido sulfuroso en una dosis de 5 g/hL, 3 g/hL de enzimas pectolíticas (Enozým Vintage, de Agrovin) y al cabo de una hora se sembró la levadura *Saccharomyces cerevisiae* Meyen ex E. C. Hansen (Red fruit de Enartis) a dosis de 30 g/hL, previa hidratación con agua tibia y mosto. Al día siguiente de la inoculación ya se había iniciado el proceso de fermentación alcohólica. Se realizó el seguimiento diario de la fermentación tomando temperatura y densidad. Además, se bazuqueó diariamente durante el periodo de maceración (10 días), asegurando el máximo contacto entre el sombrero y mosto en fermentación. Cuando se alcanzó una densidad de 990 g/L se comprobó la ausencia de azúcares fermentables y se dio por finalizada la fermentación alcohólica, inoculándose bacterias lácticas (*Oenococcus oeni* de Lalleman) entrando así en la etapa de la fermentación maloláctica, tras la cual se sulfitó el vino, se embotelló y reservó para los posteriores análisis. Todo el proceso se ha plasmado en el siguiente diagrama de flujo (ilustración 4).

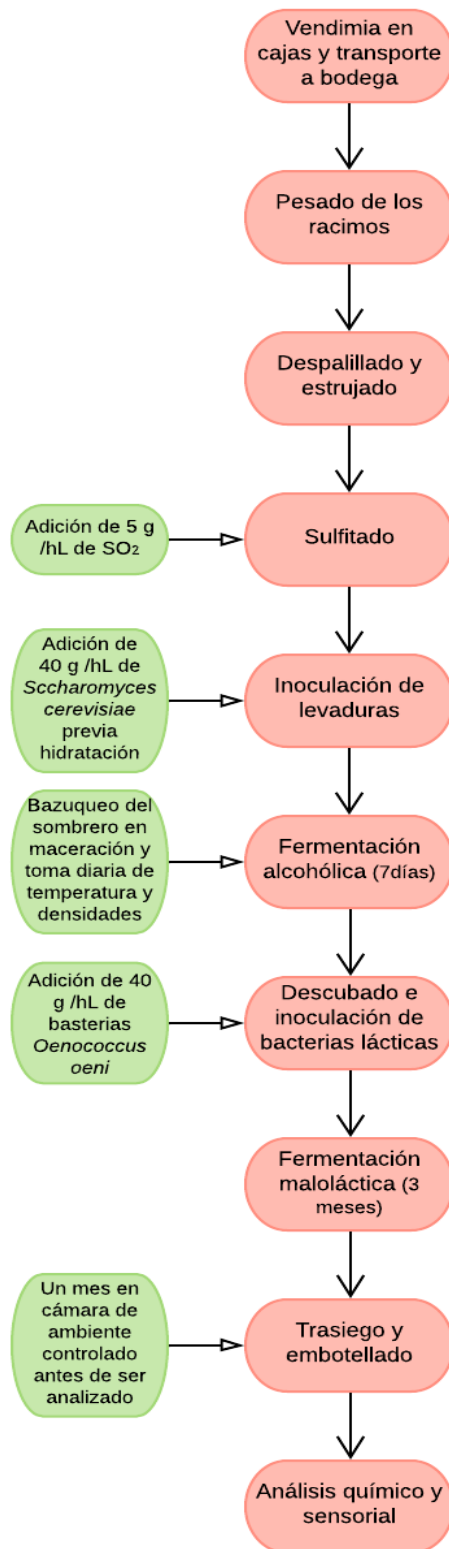


Ilustración 4: Diagrama de flujo del proceso

3.3. Análisis de mostos y vinos.

3.3.1. Análisis general de los mostos y vinos.

El mosto fue medido con un analizador FT-IR de la marca Foss, tras un previo calibrado al inicio del análisis, con el fin de conocer la composición inicial de los mostos y poder orientar la vinificación en función de ésta. Se tomaron las medidas de grados Brix, grado Baumé, grado de alcohol probable, densidad, pH, acidez total, acidez volátil, nitrógeno alpha amino, nitrógeno fácilmente asimilable, ácidoglucónico, ácido málico y ácido tartárico.

También se utilizó el autoanalizador Foss para realizar los análisis de grado alcohólico, pH, densidad, acidez total, acidez volátil, ácido málico, glucosa+fructosa, glucosa/fructosa y azúcares reductores, en los vinos.

3.3.2. Análisis de polifenoles en vino:

Tras embotellar el vino y dejarlo en botella mes y medio para su estabilización se realizan los análisis de polifenoles, en este caso para observar si hay incidencia en la madurez polifenólica de los vinos. A continuación, se detallan los métodos analíticos empleados para cada una de las determinaciones.

- Intensidad colorante (IC) y matiz (T):

El color del vino es uno de los atributos fundamentales en su caracterización, apreciación y calidad. El color del vino tinto depende de la concentración en antocianos libres, de las combinaciones tanino-antociano, de los taninos y varía en función del pH, de la tasa de SO₂ libre, la temperatura y nivel de aireación. El color puede ser cuantificado por la suma de las densidades ópticas a 420 nm (amarillo), 520 nm (rojo) y 620 nm (azul) expresadas en cubeta de 10 mm de recorrido óptico (vidrio o cuarzo) con relación al agua destilada, después de ser centrifugada la muestra 15 minutos a 4000 rpm (Glories, 1978). De esta forma se indica la intensidad del color, así como la contribución del amarillo, del rojo y del azul. Como la absorbancia de los vinos es muy elevada y sobrepasa los límites de la linealidad del espectrofotómetro y al ser un método instrumental y estar valorando concentraciones no se puede diluir, por lo que, se utilizan cubetas de 1 mm (o 2 mm) y el resultado se multiplica por 10 (o por 5) para referirlo a la cubeta estándar de 10 mm de recorrido óptico. Todas las muestras se leen por triplicado.

La IC se obtiene sumando las absorbancias leídas a las longitudes de onda correspondientes: $IC = A_{420} + A_{520} + A_{620}$

La tonalidad o matiz (Reglamento UE 2676/90) indica la importancia del color amarillo frente al rojo y se obtiene con la siguiente fórmula:

$$T = A_{420}/A_{520} \times 100$$

- Índice de Polifenoles Totales (IPT):

El I.P.T permite analizar los compuestos polifenólicos en su totalidad. Está determinado por la absorbancia a la longitud de onda que escinde el grupo fenol (280 nm), en una cubeta de cuarzo de 10mm de paso óptico (Ribereau-Gayon y Stonestreet,1966). El vino se diluye en una proporción de 1:100 y se mide frente al blanco, en este caso agua.

$$IPT = A_{280} \times \text{factor de dilución}$$

- Antocianos totales:

Para la determinación de antocianos totales se toman 0.2 mL del extracto y se colocan en una cubeta de 10 mm de recorrido óptico y se le añaden 3.8 mL de una solución de HCl 1M. Se deja reposar unas 3 horas antes de la medida (Método de Puissant-León modificado por Blouin, 1992). Las medidas deben efectuarse antes de las 24 horas. A continuación, medir la absorbancia a 280, 320, y 520 nm frente a un blanco de HCl 1M (expresar en cubeta de 10 mm) y aplicar la siguiente fórmula:

$$A_{TOT} (\text{mg/g}) = (A_{520} \times 20 \times 20)$$

- Antocianos coloreados o no decolorables por el sulfuroso:

Los antocianos se encuentran en el vino libres y combinados con otros compuestos, principalmente taninos. Los antocianos libres son decolorables por el SO₂ y varían su color en función del pH, al igual que sucede con una fracción de los antocianos combinados, mientras que otra fracción combinada es insensible a la decoloración (Ribéreau-Gayon y Stonestreet, 1965; Ribéreau-Gayon, 1979).

Los métodos químicos de determinación de la concentración de antocianos se basan en esta propiedad de los antocianos de poder ser decolorados, por tanto, ningún método permite valorar correctamente la concentración total de antocianos, solamente la de antocianos no decolorables, que representa una estimación de la cantidad total de antocianos.

El método de valoración de antocianos por variación del pH es muy sensible a la presencia de sulfuroso libre, por lo que el método más utilizado es el de decoloración con SO₂.

Se prepara una Solución A con 0,5 mL de vino previamente centrifugado, 0,5 mL de etanol-HCl al 0,1% de HCl) y 10 mL de HCl al 2%. En un tubo de ensayo se añaden 2,5 mL de esta mezcla y 1 mL de agua destilada y se mide su absorbancia a 520 nm (d_1); en otro tubo se introducen 2,5 mL de la mezcla y 1 mL de bisulfito de sodio al 15%, se espera 20 minutos para que se produzca la reacción y se mide a 520 nm (d_2). Como blanco se emplea agua destilada y una cubeta de 10 mm.

De esta forma la cantidad de antocianos expresada en mg/L viene dada por la siguiente fórmula donde 875 es el coeficiente de extinción molar de la malvidina corregido para dar directamente el resultado en mg/L

$$\text{Antocianos (mg/L)} = 875 \times (d_1 - d_2)$$

- Determinación de la fracción de color debida a antocianos copigmentados:

La copigmentación de los antocianos con otros compuestos como ácidos fenólicos, flavonoides, aminoácidos, polisacáridos, antocianos, flavanoles, etc. que posean una configuración plana, da lugar a estructuras más estables a la decoloración y por tanto a un mayor porcentaje de antocianos coloreados y de otra gama cromática distinta a la que correspondería en el pH del vino (Boulton, 2001).

Para este y el resto de las determinaciones de antocianos se centrifugará el vino y se ajustará a pH 3,6 y se filtrará a través de una membrana de 0,45 µm de tamaño de poro. Todas las determinaciones se hacen por duplicado.

A^{acet} = Se añaden 20 μL de una solución de acetaldehído al 10% a 2 mL de la muestra. Después de 45 minutos se mide su absorbancia a 520 μm en cubeta de 2 mm (la absorbancia se multiplica por 5 para expresar la lectura en cubeta de 10 mm).

A^{20} = Se ponen 100 μL de la muestra en 1900 μL de solución tampón y después de algunos minutos se mide su absorbancia a 520 nm. Se multiplica la A x 20.

La absorbancia de los antocianos copigmentados será: $A_{copig} = (A^{acet} - A^{20}) / A^{acet}$

Y la fracción de antocianos copigmentados:

$$\% \text{ fracción de Antocianos copigmentados} = (A_{copig} / \sum A_{c+i+p}) \times 100$$

- Determinación de la fracción de color debida a los antocianos libres:

A^{SO_2} = Se añaden 160 μL de una solución de SO_2 al 5% (**recién preparada**) a 2 mL de la muestra y se mide su absorbancia a 520 nm (se lee en cubeta de 2 mm y multiplicar por 5).

La absorbancia correspondiente a Antocianos libres será: $A_{libres} = (A^{20} - A^{SO_2}) / A^{acet}$

$$\% \text{ fracción de Antocianos libres} = (A_{libres} / \sum A_{c+i+p}) \times 100$$

- Determinación de la fracción del color debida a antocianos polimerizados.

Absorbancia correspondiente a Antocianos polimerizados (A_{polim}) = A^{SO_2} / A^{acet}

$$\% \text{ fracción de Antocianos polimerizados} = (A_{polim} / \sum A_{c+i+p}) \times 100$$

Los resultados no se pueden expresar en concentración si los antocianos totales se determinan por el método de la decoloración con sulfuroso (Ribereau-Gayón, 1979), ya que este método no contempla el 100% de los antocianos del vino. Habría que realizar una determinación por HPLC para que fuese más exacto.

- Polifenoles totales:

Para determinar la concentración de los polifenoles totales se toman 0,2mL del vino y se diluye con 3,8 mL de HCl 1M (Blouin, 1992) y las muestras se dejan reposar durante 3 horas y se mide su absorbancia a 280 nm frente un blanco de HCl 1M.

$$\text{Polifenoles (mg / L)} = A_{280} \times 80 \times 20$$

Para mayor precisión, los polifenoles totales se determinan contrayendo una recta patrón de calibrado con ácido gálico del tipo $A=a+bC$, que relaciona la absorbancia (A) de la solución con la concentración real (C) de la sustancia patrón utilizada, en este caso se recomienda una serie de soluciones entre 0-25 mg/L de ácido gálico.

- Determinación de flavonoides (FLV) y no flavonoides (NFLV)

Se utiliza el método de Kramling y Singleton (1969) que permite la distinción entre fenoles flavonoides y no flavonoides. Se basa en la reactividad del formaldehído en medio ácido, que actúa como puente en la reacción de condensación entre dos moléculas de flavonoides. Al condensar precipitan quedando en solución los fenoles no flavonoides. Por el método de Folin-Ciocalteu, basado en la oxidación del grupo fenol, se analizan los compuestos fenólicos no flavonoides que quedan en el sobrenadante.

Siguiendo la metodología se preparan dos tubos (Tubo A y Tubo B) y se lee su absorbancia a 760 nm con una cubeta de 10mm, obteniendo respectivamente A_A y A_B .

De la recta de calibrado se interpola la absorbancia del tubo A para calcular la concentración de compuestos fenólicos no flavonoides.

$$\text{NFLV (mg \acute{a}c. g\acute{a}lico/l)} = -8.891 + 1220 \cdot A_A$$

A continuación, interpolamos la recta de la absorbancia del Tubo B obteniendo la concentración de compuestos fenólicos totales.

$$\text{Compuestos fenólicos totales (mg \acute{a}cido g\acute{a}lico/L)} = -8.891 + 1220 \times A_B$$

Y por último se obtiene la concentración de compuestos fenólicos flavonoides por diferencia de la concentración de compuestos fenólicos totales y no flavonoides.

$$\text{FLV (mg \acute{a}c. g\acute{a}lico/L)} = [\text{compuestos fenólicos totales}] - [\text{NFLV}]$$

- Taninos totales:

Mediante el método de Puissant-León modificado por Blouin (1992), se mide la absorbancia a 280, 320, y 520 nm frente a un blanco de HCl 1M.

$$\text{Taninos (mg/L)} = 20 \times 76 \times [(A_{280} - 0,4(A_{320} - 0,2 \times A_{520}) - 0,6 \times A_{520})]$$

- Taninos condensados totales:

Los taninos condensados son los procianidinas o proantocianidinas, formados por monómeros y polímeros de catequinas. Los taninos condensados se presentan principalmente como dímeros y trímeros en vinos jóvenes y se van polimerizando más y más en vinos más viejos. Se puede medir su concentración en un vino por transformación de los taninos en antocianidinas rojas por calentamiento en medio ácido, midiendo la absorbancia de estas moléculas a su longitud de onda de absorción máxima (Ribéreau-Gayon y Stonestreet, 1966). Este método consiste en utilizar esta propiedad para la detección de taninos en el medio.

El método de determinación comienza centrifugando el vino 15 minutos a 4000 rpm y diluir este a 1/50 (1ml de vino hasta 59 ml con agua destilada en un matraz aforado. A continuación, se preparan dos tubos (Tubo 1 y Tubo 2), donde se añade un 1ml del vino diluido 0,5ml de agua destilada y 3ml de HCl 12 N.

El Tubo 1 se tapa herméticamente y se protege de la luz con papel de aluminio, se mete dentro de un baño maría a 100°C durante 30 minutos (los 100° son en el tubo, para ello el baño tiene que estar un poco más alto, 110°). Al cabo de 30 minutos de ebullición se saca el Tubo 1 del baño y se refrigera rápidamente. El Tubo 2 se deja a temperatura ambiente.

Posteriormente, a los dos tubos se les añade 0,5 mL de etanol de 96° y se leen las absorbancias a 550 nm en cubetas de 10 mm de camino óptico, utilizando como blanco agua destilada. La concentración de taninos vendrá dada por la siguiente expresión:

$$\text{Taninos Condensados Totales (g/L)} = (A_1 - A_2) \times 19,33$$

- Concentración de catequinas:

Las catequinas son compuestos fenólicos (flavan-3-ol o flavanoles), representados por una extensa familia compuesta por las diferentes formas isoméricas de la catequina: (+)-

catequina y (-)- catequina; (+)-epicatequina y (-)-epicatequina; (+)-galocatequina y (-)-galocatequina; (+)-epigalocatequina y (-)-epigalocatequina. La condensación de las catequinas y epicatequinas da lugar a los taninos condensados o procianidinas (proantocianidinas), llamadas así porque se obtiene cianidina cuando se hidroliza la molécula; y a las galocatequinas y epigalocatequinas, que se condensan formando taninos condensados llamados prodelphinidinas porque su hidrólisis da delphinidina (Pompei y Peri, 1971).

La condensación de las catequinas se produce en las posiciones 6 y 8 de los flavanoles, por tanto, cuanto más polimerizados estén los taninos, el número de posiciones libres en 6 y 8 disminuye. El método de cuantificación de catequinas se fundamenta en la capacidad de la vainillina para reaccionar selectivamente con las posiciones 6 y 8 de las moléculas de flavanoles, formando un compuesto de adición que, por eliminación de agua, forma un cromóforo rojo. Por tanto, la reacción de la vainillina con las procianidinas da coloraciones menos intensas cuanto más elevado sea el grado de polimerización de los taninos, ya que son menores los puntos de ataque libres.

La preparación de la determinación empieza con la centrifugación del vino, como anteriormente, y su dilución, en este caso 1/10. Se preparan 2 tubos (Tubo A y Tubo B) donde se introducen 0,5ml del vino diluido 1ml de HCL 35%, 0,5 ml de alcohol etílico al 96% y únicamente al Tubo A 0.5 ml de vainillina al 1% en metanol.

Se mezcla y se deja reposar 15 y se procede a leer las absorbancias en cubetas de 10mm de paso óptico a 500nm. Con la relación antes explicada se puede conocer la absorbancia de las catequinas ($A_{\text{catequinas}} = A_{\text{Tubo A}} - A_{\text{Tubo B}}$). Para conocer la concentración en mg/L de catequina se realiza una recta de calibrado y se interpola la absorbancia de catequinas calculada por 10

La relación catequinas/taninos se puede obtener dividiendo la absorbancia de las catequinas por las obtenidas por el método de los taninos, obteniéndose menor valor cuanto mayor sea el grado de polimerización.

$$\text{Relación catequinas/taninos} = A_{\text{catequinas}} / (A_1 - A_2)$$

- Índice de etanol:

Este método permite conocer el porcentaje de taninos combinados con sales inorgánicas, péptidos y polisacáridos, pues al estar combinado precipitan fácilmente con el etanol. Se aumenta el contenido alcohólico de la muestra (0,5mL de vino previamente centrifugado) adicionando 4,5 ml etanol al 96%, se deja reposando durante 24 horas. Posteriormente se centrifuga y se diluye el sobrenadante con agua destilada en proporción 1/10 y se mide la absorbancia a 280nm y con la cubeta de 10mm (A_2). El valor de A_1 que se muestra en la siguiente fórmula será el obtenido con el IPT (Glories, 1984).

$$\text{Índice Etanol (\%)} = ((A_1 - A_2) / A_1) \times 100$$

Cuanto mayor sea el valor de este índice mayor será la polimerización de los polifenoles con polisacáridos, péptidos y sales inorgánicas.

- Índice DMACH:

El proceso se basa en la estimación del grado de polimerización de los taninos de la uva y del vino, utilizando el aldehído p-dimetilaminoacetaldehído (D.M.A.C.H.). Consiste en diluir el vino con metanol a 1 /20, a 5 ml de esta preparación se le añade 2,5 ml del reactivo DMACH. Se mezcla y tras 10 minutos se lee su absorbancia a 640nm (Am) con un blanco de metanol. A su vez, se realiza un testigo, por lo que puedan absorber otros compuestos a esa misma longitud y se toma la medida (At) (Vivas, 1994).

La determinación de la absorbancia con el reactivo DMACH viene definida por la fórmula siguiente: $A_{DMACH} = (A_m - A_t)$

A partir del valor de los taninos condensados calcularemos el Índice de DMACH:

$$I_{DMACH}(\%) = (A_{DMACH} / [\text{Taninos}]) \times 100$$

- Índice de PVPP:

El Índice de Polivinilpirrolidona (PVPP) indica el porcentaje de antocianos combinados con los taninos. La mayor concentración de combinaciones antocianos-taninos justifica la mayor contribución de los antocianos al color (presentan un rojo más intenso y menor tonalidad azul), y sobre todo la estabilidad del color, evitan la oxidación de los antocianos, así como la disminución de la astringencia de los taninos (Blouin, 1977; Vivas et al., 1995).

La determinación comienza con la centrifugación del vino y poniendo las muestras por triplicado. Se diluye el vino 1/50 (0,2 mL de vino y 9,8 mL de con agua destilada) y se lee su absorbancia a 280 nm con cubeta de 10 mm de camino óptico (D0₀).El blanco es agua destilada(Glories, 1984).Uno de los tubos se ha mantenido a 0°C y se añade 1 ml de vino diluido a 1/5 con agua destilada y 1 ml de PVPP 0,6%. Se agita y se deja reposar 10 minutos, tras los cuales se añade 3 mL de TCA al 20% y se vuelve a agitar y dejar reposar durante 10 minutos. Se centrifuga durante 8 minutos a 4000 rpm y se lee la absorbancia del sobrenadante a 280 nm en una cubeta de 10 mm con un blanco de TCA al 6% (D0₁).

El índice de Polivinilpirrolidona se obtiene mediante la siguiente expresión:

$$I.PVPP (\%) = [(D0_0 - D0_1) / D0_0] \times 100$$

3.4. Análisis sensorial

Los vinos procedentes de los distintos tratamientos en campo fueron catados por un panel de 10 catadores expertos, sometidos previamente a selección y entrenamiento. La cata se realizó en condiciones estandarizadas en la Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural, en una sala de catas con cabinas normalizadas (norma UNE EN ISO 8589). Inicialmente se realizaron Test Triangulares (ISO 4120) para las tres repeticiones de cada tratamiento, para determinar si estas repeticiones son apreciablemente diferentes desde el punto de vista sensorial, y si estas diferencias no son muy evidentes, poder proceder a realizar la media de los valores sensoriales obtenidos en los tres vinos control fermentados, en los tres vinos procedentes del tratamiento con 15 kg/ha, y por último realizar la media de cada uno de los parámetros sensoriales determinados en los tres vinos procedentes del tratamiento con 30 kg/ha.

El análisis sensorial descriptivo y cuantitativo escalar (QDA) (ISO 8589, ISO 3591, ISO 11035) se realizó en una sola sesión, para evitar interferencias debidas al estado físico de cada catador.

La ficha de cata contempla la valoración cuantitativa de una serie de parámetros sensoriales, que se clasificarán con una puntuación de 0 a 10, valorándose los parámetros que se recogen en la tabla 2.

Tabla 2: Ficha descriptiva de la cata

Examen Visual	Matiz o Tonalidad
	Intensidad de color
Examen olfativo	Intensidad del aroma
	Calidad del aroma
	Frutas rojas (ciruela, cereza, frambuesa, guinda)
	Frutas negras (moras, arándanos)
	Nota balsámica
	Nota Vegetal
	Notas florales
	Notas lácteas
	Notas a especias (pimienta, clavo, canela, vainilla, anís)
Examen gustativo	Intensidad del gusto
	Calidad del gusto
	Acidez
	Dulzor
	Untuosidad
	Astringencia
	Amargor
	Persistencia
Calidad global (Equilibrio-Armonía)	

Las puntuaciones se realizarán del 1 (sensación poco intensa) al 10 (muy intensa)

3.5. Análisis estadístico

El tratamiento estadístico de los datos se ha llevado a cabo con el programa informático “Statgraphics Centurion XVI”, con él se ha realizado el análisis de la varianza (ANOVA simple) para poder observar las diferencias entre las medias de los grupos de datos estudiados. Se ha utilizado el contraste de hipótesis, con un nivel de confianza de 95%, para determinar si el efecto del tratamiento de caolina en la viña es significativo o no.

Para ello, se estudió en cada parámetro la existencia o no de diferencias significativas en función de los tratamientos aplicados en el campo. Una vez observado esto en cada caso, se establece si el caolín es beneficioso para la protección de las uvas, y si la dosis da lugar a diferencias significativas.

Para simplificar la interpretación de los resultados, se ha realizado un Análisis de Componentes Principales (PCA) utilizando el programa SIMCA versión 10. A través del PCA transformamos un conjunto de variables intercorrelacionadas con otro conjunto de variables no

correlacionadas, llamadas Componentes Principales, que son una combinación lineal de las variables originales. El primer componente principal que se extrae en el análisis es el que mejor resume la información contenida en la matriz de datos original, o sea, el que mejor ayuda a explicar la varianza total. El segundo componente es el que mejor resume la varianza restante y la secuencia puede continuar extrayendo factores hasta explicar la varianza total. El PCA extrae los patrones dominantes de la matriz de datos en términos de un conjunto complementario de gráfico de puntuaciones y gráfico de carga.

4. Resultados y discusión.

4.1. Efectos de los tratamientos sobre la producción del viñedo de Monastrell.

Durante la vendimia se contabilizaron el número de cepas vendimiadas, el número de racimos recogidos por cepa y sus pesos. Tras su análisis estadístico se muestran los resultados en la tabla 3.

Tabla 3: Media, desviación estándar y ANOVA de la vendimia de Monastrell con y sin tratamiento de caolín. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas al 95%

	Racimo por cepa			Peso medio racimo (g)		
Control	16,76	± 2,17	a	897,18	± 111,98	a
Caolin 15 kg/ha	17,24	± 1,94	a	932,72	± 57,18	a
Caolín 30 kg/ha	20,40	± 6,93	a	860,32	± 88,25	a
F-ratio	1,25			1,00		
P.value	0,3154			0,3912		

Como se puede observar en la tabla no hay diferencias significativas con lo que respecta al número de racimos vendimiado por cepa y el peso medio de los racimos. Esto coincide con conclusiones obtenidas por otros autores en condiciones agroclimáticas diferentes, donde no se encuentran diferencias significativas entre el peso de los racimos tratados con caolín y sin tratar (Coniberti et al., 2013).

4.2. Efectos de los tratamientos sobre la madurez tecnológica de las uvas de Monastrell.

Los resultados del tratamiento estadístico de los análisis generales realizados sobre los mostos control y los procedentes de los tratamientos con caolín, se exponen en la tabla 3.

Tabla 4: Media, desviación estándar y ANOVA de la composición de los mostos de uva Monastrell con y sin tratamiento de caolín. Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas al 95%

Tratamiento	Control	Caolin 15 kg/ha	Caolin 30 kg/ha	F-ratio	P-value
Brix	24,08 ± 0,30 a	24,11 ± 0,47 a	24,41 ± 0,20 a	0,87	0,4675
Baumé	13,38 ± 0,17 a	13,39 ± 0,26 a	13,56 ± 0,11 a	0,85	0,4651
AP	14,20 ± 0,21 a	14,22 ± 0,33 a	14,43 ± 0,14 a	0,81	0,4782
Densidad	1101 ± 1,00 a	1101 ± 0,00 a	1102 ± 0,00 a	0,57	0,4825
pH	3,57 ± 0,02 b	3,56 ± 0,02 b	3,52 ± 0,01 a	3,53	0,0356
Acidez Total	5,67 ± 0,30 a	5,78 ± 0,12 a	6,28 ± 0,62 a	2,92	0,0651
Amonio	35,83 ± 16,81 a	20,97 ± 33,50 a	31,73 ± 7,96 a	0,36	0,7109
Alpha Amino	137,83 ± 5,15 b	124,87 ± 14,51 b	123,97 ± 2,75 b	1,31	0,1904
NFA	173,67 ± 21,61 b	145,83 ± 47,86 ab	155,70 ± 10,13 ab	0,62	0,5661
Ácido Málico	1,85 ± 0,06 b	1,69 ± 0,61 b	1,63 ± 0,12 b	0,32	0,7411
Ácido Tartárico	6,07 ± 0,40 b	6,67 ± 0,81 b	6,47 ± 0,21 b	0,98	0,4293

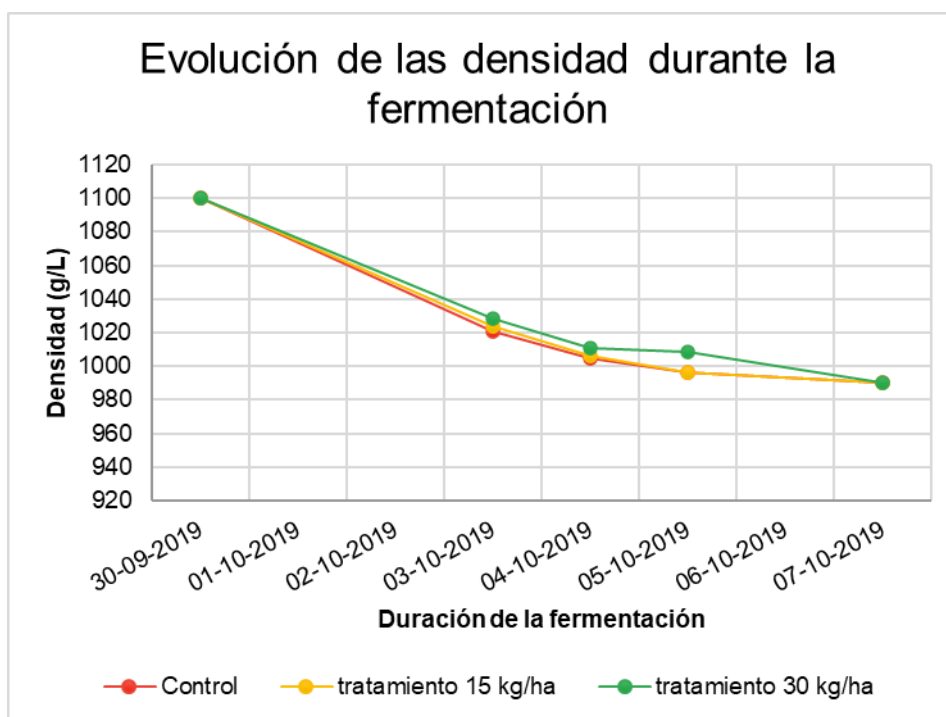
Los mostos procedentes de uvas tratadas con caolín no presentan diferencias significativas entre sí para la composición general, excepto en el pH, donde el mosto tratado con una dosis mayor de caolina tiene un pH ligeramente inferior que el control y el otro tratamiento.

Además, estos mostos tienen mayor acidez total, aunque esas diferencias no son significativas porque tienen una desviación estándar elevada ya que uno de los 3 depósitos con uva tratada con 30 kg/ha difería en su composición de los otros dos.

Los parámetros relacionados con la acidez están muy influenciados por las altas temperaturas durante la maduración de la uva, que provoca una pérdida de acidez y un aumento de pH por transformación de los ácidos en azúcares y combustión de los ácidos para utilizarlos la uva en su metabolismo (González San José & Andrades Rodríguez, 1995). Se puede observar que el tratamiento con mayor dosis y por lo tanto más protegido, presenta un pH menor, mientras que el control y el tratamiento con menos dosis, sí que han sufrido un aumento significativo de su pH. Estos resultados son controvertidos, ya que algunos estudios encontraron resultados similares (Martínez, 2019) mientras que en otros no se manifiestan estas diferencias (Coniberti et al., 2013).

4.3. Seguimiento de las fermentaciones

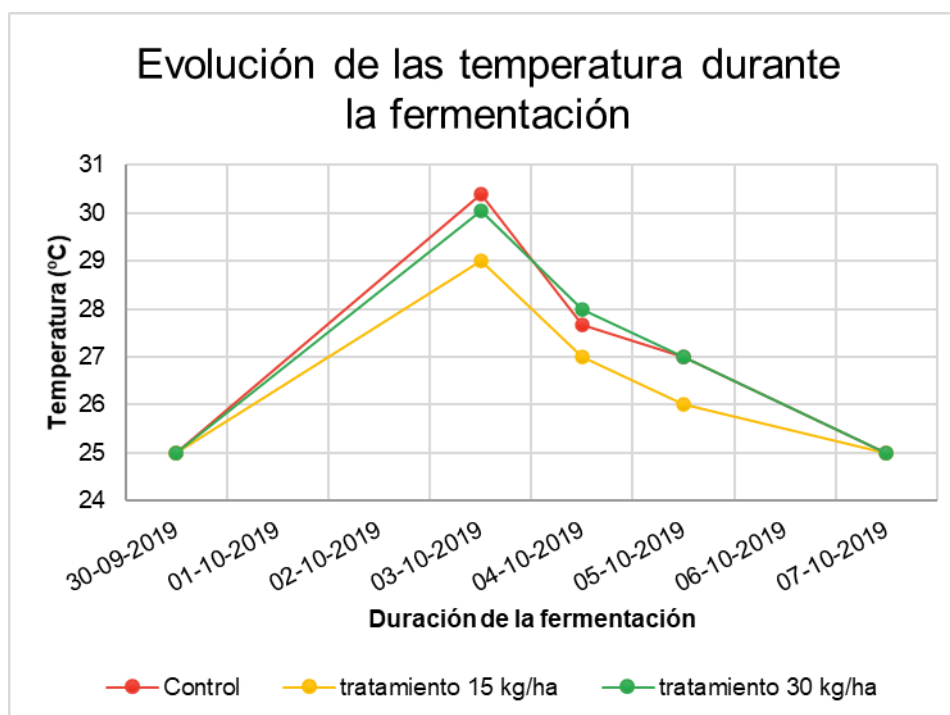
Durante todo el proceso fermentativo se llevó a cabo el seguimiento de la densidad y la temperatura en todos los depósitos, y la evolución de sus medias se recogen en las gráficas 1 y 2



Gráfica 1: Evolución de la densidad durante la fermentación alcohólica

El seguimiento de la densidad nos permite conocer el momento en el que la fermentación alcohólica termina, es decir cuando se han consumido la mayor parte de azúcares y las levaduras ya no tienen sustrato fermentativo y esto impide la viabilidad de las levaduras. Se puede ver que los 3 vinos comienzan con la misma densidad y alcanzan a la vez la densidad final de 990. En cambio, el descenso de la densidad en la fermentación de las uvas procedentes de los tratamientos con caolín 30 kg/ha es más lenta, a pesar de que alcanza una temperatura superior

a las realizadas con uvas tratadas con caolín 15 kg/ha. Las fermentaciones control tuvieron un descenso más rápido debido a que su temperatura de fermentación fue ligeramente superior.



Gráfica 2: Evolución de la temperatura durante la fermentación

4.4. Efectos de los tratamientos sobre la composición de los vinos de Monastrell.

4.4.1. Análisis convencionales de los vinos.

Una vez concluidas las fermentaciones, se analizaron los vinos procedentes de los distintos tratamientos, recogiendo en la tabla 4 la media, desviación estándar y ANOVA de los parámetros convencionales de los vinos.

Tabla 5: Media, desviación estándar y ANOVA de los parámetros convencionales de los vinos de Monastrell, Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas al 95%

Vino	Control	Caolin 15 kg/ha	Caolín 30 kg/ha	F-ratio	P.value
Densidad	0,994 ± 0,00 a	0,994 ± 0,00 a	0,994 ± 0,00 a	0,23	0,9856
Grado Alcohólico	13,94 ± 0,17 a	14,15 ± 0,07 a	14,19 ± 0,28 a	2,09	0,0751
pH	4,06 ± 0,02 b	4,07 ± 0,04 b	3,91 ± 0,05 a	30,36	0,0000
Acidez Total	4,75 ± 0,18 a	4,80 ± 0,21 a	5,01 ± 0,24 b	2,98	0,0492
Acidez Volátil	0,45 ± 0,02 a	0,47 ± 0,06 a	0,41 ± 0,05 a	1,52	0,1221
Ac. Málico	0,59 ± 0,14 a	0,48 ± 0,09 a	0,61 ± 0,25 a	1,00	0,3906
Glu+Fru	0,75 ± 0,26 a	0,72 ± 0,20 a	0,82 ± 0,16 a	0,35	0,7121
Gluc/Fruc	1,73 ± 0,15 a	1,70 ± 0,11 a	1,78 ± 0,12 a	0,66	0,5336
Azúcares reductores	2,35 ± 0,27 a	2,22 ± 0,24 a	1,98 ± 0,45 a	1,77	0,0891

Los parámetros convencionales realizados sobre los vinos no han sido de gran relevancia, a excepción del pH y la acidez total que sí presentan diferencias, tal como sucedía en los mostos. Puede observarse que el vino cuya uva fue tratada con mayor dosis de caolín presenta 3,91 de

pH frente a los 4,06 y 4,07 que tienen el control y el otro tratamiento, respectivamente. Lo mismo ocurre con la acidez total donde el control y el tratamiento con menor dosis tienen significativamente menor valor de acidez total que el vino con 30 kg/ha de caolín. La protección que el caolín a dosis elevadas ejerce sobre la acidez puede resultar muy interesante, ante el incremento de pH y bajada de la acidez que se observa a medida que el cambio climático es más evidente (Yuste, 2017).

4.4.2. Análisis polifenólicos de los vinos

El contenido polifenólico de los vinos es uno de los índices básicos para evaluar la calidad de un vino tinto y muchos de sus atributos organolépticos están estrechamente relacionados con estos compuestos (Gomez-Cordoves et al., 1995).

Para una mejor interpretación de los resultados, se van a agrupar los parámetros polifenólicos en grupos de compuestos correlacionados entre sí.

4.4.2.1. Parámetros relacionados con el color

Es bien conocido el importante papel que juegan los antocianos en el color de los vinos tintos. Por ello, junto con los distintos componentes del color, se recogen en la tabla 5 la concentración de antocianos totales y coloreados y la proporción de ellos que se encuentra en estado libres, polimerizados o copigmentados.

Tabla 6: Media, desviación estándar y ANOVA de los parámetros polifenólicos relacionados con el color en los vinos de Monastrell. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas al 95%

	Control			Caolín 15 kg/ha			Caolín 30 Kg/ha			F-ratio	P-value
A420	2,50	± 0,04	a	2,66	± 0,35	a	3,05	± 0,09	b	15,93	0,0000
A520	2,89	± 0,11	a	3,18	± 0,68	a	4,11	± 0,04	b	22,83	0,0000
A620	0,76	± 0,02	a	0,79	± 0,13	a	0,94	± 0,04	b	13,33	0,0001
IC	6,16	± 0,15	a	6,62	± 1,17	a	8,11	± 0,12	b	19,98	0,0000
TONO	86,47	± 2,27	b	84,78	± 6,16	b	74,22	± 2,36	a	24,99	0,0000
An. TOT (mg/L)	431,99	± 25,62	a	442,70	± 27,72	a	462,59	± 27,88	b	2,96	0,0411
An. COL (mg/L)	339,92	± 24,01	a	360,87	± 18,74	ab	366,45	± 8,85	b	3,49	0,0267
% An.COPIG	32,14	± 3,57	b	30,12	± 3,68	b	23,25	± 3,03	a	16,53	0,0000
% An.LIBRES	44,27	± 1,75	a	44,60	± 1,88	a	48,75	± 2,59	b	12,62	0,0002
% An. POLIM	23,58	± 2,16	a	25,28	± 2,03	a	28,01	± 0,59	b	14,71	0,0001

Los valores de las absorbancias de los vinos a las distintas longitudes de onda son más elevadas en los vinos tratados con caolín 30 kg/ha. Y lo mismo sucede con la Intensidad Colorante, presentando los vinos tratados con la dosis de 30 kg/ha valores de color significativamente superiores, así como de antocianos totales y coloreados. El tono, o relación del componente amarillo del color con el rojo, tiene un comportamiento inverso al de la Intensidad Colorante, siendo inferior en los vinos procedentes de tratamientos con 30 kg/ha, estando estos vinos más protegidos del efecto oxidativo debido entre otras cosas a la mayor concentración de moléculas antioxidantes como los antocianos. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Denis et al. (2016), que encontraron un aumento del 47% entre los antocianos tratados con caolín y los controles.

El color de los vinos tintos depende de la concentración de antocianos, pero también de su estado en el vino, estado que depende de varios factores, siendo uno de ellos el fenómeno de la copigmentación. Este efecto es muy importante en los vinos jóvenes, ya que es el

responsable del 30-50% de su color (Boulton, 2001; Santos-Buelga et al., 2001), constituyendo estas reacciones un primer paso en la formación de pigmentos más estables durante el envejecimiento de estos (Cacho, 2003), los antocianos libres, en cambio, son mucho más susceptibles a la oxidación y a la decoloración por cambios en el medio (Santos-Buelga et al., 2001).

Los vinos elaborados con las uvas procedentes de la aplicación de 30 kg/ha de caolín tienen una mayor proporción de antocianos en forma polimerizadas, y la más baja de antocianos copigmentados, lo que evidencia que ha tenido lugar la evolución de las formas copigmentadas a polimerizadas, formas que son menos sensibles y proporcionan una mayor estabilidad al color de los vinos. Por ello, podemos afirmar que la protección de las uvas con una dosis alta de caolín ha permitido no solo conservar una mayor concentración de antocianos, si no que estos se mantengan en su forma coloreada proporcionando mayor color a los vinos, y además que estos antocianos se encuentren más polimerizados, con lo cual no solo tienen más color, si no que este será más estable en el tiempo.

Sería de esperar que los vinos procedentes de los tratamientos con 15 kg /ha de caolín mostrasen un comportamiento intermedio entre los controles y los tratados con 30 kg/ha, ya que, aunque la dosis sea menor tendría que ser detectable su efecto protector sobre el viñedo. Pero esta situación solo es significativa para la concentración de antocianos coloreados. Esto podría deberse a las excepcionales condiciones climáticas que se dieron durante la temporada estival del año 2019, siendo este más lluvioso de lo habitual, sobre todo durante la fase de maduración y momento del segundo tratamiento, tras el cual cayeron 10mm de precipitaciones torrenciales, pudiendo haber lavado esa última aplicación disminuyendo su efecto.

4.4.2.2. Parámetros relacionados con la concentración de polifenoles

Los compuestos fenólicos se dividen según su estructura química en dos grandes grupos, los flavonoides (antocianos, taninos y antocianidinas) y los no flavonoides (ácidos benzoicos, ácidos cinámicos y estilbenos). En la tabla 7 podemos observar los valores medios de los polifenoles totales, no flavonoides y flavonoides para los vinos elaborados.

Tabla 7: Media, desviación estándar y ANOVA de la composición polifenólica de los vinos de Monastrell. Letras distintas en la misma filas indican diferencias significativas al 95%

	Control	Caolín 15 kg/ha	Caolín 30 kg/ha	F-ratio	P-value
No Flavonoid (mg/L)	873,84 ± 83,92 a	790,07 ± 33,35 a	829,14 ± 55,66 a	1,03	0,2028
Flavonoides (mg/L)	2487 ± 214 a	2491 ± 123 a	2471 ± 117 a	0,40	0,7572
Polifenoles (mg/L)	3.361 ± 175,1 a	3.280 ± 133,7 a	3.300 ± 124,3 a	1,44	0,2507
IPT	40,22 ± 2,12 a	38,19 ± 2,37 a	39,37 ± 1,94 a	2,74	0,0593

Para estos compuestos no parece que el caolín tenga ningún efecto, aunque otros estudios en condiciones climáticas diferentes sí que muestran un aumento significativo de los no flavonoides y flavonoides, y en general de los polifenoles totales, debido a una mejor madurez fenólica de las uvas al no tener que soportar las altas temperaturas del control, que dificulta la completa madurez polifenólica de las uvas (Dinis et al., 2016).

4.4.2.3. Parámetros relacionados con la calidad y cantidad de taninos

En la tabla 8 se recoge la media, desviación estándar y ANOVA de los parámetros relacionados con los taninos en los vinos de Monastrell.

La concentración de taninos totales, catequinas y taninos condensados están relacionados con el nivel de maduración, pues las catequinas se polimerizan a favor de los taninos condensados a medida que aumenta la maduración. Por lo tanto, y como se puede observar en la tabla, no hay diferencias significativas con respecto a los taninos, al igual que tampoco las hay en los parámetros relacionados con la calidad de los taninos (Índice de DMACH, PVPP y etanol).

Tabla 8: Media, desviación estándar y ANOVA de los parámetros relacionados con los taninos en los vinos de Monastrell. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas al 95%.

	Control	Caolín 15 kg/ha	Caolín 30 kg/ha	F-ratio	P-value
Catequinas (mg/L)	714,26 ± 144,2 a	651,50 ± 94,07 a	614,78 ± 104,1 a	2,72	0,061
Taninos cond (mg/L)	1038,55 ± 119,6 a	999,95 ± 101,7 a	1013,89 ± 90,81 a	0,26	0,8553
Taninos tot	2151,55 ± 115,6 a	2133,99 ± 68,09 a	2142,90 ± 62,7 a	0,82	0,4951
I.PVPP	65,73 ± 2,22 a	63,71 ± 1,92 a	65,45 ± 1,31 a	2,23	0,1039
I.DMACH	98,08 ± 13,36 a	99,18 ± 7,37 a	97,74 ± 14,24 a	1,83	0,1621
I.ETANOL	44,65 ± 1,94 a	43,03 ± 3,22 a	44,91 ± 1,61 a	2,09	0,0753

4.5. Análisis sensorial.

El análisis sensorial consistió en una cata para evaluar las diferencias apreciables por un conjunto de 10 catadores expertos, 8 de ellos profesionales del sector y los restantes alumnos. En la tabla 9 se muestran los resultados obtenidos tras su conveniente análisis estadístico.

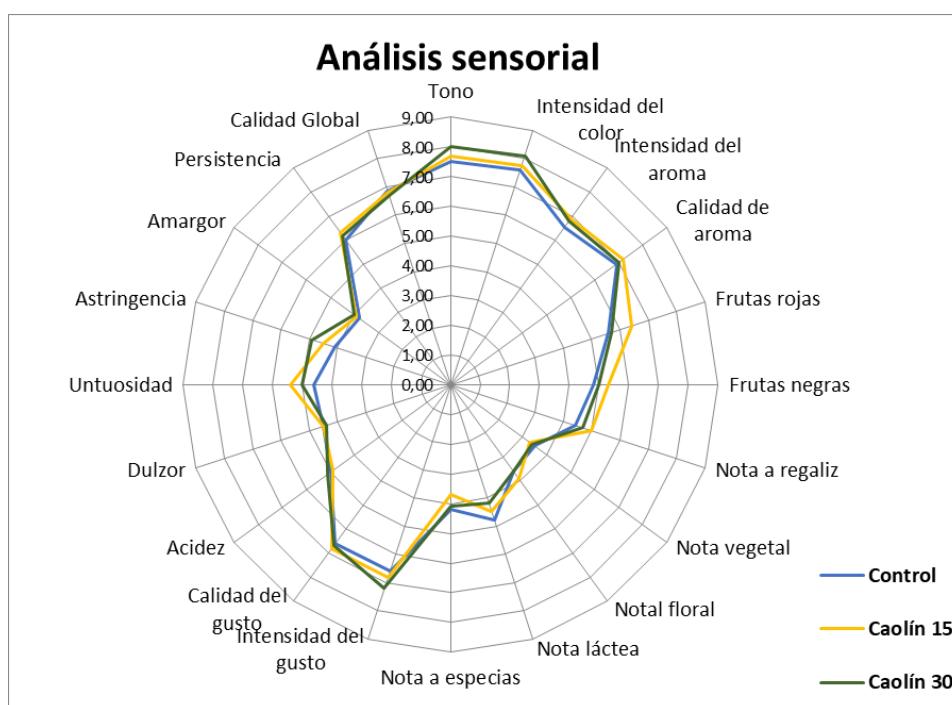
Tabla 9: Media, desviación estándar y ANOVA de los parámetros sensoriales de los vinos de Monastrell. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas al 95%.

Parámetros Sensoriales	CONTROL	CAOLÍN 15 kg/ha	CAOLÍN 30 kg/ha	F-ratio	P-value
Matiz	7,50 ± 0,53 a	7,70 ± 0,67 a	8,00 ± 0,67 a	2,61	0,0649
Intensidad color	7,60 ± 0,52 a	7,75 ± 0,42 ab	8,10 ± 0,32 b	3,61	0,0408
Intensidad aroma	6,55 ± 0,83 a	6,90 ± 1,17 a	6,80 ± 0,63 a	0,39	0,0676
Calidad aroma	6,90 ± 0,57 a	7,20 ± 0,92 a	7,00 ± 0,67 a	1,05	0,3835
Frutas rojas	5,60 ± 1,17 a	6,40 ± 0,97 a	5,70 ± 1,16 a	1,13	0,3491
Frutas negras	4,80 ± 1,81 a	5,30 ± 1,42 a	5,00 ± 1,63 a	0,17	0,9188
Nota a regaliz	4,40 ± 1,71 a	5,00 ± 1,89 a	4,70 ± 2,06 a	0,18	0,9084
Nota vegetal	3,50 ± 1,90 a	3,30 ± 1,70 a	3,40 ± 2,01 a	0,04	0,9874
Notal floral	3,60 ± 2,37 a	3,90 ± 1,85 a	3,60 ± 2,37 a	0,04	0,9886
Nota lactea	4,80 ± 2,35 a	4,50 ± 2,55 a	4,20 ± 2,35 a	0,11	0,9554
Nota a especias	4,20 ± 2,53 a	3,70 ± 2,67 a	4,10 ± 2,38 a	0,08	0,973
Intensidad del gusto	6,60 ± 0,84 a	6,80 ± 1,23 a	7,20 ± 1,03 a	0,62	0,6088
Calidad del gusto	6,60 ± 0,84 a	6,80 ± 1,32 a	6,70 ± 0,82 a	0,35	0,7904
Acidez	5,00 ± 1,15 a	4,90 ± 1,52 a	5,10 ± 1,10 a	0,05	0,9845
Dulzor	4,50 ± 1,84 a	4,50 ± 2,17 a	4,40 ± 2,27 a	0,01	0,9991
Untuosidad	4,60 ± 2,07 a	5,40 ± 2,07 a	5,00 ± 2,31 a	0,22	0,8811
Astringencia	4,10 ± 1,73 a	4,50 ± 1,65 a	4,90 ± 2,02 a	0,47	0,7075
Amargor	3,80 ± 1,32 a	3,90 ± 1,52 a	4,00 ± 1,56 a	0,04	0,9874
Persistencia	6,00 ± 0,94 a	6,30 ± 1,64 a	6,20 ± 1,23 a	0,19	0,8997
Calidad Global	6,85 ± 0,58 a	6,80 ± 1,16 a	6,70 ± 0,98 a	0,14	0,9325

En la mayoría de las características evaluadas no se aprecian diferencias significativas a excepción de la intensidad de color. Esto señala que los catadores han sido capaces de detectar el aumento de antocianos coloreados, responsables mayoritarios del color del vino tinto, evidenciando el notable efecto que tiene el caolín sobre esta variable tan importante en la calidad de un vino.

Observando los resultados de la calidad global de los vinos se refleja que la caolina no influye negativamente en el sabor, olor y gusto de los vinos, potenciando significativamente el color de estos.

Se ha realizado un gráfico radial del análisis sensorial para observar con mayor facilidad las diferencias entre los vinos que el panel de cata fue capaz de percibir (gráfico 3).



Gráfica 3: Gráfico radial del análisis sensorial de los vinos de uva Monastrell.

Se podría decir que los vinos tratados tuvieron mayores puntuaciones en la mayoría de los parámetros evaluados a excepción de amargor y nota vegetal que están todo muy igualados. Para poder concretar más las diferencias a nivel aromático estaba previsto realizar una cromatografía de gases, que finalmente no se pudo llevar a cabo (emergencia sanitaria 2020).

4.6. Aplicación del Análisis de Componentes Principales a la diferenciación de los vinos

A continuación, se muestra un Análisis de Componentes Principales (PCA) realizado con los parámetros químicos y sensorial de los vinos determinados en los vinos, realizado con la finalidad de explicar gráficamente si mediante estos atributos podemos distinguir los vinos en función del tratamiento aplicado en campo, depósito empleado en la fermentación y conservación de los vinos (gráfica 4).

El PCA es un análisis multivariante que reduce la amplia información obtenida del conjunto de los parámetros de los vinos sometidos a estudio, en una matriz de correlaciones entre las variables, que serán los “componentes principales”.

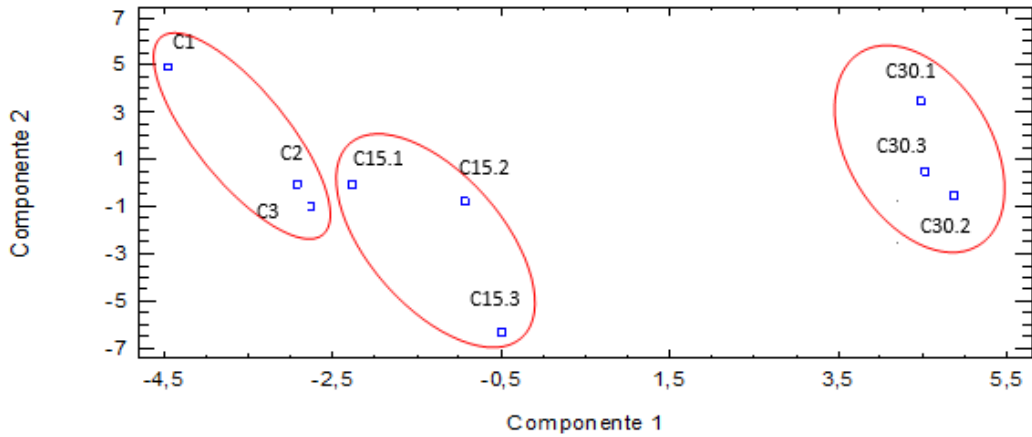
El primer componente principal que se extrae en el análisis tiene un peso en la diferenciación del 67,56 %, explicando un porcentaje importante de la varianza total y de la información contenida en la matriz de datos original. Este componente 1 separa claramente los vinos procedentes de los tratamientos con 30 kg/ha de caolín de los control y de los procedentes de tratamientos con 15 kg/ha de caolín. El componente 2, con un peso menos importante en la diferenciación (22,12 %), contribuye junto con el componente 1 a diferenciar los vinos control de los procedentes de tratamientos con 15 kg/ha de caolín (gráfico de puntuaciones). El resto de los componentes tienen un peso muy pequeño en la diferenciación.

La componente 1 se correlaciona en mayor medida con los parámetros químicos relacionados con el color, tales como la A420, A520, la Intensidad Colorante, el Tono, la concentración de antocianos totales y coloreados, copigmentados, libres y polimerizados y con la intensidad del color apreciada sensorialmente, parámetros que tal como vimos en el ANOVA, son los que presentan diferencias significativas en la diferenciación de estos vinos. La componente 2, mucho menos importante en la separación de los vinos, se correlaciona en mayor medida con parámetros sensoriales como frutas rojas, frutas negras, untuosidad e intensidad del aroma y calidad del gusto, parámetros que muestran diferencias entre los vinos, pero que no han llegado a ser significativa en el ANOVA.

En el gráfico de cargas de la gráfica 5 podemos observar que los vinos procedentes de los tratamientos con 30 kg/ha se diferencian por los parámetros relacionados con el color, tales como la A420, A520, la Intensidad Colorante, la concentración de antocianos totales y coloreados, libres y polimerizados, mientras que a la separación de los vinos control contribuyen los antocianos copigmentados, el pH, el Tono y la concentración de azúcares reductores, quedando los vinos procedentes de tratamientos con 15 kg/ha de caolín en una posición intermedia, en la que destacan como parámetros diferenciadores la untuosidad, las frutas negras y rojas y las notas florales, parámetros que presentan mayor puntuación en estos vinos, pero cuya diferencia con el resto de los vinos no llega a ser significativa.

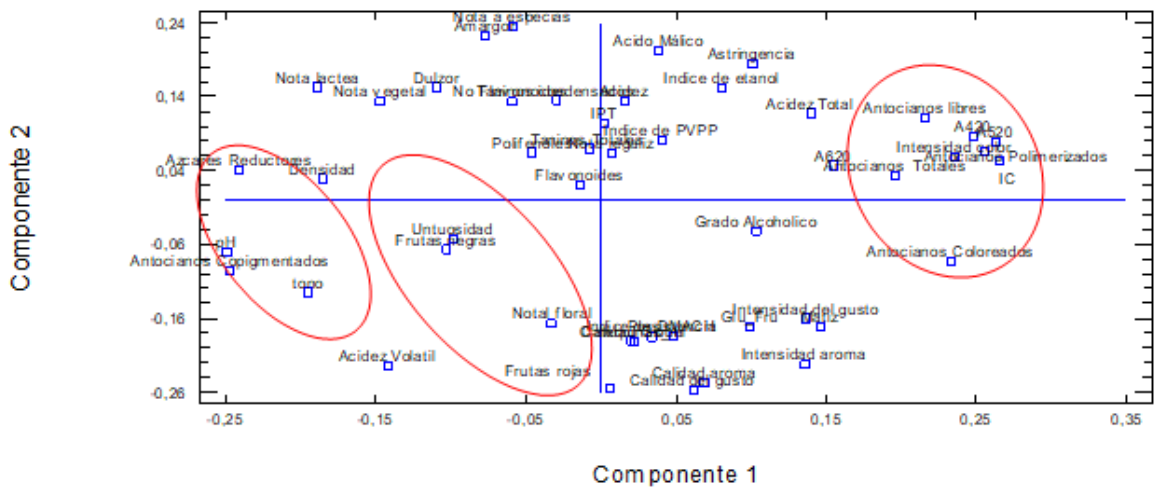
Como podemos ver, el PCA resume gráficamente la información obtenida en los apartados anteriores de una forma sencilla y fácil de interpretar.

Gráfica de puntuaciones



Gráfica 4: Análisis de los componentes principales (PCA) realizado sobre los parámetros analíticos y sensoriales de los vinos: gráfica de puntuaciones para los vinos en función del depósito en el que han sido elaborados

Gráfico de Cargas



Gráfica 5: Análisis de los componentes principales (PCA) realizado sobre los parámetros analíticos y sensoriales de los vinos: y gráfico de cargas donde se aprecia la distribución de los componentes de los vinos.

5. Conclusiones.

Tras el análisis y discusión de los resultados sobre los efectos de los tratamientos de caolín realizados sobre la composición de los vinos de Monastrell se puede concluir que:

1. Los tratamientos realizados no provocan mermas en la producción del viñedo.
2. El caolín aplicado influye positivamente mitigando la pérdida de acidez total y el incremento de pH que general el aumento de las temperaturas a causa del cambio climático.
3. El tratamiento con 30 kg/ha de caolín muestra un importante efecto protector sobre la Intensidad Colorante de los vinos y su concentración de antocianos totales y coloreados.
4. Los vinos con una dosis alta de caolín están más protegidos de las reacciones oxidativas debido a la mayor concentración de moléculas antioxidantes.
5. El tratamiento a dosis elevadas ha influido en la evolución de los antocianos de formas copigmentadas a polimerizadas, otorgando una mayor cantidad de color y más estable.
6. No se aprecian diferencias en general para los polifenoles totales ni en la concentración y calidad de los taninos obtenidos.
7. En cata se ha apreciado una mejor nota en el color de los vinos tratados con 30 kg/ha de caolín, no apreciándose una disminución de la calidad global del vino al aplicar este tratamiento.
8. El caolín muestra un gran potencial para el control y mejora de la maduración polifenólica de las uvas. Es por ello importante seguir estudiando este producto en diferentes campañas, sobre distintas variedades y zonas para conocer mejor sus efectos y así adaptar el manejo de la viticultura a los cambios agronómicos a los que nos enfrentamos.

6. Bibliografía

- Blouin, J. (1977). Manuel pratique d'analyse des moûts et des vins. Chambre d'Agriculture de la Gironde.
- Blouin J. (1992). Techniques d'analyses des moûtes et des vins. Ed.Dujardin Salleron, pg. 199-201. Paris..
- Boulton, R. (2001). The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: A critical review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52, 67–87.
- Brandolini, V., Fiore, C., Maietti, A., Tedeschi, P., Romano, P. (2006). Influence of *Saccharomyces cerevisiae* strains on wine total antioxidant capacity evaluated by photochemiluminescence. *World Journal of Microbiology and Biotechnol.*, 23, 581–586.
- Cacho, J. (2003). El vino y su composición y nuestros sentidos. Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas, Químicas y Naturales de Zaragoza (España) 47: 13.
- Carrión, J. M. M., & Albaladejo, F. J. M. (2013). La competitividad internacional de la industria vinícola española durante la globalización del vino. *Revista de Historia Industrial*, 139-174.
- Coniberti, A., Ferrari, V., Dellacassa, E., Boido, E., Carrau, F., Gepp, V., & Disegna, E. (2013). Kaolin over sun-exposed fruit affects berry temperature, must composition and wine sensory attributes of Sauvignon blanc. *European Journal of Agronomy*, 50, 75–81. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2013.06.001>
- Dinis, L. T., Bernardo, S., Conde, A., Pimentel, D., Ferreira, H., Félix, L., Gerós, H., Correia, C. M., & Moutinho-Pereira, J. (2016). Kaolin exogenous application boosts antioxidant capacity and phenolic content in berries and leaves of grapevine under summer stress. *Journal of Plant Physiology*, 191, 45–53. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2015.12.005>
- Glenn D.M., Puterka G.J. (2005) Particle films: A new technology for agriculture. *Hortic Rev* 31:1–44
- Glenn D.M., Cooley N.M., Walker R.R., Clingeleffer P.R., Shellie K.C. (2010) Impact of kaolin particle film and water deficit on wine grape water use efficiency and plant water relations. *HortScience* 45(8):1178–1187
- Garcia, J.; Martinez-Cutillas, A. y Romero, P. (2012). “Financial analysis of wine grape production using regulated deficit irrigation and partial-root zone drying strategies “. *Irrig Sci*, 30 (3), pgs.179-188.
- Glories, Y. (1978) Recherches sur la matière colorante des vins rouges. Thèse a L'Université de Bordeaux II.
- Glories, Y. (1984a) La couleur des vins rouges. Les equilibres des anthocyanes et des tannins. *Conn. Vigne Vin*, 18(3): 195-217.
- Gomez-Cordoves, C., Gonzalez-San Jose, M. L., Junquera, B., & Estrella, I. (1995). Correlation Between Flavonoids and Color in Red Wines Aged in Wood. *Am. J. Enol. Vitic.*, 46(3), 295–298.
- González San José, M. y Andrades Rodríguez, M. (1995). Influencia climática en la maduración de la uva: estudio de cultivares de La Rioja y Madrid. In *Zubía* (Issue 7, pp. 79–102).
- Jackson D.I., Lombard P.B. (1993). Environmental and management practices affecting grape composition and wine quality - A review. *American Journal of Enology and Viticulture* 44 (4): 409-430.
- Jones, G.; White, M. A.; Cooper, O. R. y Storchmann, K. (2005): Climate change and global wine

- quality; *Clim. Change* (73); pp. 319-343.
- Kramling, T.E., Singleton, V.L. (1969). An estimate of the nonflavonoid phenols in wines. *Am. Journal of Enology and Viticulture*, 20: 86–92.
- Kok, D. y Bal, E. (2018). Leaf Removal Treatments Combined with Kaolin Particle Film Technique from Different Directions of Grapevine's Canopy Affect the Composition of Phytochemicals of cv. Muscat Hamburg (V. Vinifera L.). *Erwerbs-Obstbau*, 60(1), 39–45.
- Lobell, D.; Field, C.; Cahill, K. y Bonfils, C. (2006). Impacts of future climate change on California perennial crop yields: Model projections with climate and crop uncertainty. *Agric For Meteorol.*, 141 (2-4), pgs.208-218.
- Majer, P., Hideg, E., (2012). Developmental stage is an important factor that determines the antioxidant responses of young and old grapevine leaves under UV irradiation in a greenhouse. *Plant Physiol. Biochem.* 50, 15–23
- Malheiro, A.; Santos, J.; Fraga, H. y Pinto, J. (2010). Climate change scenarios applied to viticultural zoning in Europe. *Clim Res*, 43 (3), pgs.163-177.
- Martinez, J. (2019). *Incidencia de la aplicación de caolín en el viñedo en la composición de los vinos de la variedad Marselán*. Trabajo Fin de Master. Universidad Politécnica de Valencia.
- Martinez de Toda F. (2011). Claves de la viticultura de calidad. Nuevas técnicas de estimación y control de la calidad de la uva en el viñedo. Ed. (2a) Mundi-Prensa, Madrid; 265 p.
- Medina-Albaladejo, F. J., Martínez-Carrión, J. M., & Ramon-Muñoz, J. M. (2014). El mercado mundial de vino y la competitividad de los países del hemisferio sur, 1961-2010. *América Latina en la historia económica*, 21(2), 40-83.
- NAGEL, C.W. and GLORIES, Y. (1991). "Use of modified dimethylaminocinnamaldehyde reagent for analysis of flavonols". *Am. J. Enol. Vitic.*, vol. 42, nº 4, 364-366.
- Nicholas, K. A. (2015). ¿Cómo afecta el cambio climático a los vinos? *Investigación y Ciencia*, 466, 40–49.
- Pompei, C.; Peri, C. (1971). Determination of catechins in wines. *Vitis*, 9, 312-316.
- Ribéreau-Gayon, P. y Stonestreet, E. (1965). Le dosage des anthocyanes dans le vin rouge. *Bull. Soc. Chim.*, 9: 119-142
- Ribéreau-Gayon, P. and Stonestreet, E. (1966) Le dosage des tannins du vin rouge et la détermination de leur structure. *Chimie Analytique*, 48, 188-196.
- Ruiz-Pulpón, A. R. (2013). El viñedo en espaldera : nueva realidad en los paisajes vitivinícolas de Castilla-La Mancha: nueva realidad en los paisajes vitivinícolas. *Boletín de la Sociedad de Geógrafos Españoles*, 63, 249-270.
- Santos-Buelga, C. (2001). Sustancias polifenólicas y color del vino tinto. *Enología Avuí*. Ed. A. Mas. Facultat d' Enologia, Tarragona, 29-37.
- Schultz, H. (2000): Climate change and viticulture: a European perspective on climatology, carbon dioxide and UV-B effects; *Aust. J. Grape Wine Res.* (6); pp. 2-12.
- Serrano, N. y Ruiz, N. (2006). Influencia del caolín para el control del estrés hídrico en olivar. Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera. Consejería de Agricultura y Pesca.
- Smart R.E. 1987. Influence of light composition and quality grapes. *Acta Horticulturae* 206: 37-47.

- Sotés, V.; Gómez-Miguel, V.; Almorox, J.; Vidal Ragout, J. y Vida Navarro, L. (2012): Clima, zonificación; tipicidad del vino en España; en Tonietto, J.; Sotés Ruiz, V. y Gómez-Miguel, V., eds.: Clima, zonificación; tipicidad del vino en regiones vitivinícolas Iberoamericanas. Madrid, CYTED.
- Sotés, V. (2018) Impactos y adaptación al cambio climático en España. El sector vitivinícola frente al desafío del cambio climático, Ed: Cajamar Caja rural, 45.
- Sotés, V. (2017) Evolución climática y previsiones para el sector vitivinícola. Adaptación del viñedo. PRÓXIMOS RETOS DE LA VITICULTURA. Agricultura: Revista agropecuaria y ganadera Ed: Fundación para la Cultura de Vino, 9.
- Vilanova M. (2010). Biodiversidad aromática de las variedades de vid cultivadas en Galicia. Seminario sobre biodiversidad vegetal en el sistema agroforestal atlántico. Mol (Ed. Sociedad de Ciencias de Galicia) 10 (octubre): 53-56.
- Vivas, N.; Glories, Y.; Lagune, L.; Saucier, C. (1994). Estimation du degré de polymerisation des procyanidines du raisin et du vin par la méthode au p-diméthylaminocinnamaldehyde ». Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin, 28, nº 4, 319-336.
- Yuste J. (2015). Estrategias de riego y su eficiencia en viñedo. Tierras 227: 62-68.
- Yuste, J. (2017). Estrategias vitícolas frente al cambio climático: influencia en la maduración tecnológica y fenólica, en el aroma y la composición nitrogenada de la uva. Próximos retos de la viticultura, Agricultura: Revista agropecuaria y ganadera Ed: Fundación para la Cultura de Vino p. 29.