

TITULO DEL PROYECTO: Base de datos regional de las relaciones isotópicas $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ y $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$

Entidades participantes: Instituto de la Vid y el Vino de Castilla-La Mancha (IVICAM) -IRIAF

Organismo Financiador: IRIAF

Duración: se inició en 2005, realizándose anualmente la actualización de la Base de Datos

PERSONAL INVESTIGADOR DEL SUBPROYECTO PARTICIPADO POR EL IRIAF:

EQUIPO PARTICIPANTE	SITUACIÓN ADMINIST. (*)	DEDICACIÓN (UNICA O COMPARTIDA)	CENTRO
INVESTIGADOR PRINCIPAL: Dr. Esteban García Romero	Funcionario	compartida	IVICAM
PERSONAL INVESTIGADOR: Dra. Adela Mena Morales, Alfonso González Martínez.	Laboral contratada 5 años	compartida	IVICAM
M ^a Dolores Carmona Zapata	Funcionario	compartida	IVICAM
	Laboral fija	compartida	IVICAM

(*) Funcionario, Contratado o Becario. (En el caso de Contratado o Becario, indicar la duración del Contrato o Beca)

OBJETIVOS

Las relaciones isotópicas del carbono y oxígeno de los productos enológicos son parámetros analíticos importantes en la actual enología, tanto desde el punto de vista de control de calidad, como de la experimentación e investigación.

Las formas isotópicas ligeras de sustancias con elementos como el carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno son más volátiles, más reactivas, difunden más rápido y en la naturaleza intervienen más velozmente en reacciones bioquímicas. Durante el desarrollo de procesos físicos y biológicos naturales se produce una discriminación isotópica que permite utilizar los valores de ciertas relaciones isotópicas para verificar la autenticidad de las muestras (origen, identidad o adiciones ilegales).

En enología, la relación isotópica $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ del agua del vino se utiliza para determinar la adición de agua. Esta relación aumenta en el vino comparada con el agua del subsuelo local debido a que durante la transpiración que se produce en la hoja, el isótopo menos pesado se evapora con más facilidad que el más pesado (Martin et al., 1988, Tardaguila et al., 1997). La relación isotópica del oxígeno se ha utilizado también para caracterizar el origen del vino (Holbach et al., 1994). El valor de este parámetro también refleja la relación isotópica del agua absorbida por las raíces de la planta que normalmente corresponde a la de lluvia caída por lo que el problema se encuentra en que el valor $\delta^{18}\text{O}$ varía dependiendo de las condiciones climáticas anuales y exige realizar bases de datos todos los años. El método ha sido adoptado por la OIV para detectar el fraude del agüado después de la

publicación de los resultados de un estudio colaborativo (Förstel, 1996) y por la EU. (Reglamentos 2676/90 y 822/97).

El carbono es asimilado por las plantas a través de la fotosíntesis. En el transcurso de la fotosíntesis, la asimilación del gas carbónico por los vegetales se efectúa según dos principales tipos de metabolismos que son los metabolismos C3 (ciclo de Calvin) y C4 (Hatch y Slack). Estos dos mecanismos de fotosíntesis presentan un fraccionamiento isotópico diferente. En las plantas C3 (vid, remolacha, frutales, patata,...) la enzima encargada de la carboxilación del CO₂, la ribulosa 1,5 bifosfato carboxilasa discrimina los isótopos pesados y por tanto tienen un $\delta^{13}\text{C}$ más bajo que las plantas C4 (maíz y caña de azúcar) (Farquhar et al., 1989). Así, los productos derivados de plantas C4, tales como los azúcares y el alcohol derivado por fermentación, presentan contenidos en carbono 13 más elevados que aquellos de sus homólogos provenientes de plantas C3. La mayor parte de los vegetales, tales como la viña y la remolacha, pertenecen al grupo C3. La caña de azúcar y el maíz pertenecen al grupo C4. La medida del contenido en carbono 13 permite entonces detectar y cuantificar el azúcar de origen C4 (azúcar de caña o isoglucosa de maíz) agregados a los productos derivados de la uva (mostos de uva, vino...) (OIV MA-E-AS312-06-ETHANO y R. CE Nº 440/2003). Además, el valor de $\delta^{13}\text{C}$ de las hojas de vid, la baya, la pulpa, las pepitas, el hollejo y/o el mosto de uva se ha estudiado como marcador integrado del estado hídrico de la vid o la eficiencia intrínseca de utilización de agua durante el desarrollo de la baya (Gaudillère et al., 2002; Souza et al., 2005; Poni et al., 2009), de la región de origen y de la añada (Day et al., 1995) y de la variedad de *Vitis vinifera* (Yunianta et al., 1995; Van Leeuwen et al., 2001).

Por otro lado, estos parámetros están relacionados con el régimen hídrico al que se somete a la vid por lo que es un dato valioso en los estudios de estrés hídrico cuyo manejo en regiones de clima muy cálido en verano como la Castellano-Manchega es de importancia fundamental desde dos puntos de vista: el ecológico relacionado con el manejo sostenible de los recursos hídricos en viticultura, y el de la optimización del triángulo riego-producción-calidad de la uva.

En la actualidad se realizan medidas del $\delta^{13}\text{C}$ y del $\delta^{18}\text{O}$ de mostos obtenidos a diferentes niveles de maduración de la uva. Como parámetros integradores del status hídrico del material vegetal durante la campaña, se utilizan éstos y por comparación entre variedades y/o genotipos para evaluar su respuesta adaptativa a las condiciones de déficit hídrico. Por la experiencia adquirida se cuenta con evidencias de que dichos parámetros pueden expresar de cierta forma el comportamiento de la planta frente al estrés y por tanto su potencial adaptación al cambio climático.

La Unión Europea considera que la aplicación de métodos de análisis de referencia isotópicos puede mejorar el control del aumento del grado alcohólico natural de los productos vinícolas (práctica denominada chaptalización), poner de manifiesto la adición de agua a estos productos o, en relación con los resultados del análisis de otras características isotópicas de estos, contribuir a la comprobación de la conformidad con el origen indicado en su designación. Con el fin de facilitar la interpretación de los resultados obtenidos mediante estos métodos de análisis, conviene poder comparar los resultados obtenidos con los obtenidos anteriormente mediante estos mismos métodos con ocasión del análisis de productos que tengan características similares y cuyo origen y elaboración estén autenticados.

Así el Reglamento (CE) no 555/2008 (Capítulo III, Artículos 87 a 92), mantiene una base de datos analíticos en el Centro Común de Investigación (CCI) para contribuir a la armonización de los controles analíticos en el conjunto de la Comunidad en la que se recopilan las muestras y los informes de

análisis enviados por los Estados miembros. Esta base de datos se realiza desde el comienzo de los años noventa reglamentada por la anterior OCM según el Reglamento (CEE) Nº 2347/1991.

Para la realización de la base de datos de relaciones isotópicas, en el citado Reglamento se establecen las normas de la toma de muestras de uva, el modo de realizar las vinificaciones, los análisis a realizar a cada una de las muestras de mosto y vino y cómo cada Estado miembro velará por que los resultados de los análisis isotópicos recogidos en sus propias bases de datos se obtengan mediante el análisis de muestras obtenidas y tratadas de conformidad con las disposiciones establecidas. En España el organismo encargado de realizar oficialmente los análisis isotópicos es el Laboratorio Arbitral de Ministerio de Agricultura, siendo las Comunidades Autónomas las que deben realizar la toma de muestra, la preparación de mostos y vinos a partir de esas muestras, su análisis básico y su envío al Laboratorio de referencia.

En Castilla-La Mancha se consideró que, para poder ayudar al sector vitivinícola regional en este campo, se debía ofrecer al mismo la posibilidad de realizar este análisis en el IVICAM y lo que es más importante, su interpretación, dotándolo de esta manera de las herramientas necesarias para demostrar la conformidad del producto. Para ello se aprovecharía el trabajo de obtención de muestras (que de todas formas se debe hacer obligatoriamente todos los años como mandato de la UE) y se elaboraría una Base de Datos de Relaciones Isotópicas propia. Este trabajo se realiza desde el año 2005, fecha en que se puso en marcha el primer equipo de IRMS adquirido al efecto y se optimizaron los métodos de análisis.

Hay que subrayar la importancia que para el sector vitivinícola regional tiene este proyecto, fundamental para la caracterización química de los productos enológicos auténticos producidos en la región y su diferenciación de productos similares de otros orígenes y purezas que perjudican su mercado y comercialización y, por tanto, la rentabilidad del sector y su subsistencia en el futuro más próximo.

FORMACIÓN DE PERSONAL EN RELACIÓN AL PROYECTO.

Trabajos Fin de Grado.

Estimación de la eficiencia en el uso del agua de diferentes genotipos de vid autorizados en Castilla-La Mancha en condiciones de déficit hídrico severo mediante ratios isotópicos de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) y oxígeno ($\delta^{18}\text{O}$)

Autor: Argimiro Sergio Serrano Parra

Departamento de Producción Vegetal y Tecnología Agraria. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos y de Montes. UCLM

Tutores: Francisco Montero Riquelme (UCLM) y Jesús Martínez Gascueña (IVICAM-IRIAF)

Septiembre de 2019

INFORMACIÓN CIENTÍFICA Y TÉCNICA PROPORCIONADA POR EL PROYECTO.

Gómez-Alonso, Sergio; García-Romero, Esteban (2010) Effect of irrigation and variety on oxygen ($\delta^{18}\text{O}$) and carbon ($\delta^{13}\text{C}$) stable isotope composition of grapes cultivated in a warm climate. Australian Journal of Grape and Wine Research, 16, 283-289.

DOI: 10.1111/j.1755-0238.2009.00089.x

Mena Morales, A.; Serrano-Parra, S.A.; Martínez-Gascueña, J. (2019). Eficiencia en el uso del agua (EUA) de diferentes variedades de vid por medidas del $\delta^{13}\text{C}$ y del $\delta^{18}\text{O}$ en mostos. XLII Congreso Mundial de la Viña y el Vino (OIV). Ginebra (Suiza). Book of abstracts Poster PO-152, pp. 395

Chacón Vozmediano, J.L.; Martínez Gascueña, J.; Mena Morales, A. (2019). Effect of irrigation regime on Carbon isotope ratio ($\delta^{13}\text{C}$) in different grapevines. 21st International GIESCO Meeting. Thessaloniki (Grecia). Poster.

Mena Morales, A.; Serrano-Parra, S.A.; Martínez-Gascueña, J. (2019). Estimación de la eficiencia hídrica de diferentes variedades de vid por medidas del $\delta^{13}\text{C}$ y del $\delta^{18}\text{O}$ en mostos. 34ª Reunión anual del Grupo de Trabajo de Experimentación en Viticultura y Enología de Galicia (GTEVE). Zaragoza (España). 10 - 11 Abril 2019. COMUNICACIÓN ORAL.