



Títol del treball: Estudi dels processos de conservació i tractament dels vins negres al Celler la Vinyeta

Estudiant: David Caixàs González

Grau en: Química

Correu electrònic: caixas@hotmail.es

Tutor: Josep Serra Pla

Cotutor*: Enriqueta Anticó Daró

Empresa / institució: Celler La Vinyeta / Universitat de Girona, Facultat de Ciències, Departament de Química

Vistiplau tutor (i cotutor*):

Nom del tutor: Josep Serra Pla

Nom del cotutor*: Enriqueta Anticó Daró

Empresa / institució: Celler La Vinyeta / Universitat de Girona

Correu(s) electrònic(s): celler@lavinyeta.es /
enriqueta.antico@udg.edu

*si hi ha un cotutor assignat

Data de dipòsit de la memòria a secretaria de coordinació: 21/07/2017

RESUM

La oxidació durant la vinificació és un problema important per a l'obtenció del vi perquè la oxidació afecta a les propietats organolèptiques del vi, provoca canvis en l'aroma i en el seu color. Des del celler La Vinyeta es vol impulsar un estudi sobre els seus processos de vinificació des que el vi es troba en bóta fins que s'embotella passant pels processos de transvassaments, clarificació, estabilització (amb CMC i en fred) i filtrat amb la finalitat de trobar possibles errors que provoquin una oxidació important al vi. La mostra seleccionada és el vi Llavors, un vi negre envellit.

Per avaluar la oxidació a cada procés es realitzen diferents experiments:

- S'analitza l'oxigen dissolt perquè és una font d'oxidació important si no es controla amb l'ús de dues sondes.
- S'analitza el nivell de SO₂ lliure perquè el sulfurós és l'encarregat principal per protegir el vi de l'oxidació gràcies a la seva capacitat antioxidant amb un valorador automàtic.
- S'analitza l'enfosquiment del vi per controlar si la oxidació que es produeixi és capaç d'afectar al color del vi amb un espectrofotòmetre UV-VIS.
- S'analitzen esters volàtils que serveixin d'indicadors d'oxidació utilitzant un cromatògraf de gasos acoblat a un espectròmetre de masses de trampa d'ions i utilitzant la microextracció en fase sòlida en espai en cap com a tècnica d'extracció de volàtils

A excepció del procés d'estabilització, tant amb CMC com en fred, els processos de vinificació han demostrat ser fiables i no presenten un augment d'oxidació considerable. El nivell d'oxigen dissolt es manté a través del procés així com el nivell de SO₂ lliure, el qual demostra una bona protecció pel vi. La oxidació que pateix el vi durant el procés no és suficient com per provocar un canvi en el color del vi. S'han determinat esters volàtils que redueixen la seva concentració en augmentar l'oxidació del vi com l'acetat d'isoamil o l'ester etílic de l'àcid octanoic entre d'altres.

Finalment s'ha comparat l'estudi realitzat amb altres estudis semblants obtenint diferències en funció de la varietat del raïm i en funció del procediment dut a terme.

RESUMEN

La oxidación durante la vinificación es un problema importante para la obtención del vino porque la oxidación afecta a las propiedades organolépticas del vino, provoca cambios en el aroma y en el color. Desde la bodega La Vinyeta se impulsa un estudio sobre sus procesos de vinificación desde que el vino se encuentra en bota hasta que se embotella siguiendo los procesos de trasvase, clarificación, estabilización (con CMC y en frío) y filtrado con la finalidad de encontrar posibles errores que provoquen una oxidación importante en el vino. La muestra seleccionada es el vino Llavors, un vino negro envejecido.

Para estudiar la oxidación a cada proceso se realizan diferentes experimentos:

- Se analiza el oxígeno disuelto porque es una fuente de oxidación importante si no se controla. El análisis se realiza con dos sondas.
- Se analiza el nivel de SO₂ libre porque es el encargado principal para proteger el vino de la oxidación gracias a su capacidad antioxidante. El análisis se realiza con un valorador automático.
- Se analiza el oscurecimiento del vino para controlar si la oxidación que sufre el vino es suficiente como para afectar al color del vino. El análisis se realiza con un espectrofotómetro UV-VIS.
- Se analizan esteres volátiles que sirvan de indicadores de oxidación utilizando un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas de trampa de iones i utilizando la microextracción en fase sólida y en espacio de cabeza como técnica de extracción de volátiles.

A excepción del proceso de estabilización, tanto con CMC como en frío, los procesos de vinificación han demostrado ser fiables y no presentan un aumento de la oxidación considerable. El nivel de oxígeno disuelto se mantiene a través del proceso así como el nivel de SO₂ libre, el cual demuestra una buena protección para el vino. La oxidación que sufre el vino durante el proceso no es suficiente como para provocar un cambio en el color del vino. Se han determinado ésteres volátiles que reducen su concentración en aumentar la oxidación del vino como el acetato de isoamil o el ester etílico del ácido octanoico entre otros. Finalmente se ha comparado el estudio realizado con otros estudios parecidos observando diferencias en función de la variedad y del procedimiento.

ABSTRACT

The oxidation during the vinification is an important problem for the production of wine because it affects to the organoleptic properties of wine, it changes the flavour and the colour. A research study is made from La Vinyeta winery about its wine-making procedures starting from the barrel to the bottle following the steps of transfer, clarification, stabilization (with CMC or in cold temperature) and filtration with the intention to find possible mistakes that causes an important oxidation in wine. The selected sample is the wine called Llavors, a red aged wine.

To be able to study the oxidation on every step of the process, different experiments are performed:

- The dissolved oxygen is analyzed because of its capacity to oxidize the wine if it isn't controlled. The analysis is performed with two different sounding lines.
- The amount of free SO₂ is analyzed because it is the main character to protect the wine from oxidation thanks to its antioxidant properties. The analysis is performed with an automatic titrator.
- The wine browning is analyzed to control if the oxidation is enough to cause changes in the colour. The analysis is performed with a spectrophotometer UV-VIS.
- Volatile esters that can be used as reference of oxidation are analyzed using a gas chromatography connected to a mass spectrometer with an ion trap and using head space solid phase microextraction as an extraction technique.

Except the stabilization procedure, the wine-making procedures have proved its viability. This procedure isn't affected by a huge oxidation. The dissolved oxygen levels remain constant throughout the process as the levels of free SO₂ do, that proves a good protection for the wine. The suffering oxidation isn't enough to change the colour of the wine. Volatile esters that decrease their own concentration when the oxidation is growing up are determined like the hexanoic acid ethyl ester or the isoamyl acetate.

In the end, this study has been compared to other similar studies watching differences on the results due to the different variety of the grapes and in the followed procedure.

ÍNDEX

1. Introducció	6
2. Objectius	10
3. Part experimental	11
3.1 Reactius i solucions	11
3.2 Aparells	11
3.3 Instruments	11
3.4 Metodologia analítica	12
4. Criteris ètics i de sostenibilitat	16
5. Resultats i discussió	16
6. Conclusions	28
7. Bibliografia	29

1. INTRODUCCIÓ

La oxidació del vi és un problema considerable en la vinificació. Des del celler La Vinyeta es vol dur a terme un estudi dels processos de tractament del vi, concretament del Llavors, des de la bóta fins a l'embotellat per tal de poder observar errors en el procés deguts a la oxidació.

Les parts del procés d'obtenció del vi en què aquest es trobi en contacte amb l'aire impliquen una oxidació i aquesta modifica en major o menor grau el perfil aromàtic del vi. Els aromes bàsics que es poden percebre en el vi provenen dels esters i aquests poden ser un indicador clau per controlar la oxidació del vi[1].

Procés de vinificació des de la bóta fins a l'embotellat

Els processos que s'estudien són l'envelliment en bóta, el transvassament al dipòsit, el clarificat, l'estabilització amb carboximetilcel·lulosa (CMC) i estabilització en fred, el filtrat i l'embotellat.

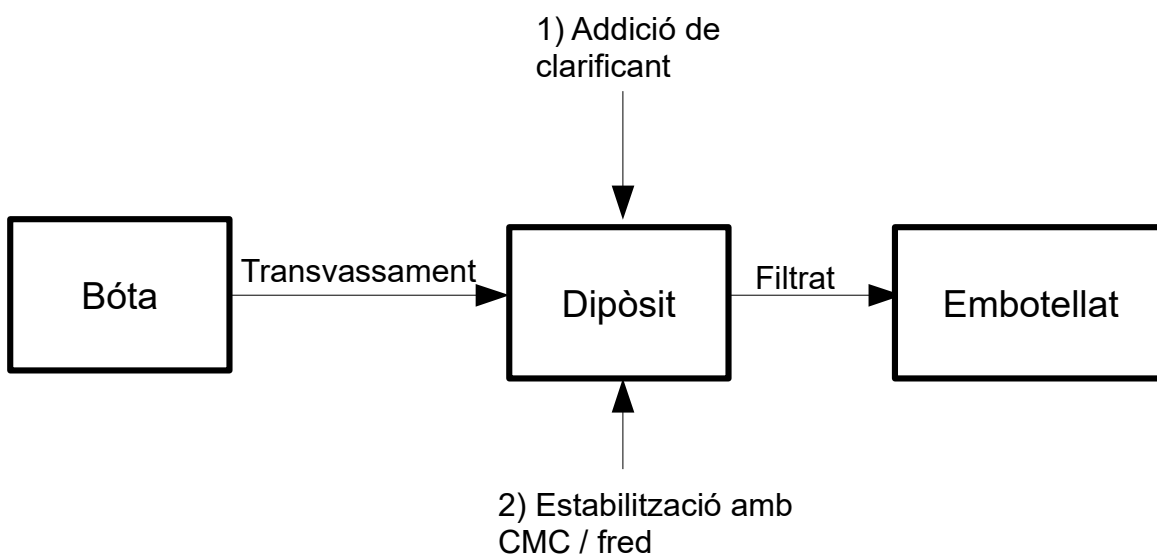


Figura 1: Esquema del procés de vinificació de de la bóta fins a l'embotellat

Envelliment en bóta

Durant l'envelliment en bóta el vi modifica el seu perfil aromàtic captant nous aromes, com per exemple aromes a torrats o a fusta entre d'altres, a més a més en funció del tipus de bóta que

s'utilitzi i dels anys d'ús que tingui pot captar aromes diferents i en menor o major quantitat. També provoca un enfosquiment del vi i aporta més cos i estructura en boca.

Clarificació

Un cop el vi ha estat el temps desitjat envellint-se es realitza un transvassament a un dipòsit d'acer inoxidable on reposarà un temps determinat. Després de la fermentació, el vi es pot presentar tèrbol degut a la presència de substàncies vegetals o llevats morts entre d'altres. Per tal d'obtenir un vi més clar i lliure d'aquesta terbolesa s'addiciona un clarificant que en contacte amb el vi, qualla i ajuda a precipitar les substàncies que l'enterboleixen. En aquest cas, el clarificant utilitzat és l'albumina.

Estabilització

L'àcid tartàric és un dels àcids més abundants en el vi i que pot insolubilitzar-se parcialment per la presència de cations de calci i potassi formant sals. Les sals de potassi són les més importants ja que aquestes s'uneixen amb el grup carboxil de l'àcid tartàric donant lloc al bitartrat potàssic. El bitartrat a partir d'una determinada concentració pot precipitar provocant una disminució de l'acidesa total i un augment del pH del vi.

Existeixen diversos tractaments per estabilitzar el vi, des de sistemes que insolubilitzen i eliminen els tartrats (estabilització en fred i osmòsis inversa), sistemes que impedeixen la precipitació tartàrica (CMC, manoproteïnes i àcid metatàrtic) fins a sistemes que eliminen els cations responsables de les precipitacions (electrodiàlisis, bescanviador catiònic i àcid racèmic).

Des del celler la Vinyeta, per al vi Llavors s'han utilitzat dos tractaments diferents, l'estabilització en fred i l'estabilització per addició de CMC.

L'estabilització en fred es pot fer en continu i en discontinu i amb o sense addició de cristalls, es tracta d'un muntatge de sistemes isotèrmics que disminueixen la temperatura del vi fins a temperatures pròximes a la seva congelació per provocar una insolubilització dels tartarts. L'addició de cristalls tartarts provoca que aquests actuïn com a centre de cristl·lització per als nous cristalls afavorint la seva insolubilització.

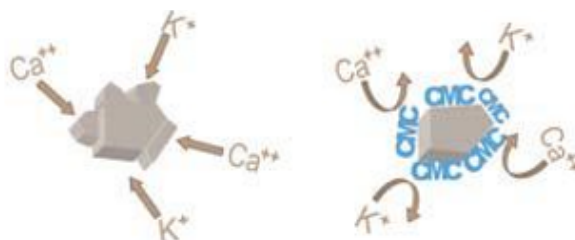


Figura 2: Mecanisme d'acció de la CMC

L'estabilització per CMC, que és un polisacàrid que s'obté com a cel·lulosa modificada a partir de cèl·lules vegetals, es basa en crear una capa protectora sobre les sals tartàriques evitant que els cations de calci i potassi utilitzin aquestes com a centres de cristallització, per tant, s'evita la precipitació del tartàric.

Aquest tipus d'estabilització és molt eficaç amb vins rosats i blancs, actualment amb vins negres la seva eficàcia és menor i per això hi ha molts cellers que encara no utilitzen aquesta tècnica.

L'estabilització per CMC presenta diversos avantatges:

- Consum energètic molt baix (respecte a l'estabilització en fred que implica un alt consum energètic).
- No afecta a les propietats organolèptiques del vi.
- Bona estabilitat amb el pas del temps.
- Cost econòmic baix.

Filtrat

El filtrat és l'últim pas abans d'embotellar i consisteix en fer passar el vi a través d'un conjunt de plaques filtrants de cel·lulosa d'una mida de porus determinada fins a arribar a l'embotelladora.

Addició de Metabisulfit potàssic

La manera més eficaç de controlar la oxidació durant la vinificació és utilitzant el metabisulfit potàssic o cremant lluquet. Ambdós compostos s'utilitzen per aportar diòxid de sofre.

El diòxid de sofre té unes propietats que faciliten el control de la oxidació ja que és antioxidant,

antimicrobià i també protegeix el vi de l'enfosquiment.

Existeix un equilibri entre les fòrmules iòniques i molecular del SO_2 , a pH del vi la gran majoria es troba en forma d'ió bisulfit HSO_3^- i una petita part en forma de SO_2 lliure. Un cop es troba en solució pot interaccionar amb molts compostos diferents com ara l'acetaldehid, els antocians i els compostos fenòlics entre altres.

Si es troba en excés, pot afectar a les propietats organolèptiques del vi i fins i tot pot resultar tòxic.

Mecanismes d'oxidació en el vi

Els compostos que formen el vi poden reaccionar en menor i major grau amb l'oxigen essent els polifenols els més susceptibles a reaccionar amb l' O_2 . Si aquesta oxidació és controlada pot arribar a millorar el vi estabilitzant el color i reduint la sensació d'astringència, ara bé, no és fàcil de controlar i la probabilitat que el vi empitjori és alta. Un dels paràmetres estudiats és l'enfosquiment del vi i els polifenols en són els màxims responsables.

L'enfosquiment del vi es pot donar a través de moltes vies diferents relacionades amb els fenols, una d'elles és la oxidació d'aquests i la posterior polimerització. Per exemple, els o-difenols s'oxiden a o-quinones mentre l'oxigen esdevé H_2O_2 . Les quinones formades són inestables i donen lloc a més reaccions que produeixen compostos amb color que enfosqueixen el vi[2].

La majoria de compostos que formen el perfil aromàtic del vi són esters volàtils i a aquests també els afecta la oxidació. A mesura que el vi es va oxidant, va perdent aromes i en va generant de nous que són producte de l'oxidació, és a dir, que molts esters volàtils es reduiran amb l'oxidació i això és degut al seu equilibri hidròlisi-esterificació el qual és desplaçat cap a la hidròlisi dels esters per dues possibles raons, a pH del vi, el Fe (II) transforma l'oxigen en peròxid d'hidrogen i aquest en radicals hidroxil (reacció de Fenton). Els radicals hidroxil són oxidants molt forts i poden oxidar molts compostos presents en el vi, l'atac per part dels radicals pot provocar la disminució dels esters. També la interacció entre els esters i els polifenols pot reduir la concentració d'esters[1][2].

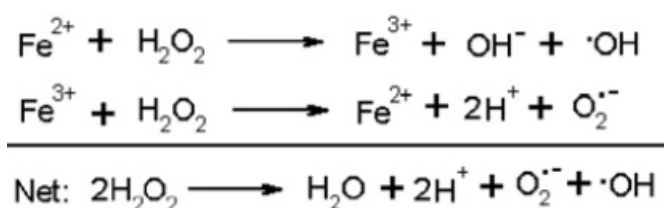


Figura 3: Reacció de Fenton

2. OBJECTIUS

- Estudiar la fiabilitat dels processos de vinificació des de la bóta fins a l'embotellat amb experiments relacionats amb l'oxidació del vi.
- Determinar l'oxigen dissolt a cada mostra
- Determinar si la oxidació que pateix el vi és suficient com per provocar canvis en el color del vi
- Determinar el contingut de SO₂ lliure a cada etapa del procés
- Determinar la pèrdua o el guany de certs components del vi, majoritàriament esters, que serveixin com a indicadors d'oxidació.

2. OBJECTIVES

- Study the fiability of the wine-making procedures from the barrel to the bottleing with experiments related to the oxidation.
- Determine the dissolved oxygen on every sample.
- Determine if the oxidation that the wine suffers is enough to cause changes in its colour
- Determine the amount of free SO₂ on every step of the process.
- Determine the lose or the growth of some wine components, mostly esters, that can be used as oxidation references.

3. PART EXPERIMENTAL

3.1. Reactius i solucions

- Aigua desionitzada
- Valorant per SO₂ lliure HI 84100-50, (Hanna Instruments)
- Reactiu àcid (àcid sulfúric) per SO₂ lliure HI 84100-53, (Hanna Instruments)
- Estabilitzador HI 84100-54, (Hanna Instruments)
- Estàndard HI 84100-55, (Hanna Instruments)
- Patró intern 2-Octanol (Sigma Aldrich >99,5%)
- NaCl (Panreac, analysis)
- Acetat d'Isoamil (sintetitzat als laboratoris de docència)
- Etanol (Panreac, UV-IR-HPLC)
- Solució de patró intern de 620 ppm
- Solució hidroalcohòlica 14,5% (v/v)

3.2. Aparells

- Balança analítica (Shimadzu ATX224)
- Placa calefactora amb agitador magnètic (MS-H-Pro+)
- Sonda de temperatura

3.3. Instruments

- HI 84100 Mini titrator de Hanna Instruments
- Sonda d'oxigen dissolt (Hanna Instruments)
- Sonda d'oxigen dissolt (Hach)
- Espectrofotòmetre UV-VIS (Zuzi 4211/50)
- Cromatògraf de gasos (Trace de Thermofischer) acoblat a un espectròmetre de masses de trampa d'ions (Polaris Q).

3.4. Metodologia analítica

Mostreig

La mostra estudiada és el vi Llavors, un vi negre de 14,5% (v/v) d'alcohol format per les varietats samsó, garnatxa negra, merlot, cabernet sauvignon, syrah i cabernet franc essent el samsó amb un 35% la varietat dominant d'aquest vi. Es tracta d'un vi envellit 5 mesos en bótes noves de roure francès, hongarès i romanès. És un vi de color cirera picota de capa intensa, té una elevada intensitat olfactiva que conserva les aromes primàries de fruita madura combinades amb aromes terciàries pròpies de la seva criança en barriques de roure. Molt equilibrat en boca, tanins fins i molt integrats que li confereixen una bona columna vertebral per un bon recorregut en ampolla.



Figura 4: Vi Llavors

El mostreig s'ha dut a terme de dues maneres diferents, per a les mostres que es trobaven en un dipòsit s'ha recollit la mostra a través d'una aixeta, en canvi per a les mostres que es troben en bóta s'ha introduït un tub i xuclant per un costat s'ha recollit la mostra a l'ampolla. Posteriorment al mostreig les mostres han passat per l'embotelladora.

S'han mostrejat dues tandes diferents, la primera tanda consta de les mostres en bóta, en dipòsit, clarificades, estabilitzades amb CMC i filtrades i embotellades. La segona tanda consta de dues mostres en bóta, una d'elles ha passat un temps en un dipòsit ple i l'altre en un dipòsit mig ple i

d'una mostra embotellada. En aquesta segona tanda l'estabilització s'ha dut a terme en fred. Per a cada mostra s'han dut a terme tres replicats.

Les mostres han estat classificades seguint la nomenclatura següent:

Mostres	Nomenclatura
Bóta de la tanda amb CMC	Bóta 1
Dipòsit de la tanda amb CMC	Dip
Clarificat de la tanda amb CMC	Clar
Estabilitzat i filtrat amb CMC	CMC
Embotellat de la tanda amb CMC	Emb 1
Bóta de dipòsit ple de la tanda en fred	Bóta 2
Bóta de dipòsit mig ple de la tanda en fred	Bóta 3
Embotellat de la tanda en fred	Emb 2

Taula 1: Sistema de mostres

En aquest estudi es realitzen quatre experiments diferents:

- Determinació de l'oxigen dissolt
- Determinació del contingut de SO₂ lliure
- Determinació de l'enfosquiment del vi
- Determinació d'esters volàtils

Determinació de l'oxigen dissolt

Per determinar l'oxigen dissolt s'utilitzen dues sondes diferents. La primera sonda (HACH) és una sonda de luminiscència on en funció de la intensitat de luminiscència com el temps que aquesta triga en desaparèixer van en funció de la concentració d'oxigen dissolt.

La segona sonda (Hanna Instruments) és de mesura electroquímica i està formada per un elèctrode Clark polarogràfic de platí i de clorur de plata.

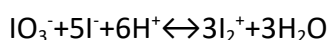
La determinació es realitza introduint la sonda directament a l'ampolla.

Determinació del contingut de SO₂ lliure

Per determinar el contingut de SO₂ lliure, s'utilitza l'instrument HI 84100 Mini Titrator de Hanna Instruments seguint el procediment normalitzat de treball que et recomanen els fabricants.

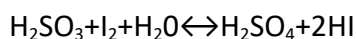
La determinació de SO₂ en mostres de vi es realitza mitjançant una valoració del diòxid de sofre present en el vi amb iodat. En aquest procediment s'afegeix un excés de lode a la mostra de vi i es valora amb iodat.

El iodat reacciona amb el iodur i l'àcid sulfúric present en el vi i produeix iode:



Equació (1)

El iode produït a la reacció reacciona amb el diòxid de sofre:



Equació (2)

Primer de tot cal fer un calibratge de la bomba. En un vas s'hi afegeixen 50 mL de l'estàndard 84100-55, tot seguit s'hi addicionen 5 mL del reactiu àcid 84100-53 i l'estabilitzador 84100-54. A continuació es submergeix l'elèctrode i es col·loca la punta dosificadora per on s'addicionarà automàticament, un cop comenci l'anàlisi, el valorant 84100-50.

Un cop calibrada la bomba es realitza el mateix procediment que en el calibratge però utilitzant 50 mL de mostra en comptes de l'estàndard. El resultat obtingut per l'instrument es dona en mg/L de SO₂ lliure.

Determinació de l'enfosquiment del vi

Per a determinar l'enfosquiment del vi s'utilitza un espectrofotòmetre UV-VIS per analitzar l'absorbància a les longituds d'ona de 420nm i 520nm que corresponen a l'enfosquiment del vi i a la quantitat de vermell respectivament[3] [4] [5].

El procediment a seguir és el següent:

S'utilitza com a blanc 1 mL d'aigua destil·lada, a la resta de cubetes s'aplica una dilució 1:10 de la

mostra. Totes les mostres i tots els replicats s'analitzen primer a la longitud d'ona de 420 nm i seguidament es repeteix el procés per a la longitud d'ona de 520 nm.

Un cop obtinguda l'absorbància es calcula la intensitat de color del vi que correspon a la suma de les absorbàncies a les longituds d'ona de 420 i 520 nm per a una cubeta d'1cm d'amplada (b):

$$I = \frac{Abs420 + Abs520}{b}$$

Equació (3)

Determinació d'esters volàtils

La determinació d'esters volàtils s'ha dut a terme a través d'un anàlisi utilitzant la cromatografia de gasos amb detecció amb espectrometria de masses i utilitzant la microextracció en fase sòlida en espai en cap (HS-SPME) com a mètode d'extracció de compostos volàtils tot seguint les condicions esmentades a les referències [6] i [7].

Els experiments de HS-SPME s'han dut a terme utilitzant una fibra de 50/30 µm de divinilbenzè/carboxè/polidimetilsiloxà (DVB/CAR/PDMS) de Supelco. Abans del seu ús, la fibra s'acondiciona seguint les instruccions del fabricant. En el primer ús s'acondiciona una hora a 270°C i abans de cada tanda de mostres s'acondiciona en 15 min a 270°C.

Preparació de les mostres:

Les mostres es preparen amb 5 mL de vi, 2 grams de NaCl per afavorir que els compostos volàtils es desprenguin de la solució i 500 microlitres de patró intern 2-octanol en un vial de vidre de 10 mL amb sèptum. La solució de patró intern es prepara a partir del 2-octanol pur pesant una gota i acabant d'enrasar fins a 25 mL (620 ppm).

El procediment a seguir per l'extracció és acondicionar primer la mostra a una temperatura de 40°C durant 20 minuts (a un bany d'aigua amb agitació magnètica mitja). Tot seguit s'introdueix la fibra protegida dins de l'agulla del dispositiu de SPME a l'interior del vial a través del sèptum i s'exposa la fibra a l'espai en cap. Es deixa la fibra exposada durant 40 min a 40°C i es retira la xeringa ja preparada per punxar el cromatògraf.

Les condicions del cromatògraf s'han escollit en base a un estudi anterior [6] [7] [9] amb unes petites modificacions.

L'anàlisi cromatogràfic s'ha dut a terme amb un Cromatògraf de gasos (Trace de Thermofischer) acoblat a un espectòmetre de masses de trampa d'ions (Polaris Q) a 70 eV d'impacte elctrònic. Una

SGE BPX-5 com a columna capil·lar (30 m × 0.25 mm i.d.; *film thickness*, 0.25 µm). El corrent de la fase mòbil d'Heli és de 1ml/min. S'utiliza un injector *split/splitless* en el mode *splitless* durant 3 minuts a una temperatura d'injecció de 270°C i amb un *split flow* de 25 ml/min. El rang de temperatures utilitzat és de 5 min a 40°C seguit d'un augment de 8°C/min fins a assolir els 100°C, a continuació un augment de 5°C/min fins a assolir els 200°C i finalment un augment de 15°C/min fins a assolir els 270°C on es mantindrà aquesta temperatura durant 5 minuts. El rang de masses estudiades és de 40 a 200, s'analitzen els ions positius i es comença a enregistrar a partir de 3 minuts (si s'enregistra abans dels 3 minuts s'observarà l'etanol i aquest no és d'interès per l'estudi). Les masses han estat identificades comparant-les amb espectres de referència (*Wiley7 database*). Els cromatogrames s'han analitzat amb el software *Xcalibur 1.4*.

4. CRITERIS ÈTICS I DE SOSTENIBILITAT

En aquest treball no s'ha fet experimentació amb organismes transgènics. La manipulació de les solucions i el tractament dels residus s'ha realitzat tenint en compte els criteris de sostenibilitat que s'apliquen al laboratori d'anàlisi química. L'anàlisi de l'oxigen dissolt i de l'enfosquiment del vi són molt respectuosos amb els principis de la química verda ja que els residus obtinguts han estat l'aigua destil·lada i la mostra de vi. Per l'anàlisi de SO₂ lliure, la quantitat de reactius utilitzats és molt petita, ara bé, des del celler no es disposa de contenidor adequat per aquests tipus de residus. Per l'anàlisi d'esters volàtils, la tècnica d'extracció HS-SPME evita l'ús de dissolvents i és una tècnica molt econòmica i amb baix cost energètic. Aquest estudi ha estat molt respectuós amb els principis de la química verda.

5. RESULTATS I DISCUSSIÓ

Anàlisi de l'oxigen dissolt

Per a l'anàlisi de l'oxigen dissolt s'han disposat de dues sondes diferents. Per a realitzar correctament aquest anàlisi s'ha de tenir molta cura de la manipulació de la mostra. En el cas ideal, la mesura hauria de ser feta in situ al celler ja que qualsevol manipulació de la mostra en contacte

de l'aire altera el resultat.

Les mostres han estat analitzades introduint la sonda a l'ampolla obtenint els següents resultats.

Per a les mostres de la primera tanda (estabilització amb CMC) s'han obtingut els resultats següents:

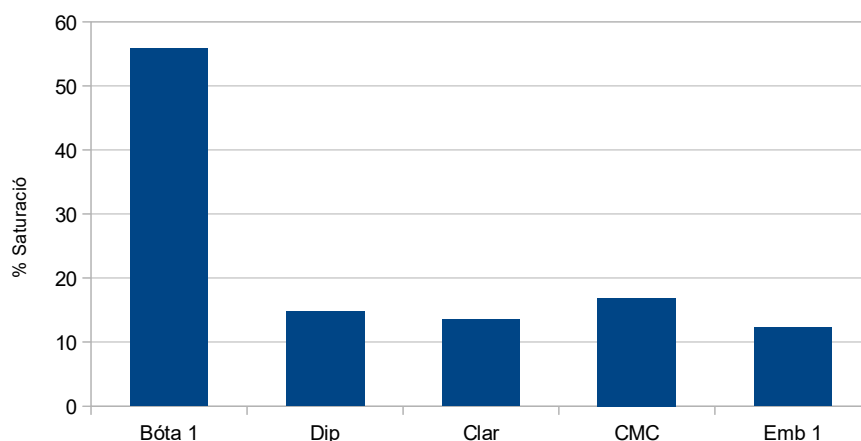


Figura 5: Gràfica de l'oxigen dissolt per a la tanda de CMC

La primera mostra correspon al vi en bóta, cal destacar que aquesta mostra ha estat oxidada ja que no es trobava plena del tot i l'espai d'aire que hi havia a l'ampolla ha estat capaç per oxidar la mostra alterant els aromes i el color, així doncs el resultat obtingut tant elevat és justificable. Pel que fa a la resta de mostres, el % de saturació es manté força constant al llarg del procés. Aquests resultats no mostren cap error en el procés, cal dir que no són del tot fiables perquè el mostreig s'hauria d'haver realitzat in situ al celler i perquè alguns replicats han hagut de ser descartats perquè el nivell de vi a l'ampolla no permetia el bon mostreig amb la sonda.

Per a les mostres de la segona tanda (estabilització en fred) s'han obtingut els següents resultats:

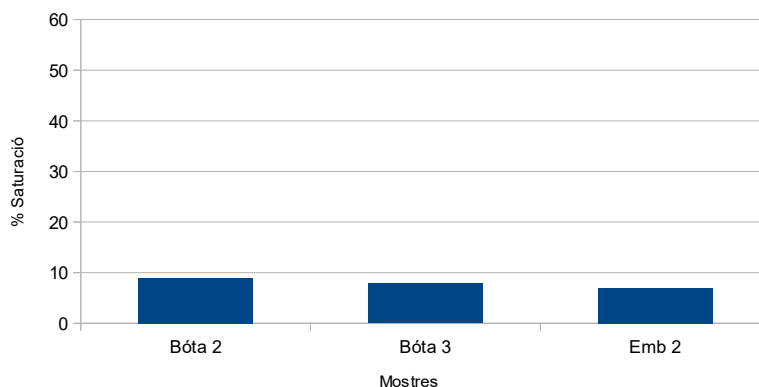


Figura 6: Gràfica de l'oxigen dissolt per a la tanda en fred

En aquest cas, els resultats tampoc mostren cap error en el procés i mostren una lleugera disminució de l'oxigen dissolt, però que per l'error que comporta el mostreig aquesta diferència és despreciable.

Finalment es comparen les mostres en bóta i les mostres embotellades per a les dues rtandes per comparar les diferències entre un tipus d'estabilització i un altre:

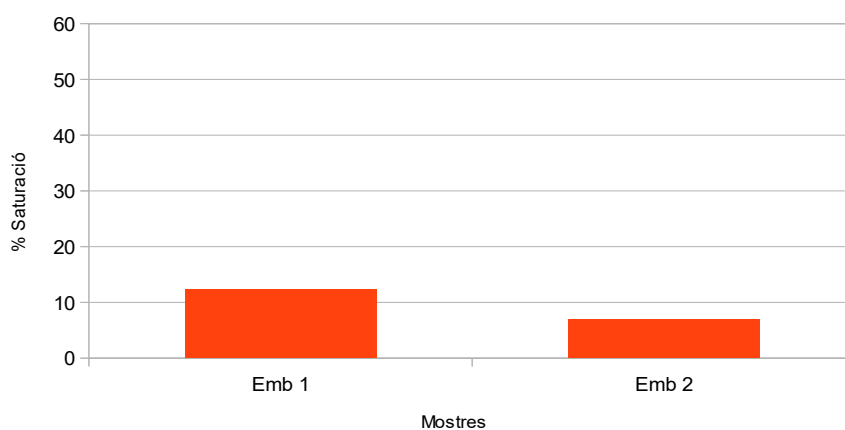


Figura 7: Gràfica comparativa entre mostres embotellades

Tal i com s'observa, la tanda que utilitza l'estabilització amb CMC implica un major % de saturació, gairebé el doble, per tant una major oxidació que la remesa estabilitzada en fred.

Actualment el CMC s'utilitza principalment per a vins blancs i rosats, el vi Llavors és un vi negre i l'ús del CMC encara està sota estudi. Ara per ara l'estabilització en fred tot i tenir un cost econòmic i energètic superior també dona més bons resultats.

Anàlisi del SO₂ lliure

Des del celler La Vinyeta sempre s'intenta treballar als nivells que regula la D.O. Empordà, en aquest cas els resultats obtinguts per a la tanda d'estabilització amb CMC han estat els següents:

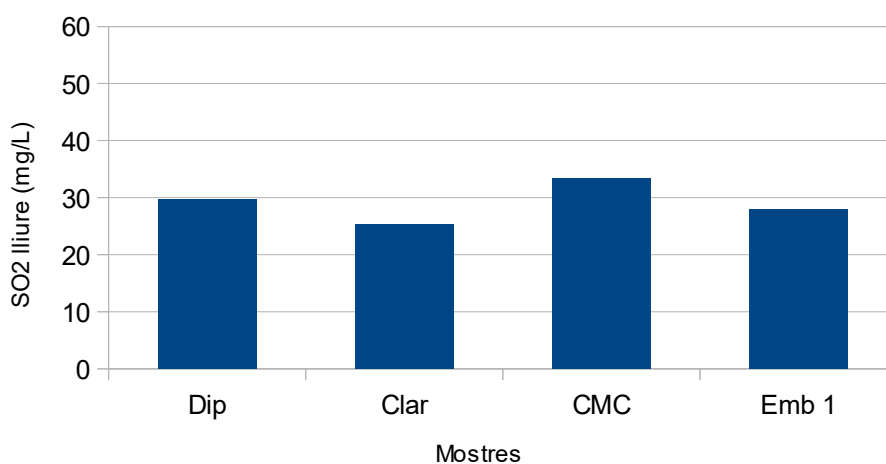


Figura 8: Sulfurós lliure per a la tanda amb CMC

El nivell de SO₂ lliure es manté oscil·lant entre 25 i 35 mg/L. Aquesta concentració es troba entre els rangs de la D.O. Empordà. Cal destacar que els nivells de SO₂ ofereixen una bona protecció antioxidant però que alhora no són suficients com per afectar a les propietats organolèptiques del vi.

Per a la tanda establitzada en fred, els nivells de SO₂ lliure són els següents:

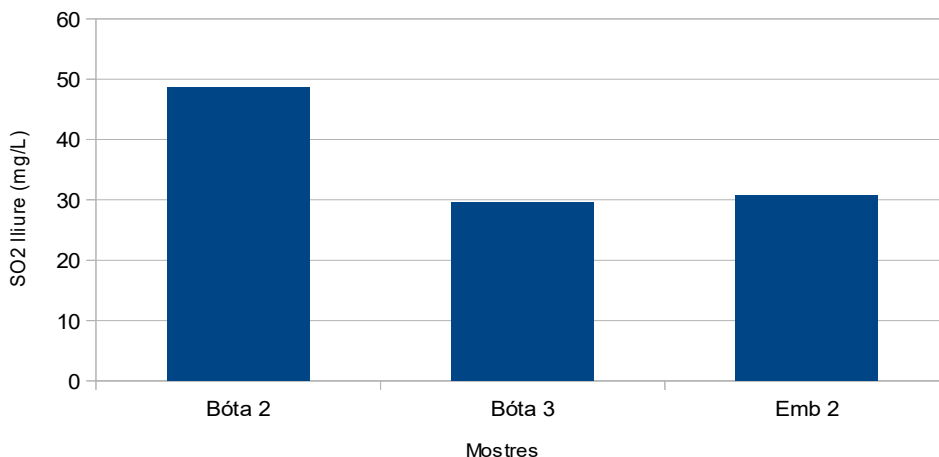


Figura 9: Sulfurós lliure per a la tanda de fred

Respecte a les mostres de la remesa en CMC, les mostres de bóta en dipòsit mig plè i de l'embotellat obtenen uns nivells de SO₂ molt semblants, per tant la línia de treball en el procés es manté, ara bé, la mostra bóta 2 mostra uns nivells més elevats que qualsevol altra mostra.

Si comparem les mostres embotellades, la diferència entre una i altra no és significativa, ja que la diferència és aproximadament de 2 mg/L:

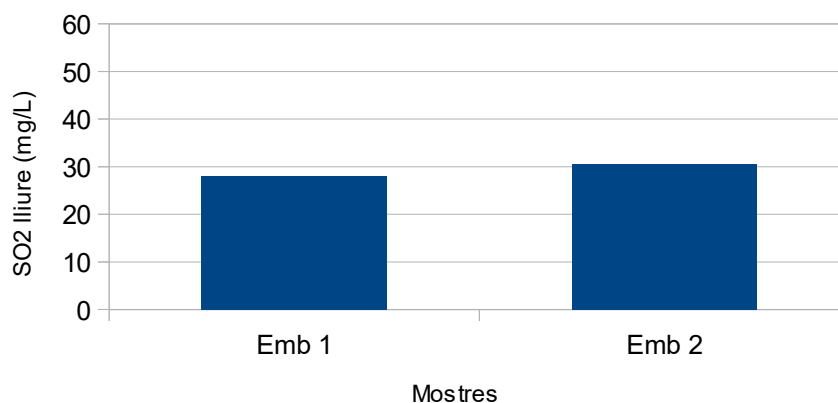


Figura 10: Comparativa del sulfurós lliure per a les mostres embotellades

Anàlisi de l'enfosquiment del vi:

Els resultats de l'enfosquiment del vi (420 nm) per la tanda amb CMC són els següents:

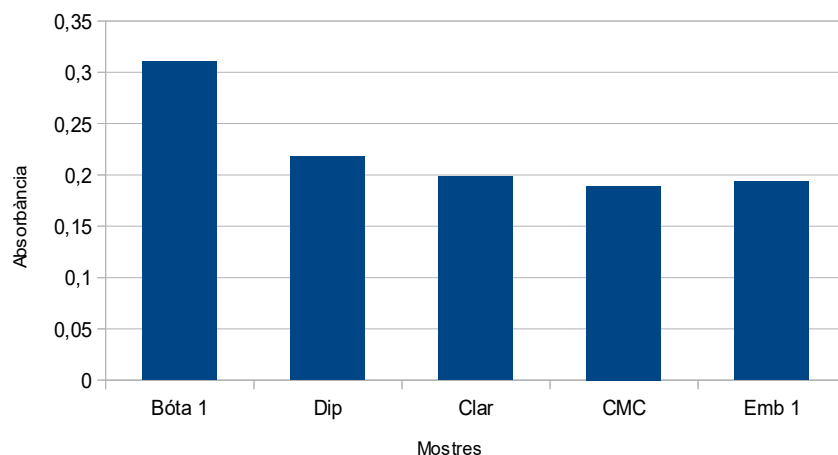


Figura 11: Anàlisi a 420 nm per la tanda en CMC

Tal i com es pot observar, la mostra bóta 1 presenta un augment en l'absorbància a 420 nm. Això és degut a la seva oxidació i a la formació de molècules que modifiquen el color del vi inicial. Per tant, agafant la mostra en bóta com a referència es pot observar com les altres mostres no difereixen gaire entre elles en la seva absorbància. Així doncs, es pot afirmar que les oxidacions que es produeixen durant la vinificació no són suficients com per arribar a modificar el color del vi. Per a les mostres en fred, caldria esperar un resultat semblant a les mostres en CMC.

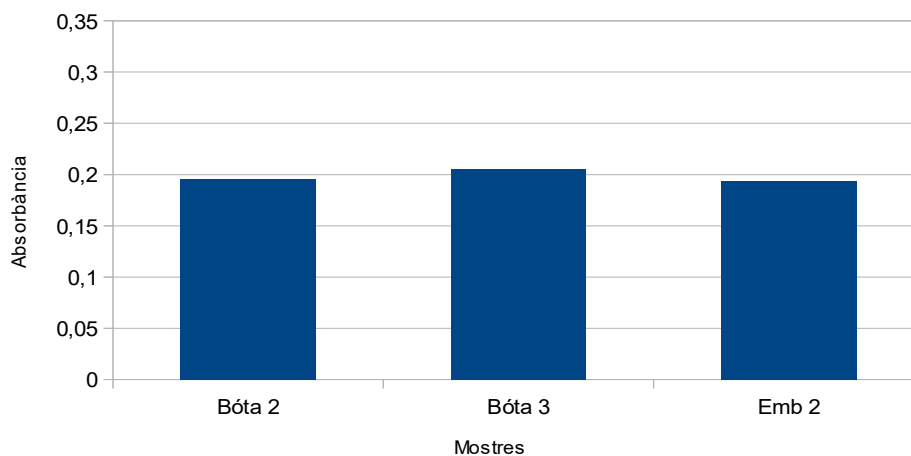


Figura 12: Anàlisi a 420nm de les mostres en fred

Tal i com s'esperava, l'absorbància és molt semblant a les mostres en CMC.

Si s'analitza la quantitat de vermell (520 nm) de les mostres amb CMC s'obtenen els següents resultats:

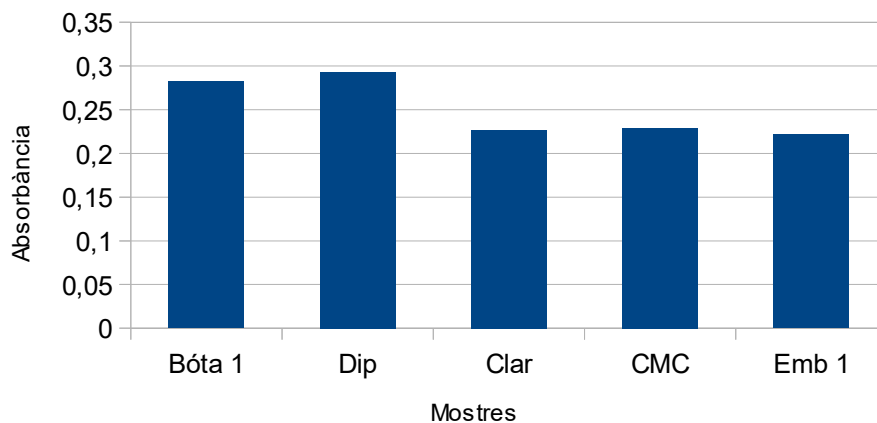


Figura 13: Anàlisi a 520 nm per la tanda en CMC

Es pot observar que la quantitat de vermell és força constant per a les mostres Clar, CMC i Emb 1. No s'aprecia una pèrdua considerable del color vermell.

Si s'analitza la quantitat de vermell per a les mostres en fred s'obté el resultat següent:

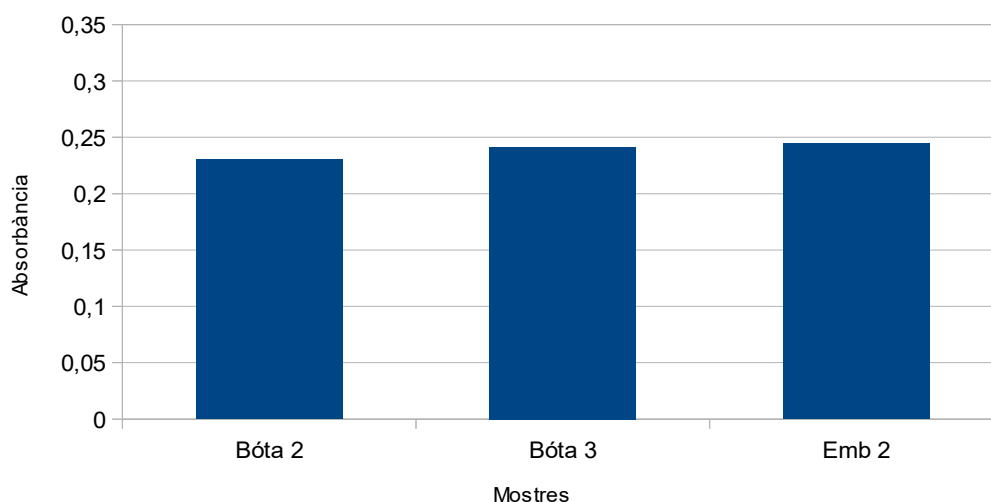


Figura 14: Anàlisi a 520 de les mostres en fred

Les mostres en fred comparteixen resultats amb les mostres en CMC, no s'observen pèrdues del color vermell durant el procés.

La determinació de la intensitat ha donat lloc als següents resultats:

Mostra	Intensitat (Abs)
Bóta 1	0,59
Dip	0,51
Clar	0,43
CMC	0,42
Emb 1	0,41
Bóta 2	0,42
Bóta 3	0,45
Emb 2	0,44

Taula 2: Intensitat de color per les dues tandes de mostres

Determinació d'esters volàtils

En la determinació d'esters s'han detectat i quantificat l'acetat d'isoamil, l'ester etílic de l'àcid hexanoic, l'ester dietílic de l'àcid butanedioic, l'ester etílic de l'àcid octanoic i l'ester etílic de l'àcid decanoic. A més a més alcohols com l'1-Pentanol i el fenil etil alcohol han estat detectats i quantificats. A la figura 15 es mostra un dels cromatogrames obtinguts.

Les dades obtingudes sobre les mitjanes de les concentracions així com les seves desviacions es representen a la taula 3.

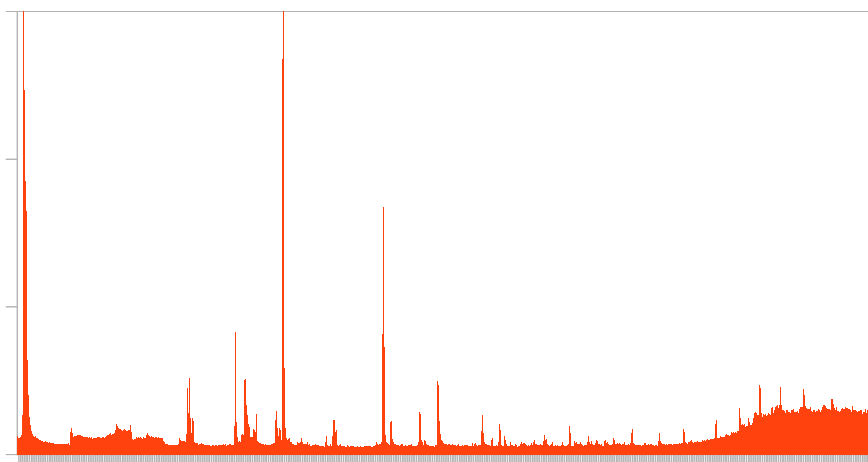


Figura 15: Cromatograma de la Mostra bóta 1

Mostres	Concentracions						
	1-Pentanol	Acetat d'isoamil	Hexanoic acid ethylester	Phenylethylalcohol	Butanedioic acid diethylester	Octanoic acid ethylester	Decanoic acid ethylester
Bóta 1	124,6±176,2	ND	2,2±0,6	23,8±1,8	15,0±2,4	11,8±6,9	4,8±3,1
Dip	297,6±121,6	7,7±6,0	7,4±5,4	15,7±15,7	15,5±6,5	47,6±40,6	22,3±17,5
Clar	610,7±517,9	12,9±14,6	12,7±15,4	52,7±36,7	21,6±10,3	63,3±69	25,4±18,7
CMC	553,5±334,4	4,2±4,8	5,6±1,7	23,6±3,5	13,1±1,4	22,1±5	8,3±3,8
Emb 1	506,7±294,3	5,3±4,6	3,7±1,7	25,4±16,7	16,0±8,5	19,7±9,9	7,6±3,5
Bóta 2	306±169,1	7,4±4,6	6,2±4,1	41,8±18,4	95,2±122,5	41,4±30,5	23,4±20,1
Bóta 3	322,1±170,1	5,5±3,3	5,5±2,3	42,1±19,6	28,3±13	46,9±22	25,3±15,4
Emb 2	276,4±163,2	2,1±3,5	2,8±0,6	60,6±32,4	27,4±1,5	17,1±9,1	9,7±8,1

Taula 3: Mitjanes i desviacions estàndards dels compostos determinats per cromatografia de gasos

Els resultats dels esters per la tanda d'estabilització amb CMC són els següents:

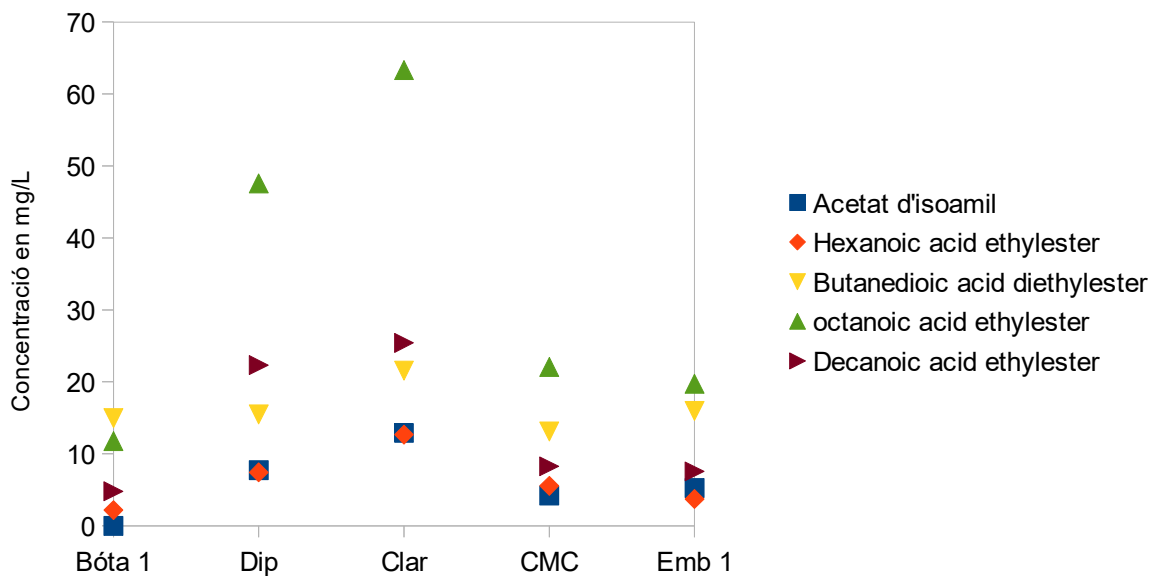


Figura 16: Concentració en mg/l dels esters volàtils de la tanda en CMC

S'observa una tendència ascendent de totes les mostres fins a la mostra Clar, això és degut a que la mostra de la Bóta 1 és una mostra oxidada. A partir de la mostra clarificada, la concentració d'esters comença a disminuir. Aquest fet és més pronunciat en l'ester de l'àcid octanoic que és l'ester majoritari dels analitzats i a la mostra d'emb 1 s'acaba reduïnt fins a una concentració semblant a la de l'ester dietílic de l'àcid butanedioic. Cal destacar que la disminució de la concentració no és molt elevada, excepte en el cas de l'ester etílic de l'àcid octanoic.

En el cas de les mostres estabilitzades en fred els resultats són els següents:

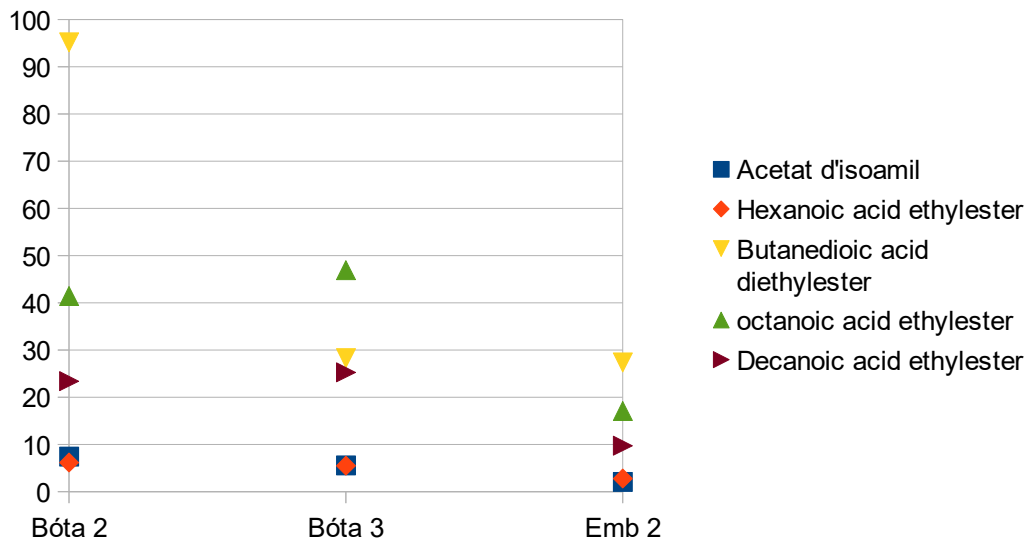


Figura 17: Concentracions al llarg del procés per a les mostres en fred

S'observa que des de les mostres en bóta fins a l'embotellada hi ha una lleugera disminució de la concentració d'esters. També s'observa una concentració errònia a la mostra Bóta 2 que correspon al dietil ester de l'àcid butanedioic.

Si es comparen aquests resultats, juntament amb els obtinguts per la tanda amb CMC, amb els resultats obtinguts per altres estudis, que anomenarem estudi 2 [8], estudi 3 [7] i estudi 4 [9], s'observen concentracions molt diferents degudes a les diferents condicions d'estudi.

Aquesta comparativa es mostra a la taula 4.

Ester	Estudi propi (CMC)	Estudi propi (Fred)	Estudi 2 (Tempranillo/Cabernet i Garnatxa)	Estudi 3 (Albariño)	Estudi 3 (Sauvignon Blanc)	Estudi 4 (Tempranillo)
Ester etílic de l'àcid hexanoic	3,7±1,7	2,8±0,6	0,2±0,004	2,33±0,04	0,875±0,08	0,31
Ester etílic de l'àcid octanoic	19,7±9,9	17,1±9,1	0,3±0,003	nq	nq	0,6
Ester etílic de l'àcid decanoic	7,6±3,5	9,7±8,1	0,01±0,0005			0,24
Acetat d'isoamil	5,3±4,6	2,1±3,5		2,61±0,18	1,12±0,09	0,84

Taula 4: Comparativa entre estudis

Pel estudis 2 i 4, que utilitzen vins negres, s'observen uns resultats menors en tots els esters estudiats, ara bé, si es tenen en compte les diferents condicions d'estudi, tant pel tipus de raïm com per les condicions de treball (extracció i detecció) la diferència pot ser justificable. Tot i que, per l'acetat d'isoamil si observem els resultats de l'estudi 4 poden coconcordar amb l'estudi propi.

6. CONCLUSIONS

Les conclusions que es deriven d'aquest treball són les següents:

- Els processos de vinificació del celler La Vinyeta han demostrat ser eficaços ja que no presenten cap augment considerable d'oxidació, ara bé, seria convenient realitzar un estudi posterior sobre l'etapa d'estabilització i filtrat tant amb CMC com en fred per poder analitzar millor els possibles errors d'aquesta etapa del procés.
- S'ha determinat l'oxigen dissolt, però també ha quedat reflectit que la mesura in situ al celler hagués estat una opció molt més recomanable.
- S'ha determinat que l'oxidació del vi no és prou alta com per afectar al color del vi.
- S'ha determinat el contingut de SO₂ lliure a cada etapa del procés amb resultats favorables per la protecció del vi.
- S'ha determinat i quantificat la presència d'esters que es redueixen amb l'oxidació i que per tant poden servir d'indicadors per a futurs estudis.

5. CONCLUSIONS

The conclusions derived from this study are:

- The wine-making procedure of La Vinyeta winery has proved to be successful because the oxidation doesn't affect in big terms but, being able to study the stabilization step would be very interesting to obtain more data and results about possible mistakes in this step.
- The dissolved oxygen has been determined, also a better sampling system needs to be performed
- Wine oxidation doesn't affect the colour of our samples.
- The amount of SO₂ has been determined with great results.
- Volatile esters that can be used as an oxidation reference has been determined and quantified.

7. BIBLIOGRAFIA

- [1] M. Patrianakou and I.G. Roussis (2013) "Decrease of Wine Volatile Aroma Esters by Oxidation" Laboratory of Food Chemistry, Department of Chemistry, University of Ioannina, 45110 Greece
- [2] Hua Li *, Anque Guo, Hua Wang (2008) "Mechanisms of oxidative browning of wine" *Food Chemistry* 108, 1–13
- [3] Zach Fricke (2011) *Visual, Spectrophotometric, and Colorimetric Measurement of Red Wine and Wine Blends. Bachelor of Science in Chemical Engineering. University of Arkansas*
- [4] http://www.acenologia.com/ace_anterior/pdf/color.pdf
- [5] http://www.unirioja.es/cu/fede/color_de_vino/capitulo06.pdf
- [6] Vicente Ferreira*, Ricardo López, Ana Escudero, Juan F. Cacho (1998) "Quantitative determination of trace and ultratrace flavour active compounds in red wines through gas chromatographic–ion trap mass spectrometric analysis of microextracts" *J. Chromatogr. A* 806, 349–354
- [7] Elisabete PaulaBarros a,b,n, NathalieMoreira c,d, GiulianoEliasPereira e, SelmaGomesFerreiraLeite b, Claudia MoraesRezende a, PaulaGuedesdePinho c,nn (2012) "Development and validation of automatic HS-SPME with a gas chromatography-ion trap/mass spectrometry method for analysis of volatiles in wines" *Talanta* 101, 177–186
- [8] T. GARDE CERDÁN, D.TORREA GOÑI and C. ANCÍN AZPILICUETA1 (2002) "Changes in the concentration of volatile oak compounds and esters in red wine stored for 18 months in re-used French oak barrels" *Australian Journal of Grape and Wine Research* 8, 140–145
- [9] Jordi Torrens1, Montserrat Riu-Aumatell2, Elvira López-Tamames2, and Susana Buxaderas2,* (2004) "Volatile Compounds of Red and White Wines by Headspace–Solid-Phase Microextraction Using Different Fibers" *Journal of Chromatographic Science*, Vol. 42,
- [10] Olga Makhotkina, Paul A. Kilmartin (2009) "Uncovering the influence of antioxidants on polyphenol oxidation in wines using an electrochemical method: Cyclic voltammetry" *Journal of Electroanalytical Chemistry* 633, 165–174
- [11] Vicente Ferreira*,† Mónica Bueno,† Ernesto Franco-Luesma,† Laura Culleré,† and

Purificación Fernández-Zurbano†(2014) “Key Changes in Wine Aroma Active Compounds during Bottle Storage of Spanish Red Wines under Different Oxygen Levels” J. Agric. Food Chem. 2014, 62, 10015–10027

- [12] Gianni Sagratini †, Filippo Maggi, Giovanni Caprioli, Gloria Cristalli, Massimo Ricciutelli, Elisabetta Torregiani, Sauro Vittori (2012) “Comparative study of aroma profile and phenolic content of Montepulciano monovarietal red wines from the Marche and Abruzzo regions of Italy using HS-SPME–GC– MS and HPLC–MS” Food Chemistry 132, 1592–1599
- [13] Carla Maria Oliveira a,b, António César Silva Ferreira b,c, Victor De Freitas d, Artur M. S. Silva a,*(2011) “Oxidation mechanisms occurring in wines” Food Research International 44, 1115–1126