Índex

1. Introducció

1.1 Parts d'un gra de raïm i evolució durant la maduració Pàg.5

1.2 Substàncies que composen els mostos i la seva evolució Pàg.7

1.2.1 Sucres
1.2.2 Àcids
1.2.3 Substàncies Nitrogenades
1.2.4 Pectines, gomes i mucílegs
1.2.5 Substàncies volàtils i aromàtiques
1.2.6 Vitamines
1.2.7 Matèries Minerals
1.2.8 Compostos fenòlics

1.3 Factors que influeixen en la maduració del raïm Pàg.11

1.4 Fermentacions que tenen lloc al most Pàg.12

1.4.1 Fermentació Alcohòlica
1.4.2 Fermentació Malolàctica

1.5 Compostos Nitrogenats al most Pàg.14

2. Objectius Pàg.18

3. Mètodes d'anàlisi i materials

3.1 Mètodes d'anàlisi i tractaments de la mostra Pàg.19

3.2 Determinació del Nitrogen Total (N_T) (Mètode Kjeldhal) Pàg.20

3.2.1 Principi
3.2.2 Material i aparells

3.2.2.1 Aparell Kjeldhal Bouat – Afora
3.2.2.2 Digestor

3.2.3 Material
3.2.4 Reactius
3.2.5 Procediment
3.2.6 Expressió de resultats

3.3 Determinació del Nitrogen Fàcilment Assimilable (NFA) (Mètode Sorensen) Pàg.25

3.3.1 Fonaments
3.3.2 Aparell
3.3.3 Tractament de la mostra
3.3.4 Material
3.3.5 Reactius
3.3.6 Procediment
3.3.7 Expressió de resultats

3.4 Determinació del N Orgànic Pàg.28

3.4.1 Fonament
3.4.2 Procediment
3.4.3 Expressió de resultats

4. Mostres Analitzades Pàg.29

5 Condicions climàtiques de l'anyada Pàg.31

6. Resultats

6.1 Resultats en l'anàlisi del N_T (Mètode Kjeldhal) Pàg.39

6.1.1 Varietats Negres
6.1.2 Varietats Blanques
6.1.3 Moscats

6.2 Resultats en l'anàlisi del NFA (Mètode Sorensen) Pàg.51

6.2.1 Varietats Negres
6.2.2 Varietats Blanques
6.2.3 Moscats
6.2.4 Acidesa en els Mostos

6.2.4.1 Varietats Negres
6.2.4.2 Varietats Blanques
6.2.4.3 Moscats

6.3 Resultats en l'anàlisi del N Orgànic Pàg.69

6.3.1 Varietats Negres
6.3.2 Varietats Blanques
6.3.3 Moscats

7. Valors Bibliogràfics Pàg.78

8. Conclusions Pàg.80

9. Annexos

Annex A. Períodes i evolució del gra de raïm Pàg.84
Annex B. Síntesi i evolució dels principals compostos del raïm Pàg.87

B.1 Síntesi i evolució dels sucres
B.2 Síntesi i evolució dels àcids

B.2.1 Síntesi i evolució de l'àcid Tartàric
B.2.2 Síntesi i evolució de l'àcid Màlic
B.2.3 Síntesi de l'àcid Cítric

B.3 Síntesi i evolució de Matèries Minerals
B.4 Síntesi i evolució de les Substàncies Nitrogenades
B.5 Síntesi i evolució dels Polisacàrids
B.6 Síntesi i evolució dels Compostos Fenòlics
B.7 Síntesi i evolució dels Compostos Aromàtics

Annex C: Procés de Fotosíntesi, reaccions de Respiració i Cicle de Krebs Pàg.131

C.1 Fotosíntesi
C.2 Reaccions de Respiració
C.3 Cicle de Krebs

Annex D: Factors que influeixen en la maduració del raïm Pàg.134
Annex E: Fermentació Alcohòlica Pàg.138

E.1 Generalitats en la fermentació alcohòlica
E.2 Cofactors
E.3 Possibles transformacions dels Sucres
E.4 Reaccions durant la Fermentació Alcohòlica
E.5 Factors de creixement i desenvolupament dels llevats
E.6 Possibles causes d'aturades durant la fermentació
E.7 Control de la Fermentació Alcohòlica
E.8 Maceració

Annex F. Fermentació Malolàctica Pàg.148

F.1 Generalitats de la fermentació malolàctica
F.2 Bactèries Làctiques
F.3 Mecanisme Bioquímic
F.4 Control de la Fermentació malolàctica
F.5 Factors que influeixen en la Fermentació Malolàctica
F.6 Efectes de la fermentació Malolàctica en el vi

10. Estudi econòmic Pàg.154

11. Bibliografia Pàg.161

1. INTRODUCCIÓ

El most es defineix com el suc de raïm abans de fermentar i esdevenir vi. Els mostos contenen d'un 70 a 85 % d'aigua i de 140 a 225 g de sucre per litre. A part d'aquests components també s'hi troben àcids orgànics (especialment àcid tartàric i màlic), sals minerals (K, Ca, Mg, Na), tanins, matèries colorants, substàncies nitrogenades (amoniacals i orgàniques), gomes, pectines, etc.

La densitat del most pot variar entre 1,05 i 1,13. En determinats processos enològics cal extreure prèviament algunes substàncies del raïm per tal que el vi resultant tingui el color i les aromes desitjades.

Una vegada fermentat el most la composició de cada vi és diferent ja que hi ha una gran varietat de condicions que poden influir en la seva composició, com poden ser el clima, la composició del sòl i el seu drenatge, les varietats de raïm, les diferents tècniques de vinificació...

En referència[1] a la zona que s'han extret les mostres podem dir que la Denominació d'Origen Empordà Costa – Brava està situada a l'extrem nord-est de Catalunya, limitant amb les Alberes i la mar Mediterrània. La Zona de producció vitícola ocupa actualment una superfície d'unes 2750 ha. Les condicions climàtiques són de clima Mediterrani (càlids i secs) i refrescats per la tramuntana. Les característiques del sòl són les òptimes per a l'elaboració de vins de qualitat.

Els vins rosats, fruitats i de color viu, són els més característics, així com el vi dolç anomenat garnatxa de l'Empordà. Igualment també s'elaboren vins negres de criança de gran categoria igual com el seu famós vi Empordà Novell, lleuger i alegre, que surt al mercat a mitjan Novembre.

La zona de l'Empordà històricament té una gran cultura enològica ja que es considera Empúries com la porta d'entrada per on els grecs van introduir el conreu de la vinya a la península.

1.1 PARTS D'UN GRÀ DE RAÏM I LA SEVA EVOLUCIÓ DURANT LA MADURACIÓ (ANNEX A)

Un carràs de raïm comprèn dues parts diferenciades: la rapa i els grans o baies. Els grans estan formats per una pel·lícula o pell, uns granets o llavors i la polpa, que és el teixit que proporciona el suc o el most, tal i com s'observa a la imatge de sota. (fig.1). Aquest suc que s'obté a través del premsat dels grans de raïm és tèrbol ja que conté una gran quantitat de partícules en suspensió.

[1] Ref. INCAVI. Fulletó extret de l'estació de Viticultura i Enologia de Vilafranca del Penedès.

Fig.1. Parts del grà de raïm

L'evolució que sofreix el gra de raïm durant la maduració es divideix en quatre períodes fonamentals en els quals el raïm varia la seva composició química i física.

En primer lloc hi ha el període herbaci o de creixement herbaci. Dins aquest període s'introdueix des del quallat (moment en que el gra es fa més gros), fins el moment en que té lloc el verolat (moment en el qual el fruit comença a agafar el seu color característic). Dins aquest període el raïm és de color verd amb una consistència dura i comença a produir – se una multiplicació de les cèl·lules i un engrossiment del gra. En aquest temps el raïm té aproximadament uns 20g de sucre per kilogram de raïm i la mateixa concentració d'àcids.

El segon període anomenat verol o període de "verolat", és el temps en que el gra canvia de color (comença a agafar la seva tonalitat característica) d'una manera sobtada. Aquesta fase es completa en uns 10 o 15 dies.

El tercer període que hi ha en la maduració del raïm és el de maduració pròpiament dit, i és en el qual el raïm creix de volum, acumula sucres i perd acidesa. És al final d'aquest període que es troba el màxim contingut en sucres i el mínim en àcids.

Per últim es pot considerar un quart període anomenat de sobremaduració i és en el qual el raïm viu de les seves reserves, perdent aigua i concentrant–se el most.

1.2 SUBSTÀNCIES QUE COMPOSEN ELS MOSTOS I LA SEVA EVOLUCIÓ (ANNEX B)

La composició dels mostos és molt complexa, ja que està format per grans quantitats de substàncies, unes en traces i d'altres en major concentració. A continuació s'exposen les principals substàncies i la seva evolució en la maduració del gra de raïm.

1.2.1 Sucres

Els sucres que conté el gra de raïm s'originen en la segona fase de la maduració. Aquests s'emmagatzemen en el gra a partir de la hidròlisi dels productes de la fotosíntesi (ANNEX C) de la fulla i els de reserva: la sacarosa passa a glucosa i fructosa mentre que el midó passarà a glucosa.

La distribució d'aquests sucres en el gra no és del tot homogeni: la zona interior és on el contingut en sucres és inferior. La zona intermèdia del gra és on s'acumulen principalment els sucres i la part exterior del gra és on es troba la mateixa quantitat de sucre que d'àcid.

El suc de raïm madur conté aproximadament entre un 15 i 25 % de sucres mentre que el període de sobremaduració aquest percentatge pot superar el 25 %.

El contingut de glucosa és superior al de fructosa quant el raïm és verd, en canvi quan aquest ja és madur el seu contingut en fructosa és quasi bé igual o superior al de glucosa, essent la seva relació aproximada de $G/F \approx 0.95$.

1.2.2 Àcids

L'acidesa total del raïm pot passar d'uns valors màxims de l'ordre de 16 g/L expressats en àcid sulfúric (H_2SO_4) a uns 4 – 5 g/L a l'acabar la maduresa. Aquesta disminució és deguda a l'engrossiment del grà de raïm, com a conseqüència de l'aportació d'aigua (que diluirà la concentració d'àcids). També causa aquesta disminució la combustió de l'àcid màlic per compensar les faltes energètiques del fruit.

El 90% dels compostos àcids del raïm es presenta en forma d'àcid tartàric i màlic on tant l'un com l'altre disminueix durant la maduració.

Aquests àcids tendeixen a disminuir el seu contingut, essent la davallada de l'àcid tartàric menys pronunciada que la del màlic. La disminució de l'àcid tartàric pot esser molt acusada, si passat el període de sequedat ha tingut un excés de pluja.

1.2.3 Substàncies nitrogenades

Les substàncies nitrogenades que es descriuen a continuació la seva evolució i el seu contingut en el raïm, no tenen cap influència sobre el sabor del vi una vegada fermentat el most, ara bé són substàncies indispensables per a llevats i bacteris per les diferents fermentacions que tenen lloc en el most.

Les substàncies nitrogenades que conté el raïm poden presentar – se de diverses formes essent les més esteses en forma de nitrogen amoni (NH_4^+), en forma d'aminoàcids (són els graons elementals de proteïnes i polipèptids i els designem la nomenclatura NH_2), en forma de proteïnes i en forma de polipèptids.

Els valors bibliogràfics[2] diuen que el valor del N_T en mostos està al voltant de 98 – 1130 mg N_T / L, amb una mitjana de 390 mg N_T / L.

El valor del nitrogen amoni es situa entre un 20 – 30 % del N_T i concretament els seus valors en mostos de vi blanc es situarien entre 15 – 176 mg N / L, i per a mostos de vi negre entre15 – 182 mg N / L.

Cal tenir en compte que aquestes substàncies poden variar d'un any a l'altre en un mateix cep. Aquesta concentració pot variar segons la climatologia de l'any, la naturalesa del cep i òbviament el tractament d'adob que es realitza.

La diferencia mitjana de concentració (expressada en mg / L) que es troba en el most i el vi és la següent[3]:

	Most	**Vi**
Nitrogen Total	390	350
Nitrogen amoni	44	14
Nitrogen orgànic	75	73
Nitrogen aminàcid	81	42

1.2.4 Pectines, gomes i mucílags

Una pectina és una substància vegetal formada per àcids poligalacturònics de cadena llarga, mes o menys esterificats. Aquesta substància forma part de la constitució de les parets vegetals i són les causants de l'hidròlisi[4] durant la fermentació, amb la conseqüent alliberació de l'alcohol metílic i de l'àcid pèctic que precipita.

Un mucílag és una substància gelatinosa de composició semblant a les gomes. L'agent principal de la podridura produeix un mucílag que pot precipitar en forma de filaments. Aquest precipitat és una barreja de glicans[5] de gran pes molecular. Aquest tipus de glicà colmata ràpidament les superfícies filtrants.

Una goma és una substància d'alt pes molecular que en contacte amb l'aigua té la particularitat d'inflar – se i de formar masses gelatinoses o solucions col·loïdals

[2] Flanzy . C. Enologia: Fundamentos Científicos y tecnològicos. Ed. Mundi – Prensa 2003.
[3] Cal esmentar que aquests valors bibliogràfics són obtinguts a través d'autors de bibliografia estrangera, i les seves mostres són extretes de zones on la climatologia es diferent al clima mediterrani, per tant es veu que la climatologia té un efecte que estudiarem més endavant sobre els compostos nitrogenats.
[4] Descomposició d'una substancia química per acció de l'aigua.
[5] Un glicà és un polisacàrid format per la unió de diversos monosacàrids mitjançant enllaços glicosídics.

viscoses. Les gomes o polisacàrids són més solubles que les pectines. Són col·loides protectors que actuen en el fenomen de la clarificació del vi.

1.2.5 Substàncies volàtils i aromàtiques

Les substàncies volàtils i aromàtiques són les que caracteritzen una varietat d'una altre. La seva concentració vindrà modificada principalment per la varietat de cep en que es trobi. Aquestes espècies apareixen en traces. La tècnica utilitzada per a la seva determinació és a través de la cromatografia de gasos que ha permès establir unes 100 substàncies.

Les substàncies volàtils principals (del vi), moltes d'elles aromàtiques, pertanyen principalment a compostos carboxílics, com poden ser l'àcid acètic, l'àcid propiònic ($C_3H_6O_2$), el butíric ($C_4H_8O_2$),... Una concentració alta en alguns dels compostos volàtils o aromàtics poden indicar la utilització de most concentrat per la seva elaboració o l'escalfament del most, com es el cas de l'hidroximetilfurfural (HMF).

Un altre grup que entraria dins els compostos volàtils o aromàtics serien els alcohols, com per exemple el metanol, 1-Propanol, el 2-Propanol...

Un tercer grup són els aldehids com ara l'etanal, propanal, butanal, pentanal,...

Els esters són l'últim grup caracteritzat com a aromàtics o volàtils essent la seva formació durant la fermentació, és el cas del formiat d'etil, acetat d'etil, acetat d'isopropil...

1.2.6 Vitamines

La riquesa vitamínica del vi és relativament modesta, ara bé el vi, suc de raïm transformat i completat per l'acció de les cèl·lules de llevat, conté tot el necessari per la vida.

La principal funció que tenen les vitamines és la del factor de creixement pels llevats i les bactèries.

Un vi negre conté les següents vitamines: Tiamina B_1, Riboflavina B_2, Nicotinamida PP (amida de l'àcid Nicotínic ($C_6H_6N_2O$)), piridoxina B_6, Biotina H, Cobalamina B_{12}.

1.2.7 Matèries Minerals

S'observa un augment continuat en matèries minerals durant tota la maduresa i fermentació, en verificar el pes i l'alcalinitat de les cendres del gra de raïm.

Cations minerals, constantment son extrets del sòl i distribuïts cap a la planta i el fruit. L'aportació en el gra és irregular. Aquesta aportació és ràpida al començament de la maduresa i va minvant al transcórrer aquesta.

L'evolució dels elements metàl·lics, també tendeixen en augmentar durant la maduresa del raïm. El ferro, es troba en quantitats iguals a la polpa i a la pel·lícula del raïm, i en menys quantitat a les llavors, mentre que el magnesi es reparteix de manera quasi igual a les tres fraccions del gra.

També es troba que hi ha un augment dels anions minerals com el sulfat, fosfat, clorur i silicats.

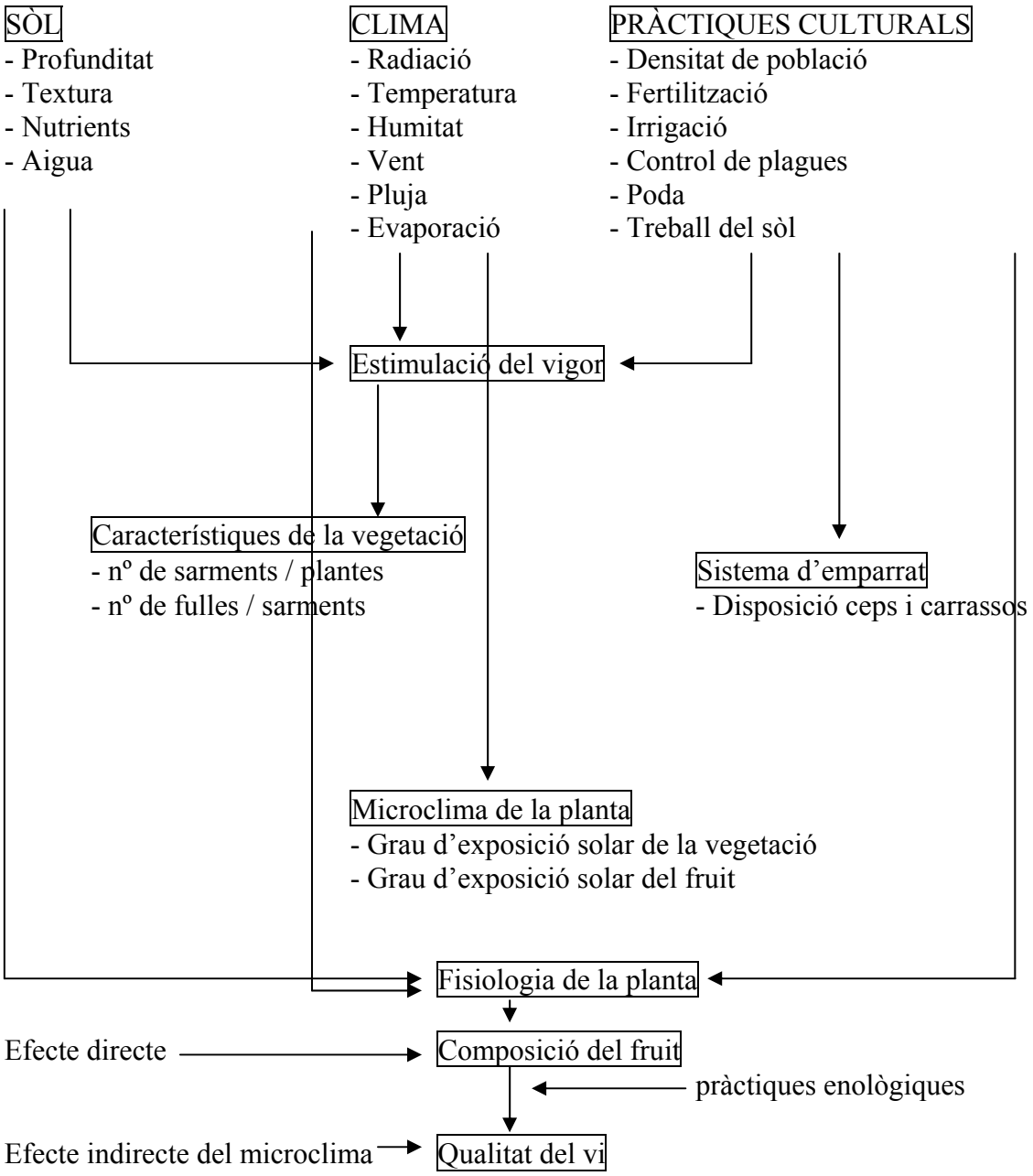
1.2.8 Compostos Fenòlics

Els compostos fenòlics són els principals responsables de la coloració del raïm. Aquests pertanyen a diferents grups químics destacant principalment els antocians i els tanins.

Els antocians durant el verolat augmenten passant per un màxim, disminuint en el moment de la maduresa i en el curs de la sobremaduresa. En canvi, els tanins de la pel·lícula disminueixen durant la primera part de la maduresa i llavors augmenten, per que una vegada arribat al final de la maduració, tornin a disminuir.

1.3 FACTORS QUE INFLUEIXEN LA MADURACIÓ DEL RAÏM (ANNEX C)

Hi ha dos tipus de factors que afectaran el creixement del gra de raïm, per una part els factors que afecten a la quantitat produïda a la verema i per altre part a la qualitat produïda. Mitjançant l'esquema 1 que es presenta a continuació, s'anomenen i es veuen quins són els principals factors a tenir en compte.



Esquema 1.Factors que influeixen la maduració del raïm

1.4 FERMENTACIONS QUE TENEN LLOC AL MOST

Una vegada dipositat el most dins les tines, pot ser que sofreixi dues transformacions que afectaran de manera diferent el most i que seran causades per diferents tipus de microorganismes.

Una primera fermentació causada pels llevats anomenada fermentació alcohòlica; a continuació hi ha una altre transformació, en aquest cas causada per bacteris i anomenada fermentació malolàctica.

1.4.1 Fermentació alcohòlica (ANNEX D)

La fermentació del most consta de diverses parts: el most comença a enterbolir – se i a despendre unes bombolles que sembla que provoquin una forta ebullició (d'aquí al seu nom en llatí Fervere). En aquest moment el most comença a perdre el seu gust ensucrat i comença a obtenir el gust característic del vi.

La transformació que té lloc és el pas de sucres a alcohol, fenomen catabolitzat pels llevats que obtenen l'energia necessària en la degradació de la matèria orgànica és a dir els sucres, en forma de hexoses i fructoses.

La reacció exotèrmica (amb despreniment d'energia) que té lloc és la següent:

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2\ C_2H_5OH + 2CO_2 + 33\ cal$$

Hexosa — Etanol — Anhídrid Carbònic

Aquesta fórmula química va ser establerta per Gay – Lussac i es va poder deduir que 180g de glucosa produïen 92g d'etanol i 88g d'anhídrid carbònic.

Aquesta transformació es completa a través de 11 reaccions químiques complexes en les quals hi intervenen nombrosos enzims i s'obtenen a la vegada altres substàncies. Primerament el que succeeix es un trencament de les molècules de sucre o glicòlisi, formant – se l'àcid pirúvic, el qual es converteix en etanal i aquest en alcohol.

Altres productes que s'obtenen són la glicerina, l'àcid acètic, l'àcid succínic, l'àcid làctic, etc.

Durant aquesta operació cal tenir en compte que és molt important mantenir un control en la temperatura i conèixer el moment en el qual s'ha de refrigerar el most, ja que la fermentació provoca un fort despreniment de calor que s'haurà d'absorbir per tal que no s'arribi a la temperatura crítica, ja que per sobre d'aquesta els llevats ja no es reprodueixen i queden inhibits.

Cal tenir en compte que hi ha varis factors amb els quals cal fer ressò per tal que la fermentació sigui la correcta i els llevats puguin actuar correctament.

Uns exemples d'aquests factors són la temperatura, la influència de l'aireig en el most (a través de la pràctica del remuntat), les necessitats nutritives dels llevats i per últim l'acidesa del most.

1.4.2 Fermentació malolàctica (ANNEX E)

Una vegada el most ha sofert la fermentació alcohòlica i conseqüentment ja ha estat transformat en vi no significa que ha estat acabat tot el procés de vinificació. Una vegada hagi estat transformat el sucre a alcohol, gràcies als llevats, el vi tindrà que patir un altre canvi biològic amb el qual s'optimitzarà la seva qualitat i l'estabilitat biològica necessària.

Aquesta transformació és la fermentació malolàctica i és la produïda pels bacteris làctics. Aquesta transformació també és anomenada desacidificació biològica del vi, ja que hi ha la transformació de l'àcid màlic a làctic amb la conseqüent pèrdua d'acidesa total.

La reacció química que té lloc en aquesta transformació es la següent:

$C_6H_5O_5$	$\longrightarrow$	$C_3H_6O_3$	+	CO_2
Àcid màlic		Àcid làctic		Anhídrid Carbònic
1g		0.67g		0.33g

Aquesta segona fermentació pot tenir lloc de manera natural, o bé mitjançant l'addició de cultiu bacterià.

Els bacteris causants d'aquesta segona fermentació poden ser *Lactobacillus* (hetero i homofermentatius), *Leuconostocs* (heterofermentatius) i els *Pediococs* (homofermentatius). Aquests subgrups d'espècies anomenats es diferencien en que els homofermentatius metabolitzen una mica de sucre a àcid làctic i produeixen petites quantitats d'àcid acètic i CO_2. En canvi els heterofermentatius fermenten bé els sucres i formen quantitats d'àcid acètic i CO_2 importants, juntament amb petites quantitats de glicerina i alcohol.

Des del punt de vista gustatiu hi ha unes millores en la qualitat del vi, ja que l'àcid làctic és més lleuger, suau i gras. Però a la vegada també es veu disminuït l'estat de conservació del vi.

Els principals factors de creixement que influencien el creixement de les bactèries són l'acidesa real del vi, quantitat de sulfurós utilitzat en la vinificació, la temperatura d'operació, la influència de l'aireig i les necessitats nutritives dels bacteris.

Els principals beneficis i inconvenients que es troba en la fermentació malolàctica són: reducció de l'acidesa, estabilitat del vi, i com a inconvenients, principalment hi ha la pèrdua del gust afruitat de la varietat de raïm que s'utilitza.

1.5 COMPOSTOS NITROGENATS DEL MOST[6]

El bon desenvolupament de la fermentació alcohòlica ve determinada en gran mesura per les característiques de la matèria prima: el most. La varietat vinífera d'on prové el most, té una gran incidència en la fermentabilitat (consum dels sucres del most per part dels llevats). Possibles problemes fermentatius com poden ser endarreriments o parades en la fermentació pot ser degut als continguts en nitrogen de la varietat. Aquests problemes dificulten el creixement dels llevats i conseqüentment a la velocitat de fermentació com s'ha anomenat anteriorment.

Els most de vi negre normalment no té problemes de fermentació ja siguin aturades o endarreriments ja que el procés de vinificació implica molt més contacte amb sòlids i més tractaments d'aireig, aquests factors impliquen el creixement i la supervivència dels llevats.

També influencien els nivells de nitrogen les característiques meteorològiques de l'anyada, el grau de maduració del raïm, l'adob que s'utilitza en les vinyes...

Moltes vegades poden sorgir problemes fermentatius, ja siguin aturades o endarreriments en el procés, que van associades a algunes varietats en particular. Això es degut a que aquestes varietats contenen un baix contingut en nitrogen en els seus mosts corresponents. Aquestes diferències varietals afecten tant al creixement de llevats com a la velocitat de fermentació.

Els ceps absorbeixen el nitrogen en forma de sals amoniacals i nitrats per les arrels. Els nitrats són reduïts per via enzimàtica per donar cations amoni, els quals són el punt de partida de la biosíntesi dels aminoàcids que són el vehicle de nitrogen dels òrgans aeris de la planta.

El contingut de nitrogen total a la planta augmenta al llarg del procés de maduració, arribant a triplicar el contingut inicial. Ara bé el nitrogen amoniacal i l'assimilable es manté constant o disminueix durant el procés de verolat del raïm, degut a la síntesi proteica. Els anys més secs i càlids donen en general, en zones vitícoles meridionals mostos mancats en nitrogen assimilable. Els principals compostos nitrogenats provinents de la polpa són amoni (NH_4^+), nitrats, aminoàcids, proteïnes, nucleòtids, amines i vitamines. Només el catió amoni i els aminoàcids són els que es poden considerar com quantitativament importants en l'aportació de nitrogen per la síntesi de proteïnes estructurals i funcionals, que fan augmentar el creixement dels llevats i són transportadors de metabòlits que intervenen en els canvis bioquímics que tenen lloc durant la fermentació alcohòlica, es per això, que en aquest treball només s'han estudiat les aportacions que fan el catió amoni, els aminoàcids i el nitrogen total.

[6] Cal tenir en compte que: N_{TOTAL} fa referència a totes les formes nitrogenades que conté el raïm. NFA és el Nitrogen Fàcilment Assimilable i ens engloba N en forma d'α – aminoàcids i el nitrogen en forma d'amoni. Per últim tenim el $N_{ORGÀNIC}$ que correspon al nitrogen en forma de proteïnes, pèptids, polipèptids, amines biògenes, nucleòtids i vitamines.

Components nitrogenats del most i la seva concentració són[7]:

	Massa molecular	Valors bibliografia
Nitrogen total	14	0,2 a 1,7 g/L
Nitrogen mineral		
Amoni NH_4^+	18	3 a 10%
Nitrat NO_3^-	62	<0,3%
Nitrogen orgànic		
Proteïnes	>10.000	2 a 5% del nitrogen total
Polipèptids	<10.000	10 a 30% del nitrogen total
Amines biògenes	30-200	<25%
Nucleòtids		<13%
Vitamines		
Nitrogen assimilable		
(aminoàcids + amoni)		60 a 80% del nitrogen total

1.5.1 Aminoàcids

El contingut d'aminoàcids en mostos representa entre un 60 – 80 % del Nitrogen Total[8] de la planta. Dins dels mostos es troben una vintena d'aminoàcids del regne vegetal essent els més característics o abundants la prolina i l'arginina. Aquests dos aminoàcids tenen com a precursor comú l'àcid glutàmic. El contingut de la prolina augmenta a mesura que va madurant el raïm. En canvi el contingut de l'arginina és independent al grau de maduració i és determinat per la seva varietat.

Anys càlids donen un contingut de prolina més abundant que no pas anys freds.

Un aminoàcid específic del raïm és l'àcid γ – aminobutíric , que augmenta la seva concentració, com a conseqüència del metabolisme anaeròbic de la baia.

La varietat de raïm dóna una variació en la composició qualitativa i quantitativa d'aminoàcids. També fa variar aquesta composició l'origen geogràfic, les condicions climàtiques de l'anyada, el grau de maduració del raïm, els tractaments

[7] Acmy, 1996; Feuillat,1998.
[8] Flanzy . C. Enologia: Fundamentos Científicos i tecnològicos. Ed. Mundi – Prensa 2003

pre – fermentatius (en concret el temps de maduració i el desfangat tenen un efecte notori sobre la composició d'aminoàcids al most).

L'alanina, arginina, asparagina, àcid aspàrtic, àcid glutàmic, leucina i valina promouen un bon creixement dels llevats utilitzats com a única font de nitrogen. L'isoleucina, metionina, fenilalanina, serina i triptòfan donen un creixement entre bo i moderat, mentre que la cisteïna, glicina, histidina, lisina, prolina i treonina són fonts pobres en nitrogen.

La lisina com a única font de nitrogen té un efecte inhibidor sobre els llevats *Saccharomyces cerevisiae*; aquest efecte desapareix en el moment en que apareixen altres fonts nitrogenades. Moltes altres espècies de llevats poden utilitzar la lisina com a única font de nitrogen assimilable. Així mateix, la glicina és inhibitòria pel creixement del llevat i desenvolupament de la fermentació alcohòlica. D'altre banda la prolina i la glicirina protegeixen el llevat de l'estrès osmòtic que provoca l'alta concentració en sucres.

1.5.2 Amoni (NH_4^+)

El valor bibliogràfic que dóna sobre l'amoni en mostos representa entre el 3 i el 10% del Nitrogen Total. El contingut d'amoni és més elevat quan més baix és el grau de maduració. Els anys càlids i secs es troben continguts més baixos d'amoni al most. També es troben diferències entre mostos a conseqüència de les varietats i de les pràctiques de conreu. El catió amoni, font preferent dels llevats, s'esgota durant els primers dies de la fermentació alcohòlica.

1.5.3 Proteïnes i pèptids

La varietat vinífera marca significativament la concentració de proteïnes al most i al vi. La climatologia i la naturalesa del sòl influencien la concentració de proteïnes.

Les formes nitrogenades de proteïnes i pèptids, no són font preferent de nitrogen pels llevats durant la fermentació, només són utilitzats quan s'han esgotat les altres fonts fàcilment assimilables (amoni i aminoàcids). Si succeeix aquest cas els llevats activen el seu sistema enzimàtic per tal de degradar proteïnes i pèptids i reduir – los a la forma més assimilable del nitrogen.

Aquests tipus de compostos nitrogenats no són estudiats tant per les aportacions que donen sinó pels possibles problemes que poden causar en l'elaboració del vi: ens dificulten la filtració degut a la seva naturalesa col·loïdal, i poden ser les causant de l'aparició de la terbolesa en el vi. Un altre possible problema que pot donar és la de vessaments de les tines durant la fermentació, ja que són els causants de la formació d'escuma durant el procés de vinificació.

Cal esmentar també que una major pressió en el premsat fa augmentar el contingut de proteïnes del most ja que aquestes es troben ubicades a la pell del raïm.

La fermentació alcohòlica provoca una davallada en la concentració de nitrogen proteic. Els tractaments post – fermentatius, com clarificació i eliminació de sòlids en suspensió fan disminuir la quantitat de proteïnes al vi, fent precipitar les molècules més inestables.

2. OBJECTIUS:

El nitrogen i totes les seves possibles formes són un component important en la composició del most i juga un paper fonamental en la transformació del most en vi.

El seu contingut al most es pot veure que varia a través de molts factors externs a la planta, ja sigui per l'acció de l'home o per causes alienes a ell.

Es per aquesta raó que els objectius del treball són els següents:

- Determinació de la concentració de tres tipus de compostos nitrogenats que es troben al most (N_{TOTAL}, $N_{ASSIMILABLE}$, $N_{ORGÀNIC}$).
- Comparació dels resultats dels diferents compostos en relació d'altres mostres analitzades en d'altres zones.
- Influència que hi ha entre la meteorologia i la concentració de compostos nitrogenats que formen el raïm.

Aquests, doncs, són els objectius del projecte ja que aquests compostos nitrogenats són de gran importància en la dinàmica fermentativa del most, i segons les dades consultades no s'hauria efectuat cap estudi similar en mostos de l'Empordà.

3. MÈTODES D'ANÀLISI I MATERIAL

3.1 MÈTODES D'ANÀLISI I TRACTAMENT DE LA MOSTRA:

Per tal de poder portar a terme una metòdica viable i reproduïble en la determinació dels compostos nitrogenats, s'ha dut a terme un estudi previ dels pre – tractaments que ha de rebre la nostra mostra per tal de poder ser analitzada. També s'ha tingut cura de mirar i estudiar quins eren els mètodes d'anàlisi a utilitzar per tal que la metòdica sigui viable i els resultats siguin el mes exhaustius possibles.

A partir d'aquests estudis s'ha arribat a la conclusió que els millors mètodes per tal de determinar – ne la composició són els següents:

- Per a la determinació del N_{TOTAL} s'utilitzarà el mètode Kjeldhal, prèvia digestió del most.
- Per a la determinació del NFA s'utilitzarà el mètode Sorensen, a través de l'índex de formol (aquest procés també permetrà determinar quina és la concentració de l'acidesa en forma de g H_2SO_4 / L).

Les mostres a mesura que entraven al celler han estat recollides i dipositades dins anaclins tancats hermèticament per tal que les seves propietats i composicions no siguin alterades. Una vegada han estat recollides les mostres s'han guardat dins el congelador, per tal de que les seves propietats no s'alterin.

El que s'ha anat fent a partir del moment que s'ha començat les anàlisis és agafar grups de quatre mostres i analitzar – les.

Posteriorment a través d'un bany maria i un agitador magnètic s'han homogeneïtzat les mostres per tal que la seva composició fos igual per tota la mostra.

3.2 DETERMINACIÓ DEL NITROGEN TOTAL (N_T) (MÈTODE KJELDHAL)

3.2.1 Principi:

El fonament d'anàlisi del N_T en sucs de raïm es basa en una digestió en la qual el que es vol aconseguir es transformar totes les diferents formes de nitrogen orgànic en sulfat amònic a través d'una ebullició amb H_2SO_4 concentrat.

Aquesta digestió és lenta i com a conseqüència s'afegeixen una barreja de catalitzadors formats principalment per sulfat potàssic, sulfat de coure i seleni.

Amb aquesta digestió el que s'aconsegueix és que qualsevol tipus de substància orgànica, que contingui nitrogen, sota qualsevol forma, es transformi a amoni en forma de sulfat d'amoni i el carboni i hidrogen que conté passi respectivament a CO_2 i H_2O.

Una vegada la digestió ha estat completada (s'observa per una decoloració de la mostra) el que es fa es enrasar la mostra a volum conegut i a continuació realitzar la valoració a través de l'ebullició de la mostra, afegint un excés de NaOH i utilitzant HCl i indicador com a agent valorant.

Com a conseqüència de l'ebullició de la mostra el que es fa és que es desprèn l'amoni de la mostra en forma d'amoníac i es valora amb l'àcid clorhídric i l'indicador, fins que viri la solució que passarà de color rosa (quan el medi és àcid) a verd (quan el medi és bàsic).

3.2.2 Material i aparells

3.2.2.1 Aparell Kjeldhal Bouat – Afora

L'aparell Kjeldhal Bouat – Afora amb arrossegament per aire (fig.1) està composat per set components que són descrits a continuació:

K. El primer component és el matràs Kjeldhal de 100 mL que prèviament s'ha utilitzat per realitzar la digestió de la mostra. Una vegada efectuada la digestió el que es fa és agafar la mostra i enrasar – la a un matràs de 50 mL . D'aquesta solució se n'agafen alíquotes de 20 mL per tal d'analitzar – les, i són introduïdes dintre del matràs, juntament amb aigua destil·lada i un excés de NaOH per tal que tot l'amoni que conté la solució sigui transformat a amoníac i a través dels vapors originats pugui ser valorat amb l'HCl i l'indicador dins el recipient de valoració.

C. A continuació del matràs hi ha la columna de rectificació composta d'una part interna i una altre externa. La part interna de la columna està repleta la meitat superior de perles de vidre, que la seva missió és mantenir la columna calenta entre les diferents valoracions. Aquesta part comunica amb el fons del matràs Kjeldhal mitjançant un tub acoblat amb elastòmers de silicona que impedeix el trencament de dit tub al canviar de matràs. El fons del tub es troba ubicada una vàlvula que impedeix possibles retrocessos de les solucions.

La part superior de la columna conté una vàlvula principal de cautxú per on es troba l'entrada d'aire al conjunt però no la sortida, la missió d'aquesta vàlvula és no permetre la pèrdua d'amoníac per retrocés i permetre l'entrada d'aire que arrossegui la solució d'amoníac.

La part externa del tub es un tub d'uns 30 cm de longitud que permet l'acoblament de la part interior i del pas dels vapors al refrigerant.

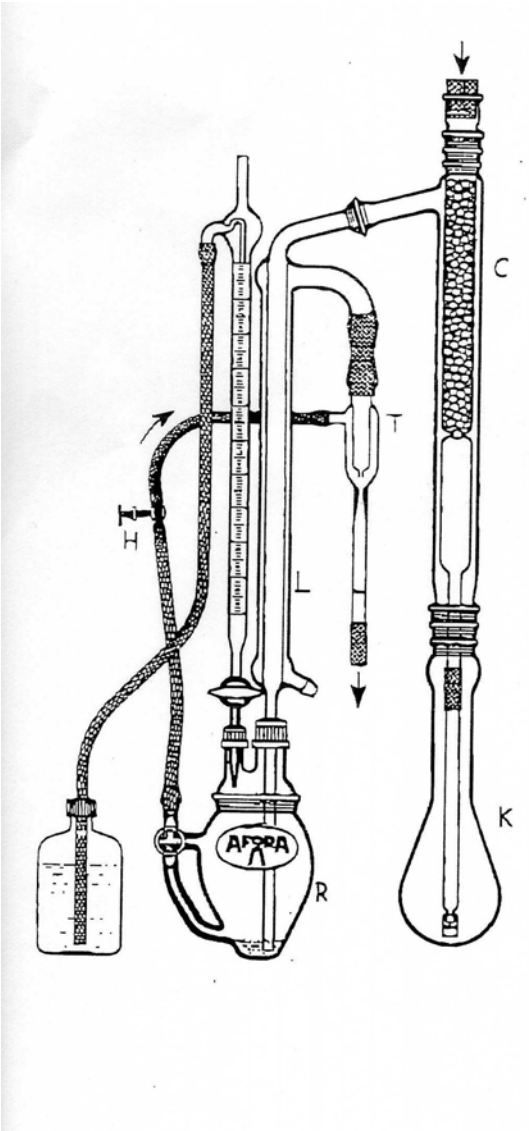


Fig. 1 Aparell Kjeldhal Bouat – Afora amb arrossegament per aire

L. A continuació hi ha el tub refrigerant Liebig – West que té la particularitat de que la part superior del tub és de diàmetre més gran per tal de poder – lo acoblar a una entrada d'aigua. La sortida inferior del refrigerant es perllonga fins al fons del vas dosificador perquè els vapors que s'hagin arrossegat arribin fins a la solució del fons i puguin esser valorats.

T. També hi ha la trompa d'aigua la qual és l'encarregada de produir la succió necessària per l'arrossegament i l'agitació de la solució a valorar.

El tub de goma connectat al vas dosificador i a la trompa és el que permet controlar l'arrossegament de la solució.

R. El recipient per a la valoració està composat per dues tubuladures una a la part superior i l'altre a l'inferior i estan unides per una clau de 3 passos. Una posició de la clau permet buidar el vas a valorar i deixar uns 2 mL de solució valorant de l'anterior valoració i recollir els vapors amoniacals de la següent.

Per últim hi ha la bureta d'enràs automàtic de 10 mL, aquesta és una bureta fixada al recipient de valoració i que conté 10 mL de solució valorant.

3.2.2.2 Digestor:

El digestor (fig.2) es tracta d'un aparell que permet la degradació de la matèria orgànica aplicant una solució d'H_2SO_4 concentrat i una pastilla catalitzadora amb la qual s'accelera tot el procés de degradació de la mostra. Aquesta digestió degrada la matèria orgànica i transforma el nitrogen a sulfat amònic, que posteriorment s'afegirà a un excés de NaOH i a través d'una ebullició de la mostra es valoraran els vapors d'amoníac que s'han desprès, amb una solució de HCl de concentració coneguda.

Fig.2 Digestor

3.2.3 Material

- Matràs Kjeldhal de 100 mL
- Vasos de precipitats
- Digestor (manta calefactora)
- Campana de gasos
- Pipetes de diferent volum
- Proveta de 50 mL
- Compte – gotes
- Aparell Kjeldhal Bouat – Afora amb arrossegament per aire
- Matràs aforat de 50 mL

3.2.4 Reactius

- Mostres
- Barreja catalitzadora (sulfat potàssic i seleni). Ref. Panreac 173348
- Àcid sulfúric 98%. Ref. Panreac 173163
- Aigua destil·lada
- NaOH 40%. Ref. Panreac 171220
- Àcid clorhídric 0.02N. Ref. Panreac 182884
- Indicador fenolftaleïna. Ref. Panreac 282430

3.2.5 Procediment

- Titulació de la solució HCl 0.025N amb glicocol·la:

  - Pesar aproximadament 0.2g de glicocol·la i anotar pes exacte
  - Afegir 25 mL H_2SO_4 98% i pastilla catalitzadora
  - Portar a digerir
  - Completada la digestió enrasar el volum que queda, a un matràs de 50 mL.
  - Agafar alíquotes de 5 mL i valorar.
  - Amb els càlculs oportuns calcular la concentració de l'HCl.

- Valoració de les mostres:

  - Posar en el matràs Kjeldhal 10 mL de most, 10 mL H_2SO_4 98% i pastilla catalitzadora de Seleni. Escalfar lentament i desprès d'uns minuts enèrgicament, fins a completa degradació de la matèria orgànica, que es denotarà a través de la completa transparència de la solució. Si es necessari caldrà afegir volums de 5 mL d'H_2SO_4 98% per tal d'ajudar a degradar la matèria orgànica de la mostra. En la degradació de les mostres es veurà que es complicada a causa de la gran quantitat de matèria orgànica i sucres.

- La solució degradada s'enrasa en un matràs aforat de 50 mL i la solució es col·loca en anaclins, dels quals se n'agafarà volums de 20 mL per efectuar – ne la valoració.

- Afegir al volum de 20 mL de mostra un excés de NaOH 40% i una mica d'aigua destil·lada i portar a ebullició. El destil·lat es recollirà dins recipient de valoració, en el qual serà valorat amb una solució d'HCl amb indicador, titulat prèviament amb glicocol·la.

- A mesura que es destil·la la mostra és valora amb la solució de clorhídric. Cada vegada que hi ha un excés d'amoníac el que succeeix és que hi ha un canvi de color de l'indicador i serà quan s'haurà de deixar caure unes gotes de clorhídric per valorar. El punt final serà quan es veu que l'indicador no vira més. Per tal de assegurar que no conté més nitrogen afegir en dues vegades volums de NaOH 40%.

- A mesura que es canvia de mostra es recomana que es posi a destil·lar un volum d'aigua per tal que els vapors que es desprenguin netegin l'aparell de possibles restes.

3.2.6 Expressió de resultats

- Titulació de l'HCl amb glicocol·la:

($m_{(glicocol\cdot la)}$ g / $V_{(dissolució)}$ mL) * ($V_{(valorant)}$ mL / $V_{(gastat)}$ mL) *

* (1 mol $_{(glicocol\cdot la)}$ / 75.07 g $_{gl}$) * (1eq $_{(glicocol\cdot la)}$ / 1 mol $_{(glicocol\cdot la)}$) *

* (1 eq $_{(HCl)}$ / 1eq ($_{glicocol\cdot la)}$) * (1000 mL / 1 L) = **eq HCl / L = N HCl**

- Valoració del N_{TOTAL} de les mostres:

($V_{(HCl)}$ mL / $V_{(sº\ a\ valorar)}$ mL) * (eq HCl / 1000 mL) * (1 eq N / 1 eq HCl) *

* (1 mol N / 1 eq N) * (14 g N / 1mol N) * (1000 mg N / 1 g N) *

* (50 mL dº / mL most) * (1000 mL most / 1L most) = **mg N_T / L**

- Càlcul del % N_T a les mostres:

($V_{(HCl)}$ mL / $V_{(sº\ a\ valorar)}$ mL) * (eq HCl / 1000 mL) * (1 eq N / 1 eq HCl) *

* (1 mol N / 1 eq N) * (14 g N / 1mol N) * (1000 mg N / 1 g N) *

* (50 mL dº / mL most) * 100 = **% N_T**

3.3 DETERMINACIÓ DEL $N_{ASSIMILABLE}$ (NFA) (MÈTODE SORENSEN)

3.3.1 Fonaments

El mètode Sorensen és un mètode volumètric utilitzat per la determinació quantitativa del Nitrogen assimilable d'una mostra líquida o en forma d'extractes. La finalitat del mètode és la valoració de la mostra i la determinació del nitrogen en forma d'amoni i aminoàcids lliures de pèptids i proteïnes; aquesta fracció és la que s'anomena NFA (que corresponen a les sigles Nitrogen Fàcilment Assimilable). A través d'aquest mètode també es quantifica la concentració d'àcid que conté el most.

A causa del caràcter amfòter dels aminoàcids (tant poden actuar com a àcids o com a bases) les mostres no es poden analitzar amb un àlcali, sinó que com a pas previ caldrà emmascarar (Índex de Formol) l'activitat bàsica del grup amino.

El mètode Sorensen consisteix en fer reaccionar la solució a valorar amb una solució de formalina, de tal manera que el que es pretén és substituir els àtoms d'H del grup amino per grups hidroximetilé. De tal manera que el que es realitza és l'eliminació de dos hidrògens de la molècula nitrogenada de l'aminoàcid, amb la conseqüent producció d'un àcid més fort.

La reacció passa a formar un producte en forma d'àcid carboxílic factible per la valoració amb NaOH.

3.3.2 Aparell:

L'aparell a utilitzar consisteix en un pH – metre (fig.1) i una bureta. El pH – metre l'utilitzarem per tal de neutralitzar la nostra mostra i la solució de formaldehid amb una solució de NaOH 0.1N fins a pH ≈ 8.1.

Fig.1 pH - metre

3.3.3 Tractament de la mostra

La mostra abans d'utilitzar s'haurà d'homogeneïtzar a través d'un agitador magnètic, per tal que tota la seva composició sigui homogènia en tot el seu contingut. També caldrà aplicar calor ja que les mostres estaven al congelador i conseqüentment estan en estat sòlid.

3.3.4 Material

- pH – metre
- Pipetes de diferent volum
- Vas de precipitats
- Bureta (de 10 mL i 25 mL)

3.3.5 Reactius

- Mostres
- NaOH 0.1N Ref. Panreac 171694
- Peròxid d'hidrogen 30% p/V Ref. Panreac 121076
- Solució de formaldehid. Ref. Panreac 141328

3.3.6 Procediment

- S'agafen de 10 mL de mostra i es neutralitzen amb la solució de NaOH 0.1N, fins a pH ≈ 8.1. Cal tenir en compte que si se sospita que la mostra ha estat tractada amb anhídrid sulfurós dins el celler caldrà afegir unes gotes de peròxid d'hidrogen per tal d'emmascarar el tractament. (V_1)

- S'agafen també 10 mL de solució de formaldehid i es neutralitzen amb NaOH 0.1N fins a pH ≈ 8.1. (V_2)

- Es barregen les dues solucions neutralitzades i es valoren amb NaOH 0.1N fins a obtenir un pH ≈ 8.1. (V_3)

Cal controlar el pH inicial i final de la mostra.

3.3.7 Expressió de resultats

A través d'aquest mètode és pot calcular el contingut en N en forma amoniacal i aminoàcids, lliure de pèptids i proteïnes (NFA).

També podem calcular, gràcies a l'índex de formol, l'acidesa total de la mostra en g H_2SO_4 / L mostra.

- Càlcul pel contingut en mg NFA / L $_{mostra}$:

$\Delta V = V_3 - V_2$

(ΔV mL NaOH / V $_{(valoració)}$ mL mostra) * (0.1 eq NaOH / 1000 mL NaOH) *

* (1eq N / 1 eq NaOH) * (1 mol N / 1 eq N) * (14g N / 1 mol N)*

* (1000 mg N / 1g N) * (1000 mL mostra / 1L mostra) =

= **mg NFA / L mostra**

- Càlcul del % de NFA a la mostra:

(ΔV mL NaOH / V $_{valoració}$ mL mostra) * (0.1 eq NaOH / 1000 mL NaOH) *

* (1 eq N / 1 eq NaOH) * (1 mol N / 1eq N) * (14g N / 1 mol N) * (1000 mg N / 1 g N)

* 100 = **% NFA**

- Càlcul de l'acidesa de la mostra:

(V_1 mL NaOH / V $_{valoració}$ mL mostra) * (0.1 eq NaOH / 1000 mL NaOH) *

* (1 eq H_2SO_4 / 1 eq NaOH) * (1 mol H_2SO_4 / 2 eq H_2SO_4) *

* (98 g H_2SO_4 / 1 mol H_2SO_4) * (1000mg H_2SO_4 / 1 g H_2SO_4) *

* (1000 mL mostra / 1L mostra) =

= **mg H_2SO_4 / L mostra**

3.4 DETERMINACIÓ DEL $N_{ORGÀNIC}$

3.4.1 Fonament

La determinació del nitrogen orgànic és la determinació del nitrogen en forma de proteïnes i pèptids de la mostra. Aquesta determinació no es realitza a través de cap mètode concret sinó que el que es fa és que en el contingut trobat de nitrogen total de la mostra se li resta el que està en forma de NFA, de tal manera que el resultat que s'obté serà el nitrogen orgànic.

Aquest nitrogen orgànic és el que costa més de degradar per part de llevats ja que és el que està format per més cadenes d'aminoàcids i conseqüentment no és el preferible per llevats i bactèries.

3.4.2 Procediment

El procediment a seguir serà al resultat obtingut en el contingut en Nitrogen Total a través del primer mètode (Kjeldhal) se li resta el contingut en NFA obtingut en el segon mètode (Sorensen).

3.4.3 Expressió de resultats

- Càlcul per a la concentració del nitrogen orgànic:

mg $N_{orgànic}$ / L mostra = (mg N_{Total} / L mostra) – (mg NFA / L mostra)

4. Mostres analitzades:

M-1: Varietat Cabernet Sauvignon. Origen Capmany. (Varietat Negre)

M-2: Varietat Garnatxa Negre origen Espolla. (Varietat Negre)

M-3: Varietat Carinyena Negre origen Espolla. (Varietat Negre)

M-4: Varietat Macabeu origen Espolla. (Varietat Blanca)

M-5: Varietat Carinyena Negre origen Espolla. (Varietat Negre)

M-6: Varietat Carinyena Negre origen Espolla. (Varietat Negre)

M-7: Varietat Macabeu origen Espolla. (Varietat Blanca)

M-8: Varietat de Moscat d'Alexandria. Origen de Capmany. (Varietat Blanca)

M-9: Varietat de Carinyena Negre origen Capmany. (Varietat Negre)

M-10: Varietat de Moscat de grà gros. Terme de Sant Climent. (Varietat Blanca)

M-11: Varietat de Garnatxa Negre. Terme de Sant Climent. (Varietat Negre)

M-12: Varietat de Carinyena Blanca. Terme d'Espolla. (Varietat Blanca)

M-13: Varietat de Carinyena Blanca. Terme d'Espolla. (Varietat Blanca)

M-14: Varietat de Carinyena Negre. Terme de Capmany. (Varietat Negre)

M-15: Varietat de Carinyena Negre. Terme de Capmany. (Varietat Negre)

M-16: Varietat de Carinyena Negre. Sector d'Espolla. (Varietat Negre)

M-17: Varietat de Cabernet Sauvignon. Terme de Capmany. (Varietat Negre)

M-18: Varietat de Macabeu. Sector d'Espolla. (Varietat Blanca)

M-19: Varietat de Moscat. Terme de Sant Climent (Varietat Blanca)

M-19: Varietat de Carinyena Blanca. Terme de Capmany. (Varietat Blanca)

M-20: Varietat de Macabeu. Terme d'Espolla. (Varietat Blanca)

M-21: Varietat de Cabernet Sauvignon. Terme de Capmany (Varietat Negre).

M-22: Varietat de Carinyena Blanca: Terme de Capmany. (Varietat Blanca)

M-23: Varietat Carinyena Blanca origen Sant Climent. (Varietat Blanca)

M-24: Varietat de Cabernet Sauvignon. Terme de Capmany (Varietat Negre)

M-25: Varietat de Moscat d'Alexandria. Origen de Capmany. (Varietat Blanca)

M-26: Varietat de Carinyena Blanca. Terme de Sant Climent. (Varietat Blanca)

M-27: Varietat de Moscat. Origen de Sant Climent. (Varietat Blanca)

M-28: Varietat de Macabeu. Terme d'Espolla. (Varietat Blanca)

M-29: Varietat de Carinyena Negre. Terme de Espolla. (Varietat Negre)

M-30: Varietat de Carinyena Negre. Terme de Espolla. (Varietat Negre)

M-31: Varietat de Carinyena Blanca. Terme d'Espolla. (Varietat Blanca)

M-32: Varietat de Carinyena Blanca. Terme d'Espolla. (Varietat Blanca)

M-33: Varietat de Macabeu. Terme d'Espolla. (Varietat Blanca)

M-34: Varietat de Cabernet Sauvignon. Terme de Capmany (Varietat Negre)

5. CONDICIONS CLIMÀTIQUES DE L'ANYADA:

A continuació s'exposen les condicions climàtiques[1] que han tingut lloc dins l'anyada en que han estat agafades les mostres. Aquests són els paràmetres principals a tenir en compte a l'hora d'analitzar els compostos nitrogenats en mostos, ja que són un dels factors a tenir en compte perquè modifiquen el seu contingut. S'ha escollit el període que comprèn de febrer a setembre, ja que és en aquesta època que es troba el període de vegetació i de maduració, dins en els quals es troba la formació dels principals compostos que formen el raïm.

	Temperatura Mitjana (ºC)			Humitat (%)		
Mes / Any	**Màxima**	**Mínima**	**Absoluta**	**Màxima**	**Mínima**	**Absoluta**
feb-05	10,4	2,6	6,5	81,5	44,5	62,2
març-05	15,1	5,3	10,2	87,1	45,9	68,5
abr-05	18,5	8,9	13,7	86,2	44	64,9
maig-05	23,7	13	18,4	85,8	39,1	61,7
juny-05	29,3	17,6	23,5	80,1	37,6	58,1
jul-05	31,1	19,6	25,4	77,9	35,7	54,9
ag-05	29,4	18,4	23,9	79,1	35,2	53,8
set-05	25,9	15,6	20,8	88,8	41,4	66,8

	Pluja (dm^3)		Oscil·lacions	
Mes / Any	**Dies de Pluja**	**Total (dm^3 / m^2)**	**Temperatura**	**Humitat**
feb-05	8	190,1	7,9	36,7
març-05	5	17,9	9,8	41,2
abr-05	8	47,3	9,5	42,2
maig-05	12	95	10,7	46,8
juny-05	3	5,3	11,7	42,5
jul-05	3	7,5	11,5	42,2
ag-05	7	14,2	11	43,9
set-05	9	77,7	10,3	47,4

[1] Valors extrets de: http:// www.cannirus.net

	Vent (Km/h)			
Mes / Any	**< 60**	**60 - 80**	**80 - 100**	**> 100**
feb-05	13	3	6	5
març-05	26	1	3	1
abr-05	21	4	1	4
maig-05	21	4	6	0
juny-05	23	7	0	0
jul-05	22	8	1	0
ag-05	18	11	2	0
set-05	23	5	0	2
Mitjanes	21	5	2	2

Tot seguit el que es fa és definir el tipus de clima que es troba en el nostre àmbit geogràfic. El clima que defineix el nostre territori és el clima mediterrani. Dins els climes del món el clima mediterrani ocupa molt poca superfície i sempre es troba al costat occidental dels continents entre els 30 i 45 graus de latitud nord i sud de l'Equador. A més tota la conca mediterrània (i àrees properes). També trobem clima mediterrani en punts de l'extrem sud d'Àfrica, de l'oest d'Austràlia, de Xile, de Califòrnia i Oregon.

La pluja oscil·la entre un mínim de 200 L als aproximadament 1000 L. En tots els casos de precipitació de l'estiu no és suficient per cobrir l'evotranspiració de les plantes i per tant fa que les plantes pateixin un període de sequedat que normalment coincideix amb l'estiu.

Causes del clima mediterrani:

La localització intermèdia entre la zona subtropical i la temperada fa que durant l'estiu les altes pressions dominin i les pluges siguin absents o només ocasionals. A la resta de l'any poden penetrar els fronts de pluges de la zona temperada occidental.

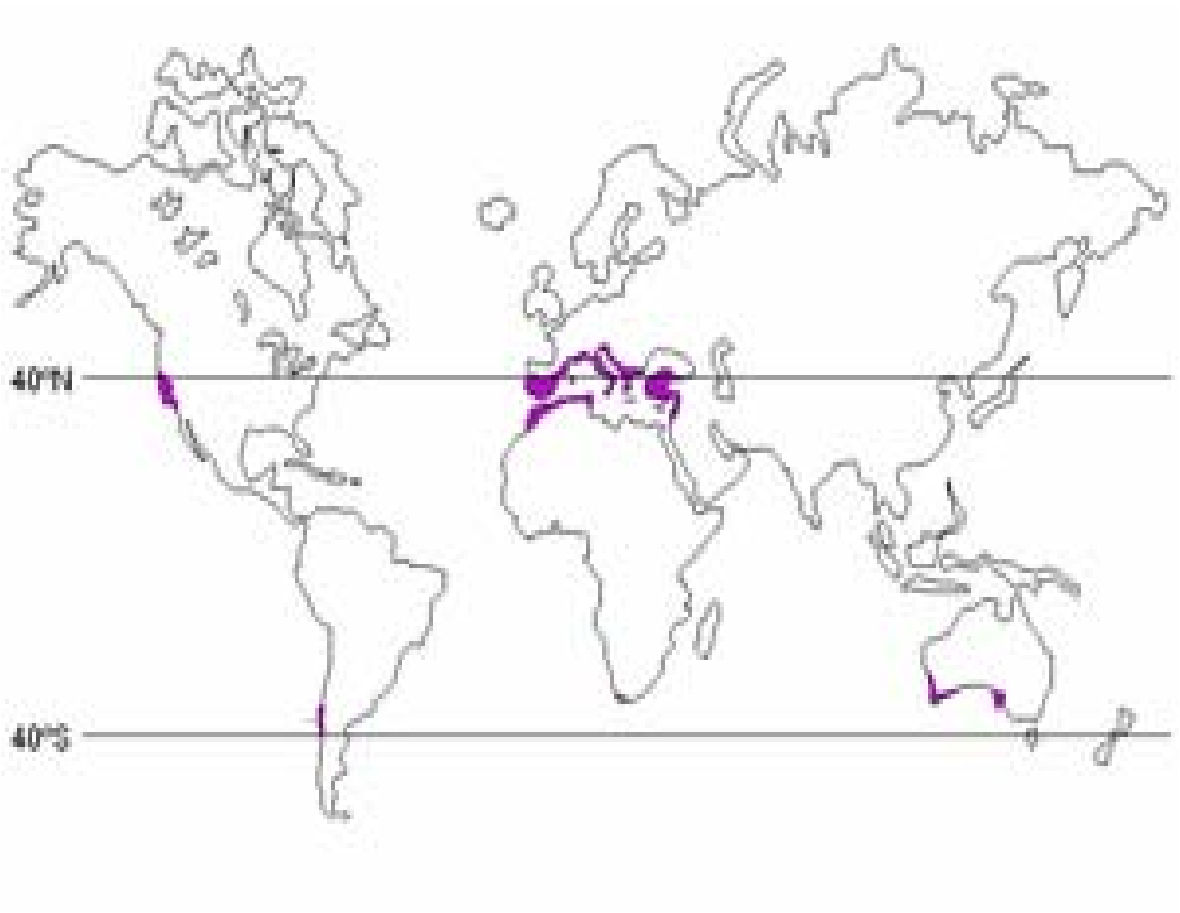
Precipitació:

Precipitacions totals augmenten de S a N en l'hemisferi Nord i de N a S en l'hemisferi Sud. També augmenten amb l'altitud. La irregularitat pluviomètrica anual es molt marcada oscil·la entre el 20 i el 50% en contrast amb climes oceànics que aproximadament es inferior al 15%.

Temperatures:

Hiverns suaus. La Tª mitjana del mes més fred es situa al voltant dels 7ºC. Els hiverns mediterranis es troben que tenen glaçades lleugeres que permeten el conreu de l'olivera i on el clima és més suau permet el conreu de cítrics. La Tª mitjana d'estiu es situa entre els 20 i els 26ºC.
La temperatura mitjana en localitats de clima mediterrani oscil·la entre els 12 i els 18ºC.

Situació geogràfica del clima Mediterrani:



Característiques del clima Empordanès[2]

A l'hivern es produeixen dies de sol i nits estrellades, amb baixes temperatures que donen lloc a glaçades nocturnes freqüents de gener a març. A vegades dins aquesta situació típica es produeix una invasió d'aire polar continental que origina les onades de fred.

Els vents que afecten a l'àrea de l'Empordà són principalment la tramuntana,que s'origina com a conseqüència d'una borrasca procedent de l'Atlàntic (golf de Biscaia) i que es dirigeix d'oest a est i que quan se situa en el Mediterrani occidental s'origina un descens baromètric i un seguici de núvols i pluges; si hi ha la coincidència amb àrees d'altes pressions en el cantàbric ofereixen les condicions adequades per la formació de la tramuntana.

Un altre vent que afecta l'àrea de l'Empordà és el llevant; l'àrea que ocupa no solsament és l'Empordà sinó que aquesta és molt més extensa. Aquest vent s'origina a través de la borrasca originada al golf de Cadis que a través de l'estret es dirigeix cap a Itàlia. El baròmetre baixa i els vents bufen de l'Est o de l'Est – Nord – Est, agitant les aigües del Mediterrani i empenyen barreres de núvols baixos i foscos que avancen cap a les costes i que finalitzen amb fortes pluges. La intensitat d'aquestes pluges originen les revingudes dels rius de l'Empordà.

A continuació s'expliquen les diverses situacions climàtiques que es poden donar segons les estacions de l'any:

Tardor: són períodes de pluja a les que posa fi la Tramuntana. La temperatura no té una forta davallada. Als matins i a les nits les temperatures tendeixen a baixar bastant. Es troba un grau d'humitat elevat i tenim la formació de boires de poca importància. Més entrat el desembre l'entrada de fronts freds procedents del Nord d'Europa provoca un descens immediat de les temperatures al voltant dels 0º amb les corresponents gelades matinals i fins i tot alguna nevada.

Hivern: hivern de curta durada i temperatures moderades. Majoritàriament tenim que l'anticicló de les Açores impedeix l'arribada dels aires freds polars. L'escassa força calorífica dels raigs solars i la llarga durada de les hores nocturnes, mantenen les temperatures baixes sobretot a la nit i a la matinada cosa que ens provoca les gelades. Aquesta situació es veu interrompuda per l'arribada de les onades d'aire fred, procedents del nord i de l'est d'Europa. Aquestes onades d'aire fred a vegades arriben carregades d'humitat i originen nevades, cosa poc freqüent a la nostra comarca. Una altre situació que es pot donar són les borrasques hivernals procedents de l'Atlàntic. Aquesta situació dona lloc a la nuvolositat i pluges febles, millorant – ne les temperatures.

Primavera: la primavera és brusca i insegura amb períodes que semblen que renoven l'hivern i altres que són preludi dels calors estivals. La inestabilitat és la nota dominant d'aquestes dates amb freqüents canvis a vegades durant el mateix dia. En aquest període de primavera el temps es caracteritza per accentuar – se la situació de l'irrupció de borrasques atlàntiques. Les pluges solen esser intermitents i de curta durada no exempts de nuvolositat variable. També es dona el cas de forta tramuntana i de llarga durada. L'avenç de l'aire polar en forma de borrasques pot produir dies de fort fred.

[2] Compte Freixenet, Albert. Tipus de temps a l'Empordà. IEE 1978

També trobem dies de bon temps encara que són breus i menys apreciables que els de tardor. Al voltant de maig es més càlid que l'abril o el març; a les hores de sol fa calor però cap al vespre i la nit comencen a baixar les temperatures. En poques hores es poden passar des del sol brillant al cel enterbolit i al xàfec. Aquets canvis són deguts al pas de fonts freds. Els fonts freds travessen la nostra comarca provocant una nuvolositat i pluja, i a continuació els segueix la tramuntana.

Estiu: l'arribada de l'estiu queda fixat per l'establiment de l'anticicló. A través d'aquest fet quedarà interrompuda l'entrada de borrasques atlàntiques. La massa d'aire immòbil experimenta un escalfament global i es l'origen de les tempestes. Aquestes tenen coma gestació les muntanyes de l'oest i el desplacen verticalment dirigint – se vers l'est i provocant forts xàfecs de poca durada. Tota la vessant des d'Agullana fins a
Palau – Saverdera (franja majoritàriament vinícola) es on cau el que s'anomena ram de pedregada. No obstant, el bon temps acompanyat d'alguna pluja son les característiques dels nostres estius que es veuen declinats a partir de l'agost en el qual el dia comença a escurçar – se i les hores de sol disminueixen.

No solsament baixen les temperatures sinó que també tenim l'entrada d'algun front fred que es resol amb pluges. Per tant les principals situacions que es poden donar són: domini de l'anticicló que dona temps càlid i assolellat, amb alguna pertorbació local d'origen convectiu (és la situació que més es dona). I per altre part, estius afectats per baixes pressions que donen un temps inestable però sec. També poden donar freqüents borrasques de procedència ciclònica i pluges.

A continuació i per poder obtenir una comparació entre la meteorologia que tenim actualment i la de fa 25 anys realitzarem l'estudi dels paràmetres meteorològics[3] des de l'any 1980 a 1985.
Les dades de que es disposen en aquests anys corresponen a la pluviometria anual, temperatures mitjanes màximes i temperatures mitjanes mínimes:

Any	**$dm^3 * m^2$**
1980	430.9
1981	627.2
1982	702.1
1983	444.6
1984	526.5
1985	483.9
2005	**822,9**

Si s'observa aquest diagrama es veu que la pluviometria anual de l'any 2005 és molt superior a la dels altres anys. Ara bé en el 2005, durant l'època de maduració (juny, juliol, agost) la pluviometria ha estat mínima, comptabilitzant – se 27 $Dm^3 * m^2$. Es en aquesta època que es troba l'acumulació dels compostos nitrogenats. Segons referències bibliogràfiques, amb una manca de pluja i un augment de les temperatures, el que succeeix és que el nivell del N_{TOTAL} i de NFA disminueix com a conseqüència de la síntesi de proteïnes. Caldrà comprovar si aquesta teoria es compleix amb les nostres mostres.

[3] Dades extretes de la Estació Meteorológica de Figueres a través del Sr. Pou

Pel que respecte a les temperatures el que es fa és agafar els períodes de febrer a setembre ja que es troben desglossats per mesos:

Any	Mes	Temperatura Mitjana		Any	Mes	Temperatura Mitjana	
		Màxima	Mínima			Màxima	Mínima
1980	**Febrer**	15,5	5,1	**1983**	**Febrer**	10,1	1,9
	Març	15,5	5,4		**Març**	17,2	4,8
	Abril	18,1	8,1		**Abril**	19,1	6,1
	Maig	19,7	10,5		**Maig**	23,1	10,2
	Juny	23,3	14,1		**Juny**	27,4	14,8
	Juliol	25,8	14,1		**Juliol**	32,1	19,8
	Agost	28,6	16,1		**Agost**	29,7	17,7
	Setembre	26,5	15,6		**Setembre**	28,7	14,2
1981	**Febrer**	12,7	3,1	**1984**	**Febrer**	12,1	2,1
	Març	17,2	9,8		**Març**	14,6	3,1
	Abril	18,1	11,1		**Abril**	19,1	6,1
	Maig	19,8	13,1		**Maig**	18,9	7,4
	Juny	25,7	16,8		**Juny**	25,9	14,1
	Juliol	25,6	16,8		**Juliol**	29,6	18,1
	Agost	27,1	15,6		**Agost**	28,3	16,1
	Setembre	25,2	13,1		**Setembre**	24,8	13,4
1982	**Febrer**	13,1	4,4	**1985**	**Febrer**	13,2	3,4
	Març	15,1	4,8		**Març**	15,1	4,1
	Abril	19,5	8,1		**Abril**	20,3	8,1
	Maig	23,6	10,2		**Maig**	20,2	9,1
	Juny	28,5	17,1		**Juny**	24,1	14,1
	Juliol	31,2	19,4		**Juliol**	30,7	17,9
	Agost	27,9	17,1		**Agost**	28,1	16,3
	Setembre	26,1	15,8		**Setembre**	27,3	14,8

Com a últim pas el que s'ha realitzat és extreure unes conclusions pel que fa a les condicions climàtiques que s'han presentat durant l'anyada:

- Pel que fa a la temperatura s'ha configurat el següent diagrama per tal de poder veure les diferències significatives entre les temperatures mitjanes màximes i mínimes dels diferents anys:

MITJANES 1980 - 1985	**MÀXIMES**	**MÍNIMES**	**MITJANES 2005**	**MÀXIMES**	**MÍNIMES**
Febrer	12,8	3,3	**Febrer**	10,4	2,6
Març	15,8	5,3	**Març**	15,1	5,3
Abril	19,0	7,9	**Abril**	18,5	8,9
Maig	20,9	10,1	**Maig**	23,7	13
Juny	25,8	15,2	**Juny**	29,3	17,6
Juliol	29,2	17,7	**Juliol**	31,1	19,6
Agost	28,3	16,5	**Agost**	29,4	18,4
Setembre	26,4	14,5	**Setembre**	25,9	15,6

Es veu en el gràfic que a partir del mes de maig, època en que comença l'acumulació dels compostos nitrogenats en el raïm, la diferència de temperatura entre els anys analitzats i el 2005 es substancialment més alta per aquest últim any. Aquest fet pot provocar, si conjuntament es troba una disminució de la pluviometria, un descens en el contingut en nitrogen total i NFA.

- Pel que fa a la pluviometria també s'ha dissenyat un diagrama on es poden comparar la pluja anual (i mensual pel que fa a la temporada 2005) per tal de poder veure quina ha estat la distribució pluviomètrica pel que fa a la temporada, i veure si ha tingut alguna repercussió en l'acumulació dels compostos nitrogenats en el raïm:

Mes / Any	**Total (dm3 / m2)**
feb-05	190,1
març-05	17,9
abr-05	47,3
maig-05	95
juny-05	5,3
jul-05	7,5
ag-05	14,2
set-05	77,7
Anual	822,9

Any	**$Dm^3 * m^2$**
1980	430.9
1981	627.2
1982	702.1
1983	444.6
1984	526.5
1985	483.9

Segons els diagrames que s'han representat anteriorment es veu que en principi el 2005, ha estat l'any més plujós en comparació amb els altres anys. Però si es mira el diagrama enterior, distribuït, per mesos, es pot observar que durant l'època de maduració corresponents als mesos de juny, juliol i agost, la pluviometria ha estat mínima recollint – se entre els tres mesos 27 $Dm^2 * m^2$.

Aquestes característiques meteorològiques, estius càlids i secs, poden repercutir en l'acumulació dels compostos nitrogenats, disminuint – ne el contingut de NFA i N_{TOTAL}.

En el següent apartat es veurà quins han estat els resultats obtinguts en les nostres mostres.

6. RESULTATS

6.1. Resultats obtinguts en l'anàlisi del N_{total} (mètode Kjeldhal)

S'ha procedit primer a la titulació de l'HCl mitjançant una solució de glicocol·la. El primer que s'ha fet és pesar aproximadament 0.2 g de glicocol·la i s'han introduït dins matràs Kjeldhal juntament amb 25 mL de H_2SO_4 98% i una pastilla catalitzadora. S'ha portat a digerir i una vegada digerida la mostra el que s'ha fet és enrasar – la a 50 mL i agafar diferents volums per valorar. S'ha agafat un volum de 20 mL de mostra i un altre volum de 5 mL. Els resultats obtinguts són els següents:

$M_{glicocol\cdot la} = 0.257g$

Mostra	mL HCl	N HCl
Glicocol·la (20 mL)	23.3	0.0293
Glicocol·la (5 mL)	7.25	0.0236

En la primera valoració s'ha agafat un volum molt gran de mostra i els resultats obtinguts en comparació amb la segona valoració són molt diferents, així doncs es desestima la primera valoració i s'agafa la normalitat que dona la segona, ja que amb un volum més petit l'error conseqüentment també serà més petit.

La metodologia a seguir per les anàlisis de les mostres és la que s'ha explicat en l'apartat 3.2.5 del procediment del mètode Kjeldhal, essent els resultats obtinguts els que es presenten a la pàgina de continuació.

Resultats obtinguts pel mètode Kjeldhal:

Mostra	Varietat	V Digestió	V Valoració	mL HCl 0,0236N	mg NT / L	% NT
M01	Cabernet Sauvignon	10	20	3,2	264,3	26,4
M02	Garnatxa Negre	10	20	4,8	392,4	39,2
M03	Carinyena Negre	10	20	3,5	285,0	28,5
M04	Macabeu	10	20	3,1	251,9	25,2
M05	Carinyena Negre	10	20	3,6	293,2	29,3
M06	Carinyena Negre	10	20	3,7	301,5	30,1
M07	Macabeu	10	20	3,4	280,8	28,1
M08	Moscat	10	20	3,2	264,3	26,4
M09	Carinyena Negre	10	20	4,6	380,0	38,0
M10	Moscat	10	20	2,6	210,6	21,1
M11	Garnatxa Negre	10	20	3,3	268,5	26,8
M12	Carinyena Blanca	10	20	2,5	202,4	20,2
M13	Carinyena Blanca	10	20	2,4	194,1	19,4
M14	Carinyena Negre	10	20	3,3	268,5	26,8
M15	Carinyena Negre	10	20	3,1	256,1	25,6
M16	Carinyena Negre	10	20	4,1	338,7	33,9
M17	Cabernet Sauvignon	10	20	4,4	359,3	35,9
M18	Macabeu	10	20	2,7	220,2	22,0
M19	Moscat	10	20	2,7	221,4	22,1
M20	Macabeu	10	20	3,0	246,2	24,6
M21	Cabernet Sauvignon	10	20	4,2	344,0	34,4
M22	Carinyena Blanca	10	20	3,2	267,8	26,8
M23	Carinyena Blanca	10	20	2,9	239,3	23,9
M24	Cabernet Sauvignon	10	20	3,2	264,1	26,4
M25	Moscat	10	20	2,8	232,1	23,2

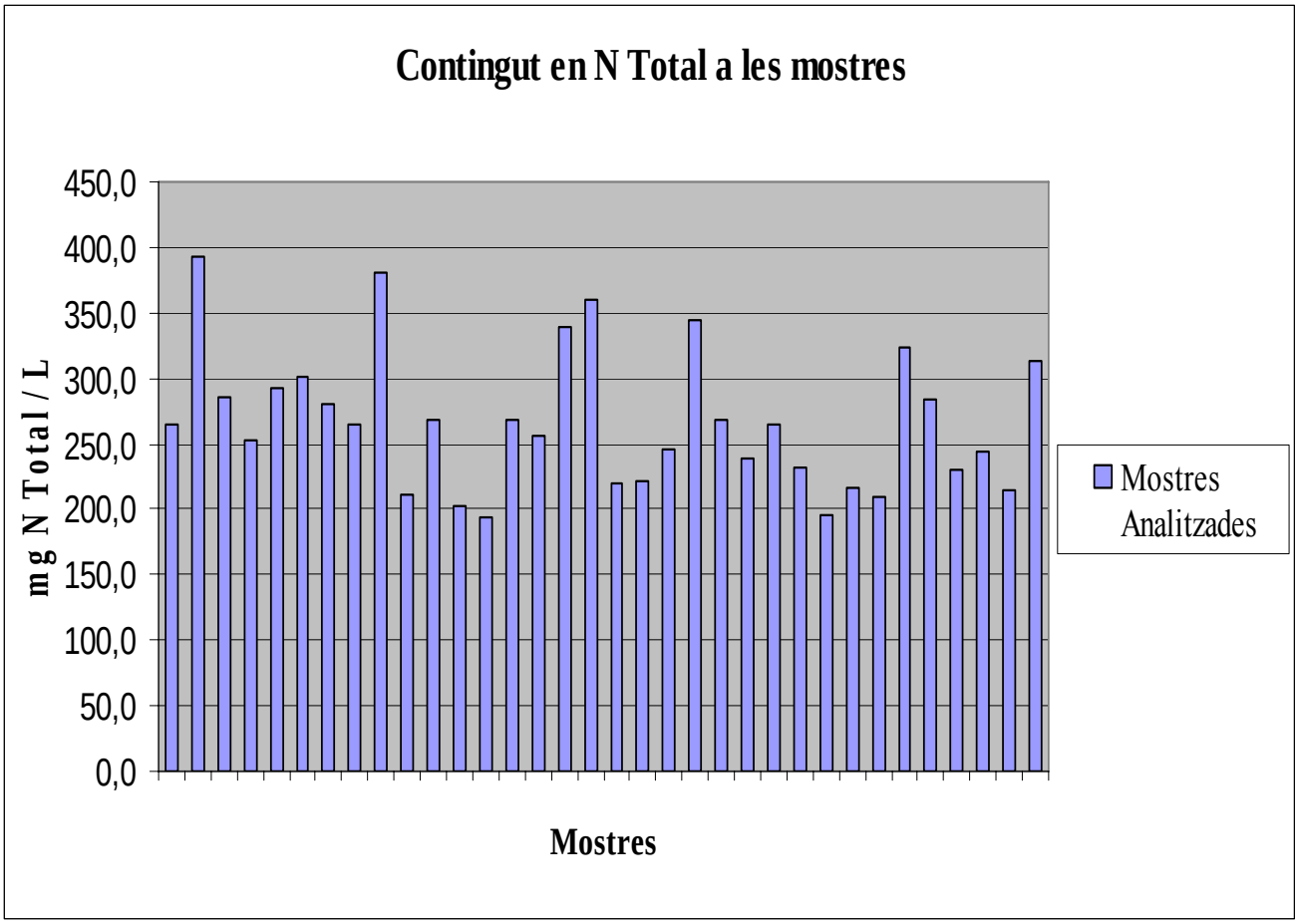
Mostra	Varietat	V Digestió	V Valoració	mL HCl 0,0236N	mg NT / L	% NT
M26	Carinyena Blanca	10	20	2,4	196,2	19,6
M27	Moscat	10	20	2,6	216,2	21,6
M28	Macabeu	10	20	2,5	210,1	21,0
M29	Carinyena Negre	10	20	3,9	324,0	32,4
M30	Carinyena Negre	10	20	3,4	284,0	28,4
M31	Carinyena Blanca	10	20	2,8	229,8	23,0
M32	Carinyena Blanca	10	20	3,0	244,1	24,4
M33	Macabeu	10	20	2,6	214,5	21,4
M34	Cabernet Sauvignon	10	20	3,8	314,0	31,4

S'observa que els resultats que s'han obtingut s'engloben entre un mínim de 194,11 mg N_{Total} / L amb el qual es situa molt per sota dels valors de referència, i amb el que segurament s'haurà de tractar, afegint, durant la fermentació alcohòlica, una sèrie de solucions nitrogenades per tal d'activar la fermentació o bé per tal d'ajudar a completar – la.

El valor màxim que s'ha trobat en valors de nitrogen total és de 392,35 mg N_{total} / L que es troba dues unitats per sobre dels valors mitjos de N_{Total} que dóna la bibliografia[1].

[1] Flanzy. C Enologia: Fundamentos Científicos y Tecnológicos. Ed. Mundi – Premsa. Madrid 2003

A continuació es representa el contingut en Nitrogen Total de totes les mostres analitzades:



S'observa en el gràfic que hi ha un ampli ventall de resultats; també s'observa que els valors de les mostres estan quasi bé tots per sobre dels 200 mg N_{Total} / L. A continuació el que es farà serà una comparativa entre varietats negres i blanques de raïm.

La mitjana dels valors de l'anàlisi del N_{TOTAL} a partir del mètode Kjeldhal ens dóna un valor de 267 mg N / L. A partir d'aquest valor i si es compara amb els valors de referència bibliogràfica, es veu que entra dins els paràmetres estipulats.

Ara bé si aquest valor es compara per exemple amb els valors que ens dona l'INCAVI[2] es veu que correspon a un valor que es troba per sota dels valors de referència. Aquest ja és un primer indici que els mostos analitzats tenen una menor concentració en N que els valors de referència.

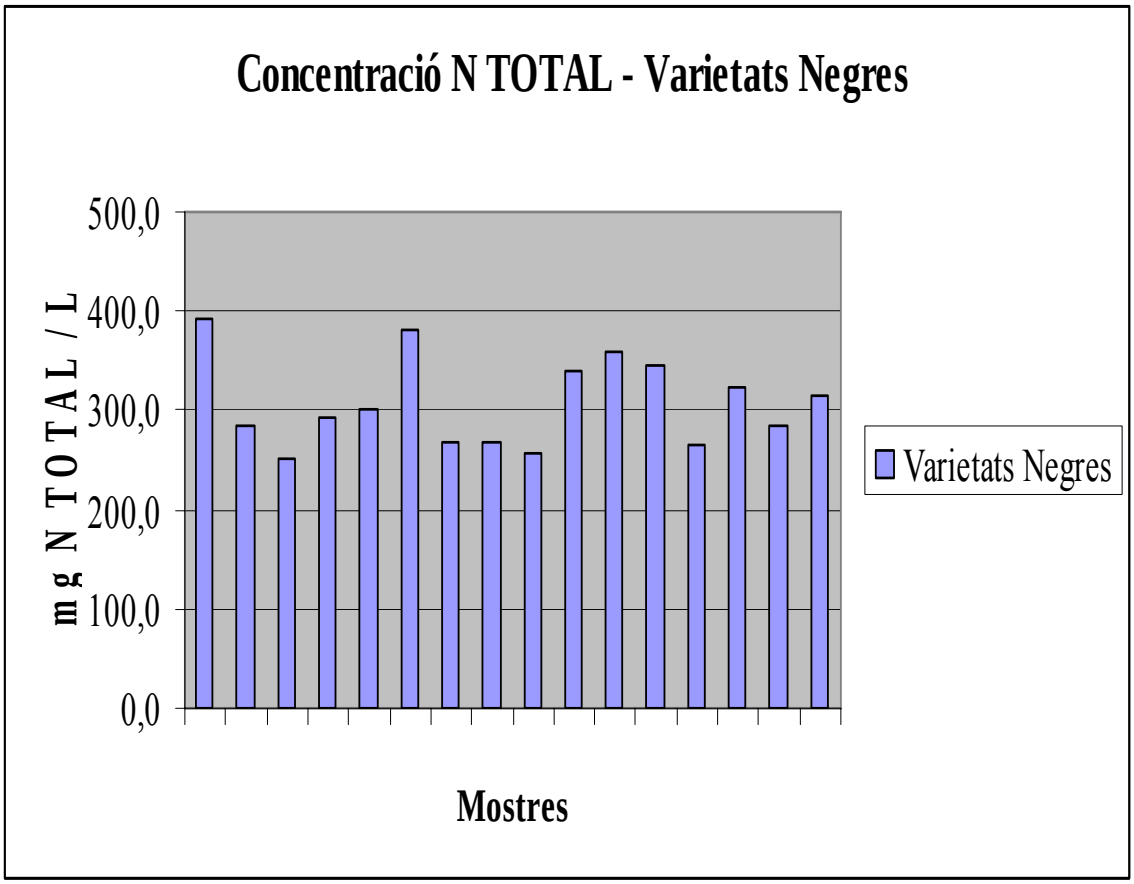
[2] Estació d'Enologia i Viticultura de Vilafranca del Penedès (INCAVI)

6.1.1 Varietats Negres:

Es posa el quadre de resultats per les varietats negres amb la respectiva concentració i % en N_{Total}:

Mostra	Varietat	mg NT / L	% NT
M01	Cabernet Sauvignon	392,4	39,2
M02	Garnatxa Negre	285,0	28,5
M03	Carinyena Negre	251,9	25,2
M05	Carinyena Negre	293,2	29,3
M06	Carinyena Negre	301,5	30,1
M09	Carinyena Negre	380,0	38,0
M11	Garnatxa Negre	268,5	26,8
M14	Carinyena Negre	268,5	26,8
M15	Carinyena Negre	256,1	25,6
M16	Carinyena Negre	338,7	33,9
M17	Cabernet Sauvignon	359,3	35,9
M21	Cabernet Sauvignon	344,0	34,4
M24	Cabernet Sauvignon	264,1	26,4
M29	Carinyena Negre	324,0	32,4
M30	Carinyena Negre	284,0	28,4
M34	Cabernet Sauvignon	314,0	31,4

A continuació i a partir dels resultats obtinguts es representa el gràfic de la concentració en mg de N_{TOTAL} / L per a les varietats negres:



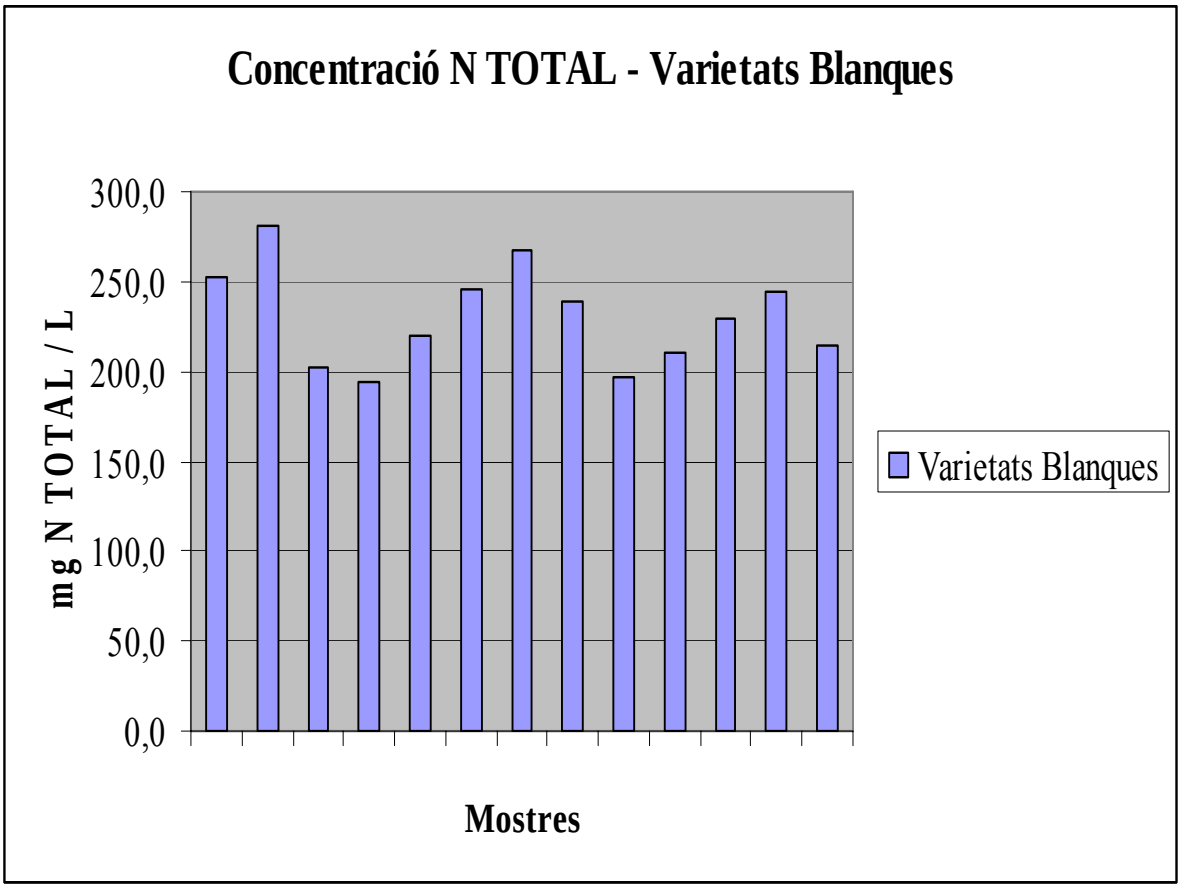
En el gràfic és veu que les varietats negres es troben al voltant dels 300 mg N_{Total} / L. A continuació el que es farà és buscar la mitjana i la desviació estàndard d'aquestes varietats:

X = 307.8 mg N_{Total} / L
S = 44.5

6.1.2 Varietats Blanques:

Mostra	Varietat	mg NT / L	% NT
M04	Macabeu	251,9	25,2
M07	Macabeu	280,8	28,1
M12	Carinyena Blanca	202,4	20,2
M13	Carinyena Blanca	194,1	19,4
M18	Macabeu	220,2	22,0
M20	Macabeu	246,2	24,6
M22	Carinyena Blanca	267,8	26,8
M23	Carinyena Blanca	239,3	23,9
M26	Carinyena Blanca	196,2	19,6
M28	Macabeu	210,1	21,0
M31	Carinyena Blanca	229,8	23,0
M32	Carinyena Blanca	244,1	24,4
M33	Macabeu	214,5	21,4

A continuació es representa el contingut en N Total però en aquest cas per a varietats blanques de raïm.



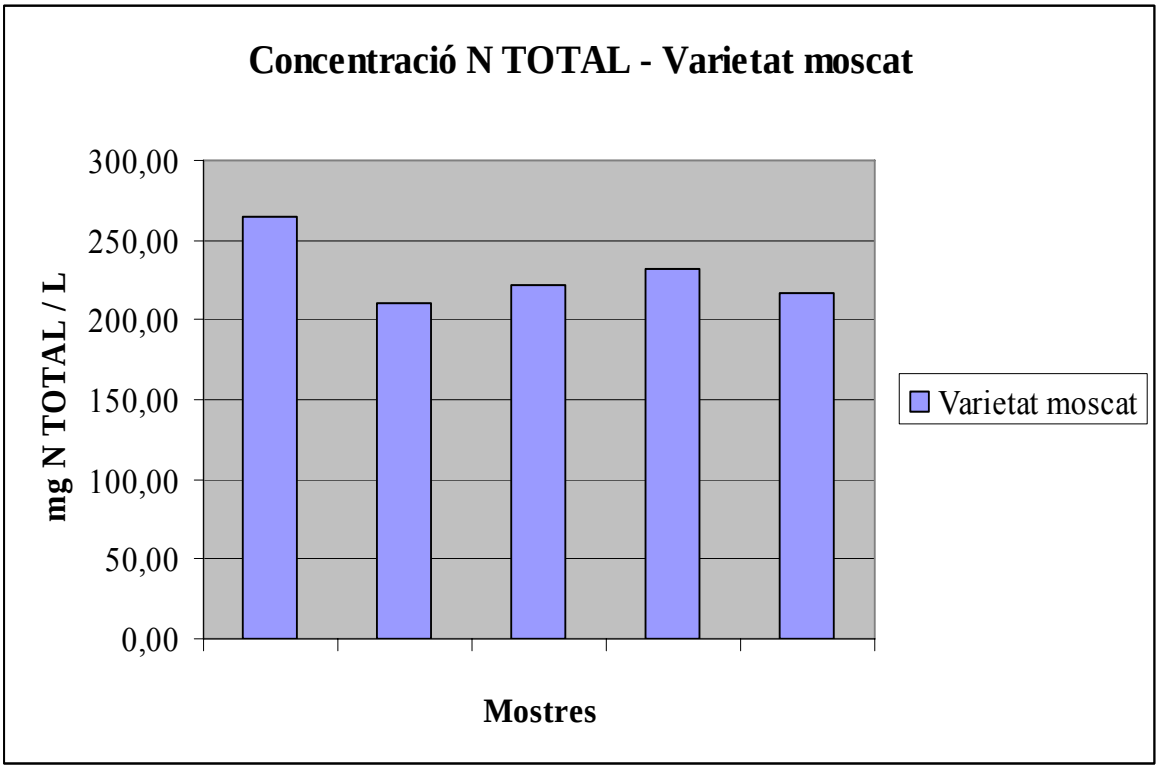
La mitjana i la desviació estàndard es donen a continuació:

$X = 230{,}6$ mg N_{Total} / L
$S = 27{,}3$

6.1.3 Varietat moscat

Mostra	Varietat	mg NT / L	% NT
M08	Moscat	264,32	26,43
M10	Moscat	210,63	21,06
M19	Moscat	221,38	22,14
M25	Moscat	232,13	23,21
M27	Moscat	216,22	21,62

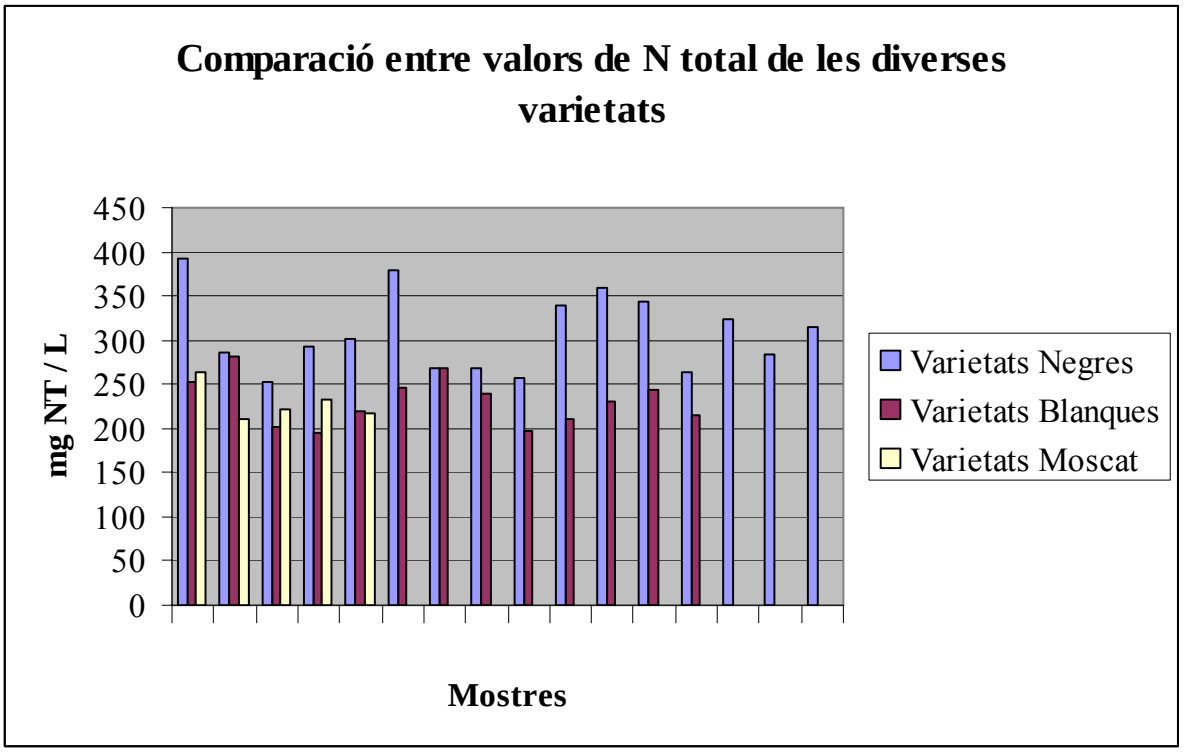
A continuació es troba la representació gràfica del contingut en N_{Total} que es troba a la mostra de Moscat:



La mitjana i la desviació estàndard de les mostres són les següents:

$X = 228.9$ mg N_{Total} / L
$S = 21.3$

A continuació es representa una gràfica amb els valors del N_{TOTAL}, representant i diferenciant les tres principals varietats de raïm que hi ha analitzats:



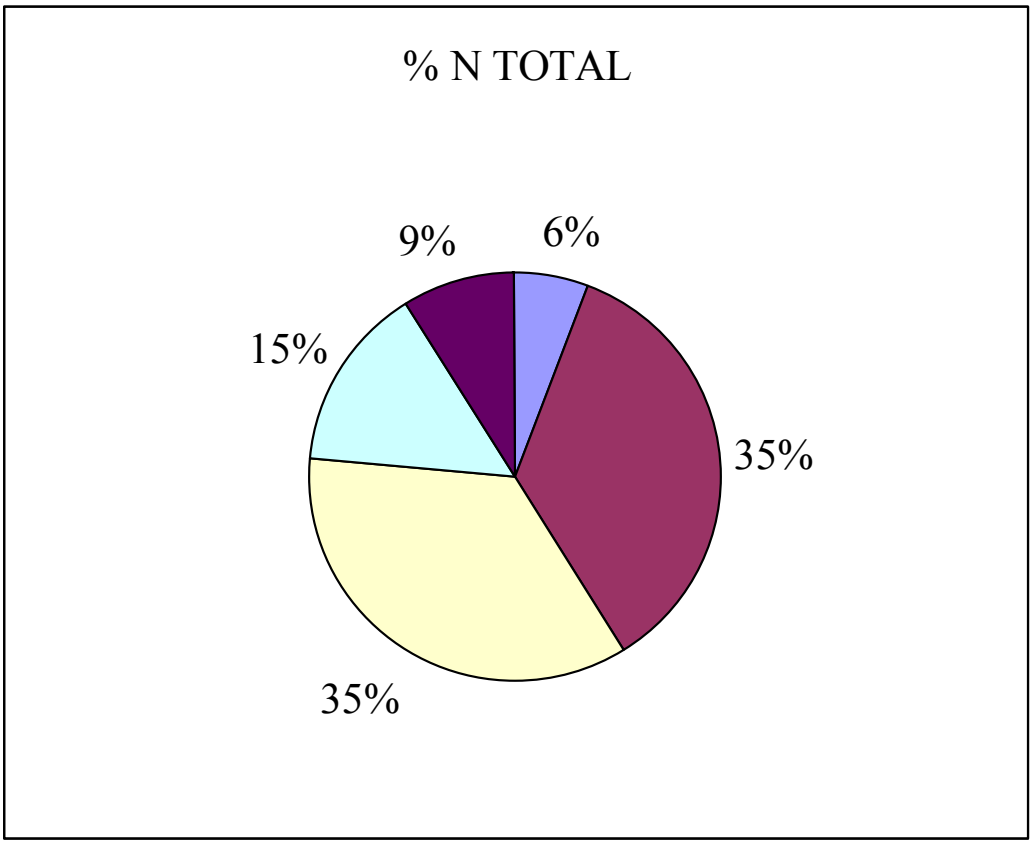
Es veu clarament en el gràfic que a les varietats negres es troba un major contingut en N_{TOTAL} que en les altres varietats. En canvi en les altres dues, blanques i moscats el contingut en N_{TOTAL} es veu que es troben dins un mateix rang, es a dir, que aproximadament tenen el mateix contingut.

Com s'ha pogut veure anteriorment a través de les mitjanes dels valors de N_{TOTAL} es troba una diferència entre les tres varietats, essent la varietat negre la que més contingut en nitrogen total té seguida de la varietat blanca i finalment el moscat és qui menys contingut en nitrogen total conté el seu most.

A continuació i com s'ha dit anteriorment s'engloben els diferents resultats en intervals de % en continguts en Nitrogen Total per poder veure quin és l'interval majoritari de % de Nitrogen Total que engloba més mostres:

	Percentatge
• 1. Interval de ≥15 % - < 20 %: 2 mostres:	6 %
• 2. Interval de ≥ 20 % - <25 %: 12 mostres:	35 %
• 3. Interval de ≥ 25 % - < 30 %: 12 mostres:	35 %
• 4. Interval de ≥ 30 % - < 35 %: 5 mostres:	15 %
• 5. Interval de ≥ 35 % - < 40 %: 3 mostres:	9 %

Tot seguit es representa dins un diagrama circular els valors del percentatge que tenen les dades pel que fa al contingut de Nitrogen Total.



Es veu al gràfic que un 70% de les mostres s'engloben dins els intervals que van del 20 al 30% de nitrogen total, essent els valors en mg N_{TOTAL} / L d'aquestes mostres des de un valor mínim de 202.4 mg N / L a un valor màxim de 293.2 mg N / L. Es veu clarament fent aquest tractament de dades que els nostres mostos contenen un baix contingut en N_{TOTAL} en comparació als resultats donats per l'INCAVI, que seran agafats de referència per la seva proximitat geogràfica.

6.2 Resultats obtinguts en l'anàlisi del $N_{assimilable}$ (NFA) (mètode Sorensen)

Els resultats obtinguts en la determinació del Nitrogen Assimilable (NFA) (fracció d'aminoàcids i amoni), són els que es donen a continuació, controlant en tot moment el pH inicial de la mostra i el pH final. També s'ha deixat reflectit quins són els valors de l'acidesa expressada en g H_2SO_4/L, ja que el mètode també permet la seva determinació. En un primer terme s'indicaran els valors amb els quals s'ha hagut de treballar i amb els que s'ha trobat el contingut en nitrogen assimilable de les mostres:

Mostra	Varietat	V Valoració	pH0	pH	V1	V2	V3
M01	Cabernet Sauvignon	25	3,67	8,12	14,6	14,8	19,0
M02	Garnatxa Negre	25	3,67	8,1	14,5	14,7	18,4
M03	Carinyena Negre	10	3,24	8,11	10,0	10,1	11,1
M04	Macabeu	10	3,92	8,09	8,6	8,8	9,9
M05	Carinyena Negre	10	3,37	8,14	5,7	6,0	7,1
M06	Carinyena Negre	10	3,34	8,14	7,3	7,6	8,7
M07	Macabeu	10	3,34	8,12	7,3	7,5	8,7
M08	Moscat	10	3,23	8,15	6,4	6,6	7,8
M09	Carinyena Negre	10	3,75	8,13	6,3	6,5	8,1
M10	Moscat	10	3,37	8,13	6,1	6,4	7,3
M11	Garnatxa Negre	10	3,51	8,1	5,1	5,4	6,2
M12	Carinyena Blanca	10	3,05	8,09	9,0	9,2	10,0
M13	Carinyena Blanca	10	3,08	8,09	9,1	9,2	9,9
M14	Carinyena Negre	10	3,34	8,12	7,3	7,5	8,6
M15	Carinyena Negre	10	3,43	8,1	6,5	6,7	7,5
M16	Carinyena Negre	10	3,24	8,12	7,3	7,5	8,7
M17	Cabernet Sauvignon	10	3,69	8,09	6,4	6,7	8,3
M18	Macabeu	10	3,69	8,12	9,4	9,6	10,6
M19	Moscat	10	3,25	8,12	8,8	9,0	10,1
M20	Macabeu	10	3,4	8,08	5,9	6,1	7,2

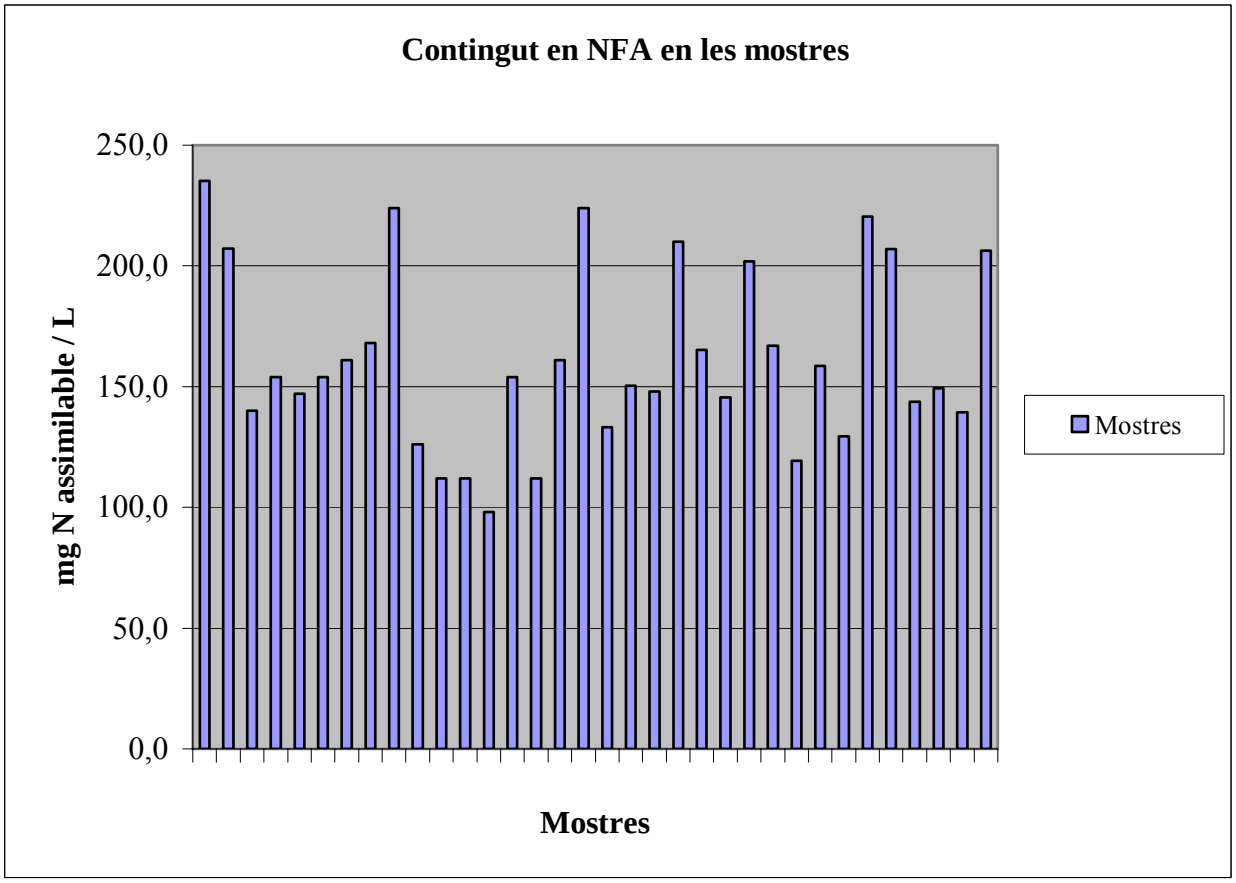
Mostra	Varietat	V Valoració	pH0	pH	V1	V2	V3
M21	Cabernet Sauvignon	10	3,19	8,09	8,88	9,08	10,58
M22	Carinyena Blanca	10	3,23	8,1	6,16	6,16	7,36
M23	Carinyena Blanca	10	3,12	8,22	7,2	7,4	8,4
M24	Cabernet Sauvignon	10	3,54	8,17	8,1	8,4	9,8
M25	Moscat	10	3,39	8,12	6,31	6,41	7,61
M26	Carinyena Blanca	10	3,94	8,13	6,55	6,75	7,65
M27	Moscat	10	3,21	8,18	5,96	6,16	7,26
M28	Macabeu	10	3,15	8,13	5,86	6,16	7,06
M29	Carinyena Negre	10	3,63	8,12	9,94	10,1	11,7
M30	Carinyena Negre	10	3,78	8,15	8,9	9,2	10,7
M31	Carinyena Blanca	10	3,42	8,13	8,61	8,7	9,7
M32	Carinyena Blanca	10	3,71	8,1	4,73	4,93	6,03
M33	Macabeu	10	3,28	8,2	8,2	8,4	9,4
M34	Cabernet Sauvignon	10	3,31	8,13	9,41	9,51	11,01

A continuació es presenten els valors de NFA que tenen les mostres:

Mostra	Varietat	mg NFA / L	% N assimilable	g H2SO4 / L
M01	Cabernet Sauvignon	235,2	23,5	2,9
M02	Garnatxa Negre	207,2	20,7	2,8
M03	Carinyena Negre	140,0	14,0	4,9
M04	Macabeu	154,0	15,4	4,2
M05	Carinyena Negre	147,0	14,7	2,8
M06	Carinyena Negre	154,0	15,4	3,6
M07	Macabeu	161,0	16,1	3,6
M08	Moscat	168,0	16,8	3,1
M09	Carinyena Negre	224,0	22,4	3,1
M10	Moscat	126,0	12,6	3,0
M11	Garnatxa Negre	112,0	11,2	2,5
M12	Carinyena Blanca	112,0	11,2	4,4
M13	Carinyena Blanca	98,0	9,8	4,5
M14	Carinyena Negre	154,0	15,4	3,6
M15	Carinyena Negre	112,0	11,2	3,2
M16	Carinyena Negre	161,0	16,1	3,6
M17	Cabernet Sauvignon	224,0	22,4	3,1
M18	Macabeu	133,1	14,0	4,6
M19	Moscat	150,5	15,4	4,3
M20	Macabeu	148,0	15,4	2,9
M21	Cabernet Sauvignon	210,1	21,0	4,4
M22	Carinyena Blanca	165,2	16,8	3,0
M23	Carinyena Blanca	145,5	14,0	3,5
M24	Cabernet Sauvignon	201,8	19,6	4,0
M25	Moscat	167,0	16,8	3,1

Mostra	Varietat	mg NFA / L	% N assimilable	g H2SO4 / L
M26	Carinyena Blanca	119,2	12,6	3,2
M27	Moscat	158,6	15,4	2,9
M28	Macabeu	129,3	12,6	2,8
M29	Carinyena Negre	220,3	22,4	4,8
M30	Carinyena Negre	206,8	21,0	4,3
M31	Carinyena Blanca	143,8	14,0	4,2
M32	Carinyena Blanca	149,3	15,4	2,3
M33	Macabeu	139,2	14,0	4,0
M34	Cabernet Sauvignon	206,3	21,0	4,6

Primerament el que s'exposa a continuació és un gràfic en el qual el que es representa són tots els valors de NFA que contenen les mostres:



Es veu en el gràfic que hi ha un gran ventall de resultats pel que fa a aquest tipus de nitrogen. Quasi bé tots passen dels 100 mg NFA / L. El límit mínim que ha de tenir una mostra per tal de poder portar a terme una correcte fermentació, segons ens indica la referència[3] és de 150 mg NFA / L. Si el contingut en NFA és inferior a aquest valor segurament hi haurà un retard en l'inici de la fermentació o bé hi haurà una aturada durant el procés fermentatiu.

Com s'ha comentat anteriorment els continguts en NFA de les mostres estan al límit de 150 mg NFA / L, això farà que els nostres mostos, puguin tenir alguna aturada en la fermentació alcohòlica, o possibles endarreriments. Una solució que es té, és l'addició de compostos fàcilment assimilables per part dels llevats com pot ser l'addició de actiferments, és a dir activadors de la fermentació. Aquests productes solen estar constituïts per sals amoniacals, normalment en forma de fosfat amònic, sulfit amònic o bisulfit amònic. Preferiblement el que s'afegirà serà sulfat ja que amb els altres es té el perill del trencament fèrric.

Una altre possible solució que tenim, si hi ha una aturada en la fermentació, és l'addició de most en fermentació a través d'un remuntat.

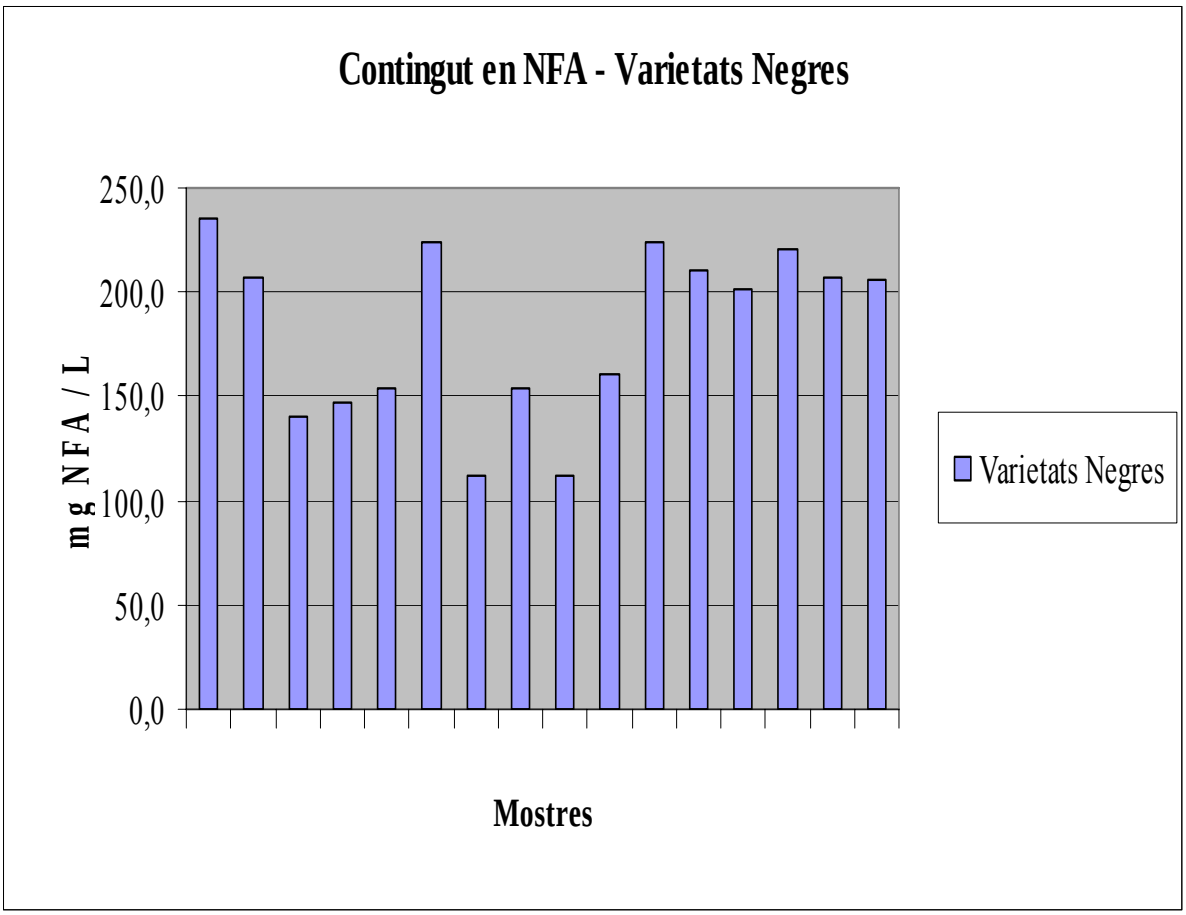
[3] Estació de Viticultura i Enologia de Vilafranca del Penedès.

A continuació i tal com s'ha fet anteriorment el que es farà és separar les diferents varietats, ja siguin negres, blanques o bé moscats.

6.2.1 Varietats Negres:

Els resultats que s'han trobat per varietats negres de raïm són:

Mostra	Varietat	mg N assimilable / L	% N assimilable
M01	Cabernet Sauvignon	235,2	23,5
M02	Garnatxa Negre	207,2	20,7
M03	Carinyena Negre	140,0	14,0
M05	Carinyena Negre	147,0	14,7
M06	Carinyena Negre	154,0	15,4
M09	Carinyena Negre	224,0	22,4
M11	Garnatxa Negre	112,0	11,2
M14	Carinyena Negre	154,0	15,4
M15	Carinyena Negre	112,0	11,2
M16	Carinyena Negre	161,0	16,1
M17	Cabernet Sauvignon	224,0	22,4
M21	Cabernet Sauvignon	210,1	21,0
M24	Cabernet Sauvignon	201,8	19,6
M29	Carinyena Negre	220,4	22,4
M30	Carinyena Negre	206,8	21,0
M34	Cabernet Sauvignon	206,3	21,0



Es veu també en aquest gràfic que hi ha quatre mostres que estan per sota dels 150 NFA / L això es traduirà a un retard o no inici de la fermentació alcohòlica. El valor mig i la desviació estàndard tenen un valor de:

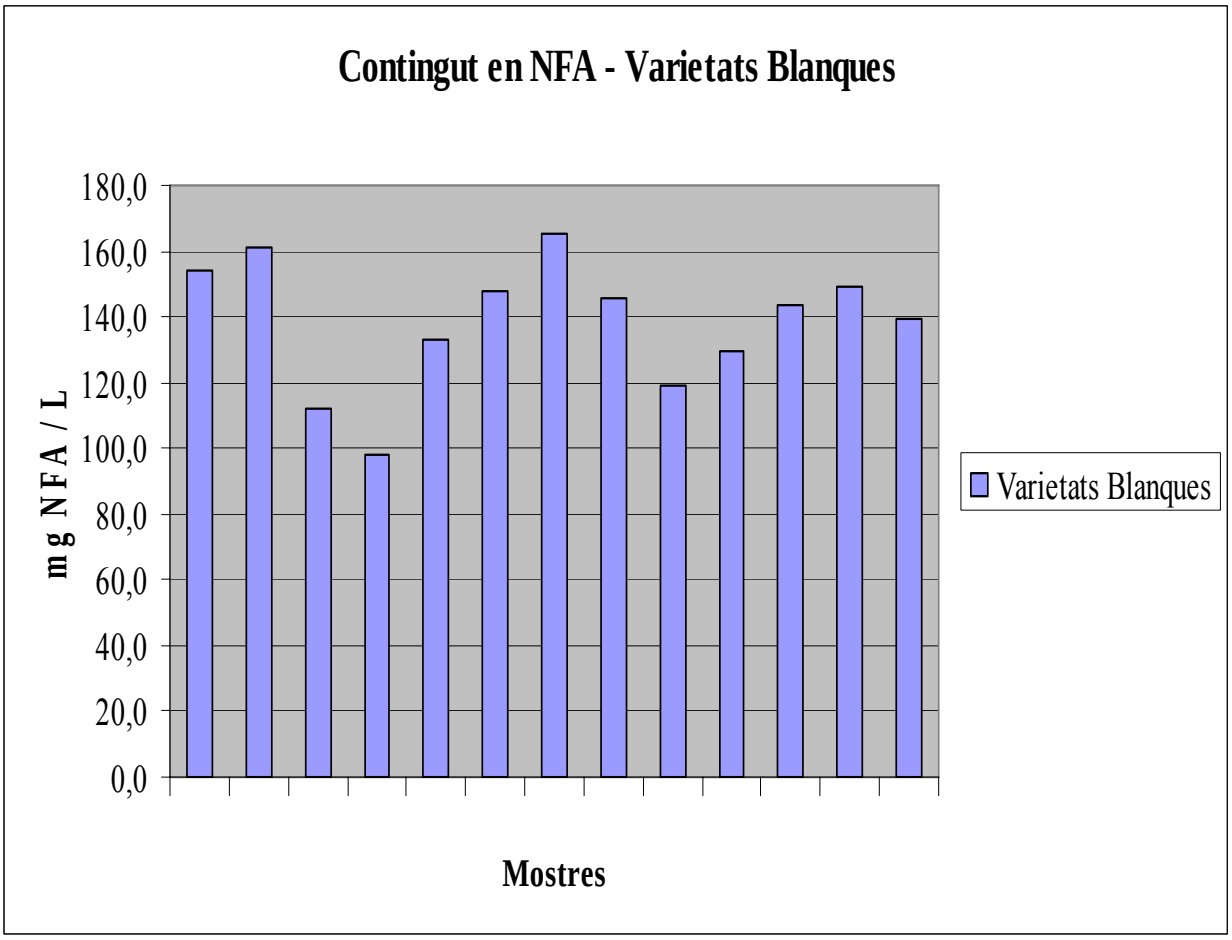
X = 182,2 mg NFA / L
S = 41.4

Les varietats negres excepte en alguns casos la concentració supera el límit mínim de contingut en NFA. En principi aquests mostos no hi hauria d'haver cap problema per tal de realitzar la fermentació.

6.2.2 Varietats Blanques:

Els valors trobats en varietats Blanques són:

Mostra	Varietat	mg N assimilable / L	% N assimilable
M04	Macabeu	154,0	15,4
M07	Macabeu	161,0	16,1
M12	Carinyena Blanca	112,0	11,2
M13	Carinyena Blanca	98,0	9,8
M18	Macabeu	133,1	14,0
M20	Macabeu	148,0	15,4
M22	Carinyena Blanca	165,2	16,8
M23	Carinyena Blanca	145,5	14,0
M26	Carinyena Blanca	119,2	12,6
M28	Macabeu	129,4	12,6
M31	Carinyena Blanca	143,9	14,0
M32	Carinyena Blanca	149,3	15,4
M33	Macabeu	139,3	14,0



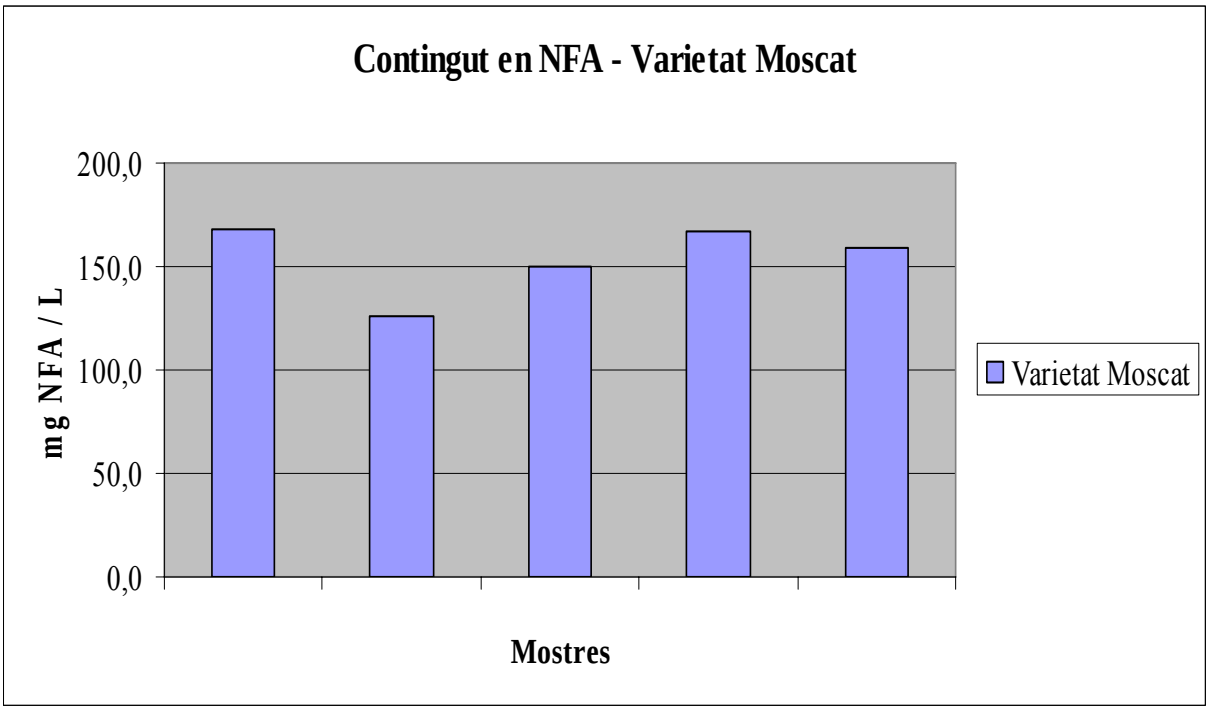
Es veu en el gràfic que el contingut en NFA per les mostres blanques està al límit del contingut mínim, per poder portar una correcta fermentació. El valor mig i la desviació estàndard que tenim en el cas de NFA són:

X = 138.3 mg NFA / L
S = 19.5

Amb el resultat de la mitjana del contingut en NFA, es veu que hi ha una diferència notable entre mostos de varietats blanques i mostos de varietats negres. Aquesta diferència al principi ja hauria d'existir, el que passa és que no hauria de ser tant acusada, segons indica els valors de referència.

6.2.3 Varietat Moscat:

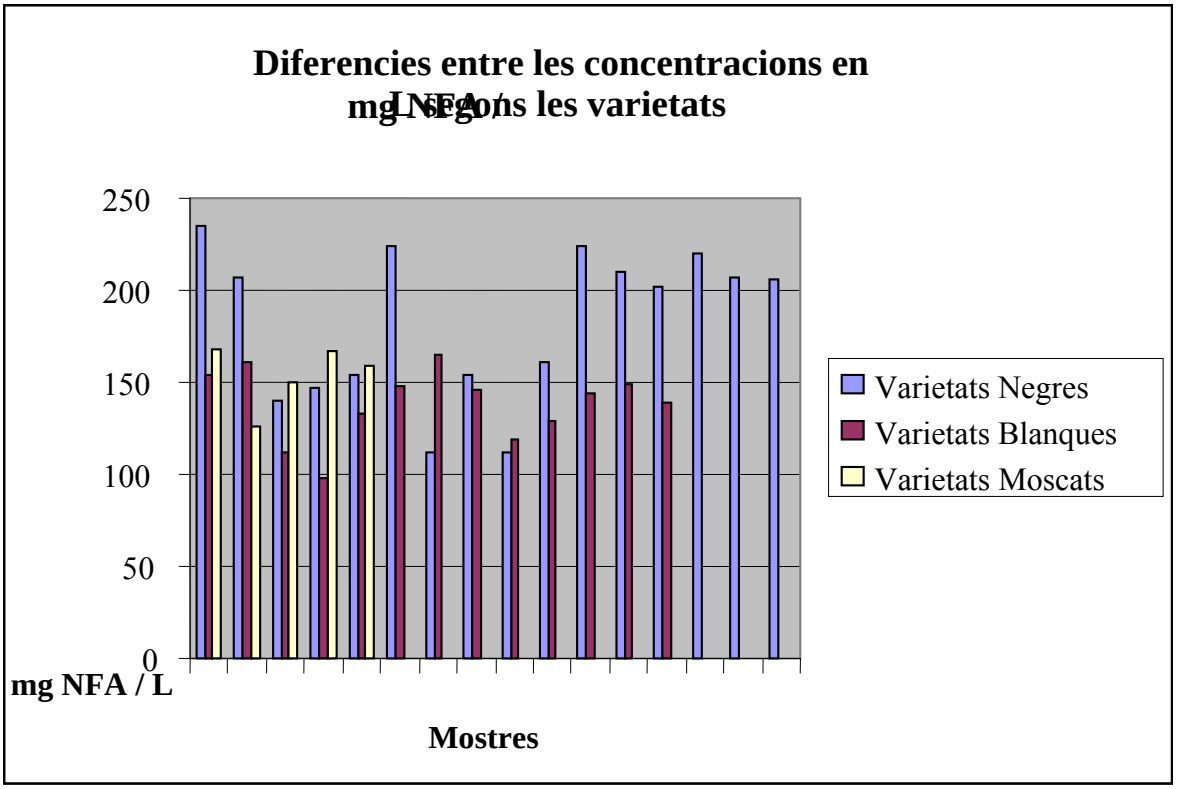
Mostra	Varietat	mg N assimilable / L	% N assimilable
M08	Moscat	168,0	16,8
M10	Moscat	126,0	12,6
M19	Moscat	150,5	15,4
M25	Moscat	167,0	16,8
M27	Moscat	158,6	15,4



El cas dels moscats com es pot veure es troben al límit dels 150 mg NFA / L podria ser també que comportés un alentiment en el procés de fermentació. El valor mig i la desviació estàndard són:

X = 157.5 mg NFA / L
S = 12.2

Tal i com s'ha fet amb el contingut en nitrogen total, el que es farà a continuació serà una representació dels resultats dels anàlisis, diferenciant mostos negres, blancs i moscats.



Es veu en el gràfic, que el contingut en mg NFA / L a les diferents varietats tenen una diferència bastant significativa: les varietats de raïm negre es troben molt per sobre dels altres dos tipus de raïm analitzat. Veiem que hi ha tres casos en que això no succeeix així. Aquest resultat segurament serà erroni.

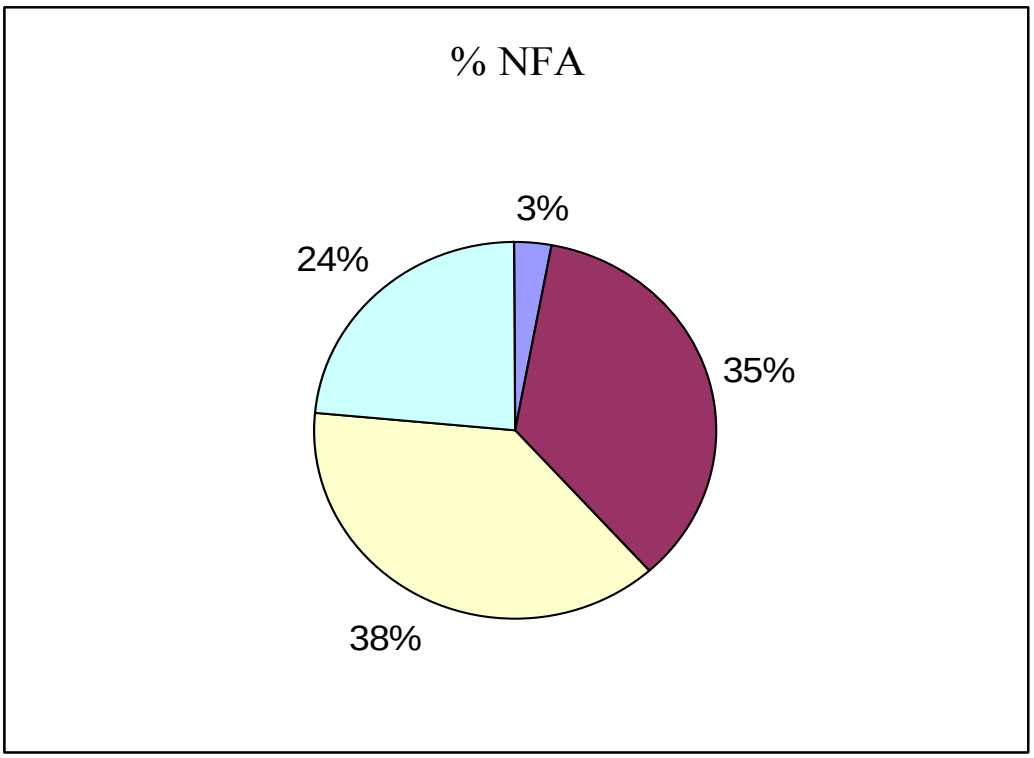
En el gràfic es pot observar que hi ha tres resultats diferenciats, tot i que no podem generalitzar ja que el nº de mostres extretes es baix. En un primer lloc veiem que el contingut en NFA de les mostres de varietat negre es el més alt, seguit dels moscats i finalment de les varietats blanques.

Segons els resultats de les mitjanes que tenim, es veu que la concentració en NFA de les varietats negres es situa al voltant dels 182,2 mg NFA / L. Veiem que els moscats es situen aproximadament als 157.5 mg NFA / L, i per últim les varietats blanques tenen una mitjana en NFA de 138.3 mg NFA / L. Si tenim en compte els valors que ens dona la nostra referència veiem que a les varietats de moscat i les varietats blanques segurament caldrà afegir algun tipus d'activadors de fermentació, tal i com s'ha explicat anteriorment. Aquests activadors es troben composats a través de productes com poden ser Actiferment. Aquest producte proporciona una dieta equilibrada a base de NH_4^+, PO_4^{3-}, i vitamina B_1, que ens actua com a estimulant del creixement dels llevats i ens afavoreix el desenvolupament de la fermentació.

A continuació el que es fa és agrupar les mostres segons el contingut en % de NFA i s'agrupen segons els intervals següents:

	Percentatge
• Interval de ≥5 % - ≤ 10 %: 1 mostra	3 %
• Interval de > 10% - ≤ 15 %: 12 mostres	35 %
• Interval de > 15 % - ≤ 20 %: 13 mostres	38 %
• Interval de > 20 % - ≤ 25 %: 8 mostres	24 %

La gràfica circular del % en NFA es presenta a continuació:



Es veu en el gràfic que tenim aproximadament un 73% de les mostres que es troben entre un 10 i un 20% de NFA. Aquests percentatges corresponen a un mínim de 112.0 mg NFA / L i un valor màxim de 201.8 mg NFA / L.

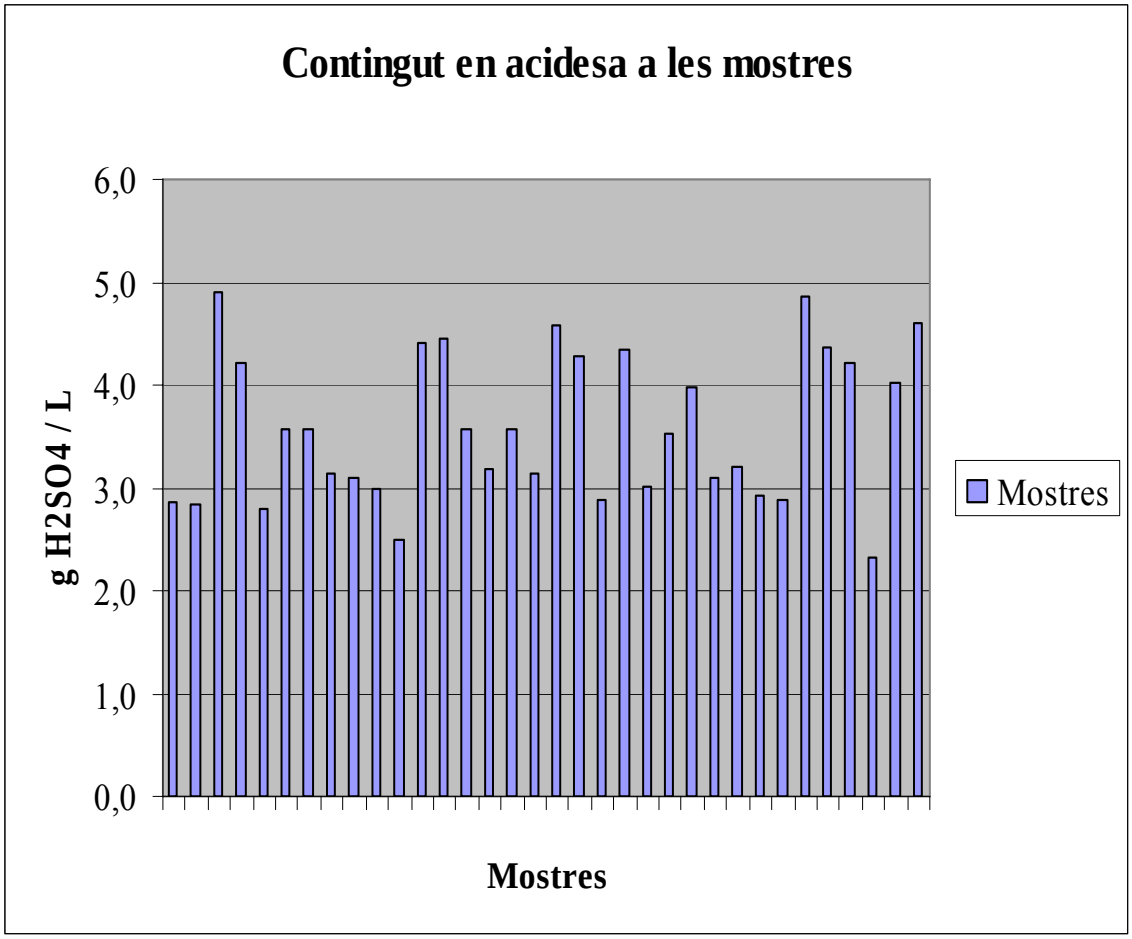
El % de mostres que superen els150 mg NFA / L i que per tant en principi no hi hauria d'haver cap tipus de problema amb la fermentació es d'un 55.88%. veiem que aquest percentatge es troba una mica per sobre de la meitat. Per altre part també veiem que un 44.12% de les mostres es troben per sota del nivell mínim.

6.2.4 Acidesa en els mostos

A continuació s'exposen els resultats pels càlculs de l'acidesa en les mostres analitzades. Hem exposat aquí els seus càlculs ja que és a través del mètode Sorensen que també en determinem l'acidesa:

Mostra	**Varietat**	**g H_2SO_4 / L**
M01	Cabernet Sauvignon	2,9
M02	Garnatxa Negre	2,8
M03	Carinyena Negre	4,9
M04	Macabeu	4,2
M05	Carinyena Negre	2,8
M06	Carinyena Negre	3,6
M07	Macabeu	3,6
M08	Moscat	3,1
M09	Carinyena Negre	3,1
M10	Moscat	3,0
M11	Garnatxa Negre	2,5
M12	Carinyena Blanca	4,4
M13	Carinyena Blanca	4,5
M14	Carinyena Negre	3,6
M15	Carinyena Negre	3,2
M16	Carinyena Negre	3,6
M17	Cabernet Sauvignon	3,1
M18	Macabeu	4,6
M19	Moscat	4,3
M20	Macabeu	2,9
M21	Cabernet Sauvignon	4,4
M22	Carinyena Blanca	3,0
M23	Carinyena Blanca	3,5
M24	Cabernet Sauvignon	4,0
M25	Moscat	3,1
M26	Carinyena Blanca	3,2
M27	Moscat	2,9
M28	Macabeu	2,9
M29	Carinyena Negre	4,9
M30	Carinyena Negre	4,4
M31	Carinyena Blanca	4,2
M32	Carinyena Blanca	2,3
M33	Macabeu	4,0
M34	Cabernet Sauvignon	4,6

El gràfic de continuació representa els valors dels anàlisis efectuats pel càlcul de l'acidesa dels mostos, expressats en g H_2SO_4 / L:

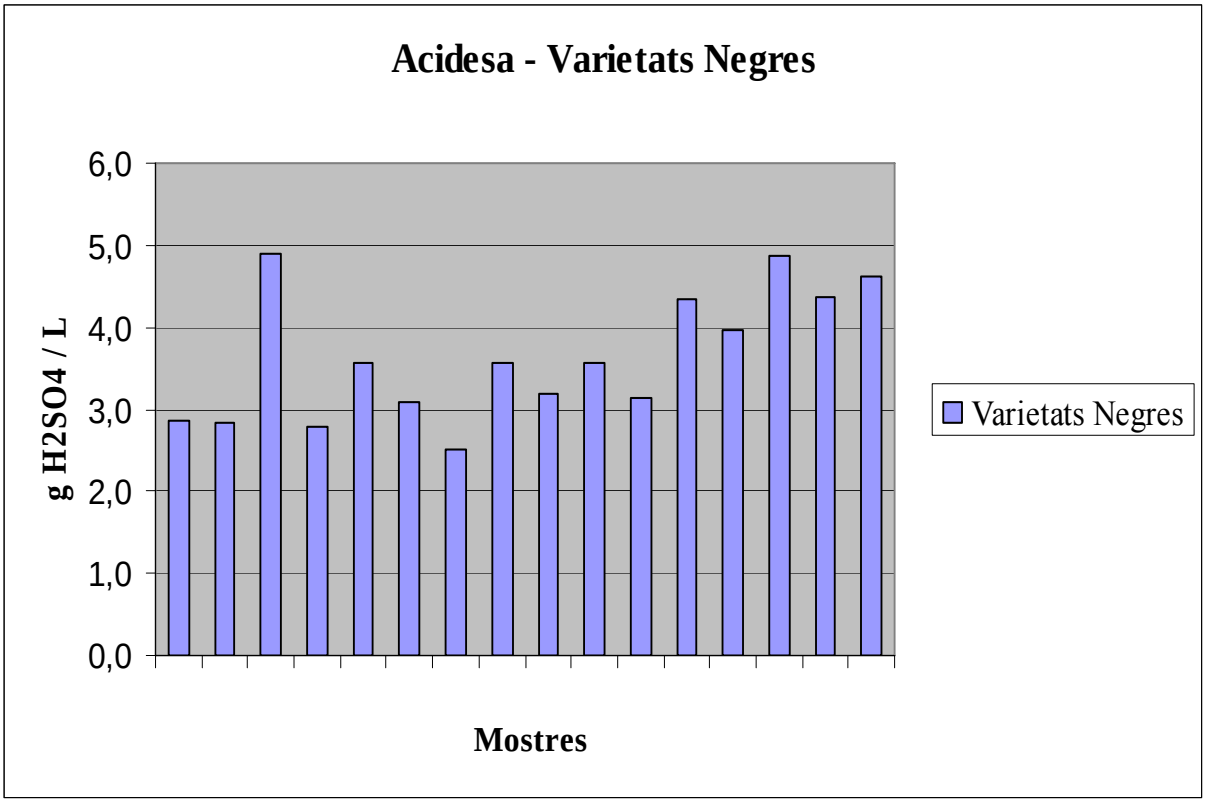


Aquests són els valors pel que fa a l'acidesa. Es pot veure que totes les mostres superen els dos grams d'acidesa, expressada en H_2SO_4 / L. A continuació tot i que no és el que es pretén estudiar dins aquest estudi, es separen, tal com s'ha efectuat anteriorment, en varietats negres, blanques i en moscats, per tal de comprovar si hi ha alguna diferència significativa entre varietats.

6.2.4.1 Varietats Negres:

Mostra	Varietat	g H2SO4 / L
M01	Cabernet Sauvignon	2,9
M02	Garnatxa Negre	2,8
M03	Carinyena Negre	4,9
M05	Carinyena Negre	2,8
M06	Carinyena Negre	3,6
M09	Carinyena Negre	3,1
M11	Garnatxa Negre	2,5
M14	Carinyena Negre	3,6
M15	Carinyena Negre	3,2
M16	Carinyena Negre	3,6
M17	Cabernet Sauvignon	3,1
M21	Cabernet Sauvignon	4,4
M24	Cabernet Sauvignon	4,0
M29	Carinyena Negre	4,9
M30	Carinyena Negre	4,4
M34	Cabernet Sauvignon	4,6

A continuació també es representarà la gràfica del contingut en àcid a la mostra, per varietats negres:



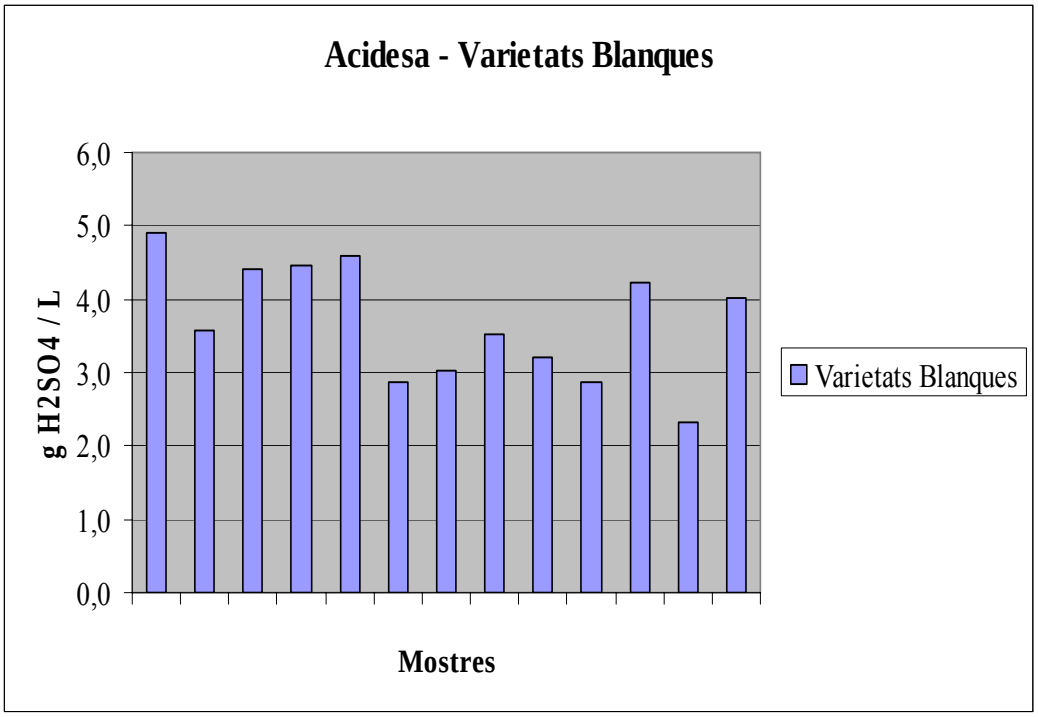
En el gràfic es veu que per a varietats negres el contingut superen totes les mostres els 2 g H_2SO_4 / L, essent el valor mig i la desviació estàndard els valors que es donen a continuació:

X = 3.6 g H_2SO_4 / L
S = 0.8

6.2.4.2 Varietats Blanques:

La taula de continuació correspon a l'acidesa de les varietats blanques analitzades:

Mostra	**Varietat**	**g H2SO4 / L**
M04	Macabeu	4,9
M07	Macabeu	3,6
M12	Carinyena Blanca	4,4
M13	Carinyena Blanca	4,5
M18	Macabeu	4,6
M20	Macabeu	2,9
M22	Carinyena Blanca	3,0
M23	Carinyena Blanca	3,5
M26	Carinyena Blanca	3,2
M28	Macabeu	2,9
M31	Carinyena Blanca	4,2
M32	Carinyena Blanca	2,3
M33	Macabeu	4,0



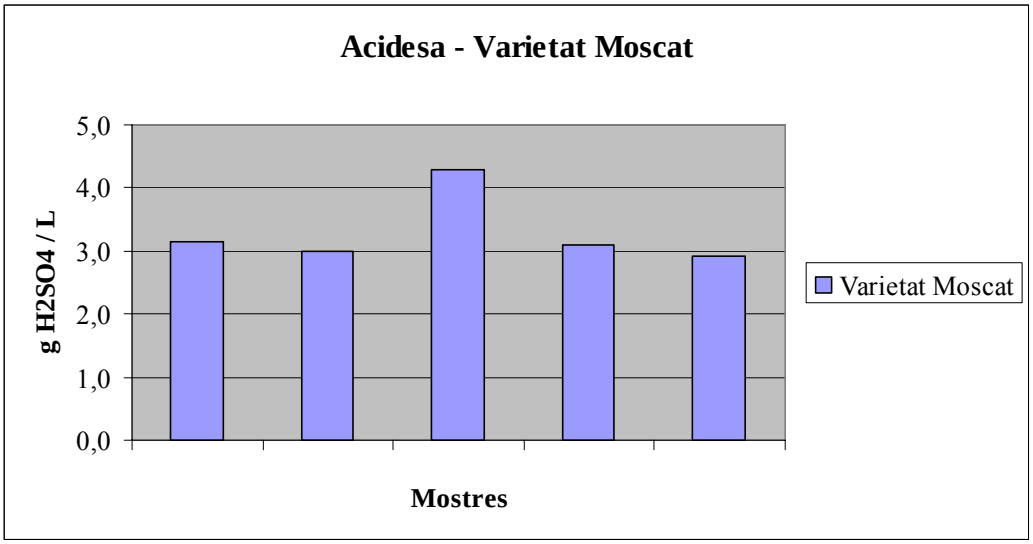
El valor mig i la desviació estàndard d'aquestes varietats correspon a:

$X = 3.6$ g H_2SO_4 / L
$S = 0.8$

6.2.4.3 Varietat Moscat:

La taula de continuació i el gràfic representa el mateix concepte que abans però amb la diferència que en aquest cas és de la varietat Moscat:

Mostra	Varietat	g H2SO4 / L
M08	Moscat	3,1
M10	Moscat	3,0
M19	Moscat	4,3
M25	Moscat	3,1
M27	Moscat	2,9



La mitjana i la desviació estàndard corresponen per les varietats de moscat:

$X = 3.1$ g H_2SO_4 / L
$S = 0.6$

En els tres gràfics podem veure que tant les varietats negres com les blanques contenen la mateixa quantitat de acidesa (referint – nos a les mitjanes). Pel que fa als moscats els seus continguts són una mica més baixos.

6.3 Resultats obtinguts en l'anàlisi del $N_{orgànic}$

Pel càlcul del nitrogen orgànic el que s'ha fet és la diferència entre el valor del nitrogen total (que inclou totes les formes possibles de nitrogen) i el valor del nitrogen assimilable (que engloba les formes de nitrogen amoniacal i aminoàcid (NFA)). El nitrogen orgànic representa el nitrogen en forma de proteïnes i pèptids, i són les formes que costen més de degradar per part de llevats i bactèries. A continuació es donen els resultats de la determinació del nitrogen orgànic en les diferents mostres analitzades:

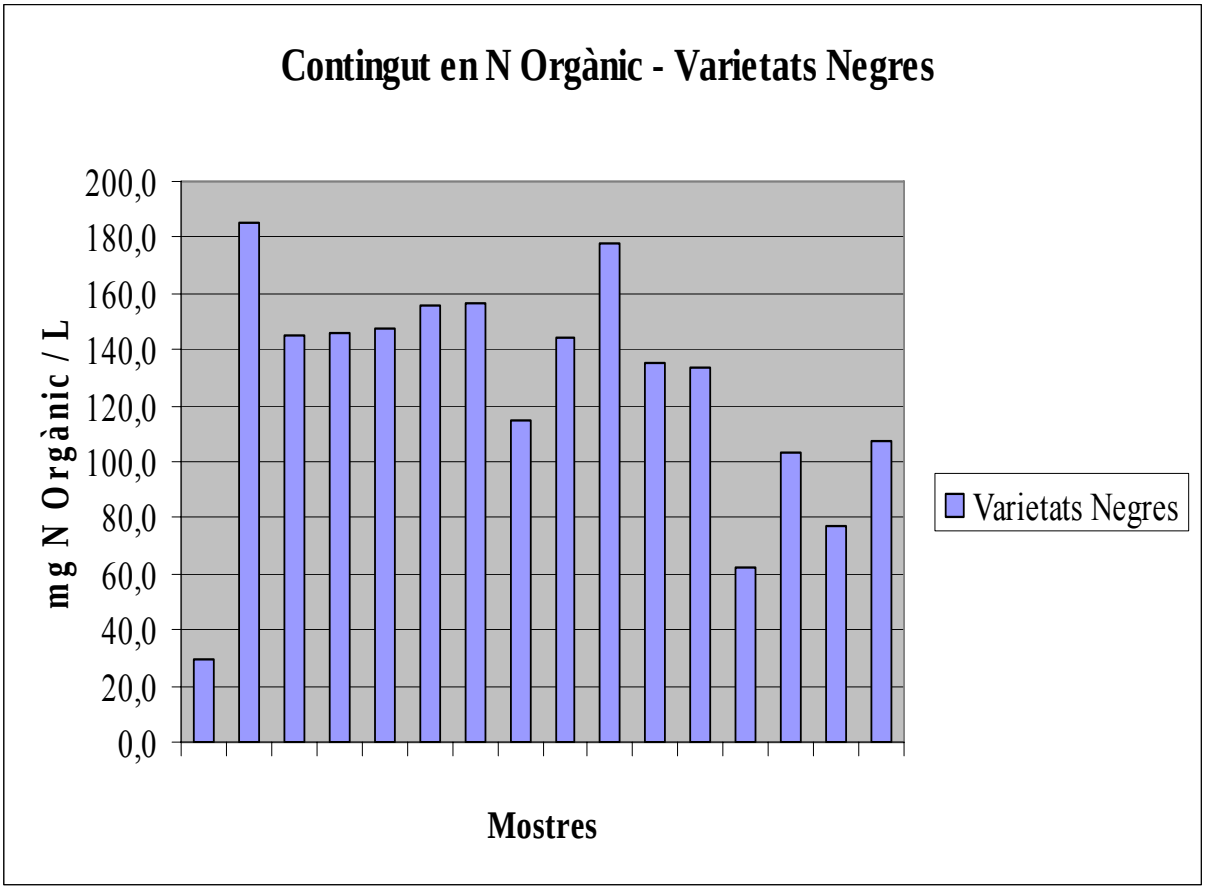
Mostra	Varietat	mg NT / L	mg NFA / L	mg N orgànic / L
M01	Cabernet Sauvignon	264,3	235,2	29,1
M02	Garnatxa Negre	392,4	207,2	185,2
M03	Carinyena Negre	285,0	140,0	145,0
M04	Macabeu	251,9	154,0	97,9
M05	Carinyena Negre	293,2	147,0	146,2
M06	Carinyena Negre	301,5	154,0	147,5
M07	Macabeu	280,8	161,0	119,8
M08	Moscat	264,3	168,0	96,3
M09	Carinyena Negre	380,0	224,0	156,0
M10	Moscat	210,6	126,0	84,6
M11	Garnatxa Negre	268,5	112,0	156,5
M12	Carinyena Blanca	202,4	112,0	90,4
M13	Carinyena Blanca	194,1	98,0	96,1
M14	Carinyena Negre	268,5	154,0	114,5
M15	Carinyena Negre	256,1	112,0	144,1
M16	Carinyena Negre	338,7	161,0	177,7
M17	Cabernet Sauvignon	359,3	224,0	135,3
M18	Macabeu	220,2	133,1	87,1
M19	Moscat	221,4	150,5	70,9
M20	Macabeu	246,2	148,0	98,2
M21	Cabernet Sauvignon	344,0	210,1	133,8
M22	Carinyena Blanca	267,8	165,2	102,6
M23	Carinyena Blanca	239,3	145,5	93,8
M24	Cabernet Sauvignon	264,1	201,8	62,2
M25	Moscat	232,1	167,0	65,1

Mostra	Varietat	mg NT / L	mg NFA / L	mg N orgànic / L
M26	Carinyena Blanca	196,2	119,2	77,0
M27	Moscat	216,2	158,6	57,6
M28	Macabeu	210,1	129,4	80,7
M29	Carinyena Negre	324,0	220,4	103,6
M30	Carinyena Negre	284,0	206,8	77,2
M31	Carinyena Blanca	229,8	143,9	85,9
M32	Carinyena Blanca	244,1	149,3	94,8
M33	Macabeu	214,5	139,3	75,2
M34	Cabernet Sauvignon	314,0	206,3	107,7

6.3.1 Varietats Negres:

Mostra	Varietat	mg N orgànic / L
M01	Cabernet Sauvignon	29,1
M02	Garnatxa Negre	185,2
M03	Carinyena Negre	145,0
M05	Carinyena Negre	146,2
M06	Carinyena Negre	147,5
M09	Carinyena Negre	156,0
M11	Garnatxa Negre	156,5
M14	Carinyena Negre	114,5
M15	Carinyena Negre	144,1
M16	Carinyena Negre	177,7
M17	Cabernet Sauvignon	135,3
M21	Cabernet Sauvignon	133,8
M24	Cabernet Sauvignon	62,2
M29	Carinyena Negre	103,6
M30	Carinyena Negre	77,2
M34	Cabernet Sauvignon	107,7

Es representa a continuació el contingut en $N_{Orgànic}$ de les varietats negres dels mostos:



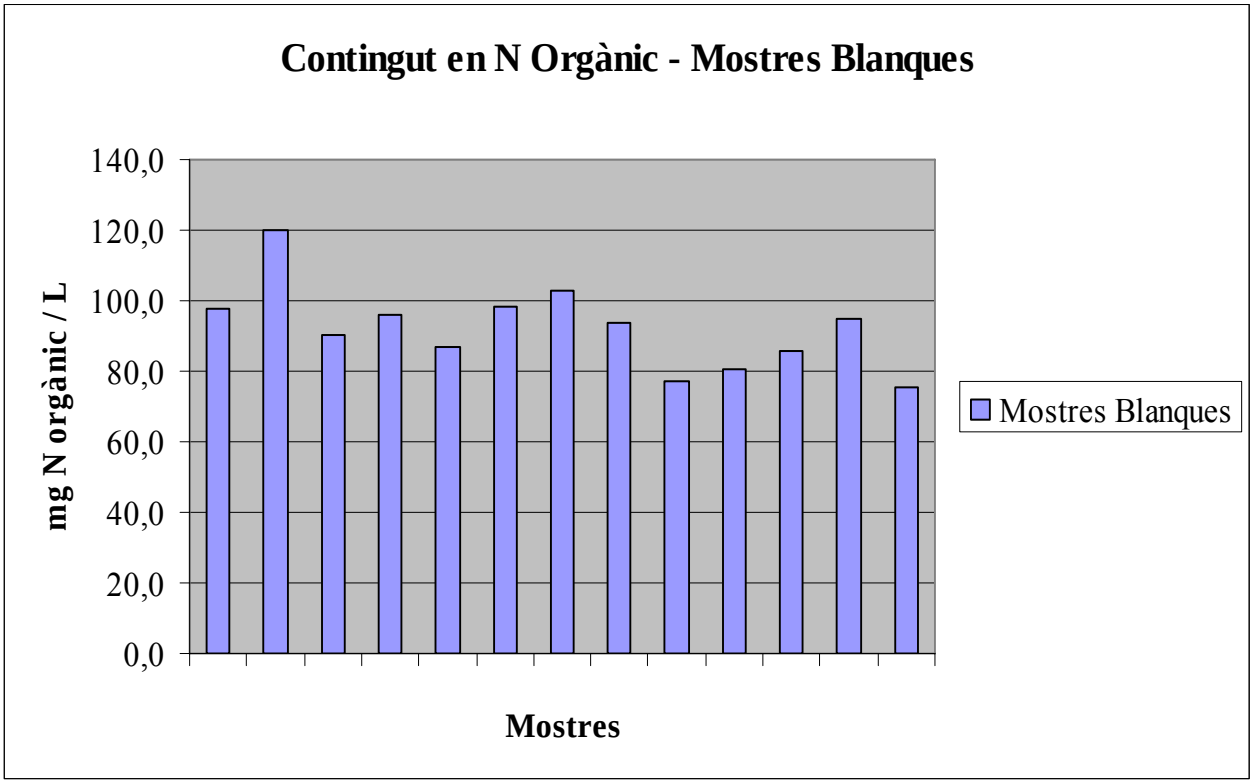
El valor mig d'aquestes mostres i el valor de la desviació estàndard són exposats a continuació:

X = 139.7 mg $N_{Orgànic}$ / L
S = 42.0

6.3.2 Varietats Blanques:

Mostra	Varietat	mg N orgànic / L
M04	Macabeu	97,9
M07	Macabeu	119,8
M12	Carinyena Blanca	90,4
M13	Carinyena Blanca	96,1
M18	Macabeu	87,1
M20	Macabeu	98,2
M22	Carinyena Blanca	102,6
M23	Carinyena Blanca	93,8
M26	Carinyena Blanca	77,0
M28	Macabeu	80,7
M31	Carinyena Blanca	85,9
M32	Carinyena Blanca	94,8
M33	Macabeu	75,2

La representació gràfica dels valors en $N_{Orgànic}$ de les mostres Blanques és la que es troba a continuació:



El valor mig i la desviació estàndard quedaran:

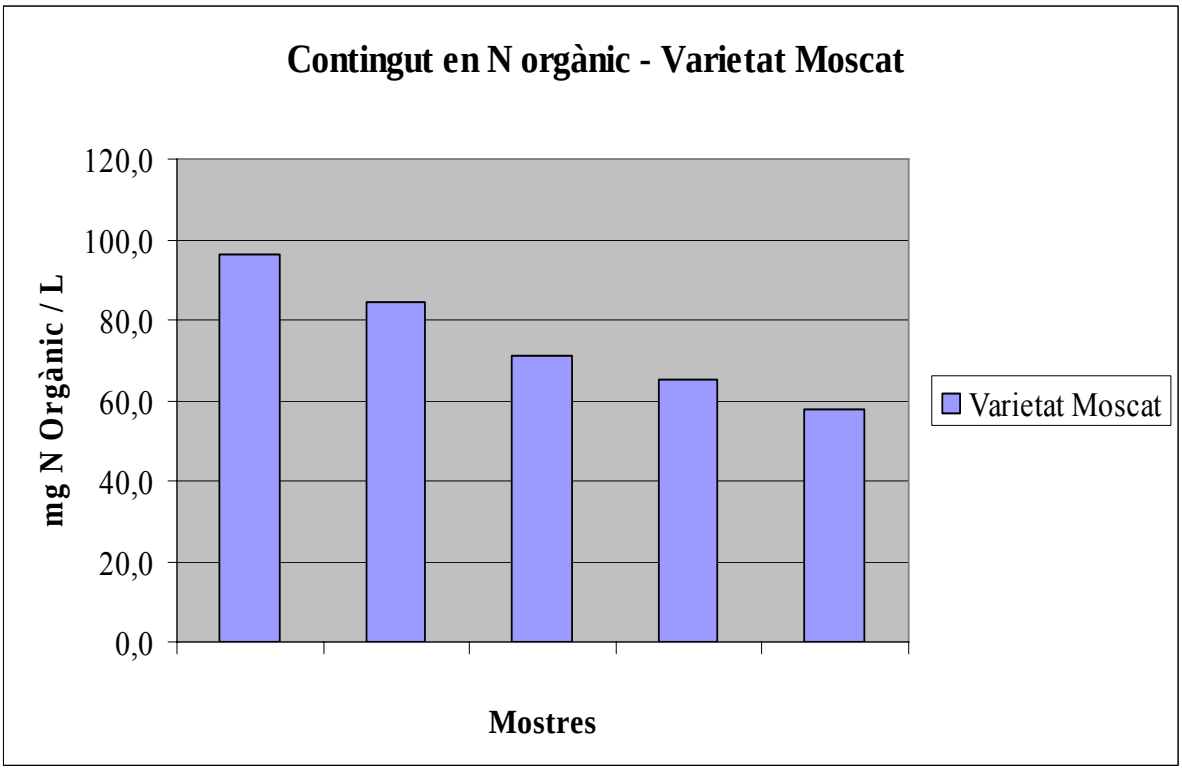
$X = 93.8$ mg $N_{Orgànic}$ / L
$S = 11.9$

6.3.3 Varietat de Moscats

La representació gràfica i els resultats del contingut en N Orgànic per a la varietat de moscats és:

Mostra	Varietat	mg N orgànic / L
M08	Moscat	96,3
M10	Moscat	84,6
M19	Moscat	70,9
M25	Moscat	65,1
M27	Moscat	57,6

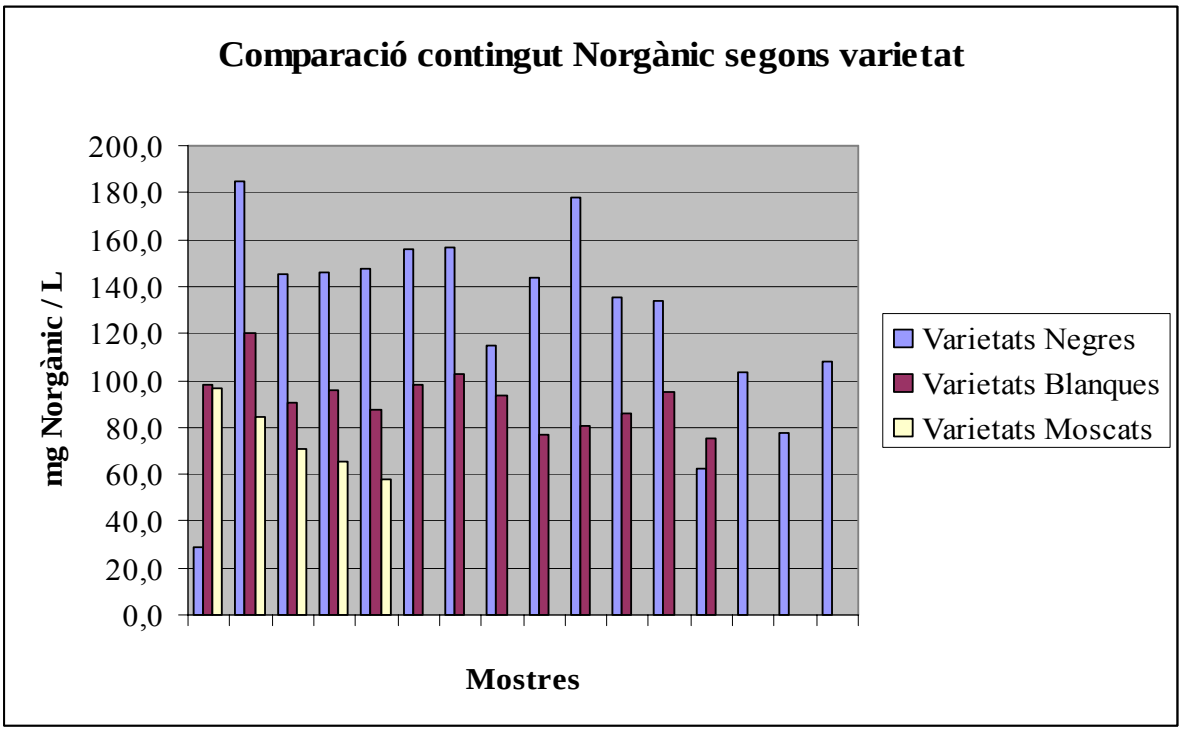
La seva representació gràfica:



La mitjana i la desviació estàndard correspon:

X = 70.9 mg N Orgànic / L
S = 15.5

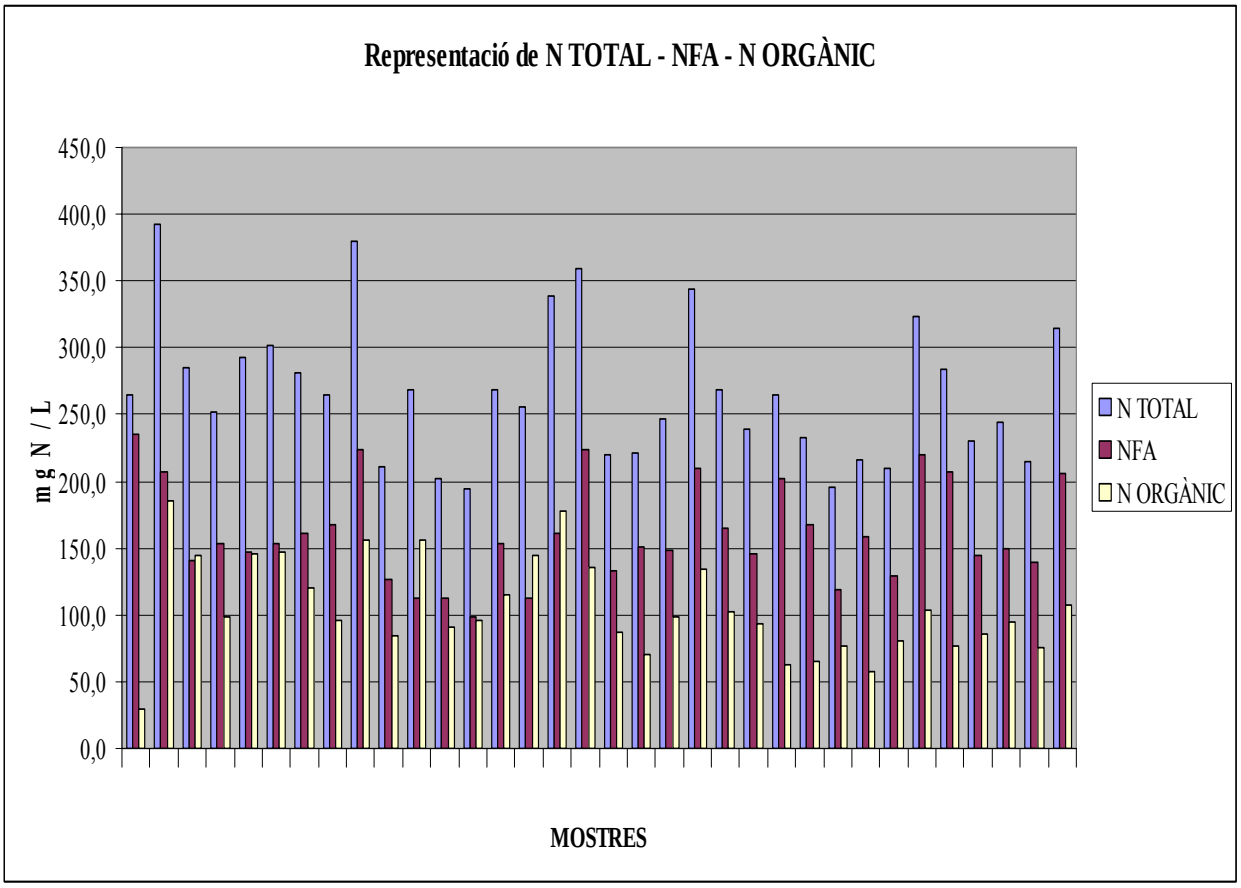
A continuació representem la gràfica amb la qual comparem els valors obtinguts en les tres tipus de varietats analitzades:



Veiem una primera cosa en el gràfic i es que majoritàriament el contingut en N orgànic a les mostres de varietats negres es més elevat que en varietats blanques i moscats, excepte d'alguns casos que poden ser que continguin algun error en la metodologia emprada.

En el cas del N orgànic tenim que les varietats blanques tenen un major contingut que les de moscat.

En general i fixant – nos en els gràfics de N orgànic, N_T, i NFA veiem que el contingut de les varietats negres sempre és més elevat que en les altres dues varietats. Això ho podem corroborar fixant – nos en el transcurs de la fermentació: les varietats negres tenen molts menys problemes en efectuar les fermentacions.



En principi segons les indicacions que ens donen les referències, el contingut en NFA sempre hauria de ser més elevat que no pas el del N orgànic. Veiem en el gràfic que generalment així es tradueix en les nostres mostres, excepte d'alguns casos que, per algun error efectuat en la metòdica ens dona a l'inversa.

També podria passar que, tal i com ens diu la bibliografia consultada, anys càlids ens donen un contingut més baix en aminoàcids i en amoni, i que per tant aquests resultats siguin correctes.

8. CONCLUSIONS

A partir de l'estudi efectuat, i a través dels diferents anàlisis de mostos, s'ha arribat a les següents conclusions, tot tenint en compte quins eren els objectius del treball.

Pel que fa a la comparació dels resultats obtinguts amb mostres provinents d'altres zones, el que s'ha efectuat ha estat la comparació amb els valors que han estat donats per l'Institut Català de la Vinya i el Vi (Incavi), per la seva proximitat geogràfica, ja que els valors de referència de la bibliografia no reflexa els mostos dels països catalans:

1. En l'anàlisi del N_{TOTAL} a través del mètode Kjeldhal s'han obtingut els següents valors mitjos:

Mètode Kjeldhal	**Valors Incavi**
Mostres varietats negres: X = 307.8 mg N_T / L	N_T = 300 – 350 mg N_T / L
Mostres varietats blanques: X = 230.6 mg N_T/L	
Mostres varietats moscats: X = 228.9 mg N_T / L	

A través dels resultats obtinguts, es veu que els mostos empordanesos de la verema de l'anyada 2005 es troben per sota dels intervals considerats normals per l'Institut Català de la Vinya i el Vi. Solsament els mostos negres arriben al límit inferior.

2. En l'anàlisi del NFA (Nitrogen Fàcilment Assimilable), és a dir la fracció d'amoni i d'aminoàcids els resultats obtinguts són els següents:

Mètode Sorensen	**Valors Incavi**
Mostres varietats negres: X = 182.2 mg NFA / L	NFA X = 150 – 200 mg NFA / L
Mostres varietats blanques X = 138.3 mg NFA / L	
Mostres varietats moscats X = 157.5 mg NFA / L	

Pel que fa al NFA (Nitrogen Fàcilment Assimilable), s'observa que les varietats negres i de moscats estan dintre dels intervals que dona l'Incavi. Ara bé si es té compte que 150 mg NFA / L és el mínim contingut en NFA per poder portar una correcta fermentació alcohòlica, es veu que en varietats negres les mostres M03 – M05 – M11 – M15 segurament patiran alguna aturada o retard en l'inici de la fermentació.

En varietats de mostos blancs quasi bé totes les mostres analitzades tenen un baix contingut en NFA, cosa que ens implicarà l'addició de compostos nitrogenats al most.

Pel que fa a les varietats de moscat, el seu contingut, tot i que es troba dins els valors de referència es baix.

Pel que respecte a l'anàlisi de l'acidesa (mesurada a través del mètode Sorensen), s'observen els resultats obtinguts a continuació:

Mètode Sorensen (g H_2SO_4 / L)	**Valors de Referència[1] (g H_2SO_4 / L)**
Varietats Negres x = 3,6	X = 4 – 5
Varietats Blanques x = 3,6	
Varietat Moscat x = 3,1	

Si s'engloben tots els resultats dins un interval, aquest es situa entre (2,3 – 4,9) g H_2SO_4 / L. Com es pot observar, aquests valors estan per sota de la mitjana que dona la referència. Aquesta diferència és també deguda a la climatologia, ja que temperatures per sobre dels 30º C, el substrat fonamental que s'utilitza per la combustió respiratòria són els àcids. Això fa que com que ha estat un estiu calorós i s'ha patit un excés de sequera, els continguts en àcids han disminuït molt per sota de la mitjana considerada normal.

3. Els resultats obtinguts en l'anàlisi del $N_{orgànic}$ són els que es presenten a continuació, juntament amb les conclusions obtingudes a través dels resultats:

Es defineix el nitrogen orgànic com totes aquelles formes de nitrogen que conté el raïm excepte el nitrogen aminoàcid i el nitrogen en forma d'amoni, de tal manera que efectuant la diferència entre els resultats obtinguts a través del nitrogen total i els obtinguts a través del nitrogen fàcilment assimilable s'obté la fracció orgànica composta per: proteïnes, polipèptids, amines biògenes, nucleótids i vitamines:

$$N_{orgànic} = N_{Total} - NFA$$

Els resultats obtinguts en els nostres mostos són els següents:

N orgànic (mg $N_{Orgànic}$ / L)	**Referència[2] (mg $N_{Orgànic}$ / L)**
Varietat negre: x = 139,7	X ≈ 10 – 100
Varietat blanca: x = 93,8	
Varietat moscat: x = 70,9	

Per extreure les conclusions en els resultats del N orgànic s'ha agafat de referència Flanzy. Cal tenir en compte que aquest autors ha extret els seus resultats de mostos procedents d'altres indrets geogràfics, amb una climatologia totalment diferent a la que correspon a la nostre. Si es té en compte la referència de Flanzy es veu que els mostos empordanesos es troben per sobre dels seus valors, es a dir tenen un alt contingut en N orgànic.

[1] Hidalgo Torres, J. Tratado de Enología. Ediciones Mundi – Prensa. Madrid 2003
[2] Flanzy, C. Enologia: Fundamentos Científicos y Tecnológicos, ed. Mundi – Prensa 2003

Pel que fa a les conclusions que s'han extret sobre els efectes que produeix la climatologia sobre els compostos nitrogenats del raïm s'ha vist que els més importants són els que s'exposen a continuació:

- Principalment s'ha vist que la meteorologia corresponent a l'anyada del 2005, ha estat caracteritzada per tenir un estiu bastant calorós, amb temperatures màximes de l'ordre dels 31 – 33 ºC (durant els mesos de juny, juliol, i agost) i amb un dèficit de pluja.

- Aquestes característiques climatològiques, parlant sobretot del període que comprèn des del mes de maig fins el mes de setembre, han repercutit en els nostres mostos amb un dèficit de N_{TOTAL} i NFA. Es veu que durant aquest període, el dèficit de pluja ha estat una constant, observant que durant els mesos de juny, juliol i agost només s'han recollit 27 $dm^3 * m^2$, i la calor ha estat la nota dominant durant aquests mesos. Aquestes són les afirmacions que s'han pogutefectuar ja que amb unes temperatures altes i un dèficit de pluja, el cep no pot absorbir les fraccions d'amoni que s'absorbeixen a través de la saba, i el que succeeix es que augmenta la formació de proteïnes a través dels aminoàcids. Aquest fet repercuteix amb una disminució pel que fa al contingut de NFA als mostos, i conseqüentment amb una disminució pel que fa als nivells totals de N.

- Per contra aquest clima fa que el nivell de nitrogen orgànic augmenti, per la síntesi de proteïnes, i per tant, tal i com es pot observar en els resultats, els nivells de $N_{Orgànic}$ estan per damunt dels nivells que dona la bibliografia. Aquesta síntesi de proteïnes es realitza per portar a terme l'evolució de la planta, efectuant els diversos períodes de maduració de la mateixa.

Albert Camps Coromines 40450264A
1 – Juny – 2007

9. ANNEXOS

ANNEX A: Períodes i evolució del grà de raïm

El cicle vegetatiu es el conjunt de fases successives que mostra un vegetal, principalment de fulla caduca al llarg d'un any, depenent sens dubte de l'evolució de les condicions climàtiques. Aquest cicle engloba des del final d'un hivern fins el començament de l'altre i descriu dues situacions anàlogues de la planta: quan la planta mostra un aspecte d'inactivitat i quan l'activitat comença a sorgir. Durant tot el cicle es produeixen múltiples reaccions bioquímiques, enzimàtiques, les quals la seva velocitat de producció és cada vegada més elevada.

El cep és un arbust de característiques especials en la seva morfologia, fisiologia i cultiu. El clima, conjunt de circumstàncies, de variables, de condicions ambientals, de l'atmosfera, influeix molt sobre la planta. També influeix molt els tractaments que reben els ceps per part de l'home.

Valors mínims d'humitat dificulten la fisiologia de la planta i una composició adequada del raïm madur. Pel contrari un excés d'aigua produeix un rendiment quantitatiu més elevat i un augment de la vegetació de la planta, en resum un excés d'humitat produeix un excés de verema però de menor qualitat.

El cep és resistent pel que fa a les baixes temperatures d'hivern. L'amplitud dels límits de temperatura ambient que pot suportar el cep durant l'estiu fa que produeixi certs efectes sobre la planta: temperatures altes produeix desequilibris en la composició. Temperatures baixes produeix una maduresa defectuosa a la planta. Condicions climàtiques suaus a l'estiu, durant la maduració contribueixen a una millor qualitat del raïm.

El cep necessita molta profunditat de sòl ja que té un complex sistema d'arrels molt ample i penetrant. Sòls de silici o calcaris són apropiats pel conreu de la vinya, ja que afavoreixen el drenatge i tenen una funció tèrmica reguladora.

Les diferents varietats de ceps, els diferents tipus de clima i microclima, i el sòl, són la principal causa de que hi hagi els diferents tipus de vi. Les diferents fases que es troben en el cicle vegetatiu del cep es divideixen en les següents etapes, anomenades estats fenològics del cep: etapa en que brota el cep, formació de les fulles, floració, fecundació, fructificació, verolat, maduració, maduresa i inactivitat.

Dintre els fenòmens que es troben en els diferents períodes del cep, es diferencien dos tipus bàsicament:

- Fenòmens físics: moviments d'aigua, de substàncies, que tenen lloc amb l'osmosi, evaporació, potencials elèctrics i els fenòmens a les membranes cel·lulars.
- Fenòmens químics: biosíntesi de la matèria orgànica, i el procés de degradació de la mateixa.

Els principals períodes que hi ha a la maduració del raïm són els quatre que es presenten a continuació, i són els que es veu una diferència més significativa entre ells:

1.Període herbaci: Aquest període s'inicia amb la fecundació de les flors del raïm i té una duració estimada d'uns 45 a 65 dies, moment en el qual hi ha el canvi de període i s'arriba al del verolat.

Al final d'aquest període la concentració de sucres i àcids es troba quasi bé dins el mateix ordre, aproximadament 20 g sucre (àcids) / kg raïm.

L'activitat metabòlica en el carràs de raïm és molt acusada, caracteritzada per una activitat respiratòria elevada i una acumulació ràpida de sucres.

2.Període de verolat: El període de verolat indica el començament de la maduració. La duració d'aquesta fase és aproximadament d'un a dos dies per grà de raïm. Pel conjunt del carràs de raïm la duració estimada se situa entre uns 12 a 15 dies.

El creixement del grà es deté i el que succeeix en aquest moment és que comença a agafar el color característic de cada varietat. El grà perd la clorofil·la que contenia i augmenta el nivell d'àcid que provocarà l'acumulació dels polifenols.

Amb la pèrdua de la clorofil·la el que succeeix es que el raïm perd el color verd inicial i es va transformant cap al negre aparent del raïm negre o cap una sensació de transparència en raïm blanc.

És en aquest període que la consistència del raïm passa de consistència dura a elàstica.

3. Període de maduració: Aquest període té una duració estimada d'uns 35 a 55 dies, segons les varietats i les condicions ambientals.

Els grans de raïm continuen creixent gràcies sobretot a la dilatació de les cèl·lules, acabant per formar – hi fissures a conseqüència del creixement excessiu. Aquesta dilatació es deguda sobretot a l'augment de l'acumulació de substàncies que contenen principalment aigua, sucres lliures, cations, àcids en forma d'amines i compostos fenòlics.

Aquesta fase es veu finalitzada quan s'arriba al moment òptim en el qual el raïm pot ser destinat als fins industrials que se li vol donar. Fisiològicament parlant aquesta maduresa industrial s'arriba quan la relació sucres / acidesa es màxima.

4. Període de sobremaduració: El transcurs de la sobremaduració no es pot considerar un període en el cicle vegetatiu ja que el raïm queda pràcticament aïllat de la resta de la planta, degut a la lignificació (pas de la consistència herbàcia a llenyosa) de la rapa i al secament de les tiges en el transcurs del final de l'estiu.

Durant aquest procés el principal canvi que hi ha és l'evaporació de l'aigua amb la conseqüent concentració del most, alhora que també succeeix una disminució del pes del grà de raïm.

També succeeix que les baies continuen respirant i provoquen una combustió de petites quantitats de sucres i majors quantitats d'àcids.

La sobremaduració normalment es realitza en zones on la insolació així ho permet amb les principals característiques de tardors assolellades, càlides, seques i quasi bé sense pluja.

El raïm es deixa sense collir al cep deixant que es sequi. A través d'aquest secat el que succeeix es que el raïm es transforma en panses. El temps necessari per a aquest període oscil·la de 1 o 2 dies a unes tres setmanes.

ANNEX B: Síntesi i evolució dels principals compostos del raïm

Dintre del procés evolutiu de la vinya es veu una transformació del raïm verd, dur i àcid cap a un fruit acolorit, aromàtic i amb gust dolç com anteriorment s'ha comentat. Aquests canvis tenen lloc gràcies a una sèrie de transformacions físiques, químiques i biològiques molt complexes que faran que els grans de raïm augmentin progressivament de volum, al mateix moment que hi ha un augment dins la concentració de soluts, amb especial menció de la riquesa en sucres.

Dintre el raïm aquest augment de la concentració de soluts, pot tenir lloc ja sigui per la síntesi efectuada en el mateix raïm o bé per la importació que pot tenir lloc d'aquests compostos d'altres parts de la planta. En el cas en que es vegi una disminució de la concentració d'aquests soluts, pot ser deguda a la migració cap a altres indrets de la planta o bé per la degradació efectuada pel mateix fruit, o sinó també per la dilució dels soluts amb l'aigua aportada.

Durant el procés de maduració la quantitat de substàncies acumulades en el fruit augmenta progressivament.

La quantitat d'aigua que s'acumula diàriament és fruit de l'acumulació del flux de saba floèmica o bruta (fonamentalment aporta aigua i sucres) i de la saba xilènica o elaborada (que aporta aigua i sals minerals).

L'acumulació de sucres a les baies es realitza en contra del gradient de difusió, ja que les concentracions són molt elevades i és necessari un treball osmòtic molt important, a causa de que s'arriba a superar les 30 atm de pressió al final de la maduració.

L'aportació de saba xilènica descendeix de manera brusca durant el període de verolat degut a l'obturació que hi ha lloc als vasos i que és provocada per la mateixa aportació de sals minerals.

Aquesta sèrie de transformacions bioquímiques són efectuades per un complex sistema hormonal. Aquestes, es poden agrupar de la següent manera:

- Intercanvis amb l'exterior, moviment d'aigua i recepció de matèries minerals: corresponen a diverses forces com l'osmosi, evaporació, potencial elèctric, fenòmens de membranes cel·lulars.

- Síntesis de matèria orgànica: els fenòmens bioquímics estan relacionats amb la biosíntesi de la matèria orgànica i són el domini enzimàtic i hormonal. Aquests fenòmens poden ser:

    - De tipus constructiu, anabòlic, o emmagatzemament d'energia de tendència reductora.
    - De tipus degradant, catabòlic i alliberadors d'energia de tendència oxidant.

- Evolució de components: | Fenòmens de migració
  Acumulació de substàncies
  Degradació de compostos

B.1 Síntesi i evolució dels sucres:

La formació dels sucres es deu a la funció clorofíl·lica o fotosíntesis, produïda als òrgans verds de la planta i amb l'ajuda de la llum com a font d'energia. Els productes fotosintètics, són els fenòmens que intervenen a la síntesis dels sucres dels raïms.

El cep elabora aquestes substàncies a partir de CO_2 i H_2O. A partir d'aquests compostos i mitjançant la fotosíntesi s'aconsegueix la transformació cap a matèria orgànica:

$$CO_2 + H_2O \xrightarrow{\text{FOTOSÍNTESI}} \text{Matèria orgànica}$$

La fotosíntesi segons la definició que ens dóna l'enciclopèdia catalana és la biosíntesi vegetal que es produeix a tots els essers vius amb organismes verds i que té la participació fonamental de la llum. A partir de la fotosíntesi i mitjançant el cicle de Calvin (cicle del carboni) s'arriba a la formació de tots els sucres.

Un cicle bioquímic és un conjunt de reaccions enzimàtiques concatenades essent el resultat d'una l'origen de la reacció següent i tancant – se la cadena amb un nº limitat de baules (anells de cadenes).

La substància fonamental del Cicle de Calvin (cicle del carboni[1]) és la D – ribulosa, pentosa i cetosa que participa amb els dos alcohols primaris, esterificats per l'àcid fosfòric. Un altre metabòlit important en aquest cicle és l'àcid glicèric que també participa en les reaccions esterificant – se en forma d'àcid fosfoglicèrid. Metabòlits entremitjos són el fosfogliceraldehid i els sucres de 5 i 7 àtoms de carboni.

El Cicle comença amb 6 molècules de ribulosa a les que s'uneixen 6 molècules de CO_2, amb les quals cada vegada que es realitza una volta al cicle tenim una gran quantitat de compostos residuals de metabòlits entremitjos i una important presència de complexes enzimàtics.

[1] El carboni procedent de l'anhídrid carbònic de l'aire, de l'anhídrid carbònic o bicarbonat de l'aigua entra en els éssers vius autotròfics (productors primaris) gràcies a les reaccions de síntesi (fotosíntesi, quimiosíntesi). La matèria orgànica sintetitzada és oxidada en bona part pels mateixos organismes. De la resta una part és alliberada al medi i una altre esdevé constitutiva de l'organisme sintetitzador i sol acabar essent incorporada als organismes heterotròfics. Tard o d'hora aquesta matèria es oxidada sigui en vida dels organismes que l'han absorbida o bé per l'activitat de bacteris o fongs (mineralitzadors) que la descomponen. Per tant, el carboni torna en últim terme a forma d'anhídrid carbònic que passa a l'aire o a l'aigua de tal manera que es tanca el cicle.

Les reaccions que succeeixen dins el Cicle de Calvin són les següents:

1. $6\ RuDP + 6\ CO_2 \xrightarrow[NADP^+]{NADPH + H^+} \xrightarrow[ADP]{ATP} 12\ AFG$

2. $12\ AFG \xrightarrow[NADP^+]{NADPH + H^+} 12\ AldFG$

3. $2\ AldFG \longrightarrow 1\ C_6$

4. $4\ AldFG \longrightarrow 2\ C_6$ (Hexosa) SURT

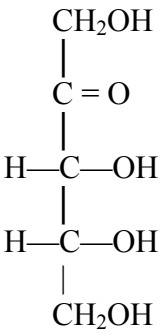
5. $4\ AldFG + 2\ C_6 \longrightarrow 2\ C_7 + 2\ C_5$

6. $2\ AldFG + 2\ C_7 \longrightarrow 4\ C_5$ (Pentosa) SURT

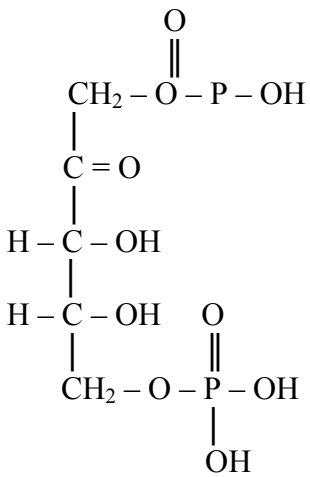
7. $6\ C_5 \xrightarrow[ADP]{ATP} 6\ RuDP$

RuDP: ribulosa – di – fosfatasa
AFG: àcid fosfoglicèric
AldFG aldehid fosfoglicèric

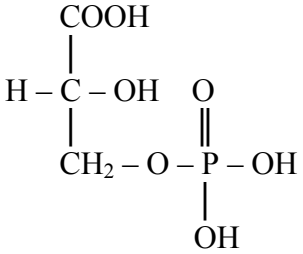
<u>Ribulosa</u>



<u>D - ribulosa</u>



AFG



En la valoració global del cicle es comptabilitza allò que entra com a substàncies inicials de la reacció i el que surt com a producte final del mateix.

Aquests fenòmens succeeixen en els òrgans verds del cep, fulles i fruits abans no hagi començat el període de verolat, emigrant les hexoses produïdes cap a les fulles, baies o altres punts de la planta. Durant el període de maduració també es formen hexoses al fruit a partir de l'àcid màlic.

La raó principal de la síntesi dels sucres és per un mètode d'autodefensa de la planta vers les possibles gelades d'hivern i primavera, ja que amb l'acumulació d'aquests compostos el que es fa és reduir el punt de congelació. Gràcies als sucres que contenen el most es podrà efectuar la fermentació alcohòlica en la qual seran degradats i passaran a formar etanol.

El most de raïm madur conté bàsicament dos tipus de sucres: hexoses (glucosa i fructosa) i pentoses (arabinosa). La glucosa i l'arabinosa són aldoses, es a dir osa la funció reductora de la qual es pseudo – aldehídica. Per la seva part la fructosa és una cetosa, osa la funció reductora de la qual és pseudo – cetona.

D'aquests tres sucres que es sintetitzen a la planta només la hexosa és fermentable i es pot metabolitzar fàcilment per llevats i bactèries. Les pentoses en canvi no són sintetitzats i es per això que a vegades al vi es troben sucres reductors, representats bàsicament en forma de pentoses. A vegades quan tenim una paràlisi de la fermentació, deguda a condicions adverses del medi i que els llevats no aconsegueixen metabolitzar tot el sucre, apareixen bactèries làctiques que sintetitzen amb molta dificultat fructoses presents al most i s'allibera mannitol[2]. Si aquestes bactèries troben concentracions de glucosa formaran àcid làctic i acètic.

Durant la síntesi dels sucres, durant la seva migració als òrgans verds del cep, es poden trobar tres fases clarament diferenciades:

- Fins a finals del verolat, la concentració de sucres augmenta progressivament a tots els òrgans herbacis ja que és quan encara hi ha la major part de la planta verda..
- Durant la maduració, aquesta concentració disminueix, acumulant – se a les baies.
- Desprès de la verema els òrgans verds recuperen els nivells inicials de sucres.

[2] Polialcohol del grup dels hexols que hom l'obté per reducció de la glucosa.

La relació de sacarosa / sucres reductors té un valor pròxim (dins el conjunt de la planta) a 1 baixant a 0.6 durant la maduració, cosa que demostra la migració de la sacarosa cap als grans de raïm. Aquesta disminució també es troba a les nits ja que no es realitza la fotosíntesis.

El mecanisme bioquímic de penetració i acumulació de sucres a les vacuoles de les cèl·lules de la polpa és el següent (fig 1):

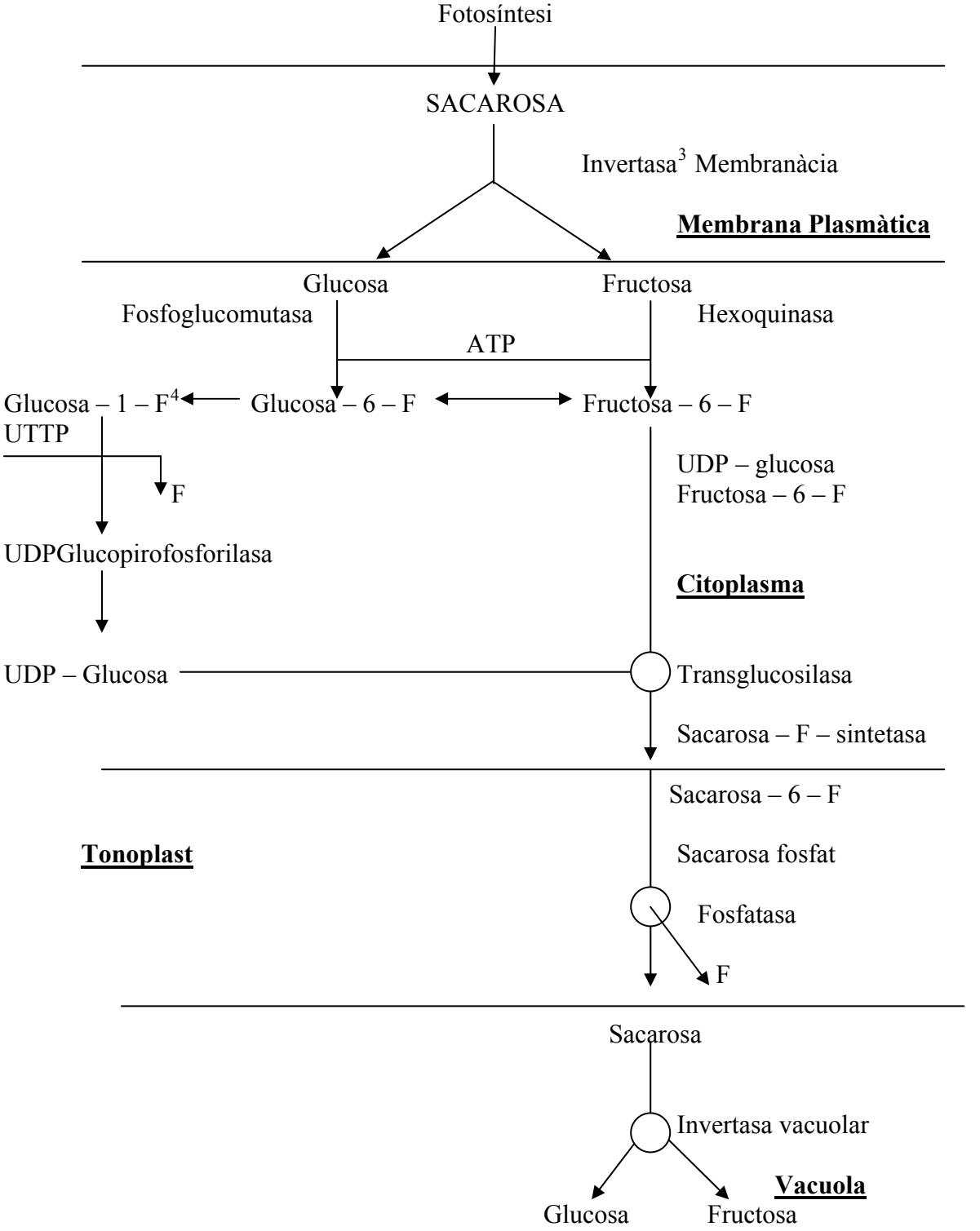


Figura 1. Mecanisme bioquímimic d'acumulació de sucres

[3] Enzim que catalitza la hidròlisi de la sacarosa a fructosa.
[4] Fosfat

Al gra de raïm madur, petites quantitats d'àcid màlic poden transformar – se a glucosa, seguint la ruta inversa al mecanisme de formació del mateix àcid, essent oxidat cap a àcid oxalacètic i que per descarboxilació (eliminació d'un o més grups carboxil) es transformarà a àcid fosfoenolpirúvic passant llavors a àcid fosfo – glicèric. A continuació es redueix a aldehid – fosfo – 3 – glicèric. Per condensació de dues molècules es formarà fructosa – 1,6 – difosfat i posteriorment passarà a glucosa.

Cal tenir en compte, però, que hi ha altres paràmetres com són les característiques de la vinya, el clima, i les tècniques de cultiu que fan que les condicions de maduració siguin diferents i conseqüentment també la cinètica de l'acumulació dels sucres.

B.2 Síntesi i evolució dels àcids:

Durant la maduració es quan es troba la major part dels àcids implicats en els diferents cicles bioquímics (glicòlisi, cicle de l'àcid xiquímic, cicle de Krebs). Els principals àcids que conté el raïm són: àcid tartàric i l'àcid màlic que representen el 90% del total dels àcids i en menor quantitat es troba l'àcid cítric.

Aquests àcids són sintetitzats a les fulles i sobretot en els mateixos carrells del raïm. Encara que tenen una certa semblança la seva síntesi es realitza per diverses vies i també la seva evolució es diferent en la maduració del raïm.

Durant la maduració, tot i que es troba la síntesi dels dos àcids, l'acidesa disminueix a causa de:

- La combustió que es realitza durant la respiració
- Neutralització o salificació efectuada pels cations que arriben als grans de raïm
- Dilució que es realitza per l'aportació d'H_2O als grans de raïm

B.2.1 Síntesi i evolució de l'àcid tartàric:

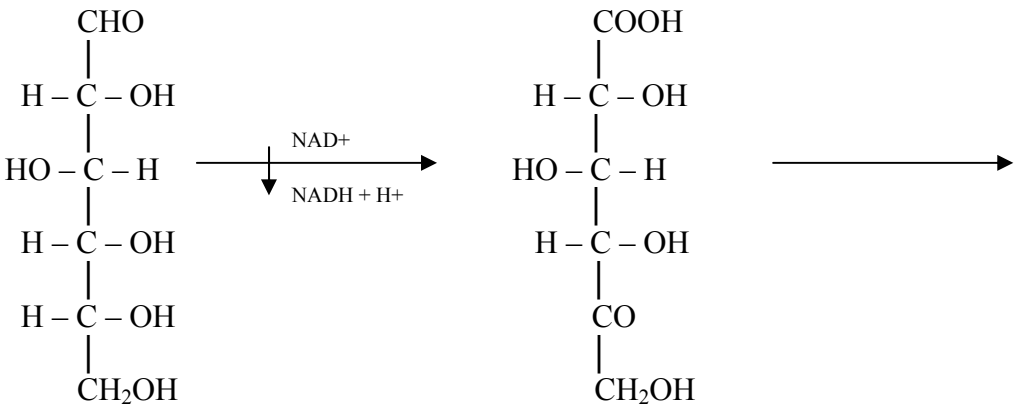
És un producte secundari del metabolisme dels sucres, essent la seva síntesi molt lenta i formant – se principalment als grans de raïm i en menys quantitat a les fulles. El raïm verd és a la vegada òrgan de síntesi i magatzem d'aquest àcid.

Les concentracions que es troben d'àcid tartàric al moment del verolat són de l'ordre de 20 a 25g/l, després d'aquest període la concentració de tartàric disminueix lleugerament i s'arriba a mantenir bastant constant entre valors de 3,5 a 11 g/L. En el moment en que el raïm encara es troba agràs (es a dir que encara està verd) la multiplicació cel·lular és molt intensa i es caracteritza per una acumulació ràpida de tartàric, quedant després en el fruit concentracions relativament constants tot i que hi ha un augment del volum del fruit per l'acumulació de l'aigua.

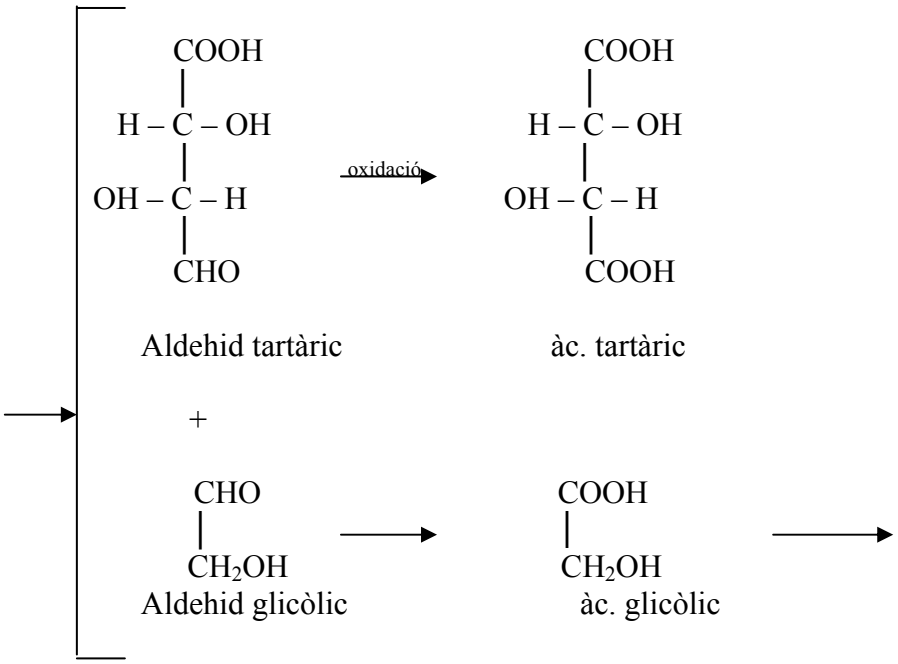
La concentració d'aquest àcid és veu molt influenciada amb les temperatures del període de maduració, així com la disponibilitat que té d'aigua:

- Altes temperatures ⟶ consumició per combustió respiratòria.
- Humitat ⟶ incrementa els nivells d'àcids als carrassos.

La síntesi de l'àcid tartàric (fig.1), queda representada pel següent esquema:



D(+) – glucosa àc. 5 - cetoglucònic



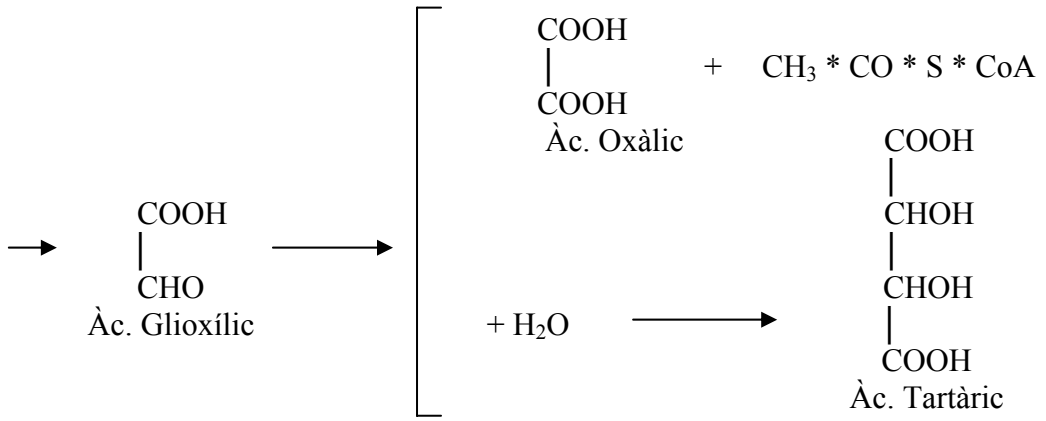


Figura 1. Síntesi de l'àcid tartàric

B.2.2 Síntesi de l'àcid màlic:

Paral·lelament a la formació de sucres durant la fotosíntesi hi ha una línia col·lateral de reaccions a partir de les quals s'aconsegueix efectuar la formació de l'àcid màlic. L'àcid màlic es troba a tots els vegetals. L'anabolisme i el catabolisme de l'àcid màlic són fàcils.

L'àcid màlic és un producte entremig del metabolisme del raïm formant – se l'isòmer L (-) – àcid màlic i, essent els sucres importats els responsables de la seva formació.

A partir del període de verolat la concentració d'àcid màlic comença a disminuir fins arribar a valors durant la maduració de 1 a 5 g /L most. Aquesta disminució es dona o bé per la transformació en sucres o bé per a la combustió respiratòria (la qual serà de gran importància en la producció d'energia en forma d'ATP (Fig.2) i per tal de que es desenvolupin, en els raïms, les reaccions de maduració).

Durant el període herbaci té un paper molt important aquests dos àcids ja que la importació de cations i el consum de protons indueixen a la planta a la producció d'àcids a partir de sucres.

Durant la maduració, les aportacions que rep el carràs per migració o síntesi no compensa el descens per combustió respiratòria, amb la qual cosa durant aquest període tindrà lloc un descens important fins a l'hora de la recol·lecta. Aquesta evolució depèn sobretot de les condicions climàtiques, de la varietat de raïm i del sistema sòl – microclima on s'assenta el cep.

En resum podem dir que les formes d'àcids majoritaris que es troben al raïm, la seva concentració varia segons:

- Q (àcid tartàric) = ∫ (condicions climàtiques, humitat, temperatura)
- Q (àcid màlic) = ∫ (varietat, sòl, microclima)

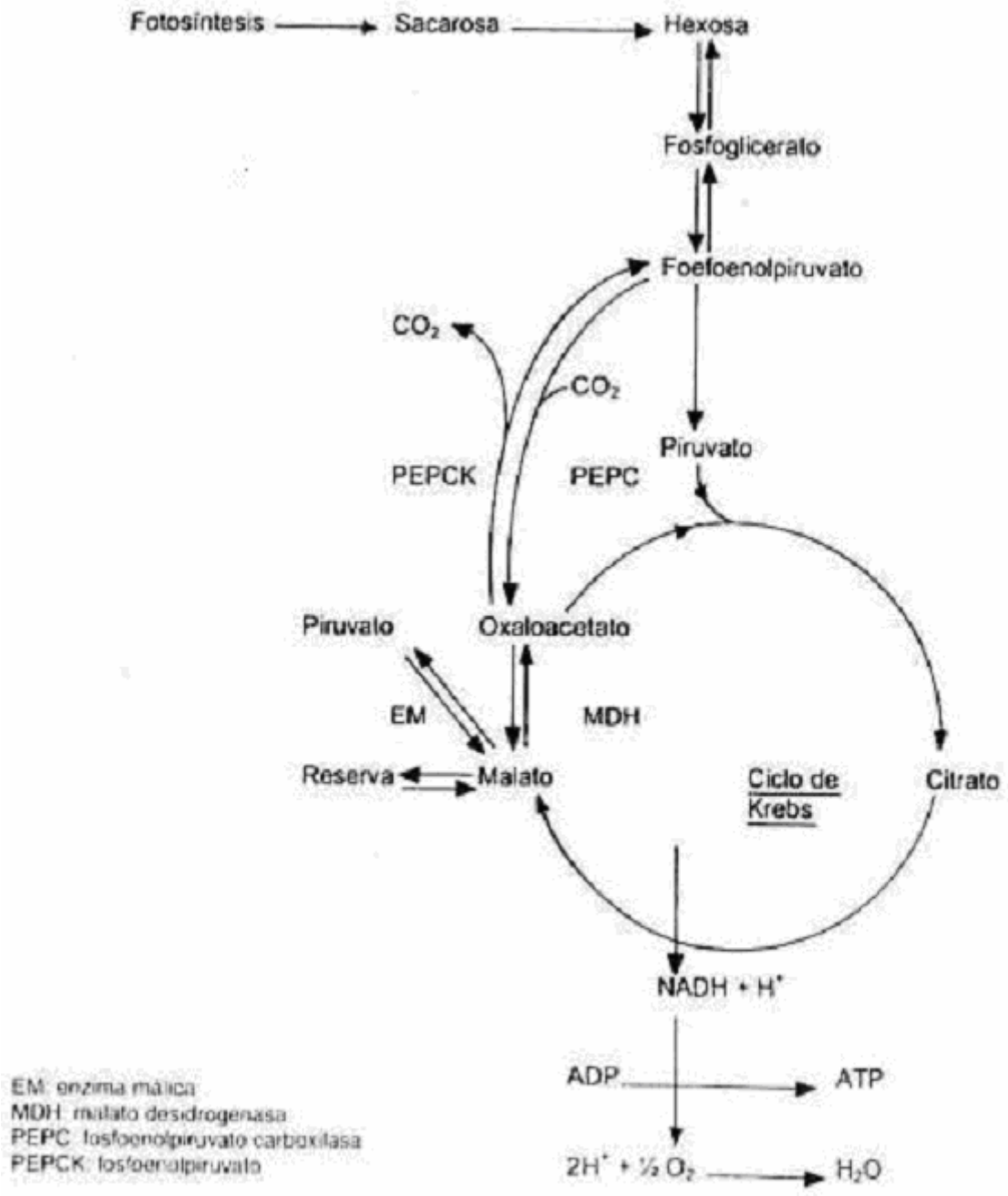


Fig. 2 Producció d'energia en forma d'ATP a partir de l'àcid Màlic

La síntesi de l'àcid màlic (fig. 3) està representada a continuació:

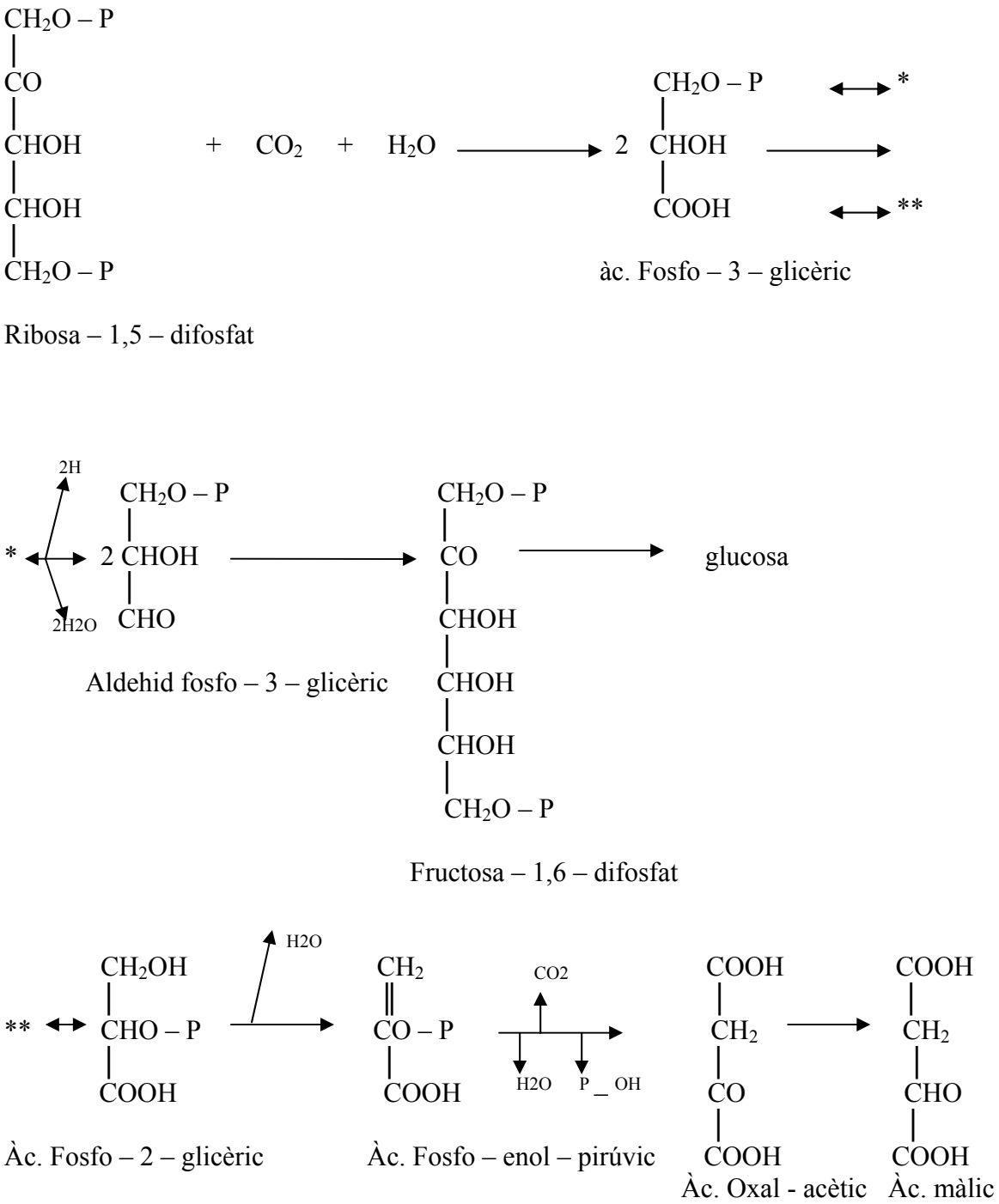


Figura 3. Síntesi de l'àcid màlic

B.2.3 Síntesi de l'àcid cítric:

La presència d'aquest àcid al most es molt més reduïda que els altres dos, estant la seva concentració entre uns valors de 0,2 i 0,5 g/L. En el cep però augmenta la seva concentració ja que és a les arrels on principalment s'ubica aquest àcid. La síntesi de l'àcid cítric s'explica a continuació:

- Síntesi a les arrels per fixació del CO_2 que conté el sòl sobre l'àcid fosfoenolpirúvic (èster fosfòric de la forma enòlica de l'àcid pirúvic). Amb la formació de l'àcid oxal – acètic i seguint el cicle de Krebs es forma per reducció àc. Màlic. Aquest és oxidat a àcid cítric a través de l'àcid oxal – acètic.
- Per migració de glúcids de les fulles cap a les arrels, oxidant – se la glucosa a àcid cítric, segons les reaccions de glicòlisis del cicle de Krebs.
- Per reacció entre l'àcid oxal – acètic i l'àcid pirúvic prèviament descarboxilat i unit al coenzim A. L'àcid cítric de les arrels és transportat cap a les fulles i durant el curs de la migració és transformat per oxidació a àcid màlic.

A la baia del fruit els tres àcids s'acumulen com a resultat de la migració de la resta de la planta i síntesis al mateix raïm. Així augmenten i disminueixen durant les pèrdues , que principalment es troben per respiració durant la maduració. La temperatura ambient diferencia quin serà el substrat fonamental de la combustió: a 30ºC bàsicament es consumeix àcid màlic, a temperatures fresques es consumeix sobretot sucres i per sobre dels 30ºC es perd àcid tartàric.

A part d'aquests tres àcids majoritaris citats anteriorment el cep és capaç de formar altres compostos en quantitats molt inferiors i que precedeixen els diferents mecanismes o cicles citats: àcid glioxílic, α – cetoglutàric, galacturònic, oxàlic, glicòlic, glicèric...

L'evolució i el transport que pateixen els diferents compostos orgànics dins del cep es veu reflectit a través de l'esquema següent (Fig.4):

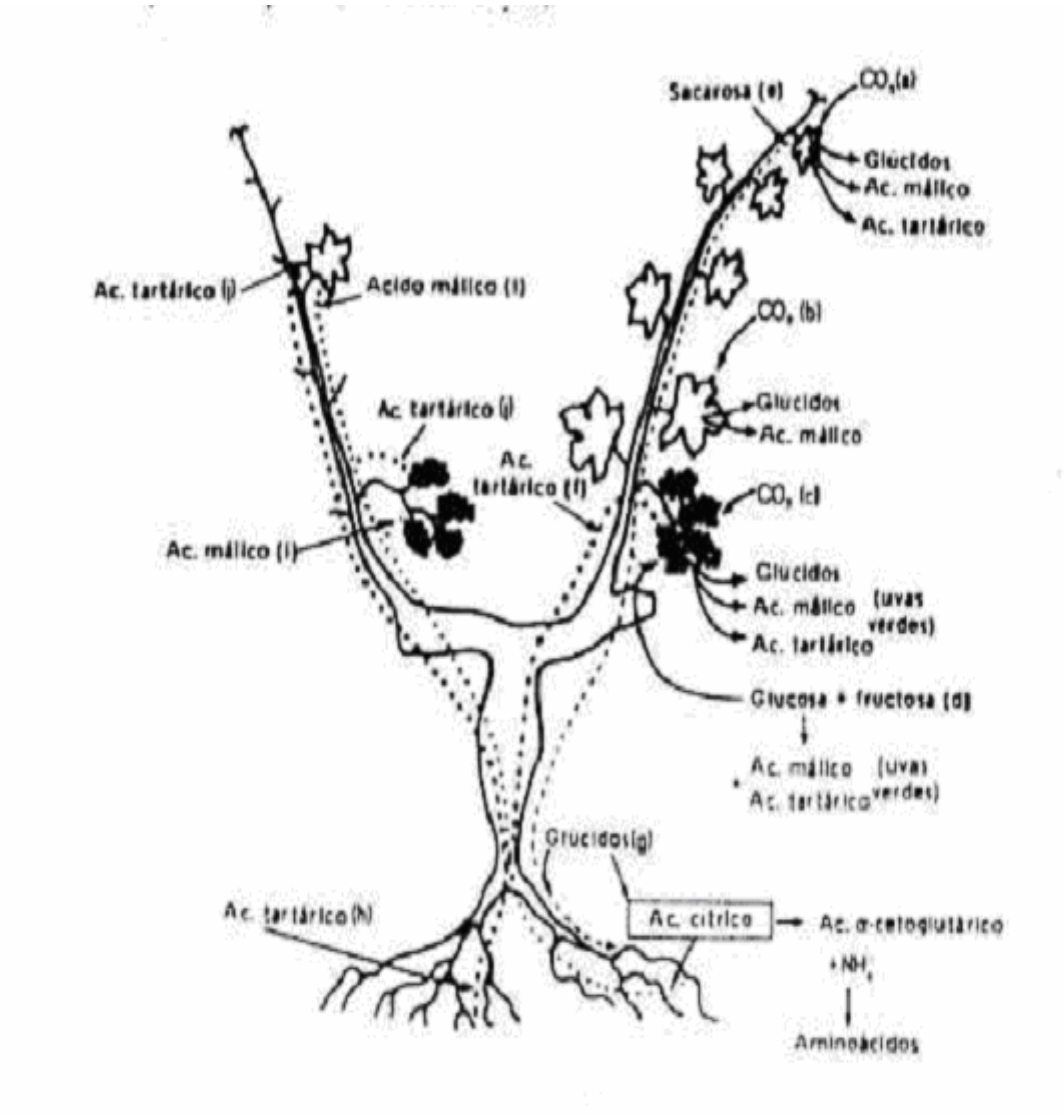


Fig.4 Formació de substàncies Orgàniques i transport a través del cep.

B.3 Síntesi i evolució de matèries minerals

Els materials minerals, extrets del sòl dissolts amb l'aigua, són agafats a través de les arrels i transportats cap a tota la planta. Aquestes aportacions es poden realitzar per tres vies principals:

1. Saba bruta: és l'encarregada de transportar matèries minerals i aigua. Amb l'ajuda de les arrels seran transportats cap a la planta. Aquestes matèries minerals contenen anions i cations que presenten els sòls i que quedaran retinguts als òrgans vegetals a través de la transpiració de l'aigua.
2. Saba elaborada: transporta compostos orgànics sintetitzats per la planta i aigua (sintetitzats a les parts verdes de la planta). Aquests compostos no són gaire rics en matèries minerals a excepte del K^+.
3. A través de la síntesi constant d'àcids orgànics en forma de sals àcides: els quals a través de la seva consumició durant la respiració, deixen com a subproducte cations que s'aniran acumulant durant la maduració.

Les matèries minerals que hi ha al raïm estan dividides en dos grups: macroelements i microelements. Els macroelements acumulats a la planta corresponen als que tenen una funció plàstica a la fisiologia vegetal, donen forma a la planta, resistència, dona turgència a la planta els quals els més destacats són: N, P, S, K, Na, Ca i Mg. Els microelements que es troben a la planta són els que tenen una activitat catalitzadora de les reaccions i són cofactors d'enzims. Els més destacats d'aquest grup són: Fe, Cu, Zn, Mn, Ni, Cb, B.

L'aportació que es realitza dels anions i dels cations es fa de manera molt irregular, al principi de la maduració es fa de manera molt ràpida, però una vegada s'ha arribat al final de l'etapa, aquesta aportació es molt més lenta.

La concentració de minerals a les diferents parts del raïm varien de moltes maneres:

- Pellofa: els minerals es dupliquen o tripliquen des del verolat fins a la maduració.
- Rapa: la seva concentració es multiplica entre 1.5 a 2.5 en els mateixos períodes.
- Polpa: augmenta de 1.2 a 1.9 la concentració.

La disponibilitat d'aigua per la planta i les condicions climàtiques que intervenen a la transpiració de l'aigua, són els factors més importants en la major o menor acumulació d'aquestes substàncies.

B.4 Síntesi i evolució de les substàncies nitrogenades

Influencia molt en el desenvolupament de la fermentació alcohòlica les característiques de la matèria primera, el most. La varietat vinífera d'on prové el most té una gran incidència en la fermentabilitat (facilitat de consum de sucres del most per part dels llevats). També poden influenciar les característiques meteorològiques de l'anyada de producció, el grau de maduració del raïm, etc.

Moltes vegades poden sorgir problemes fermentatius, ja siguin aturades o endarreriments en el procés, que van associades a algunes varietats en particular. Això es degut a que aquestes varietats contenen un baix contingut en nitrogen en els seus mosts corresponents. Aquestes diferències varietals afecten tant al creixement de llevats com a la velocitat de fermentació.

La planta absorbeix el nitrogen en forma de nitrats i sals amoniacals a nivell de les arrels. Aquestes estructures en les que es troba el nitrogen s'anomenen nitrogen fàcilment assimilable. Els nitrats son reduïts per via enzimàtica per donar cations amoni, els quals són el punt de partida de la biosíntesi dels aminoàcids, que són el vehicle de nitrogen als òrgans aeris de la planta.

La concentració de nitrogen total de la polpa del raïm augmenta al llarg de la maduració (duplicant o triplicant el contingut inicial), en canvi el contingut de nitrogen amoniacal i en general el del nitrogen assimilable pels llevats es manté constant o disminueix degut a la síntesi proteica iniciada al verolat. Els anys més secs i càlids donen, en general en zones vitícoles meridionals, mosts mancats en nitrogen assimilable.

Els majors canvis en la composició dels compostos nitrogenats es produeixen durant la fermentació, durant la qual augmenta el contingut en les cèl·lules dels llevats i amb les conseqüents pèrdues del nitrogen total del vi.

Principalment el nitrogen que es troba en el raïm procedeix del sòl on es troba en forma de sals amoniacals o nitrats. Aquesta última forma passa a amoni per intervenció dels enzims reductors de bactèries que es troben a la terra. L'amoni entra a través de les arrels juntament amb l'aigua i materials minerals i es reparteix per tota la planta com s'ha descrit anteriorment a través de la saba bruta i la elaborada. Una vegada es troba dins de la planta el que fa és reaccionar amb els α – cetoàcids, que són metabòlits entremitjos en les reaccions de fotosíntesis que es produeixen als òrgans verds de la planta i en les reaccions de respiració. Quan s'aproxima l'època del verolat la quantitat d'amoni que hi ha a la planta és molt elevada; durant la següent fase de maduració s'intensifica la matèria nitrogenada orgànica i la polimerització, fet que provoca una davallada del Nitrogen Fàcilment Assimilable (NFA). La major elaboració de proteïnes té lloc durant la proximitat de la maduresa, això té certa importància ja que una verema que no sigui suficientment madura tindrà una gran quantitat d'amoni però per contra la concentració en substàncies orgàniques nitrogenades (en forma de proteïnes, polipèptids) serà deficitària. Això succeeix al contrari, quan la verema és molt madura, el contingut en nitrogen en forma d'amoni serà baix en canvi el contingut en nitrogen orgànic en forma de proteïnes serà alt. Cal tenir present aquests casos ja que caldrà saber en quin punt es troba l'estat de maduració del raïm per tal de que quan s'hagi de realitzar la

fermentació i hi hagin possibles problemes caldrà afegir certs compostos i no d'altres. La influència de la meteorologia i l'estat de maduresa determinarà el contingut total en nitrogen que es distribuirà per tota la planta. Una maduresa més completa del fruit porta un major contingut en proteïnes i una acidesa més baixa. Llevats i bactèries consumeixen el nitrogen en forma d'aminoàcids i amoni principalment (NFA).

Les formes principals que es poden trobar en mostos, ordenats de menor a major grandària molecular són: catió amoni (nitrogen mineral), llavors tenim nitrogen orgànic representat per α - aminoàcids elementals, i tot una gamma de polímers, des de dipèptids fins a proteïnes senzilles. En general però, els principals components nitrogenats que es troben als mostos , provinents de la polpa del raïm són:

- Amoni
- Nitrats
- Aminoàcids
- Proteïnes
- Polipèptids
- Nucleòtids
- Amines biògenes
- Vitamines

Només els aminoàcids i l'amoni es poden considerar com quantitativament importants en l'aportació de nitrogen per la síntesi de proteïnes estructurals i funcionals, que fan augmentar el creixements dels llevats i la producció d'enzims i són transportadors de metabòlits que intervenen en els canvis bioquímics al llarg de la fermentació alcohòlica.

A continuació a la taula 1[5] s'exposen els valors que dona la bibliografia sobre els diferents compostos nitrogenats:

	Massa molecular	**Valors bibliogràfics**
N_{TOTAL}	14	0.2 a 1.7 g/L
$N_{MINERAL}$		
Amoni NH_4^+	18	3 a 10%
Nitrat NO_3^-	62	< 0.3 %
$N_{AMINOÀCID}$	100 – 200	60 – 80 % N_T
$N_{ORGÀNIC}$		
Proteïnes	>10000	2 – 5 % N_T
Polipèptids	<10000	10 – 30 % N_T
Amines biògenes	30 – 200	< 25 %
Nucleòtids		< 13 %
Vitamines		
NFA		
(Aminoàcids + Amoni)		60 – 70 % N_T

La matèria nitrogenada d'un most es classifica, segons les seves propietats enològiques, en dos grups:

1. Matèria nitrogenada assimilable constituïda per nitrogen en forma d'amoni, nitrogen en forma d'aminoàcids lliures, i polipèptids de baix o mitjà pes molecular. Aquest tipus de matèria nitrogenada és imprescindible pel desenvolupament i el metabolisme dels microorganismes. Des d'un punt de vista enològic aquests compostos tindran un efecte positiu si són utilitzats per llevats i bactèries que serviran per acabar d'arribar a la transformació del most en vi. En canvi seran d'efecte no desitjat si aquests són utilitzats per microorganismes que causaran algun tipus d'alteració.

2. Grup de les Macromolècules, polipèptids altament polimeritzats i proteïnes de baix pes molecular. Aquests tipus de compostos nitrogenats no poden ser utilitzats per microorganismes, ja que la seva degradació és molt complexa.

Els aminoàcids i els polipèptids són sintetitzats a les arrels i a les fulles, a partir de l'àcid α – cetoglutàric i glicèric, com també de l'amoni, intervenint un complex sistema enzimàtic en el qual és necessari una sèrie de components, enzims específics i uns cofactors.

[5] Acmy, 1996; Feuillat, 1998

L'amoni trobat tant en el most com en el vi està en forma de catió amoni (NH_4^+). Representa en valors de nitrogen amoniacal entre el 3 i el 10% del nitrogen total que es troba al most madur.

Al igual que el contingut d'aminoàcids a la baia, el contingut d'amoni és més elevat quan més baix és el grau de maduració. Així mateix, els anys càlids i secs es troben continguts mes baixos d'amoni al most. També condiciona el contingut d'amoni al most l'alçada del vinyer, així com més cota d'alçada, més contingut d'amoni.

Hi ha grans diferències en el contingut d'amoni entre mosts com a resultat de les diferències varietals i les pràctiques de conreu. L'amoni és la font de nitrogen preferent pels llevats i s'esgota en els primers dies de la fermentació alcohòlica, per la qual es troba en menys de 10 mg / L en vi sec.

Els nitrats (NO_3^-) i els nitrits (NO_2^-) només representa com a màxim el 5 % del nitrogen total del most. No són directament assimilables pels llevats que duen a terme la fermentació alcohòlica.

El contingut d'aminoàcids del most representa entre un 60 % i un 80 % del nitrogen total. Els aminoàcids més abundants són l'arginina i la prolina independentment de l'origen geogràfic. Aquests dos aminoàcids tenen coma precursor comú l'àcid glutàmic.

La Glutamina representa aproximadament el 50% de la totalitat dels aminoàcids que són importats. A continuació d'aquest aminoàcid s'hi troba l'Arginina que està entre el 6 i el 44%. A partir d'aquest es troben altres aminoàcids també presents però amb un percentatge inferior: Alanina, Àc. Glutàmic, Prolina, Serina, Àc. Aspàrtic...

El contingut de prolina augmenta a mesura que va madurant el raïm. En canvi, l'augment o la disminució en el contingut d'arginina és independent al grau de maduració, i és determinat per la varietat vinífera. Els anys càlids donen normalment un contingut de prolina als mosts més elevats que els anys freds.

Seguidament de la prolina i l'arginina, l'α – alanina es el tercer aminoàcid que es troba més abundantment.

El contingut d'aminoàcid al most depèn de la varietat, de l'origen geogràfic, de les condicions climàtiques, del grau de maduració i dels tractaments pre – fermentatius com el temps de maceració i el desfangament.

L'alanina, arginina, asparagina, àcid aspàrtic, àcid glutàmic, leucina i valina promouen un bon creixement del llevat utilitzats com a única font de nitrogen. L' isoleucina, metionina, fenilalanina, serina i triptòfan donen lloc a un creixement entre bo i moderat mentre que la cisteïna, glicina, histidina, prolina i treonina són fonts pobres de nitrogen.

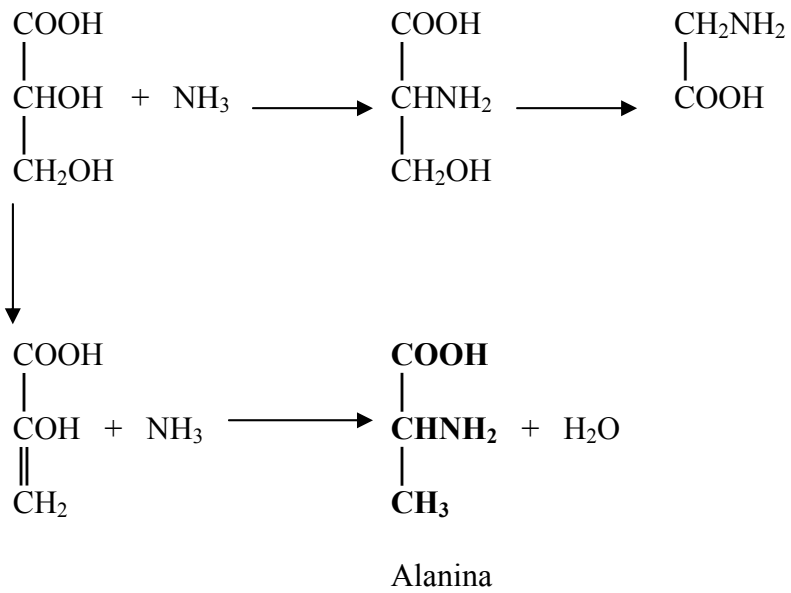
La lisina com a única font de nitrogen té efecte inhibidor del creixement de Saccharomyces cereviciae. Aquesta inhibició s'anul·la en el moment en que apareixen altres fonts nitrogenades. En canvi, molts altres llevats poden utilitzar la lisina com a única font de nitrogen. Així mateix, la glicina es inhibitòria pel creixement del llevat i desenvolupament de la fermentació alcohòlica.

D'altra banda, la prolina i la glicerina protegeixen el llevat de l'estrès osmòtic que provoca l'alta concentració en sucres.

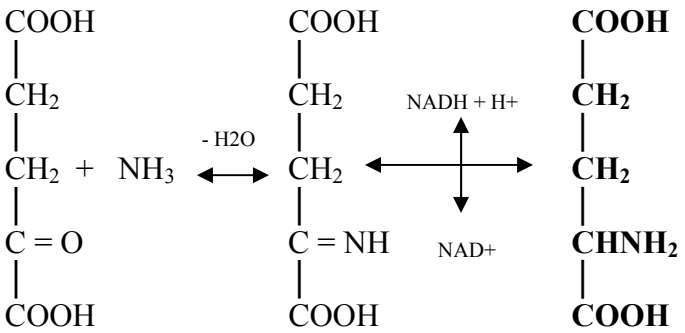
Hi ha varies vies simultànies per la biosíntesi dels aminoàcids. La formació principal té lloc a la planta, però també són els llevats que mitjançant diverses síntesis transformen uns amb uns altres.

A continuació s'expliquen varies vies de biogènesis que utilitzen els aminoàcids:

- Dins aquest primer grup s'inclouen els aminoàcids més senzills, que a partir de l'àcid glicèric i seguin els següents passos portarà a la formació de l'alanina:

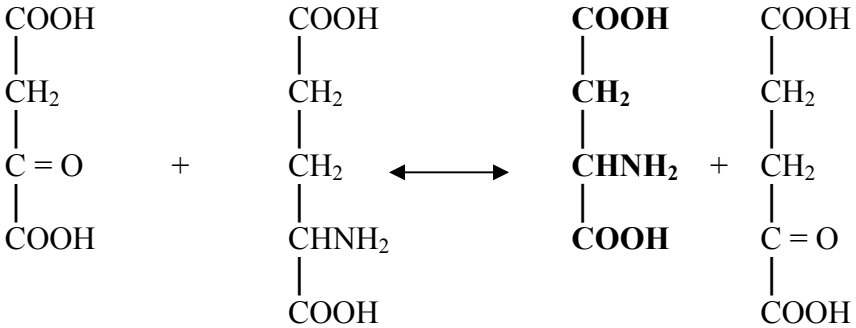


- Dins aquest segon grup s'inclou l'àcid glutàmic un dels que apareix amb més freqüència. En aquest cas es sintetitza a través de l'aminació de l'α – cetoglutàric:



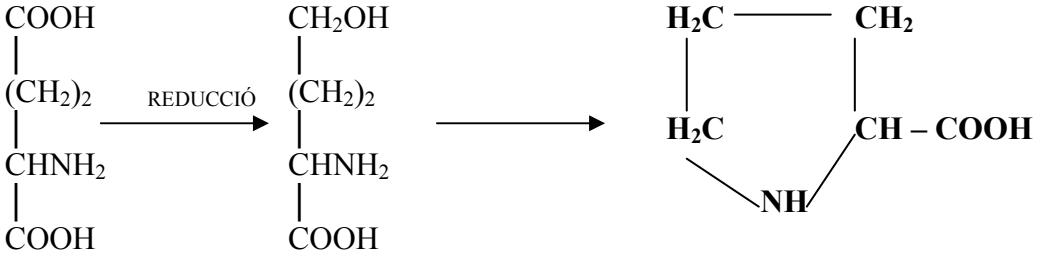
Àc. Glutàmic

- Dins aquest tercer esquema hi ha el que s'anomena transaminació que és la reacció entre un α – aminoàcid i un α – cetoàcid per donar l'àcid aspàrtic i l'α – cetoglutàric:



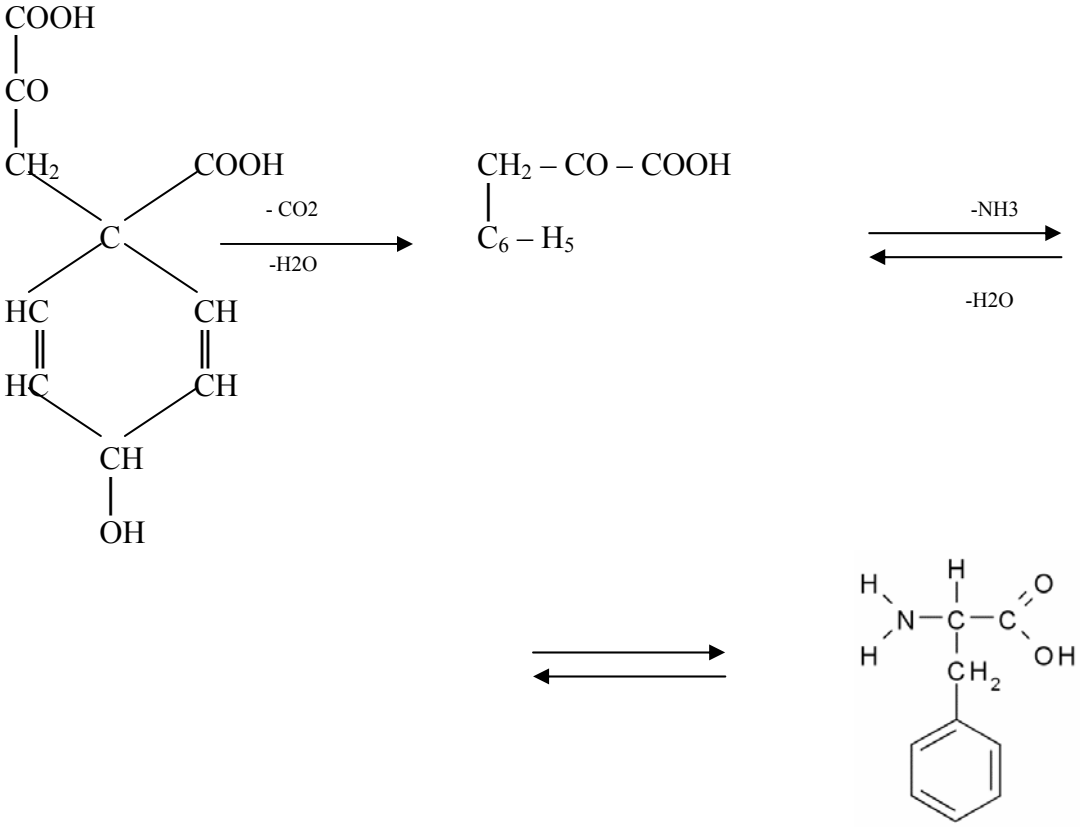
Àc. Aspàrtic

- A continuació hi ha la formació d'una aminoàcid cíclic, la prolina a partir de l'àcid glutàmic:



Prolina

- Els aminoàcids aromàtics tenen importància enològica per participar a la síntesis dels àcids fenòlics a la vinya i dins la fermentació del most. A continuació es representa la via metabòlica en la qual es troba la formació de la fenilalanina a partir de l'àcid xiquímic:

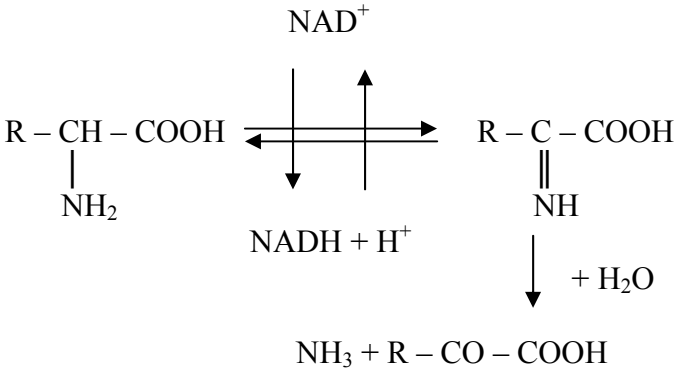


Fenilalanina

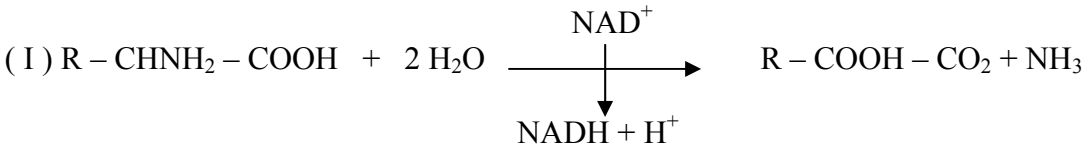
Les vies d'assimilació dels aminoàcids per part dels llevats s'expliquen a continuació. Hi ha tres vies principals d'assimilació d'aminoàcids per part dels llevats:

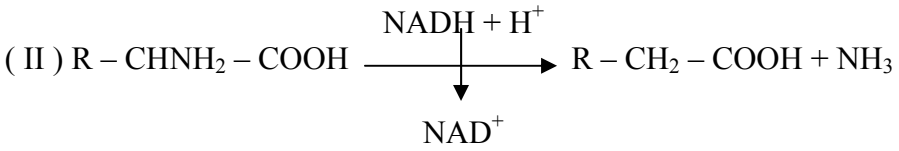
1. La via més utilitzada és la via directe, utilitzada en un 80% i anomenada de Thorne.

2. Un 15% utilitza la via d'Ehrlich, per oxidació i alliberació d'amoni per hidròlisis quedant la resta com a cetoàcid.



3. El 5% restant es fa a través de la via de Stickland on es desprèn l'amoni mitjançant una oxidació reducció (I o II):





L'àcid aspàrtic constitueix una forma de reserva de l'àcid oxalacètic amb el qual segons les necessitats que tingui el cep pot ser transformat o bé en sucres o bé en àcid màlic, al llarg del procés de maduració.

Quan s'aproxima el moment de la maduració el contingut d'aminoàcids creix. Aquest fet s'explica per un descens de la proteosíntesis (síntesis de proteïnes) observant – se un augment exponencial de la prolina una o dues setmanes abans de la verema..

Les peptones i proteïnes són molècules de gran tamany que no es poden moure, per la qual cosa el que es fa és sintetitzar – les al mateix lloc a partir de les substàncies precedents. Una vegada s'ha arribat a la maduració la quantitat de proteïnes pot variar de 1.5 a 100 mg / L.

Les peptones o pèptids (polímers d'aminoàcids) tenen una massa molecular inferior a 10 KDa mentre que les proteïnes arriben a aconseguir un pes aproximadament entre 15 a 25 KDa en una verema poc madura i fins a 35 – 40 KDa per a veremes més madures.

Les proteïnes i pèptids no són font preferent de nitrogen dels llevats durant la fermentació alcohòlica, i només poden contribuir en l'aportació de nitrogen en situacions en que s'han esgotat les fonts de NFA. En aquestes situacions els llevats activen el seu sistema enzimàtic per poder degradar les proteïnes i pèptids del most o fi de reduir – los en forma d'aminoàcids assimilables. L'interès de les proteïnes no està relacionat amb l'aportació que poden fer al vi sinó als diferents problemes tecnològics que poden presentar durant l'elaboració del vi. Degut a la seva naturalesa col·loïdal dificulten operacions com la filtració, per la qual cosa es realitzen diferents tractaments (aplicació d'argiles, bentonites,...) eliminant part d'aquestes molècules per tal de minimitzar el seu efecte.

Són les responsables, les proteïnes de l'aparició de la terbolesa a l'ampolla, defecte que s'anomena trenca proteica. En el procés d'estabilització del vi, es relacionen les proteïnes amb l'endarreriment de la precipitació del tartrat de potassi.

Les proteïnes són agents escumant, fet que es un inconvenient durant la fermentació alcohòlica ja que pot provocar desbordaments a les tines de fermentació. La utilització de tensioactius han solucionat el problema de manera satisfactòria. En canvi la presència de les proteïnes dins els vins escumosos permet l'estabilització de les bombolles i la formació del cordó i la corona d'escuma.

La concentració i distribució de proteïnes es veu afectada per un gran nombre de factors des de la brotació del cep fins al consum final del vi. La concentració augmenta al llarg de la maduració, de manera que els vins elaborats a partir de mostos de raïms madurs contenen més proteïnes i es detecten proteïnes que no apareixen en raïm més verds. La verema mecànica també influencia sobre les proteïnes ja que en fa augmentar el contingut.

L'obtenció de most en l'elaboració de vi blanc, que va precedida per una maceració pel·licular (contacte de suc de raïm i pells) tindrà una major concentració en proteïnes. L'acció de sulfitar la pasta de verema ens fa disminuir el contingut en proteïnes així com també l'obtenció d'una verema sencera (raïm i rapa).

L'augment de la pressió de premsat també ens fa augmentar la concentració en proteïnes. Una vegada obtingut el most, durant el desfangament s'observa una activitat proteolítica que degrada parcialment les proteïnes del most. Les proteases del raïm es troben en les part sòlides i en la polpa, i per tant la decantació fa que disminueixi l'activitat proteolítica. La fermentació alcohòlica, amb el posterior augment d'alcohol fa disminuir la concentració de nitrogen proteic.

Els tractaments post – fermentatius com per exemple la clarificació amb proteïnes d'origen animal, el tractament criogènic[6] amb l'objectiu d'eliminar sòlids en suspensió i en dissolució, fan precipitar les proteïnes inestables i per tant fan disminuir la quantitat de proteïna al vi.

Els pèptids que s'inclouen en els mostos són els de massa molecular inferior als 1000 Da. Aquests són font nitrogenada principal per a bacteris làctics que desenvolupen la fermentació malolàctia.

Els nucleòtids reforcen les aromes al vi i formen aroma als vins escumosos. Poden servir coma a úniques fonts de nitrogen, però les petites quantitats trobades al most fan pensar que serveixen per suplir les necessitats biosintètiques dels llevats.

Les amines que es troben en més quantitat al most són principalment la putrescina, espermina i l'espermidina en concentracions per sota dels 0,1 a 2,2 mg / L. El contingut d'amines al most pot tenir incidència en la producció d'urea per part dels llevats, ja que són intermediaris del metabolisme de l'arginina, precursor de l'urea.

Els Saccharomyces Cerevisiae poden utilitzar les amines presents al most directament com a amines cel·lulars o degradar - les via àcid α – aminobutíric i β – alanina a glutamat, i utilitzant aquest últim com a font de nitrogen.

A les amines anomenades anteriorment cal afegir – hi la cadaverina, etilamina, histamina, isoamilamina, isopropilamina, metilamina, feniletilamina i tiramina amb concentracions per sota de 0,1 mg / L a poques desenes. L'amina més abundant al vi és la putrescina. Aquestes amines es troben en més quantitat en vins negre que en vins blancs.

Els vins produïts en condicions d'higiene òptimes no contenen gairebé amines i que l'interès de la valoració de l'histamina seria un indicador de les condicions higièniques de la vinificació.

Pel que fa a les vitamines es sintetitzen de manera important i s'acumulen a la baia els darrers dies de maduració de la vinya. La fermentació alcohòlica altera el contingut vitamínic del most. Els llevats poden sintetitzar les vitamines que manquin al medi, però a una velocitat molt lenta que provoca endarreriment de la fermentació alcohòlica. La tiamina, que actua sobre el ritme de la fermentació, desapareix quasi al complet. La riboflavina, és produïda pels llevats i és indispensable pels bacteris làctics. La nicotinamida es troba en vins negres en les mateixes quantitats que al most, en canvi en vins blancs representa quasi bé el 60 % dl contingut inicial. L'àcid pantotènic, la piridoxina i la biotina són utilitzats pels llevats i retornats al medi, per tant el contingut inicial i final quasi bé són idèntics. Mancances d'àcid pantotènic comporten una acumulació d'àcid acètic per part dels llevats. L'àcid ρ – aminobenzoic, és indispensable pels llevats, però essencial amb l'àcid fòlic pels bacteris làctics.

[6] Relatiu o pertanyent a la criogènia. La criogènia és la designació genèrica de les tècniques de producció, manteniment i aplicació de temperatures baixes.

Les cèl·lules de llevats fermentatius cal que incorporin els compostos nitrogenats per tal de desenvolupar les seves funcions metabòliques bàsiques amb la finalitat de créixer, desenvolupar – se i poder realitzar la fermentació alcohòlica.

Podem distingir dos classes de compostos nitrogenats transportats a l'interior dels llevats. Un grup serveixen com a font de nitrogen i els compostos que formen part són catabolitzats al entrar a la cèl·lula. Els sistemes de transport d'aquests compostos mantenen característiques i patrons de control comuns als enzims de degradació. L'altre grup està format per compostos que són precursors i intermediaris biosintètics, i s'incorporen més o menys directament a macromolècules sense ser catabolitades prèviament. En aquest cas els sistemes de transport tenen patrons de regulació similars als sistemes enzimàtics biosintètics.

En medis pobres en fonts nitrogenades fàcilment assimilables, els llevats poden activar la seva maquinària enzimàtica extracel·lular per obtenir aminoàcids a partir de la degradació de proteïnes i pèptids grans.

La captació i la utilització dels components nitrogenats per part del llevat en situació de disponibilitat es descriu tot seguit a continuació (fig.1):

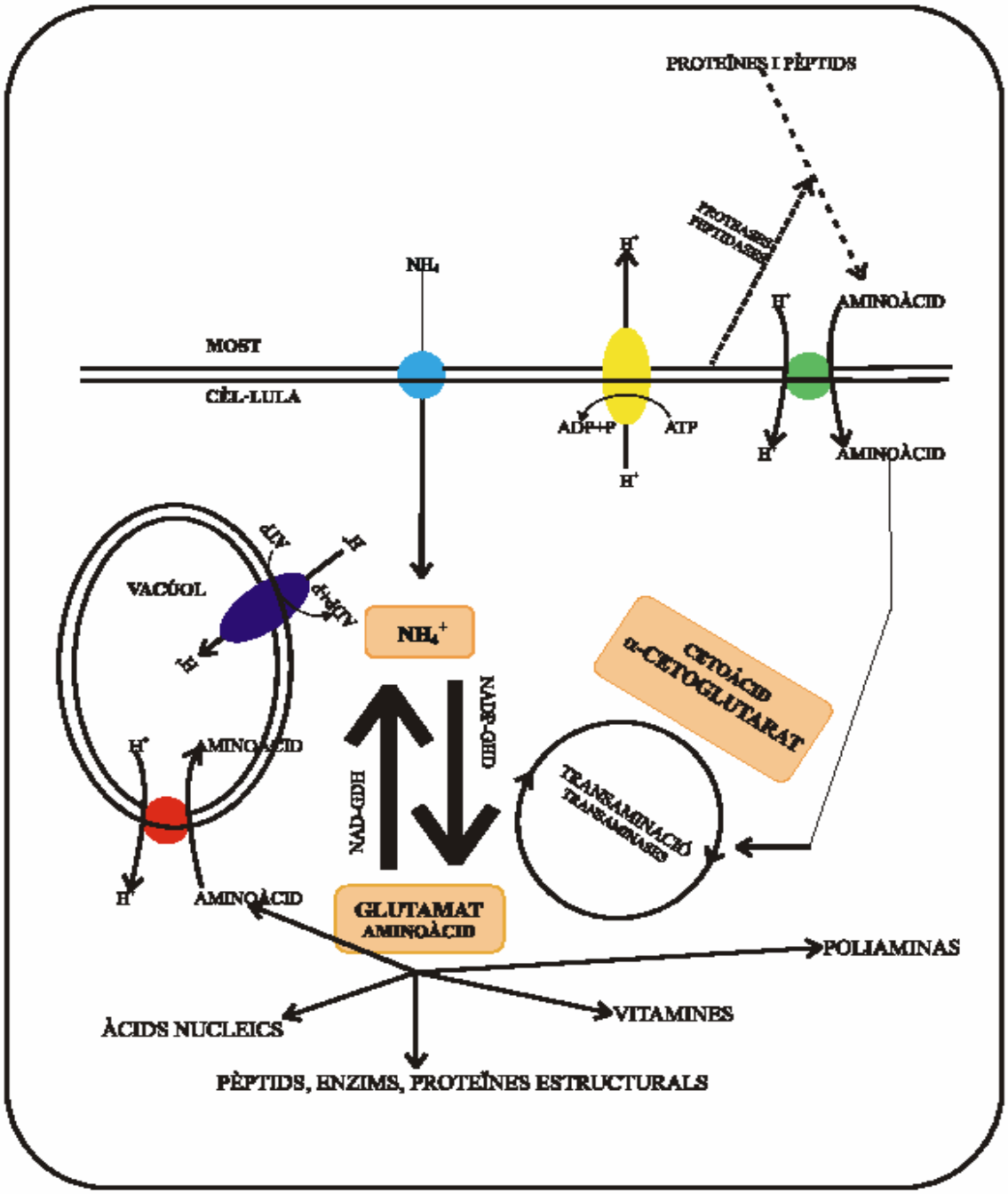


Fig.1. Captació i utilització dels components nitrogenats

Captació:

El transport d'amoni al igual que el transport dels aminoàcids es realitza per un simport amb un protó. La qual cosa requereix de l'extrussió d'aquest per l'ATPasa per tal de mantenir el potencial de la membrana plasmàtica (Fig.1 esquema pàgina anterior). En aquest cas la cèl·lula obté un nitrogen per protó. La glucosa i fructosa , sucres majoritaris al suc de raïm, es transporten per difusió facilitada, sense implicació de cap moviment de ions i conseqüentment no hi ha interferència entre el sistema de transport de nitrogen amb el de carboni degut a les limitacions d'extrussió de protons per l'ATPasa. L'amoni es ràpidament utilitzat com a font preferent de nitrogen.

Tipus de transportadors d'aminoàcids:

Es poden distingir dos tipus de transportadors d'aminoàcids:

- Permeases[7] específiques per un o pocs aminoàcids: l'activitat de les quals no està limitada per la presència d'amoni. Aquestes permeases asseguren la ràpida captació dels aminoàcids en els primers estadis de la fermentació alcohòlica, l'inici de la fase de creixement dels llevats.

- Permeases generals dels aminoàcids (GAP): la GAP està inhibida per l'amoni, i per tant només es activa quan el most ja no conté amoni, és a dir quan ja està avançada la fermentació. La GAP sembla ser que funcionaria coma un recuperador de nitrogen quan les fonts fàcilment assimilables s'han esgotat. La GAP és la principal ruta d'entrada per tot un seguit d'aminoàcids, com poden ser: la glicina, alanina, fenilalanina, triptòfan, i la tirania.

Factors que afecten a la captació:

A mesura que es va efectuant la fermentació alcohòlica va augmentant el contingut en etanol, producte clarament negatiu per a la captació. L'etanol canvia les propietats de la membrana plasmàtica dels llevats, incrementant la permeabilitat dels protons, i per tant es dissipa la força motriu de protons a través de la membrana, necessària per a la captació dels compostos nitrogenats.

La temperatura de desenvolupament de la fermentació afecta a la velocitat de captació, en el sentit de a més baixes temperatures disminueix la velocitat. No tots els transportadors es veurien afectats per la temperatura, per exemple l'acumulació d'amoni és bastant independent de la temperatura. La pressió de CO_2 redueix la velocitat i prolonga la captació d'aminoàcids.

Un altre aspecte a tenir en compte és l'aireig: la utilització de la prolina per part dels llevats és dependent del grau d'aireig. Durant la fermentació alcohòlica es tendeix a minimitzar l'aireig, fet pel qual provoca que la captació de la prolina sigui gairebé nul·la.

[7] Sistema transportador específic a través de membranes biològiques de natura totalment o parcialment proteica.

Els sistemes de transport es veuen afectats per la fluïdesa de la membrana plasmàtica la qual és dependent principalment de la composició dels lípids estructurals, com són l'esterol i els àcids grassos insaturats. El llevat requereix O_2 per sintetitzar aquests lípids, per tant el grau d'aireig també afectaria la captació.

Metabolisme:

L'amoni i l'àcid L – glutamat són els compostos centrals de tot metabolisme nitrogenat dels llevats. Un compost nitrogenat es pot utilitzar com a única font de nitrogen per a mantenir el creixement del llevat sempre que ens permeti la formació d'amoni o α – cetoglutarat. Hi ha dues reaccions químiques bàsiques per a la conversió en aquestes dues molècules:

1. NAD – Dependent Glutamat – Dehidrogenasa (NAD – GDH):

$$\text{L – Glutamat} + \text{NAD} \longrightarrow \alpha\text{ – cetoglutarat} + \text{NADH}^+ + \text{NH}_4^+$$

2. NADP – Dependent Glutamat Dehidrogenasa (NADP – GDH)

$$\text{NH}_4^+ + \text{NADPH} + \alpha\text{ – Cetoglutarat} \longrightarrow \text{L – Glutamat} + \text{NADP}^+ + \text{Pi} + \text{NADP}^+$$

Així i tot si la disponibilitat d'amoni és reduïda altres enzims intervenen de manera més significativa. És el cas de la Glutamina Sintetasa i Glutamat Sintetasa (Glutamina Amida: 2 – Oxoglutarat Aminotransferasa o GOGAT). Les reaccions de les quals són les següents:

- $\text{L – Glutamat} + \text{NH}_4^+ + \text{ATP} \xrightarrow{\text{Glutamina Sintetasa}} \text{L – Glutamina} + \text{ADP} + \text{Pi}$

- $\alpha\text{ – Cetoglutarat} + \text{NH}_4^+ + \text{ATP} + \text{NADPH} + \text{H}^+ \xrightarrow{\text{GOGAT}} \text{L – Glutamat} + \text{H}_2\text{O} + \text{ADP}^+$

La Glutamina sintetasa té una rellevància en el sentit que catalitza el primer pas de les vies encarregades de la síntesi de moltes macromolècules de vital importància per a la cèl·lula. L'enzim GOGAT necessita una major quantitat d'energia que no pas el GDH per a dur a terme la reacció de conversió de les formes de nitrogen.

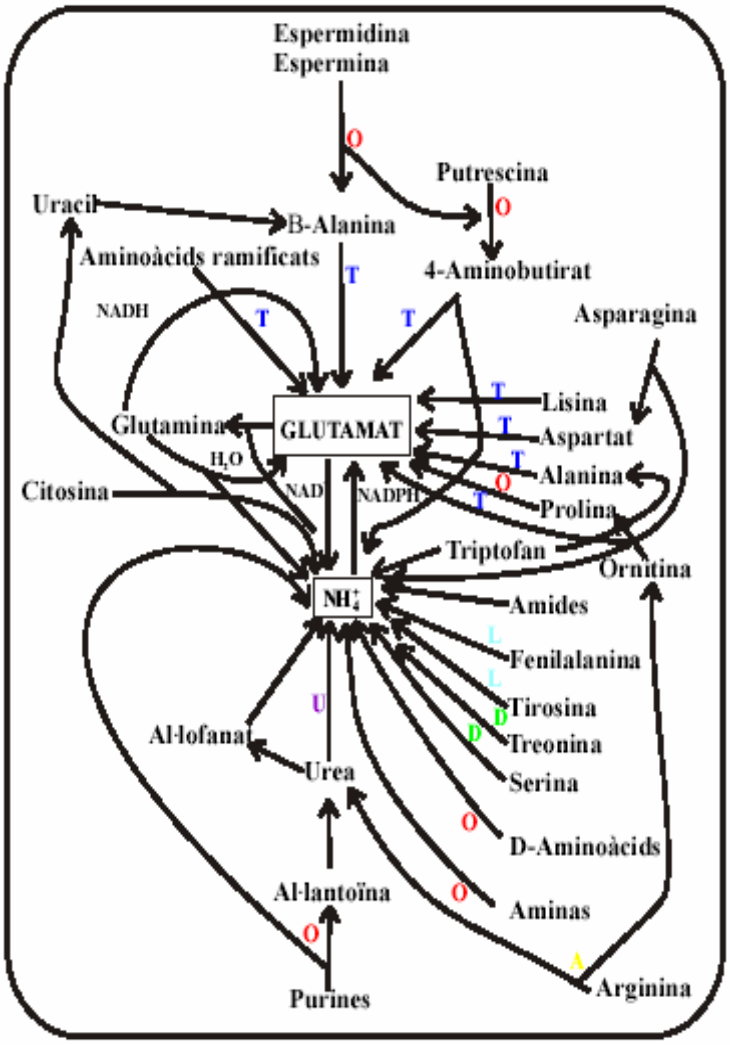
El glutamat serveix a través de les reaccions de transaminació[8] com a portador de grups aminats per a la biosíntesi d'aminoàcids.

[8] Reacció química formal que implica la transferència d'un grup amino d'un compost orgànic a un altre.

Productes:

El contingut en compostos nitrogenats del most i la metabolització per part del llevat influeixen i contribueixen a la formació de productes amb una gran importància en la qualitat final del vi, tant des del punt de vista aromàtic com sanitari. Així veiem que els compostos nitrogenats afecten a les propietats sensorials del vi, i augmenten la formació de metabólits.

Dins la figura 2 que es presenta a continuació s'exposen els productes catabòlics dels components nitrogenats i les seves interrelacions.



A: Arginasa
D: Deshidratasa
L: Amoni Liasa
O: Oxidasa
T: Aminotranferasa
U: Ureasa

Fig. 2. Productes Catabòlics dels components nitrogenats i les seves interrelacions.

Els compostos nitrogenats intervenen en la formació d'alcohols superiors i ésters, que juntament amb els àcids orgànics i, en menys mesura els aldehids formen el que anomenem el bouquet de fermentació. La formació de sulfur d'hidrogen també està regulada per la disponibilitat de nitrogen. Aquest compost juntament amb altres compostos de sofre intervenen de manera negativa en l'aroma del vi.

A continuació es dona un esquema (Fig. 3) en el qual es veu a partir del metabolisme del sucre, aminoàcids i sofre per part dels llevats l'obtenció de compostos que formen part de l'aroma del vi.

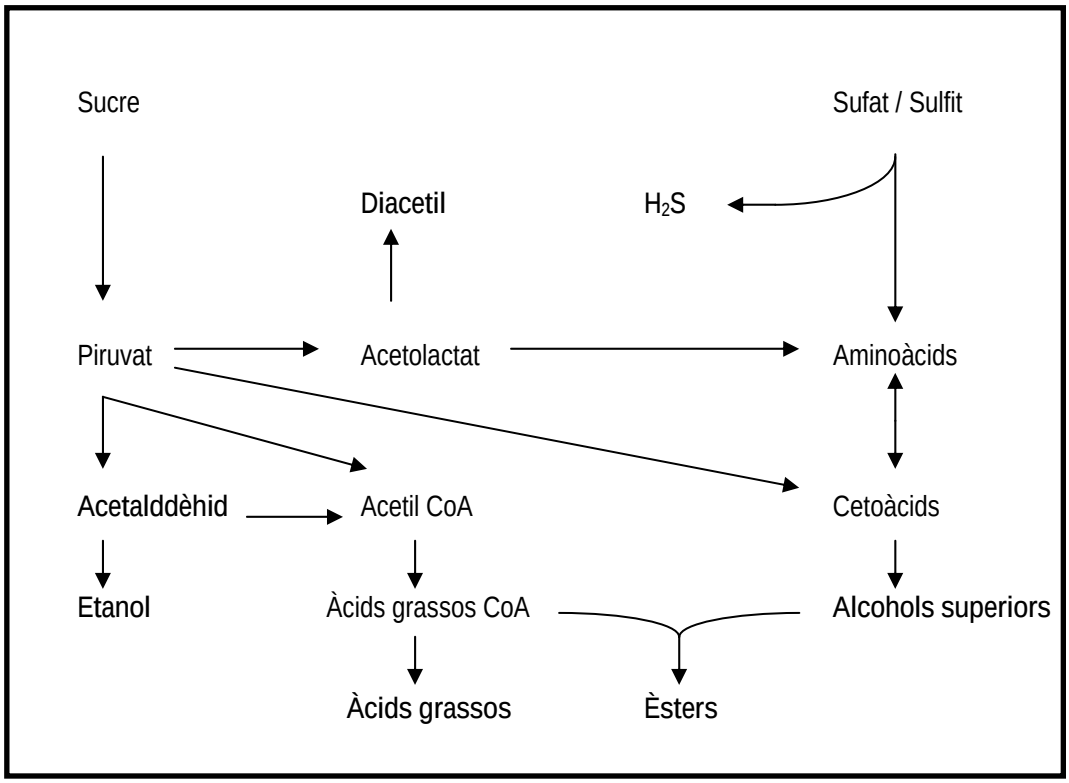


Fig. 3. Origen dels compostos que formen l'aroma del vi.

Els alcohols que es formen durant la fermentació alcohòlica amb un nombre major d'àtoms de carboni s'anomenen alcohols superiors. N'existeixen de dos tipus bàsicament i s'anomenen:

- Alcohols alifàtics[9]: n – propanol, 2 – metil – 1 – propanol (isobutanol), 2 – metil – 1 – butanol, 3 – metil – 1 – butanol.

- Alcohols aromàtics: hexanol, 2 – feniletanol.

[9] Compostos orgànics acíclic.

L'origen d'aquests compostos volàtils es deu tant a la metabolització dels sucres com dels aminoàcids, sobretot pel que fa als ramificats. La contribució de la formació d'aquests alcohols superiors és menor al de la degradació de sucres.

Els cetoàcids[10] formats a partir de la desaminació[11] (o transaminació[12]) dels aminoàcids poden ser excretats directament o després de la descarboxilació en aldèhid i la conseqüent reducció en alcohol. Aquest mecanisme, Fig.4, rep el nom de reaccions d'Ehrlich (que anteriorment ja ha estat introduïda):

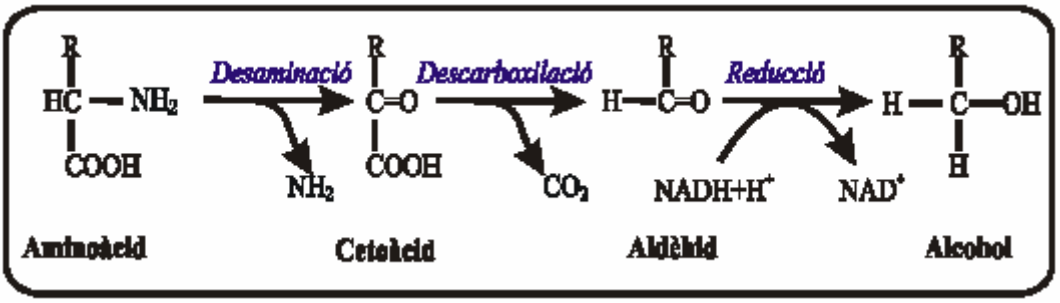


Fig.4 Formació d'alcohols a partir d'aminoàcids

A excepció del feniletanol els altres alcohols superiors del vi solen ser més aviat desagradables al nas. La pràctica enològica ha d'estar encaminada a limitar la formació d'aquests alcohols.

Les elevades temperatures de fermentació, el pH elevat i l'oxigenació, són condicions que fan augmentar les quantitats d'alcohols superiors, no evitables en vinificació en negre però controlables en blanc.

La clarificació dels mostos per desfangat dóna vins amb menor quantitat d'alcohols superiors, i si aquesta es realitza per filtració la producció d'alcohols superiors serà independent a la temperatura de fermentació.

Les mancances en NFA porten a una formació incrementada en alcohols superiors, ja que els llevats sota aquesta condició mobilitzen el nitrogen disponible per transaminació, i excreten en forma d'alcohols superiors l'esquelet carbonat inutilitzat.

Els llevats al llarg de la fermentació alcohòlica produeixen, gràcies a les activitats esterases varis mg / L d'èsters, els més importants dels quals són els següents:

- Acetats d'alcohols superiors
- Èsters d'àcids grassos de cadena mitjana.
- Èsters etílics d'aminoàcids

[10] Àcid carboxílic amb una o varies funcions cetòniques.
[11] Eliminació del grup amino ($-NH_2$) amb la formació d'amoniac.
[12] Reacció química formal que implica la transferència d'un grup amino d'un compost orgànic a un altre.

Els ésters d'alcohols superiors amb més rellevància al vi són l'acetat d'isoamil (amb olor a plàtan) i l'acetat de feniletil (amb olor de rosa).

Els llevats sintetitzen els acetats d'alcohol de la mateixa manera que sintetitzen els àcids grassos, la hidròlisi amb aigua dels derivats acetil - CoA donen els àcids grassos i la hidròlisi amb etanol dona els acetats. La formació d'èsters està relacionada amb la disponibilitat d'alcohol (etanol) i la demanda d'acetil – CoA del llevat per a la síntesi d'àcids grassos.

El sulfur d'hidrogen pot contribuir de manera significativa a l'aroma del vi , degut a les seves reactivitats i als llindars baixos de percepció. Té una roma desagradable que recorda a ous podrits. Estudis recents indiquen que grans quantitats de H_2S poden ser la causa de la producció d'altres compostos sulfurats volàtils no desitjats. Una de les possibles fonts de H_2S és la reducció del S elemental per part dels llevats, residu de les aplicacions fitosanitàries dels vinyers.

El llevat pot formar H_2S a partir del S elemental, sulfat, sulfit i la cisteïna. Aquest compost és producte de la Seqüència de Reducció del Sulfat (SRS), en la qual l'H_2S, és un intermediari de la biosíntesi de tots els compostos que contenen sofre, inclosos els aminoàcids, metionina, cisteïna, i el aportador de grups metil, S – adenosilmetionina. D'aquesta manera la seva producció en el vi està relacionada tant amb el metabolisme del sofre com del nitrogen.

Les altes temperatures de fermentació, pH alt i mostos poc desfangats donen lloc a vins amb més contingut en H_2S. Deficiències en piridoxina (Vit – B_6) i àcid pantotènic també provoquen grans produccions de H_2S.

Com que el carbamat d'etil és considerat com un possible cancerigen humà i es produeix en molts aliments i begudes fermentades per la pròpia activitat metabòlica dels microorganismes cal reduir al màxim les quantitats d'aquest al vi.

Els vins joves, tal com s'ha explicat anteriorment, no contenen nivells de carbamat d'etil detectables, els precursors necessaris presents poden generar aquest compost quan el vi envelleix o s'emmagatzema a altes temperatures. Les begudes amb gran quantitat d'alcohol contenen més carbamat d'etil que els vins joves.

L'aparició d'aquest compost en aquestes begudes, està motivat per la reactivitat dels compostos carbamils, com poden ser la urea, o la citrulina (en menys mesura), amb etanol en condicions àcides:

$$NH_2 - CO - NH_2 \quad + \quad C_2H_2OH \longrightarrow CH_3CH_2NH_2COOH$$

L'origen principal de l'urea al llarg de la fermentació alcohòlica és la ruptura enzimàtica de l'arginina per l'arginasa, que allibera urea i ornitina. La urea pot ser finalment degradada en amoni i CO_2 per la urea carboxilasa i l'al·lofanat hidrolasa.

Amb l'ajuda de l'Ureasa àcida tenim una solució viable per l'eliminació de la urea en vins.

La indústria vitivinícola recorre a diferents additius per corregir deficiències nutritives de mostos, a fi d'evitar problemes com aturades o endarreriments de les fermentacions alcohòliques i aconseguir una qualitat òptima del vi.

Existeixen molts factors que tenen gran incidència en el desenvolupament de la fermentació alcohòlica i que ens poden produir aturades o endarreriments en aquest procés: és el cas de l'aportació d'oxigen, la temperatura de fermentació, factors de creixement i per últim i en el que ens centrarem el nitrogen assimilable.

El mínim nitrogen assimilable necessari pels llevats per tal de portar a terme una bona fermentació es situa en uns 150 mg / L. Els mostos que es troben per sota aquesta concentració tenen compromesa tant la cinètica de fermentació, com la qualitat del vi. Per nivells entre 150 i 250 mg / L la qualitat del vi pot quedar ressentida. Pel que fa a nivells superiors estaríem dintre els nivells de seguretat. Les possibles addicions que es realitzin als mostos tenen per objectiu arribar a les quantitats de nitrogen disponible al nivell de seguretat, respectant el màxim imposat per la llei.

Com s'ha explicat anteriorment diferents fonts nitrogenades són emprades per suplementar mostos deficients, com les sals amoniacals (fosfat de diamoni, sulfat d'amoni), urea, extracte de llevats, i preparats comercials anomenats "yeast foods". A nivell pràctic el sulfat d'amoni ($(NH_4)_2SO_4$) no és utilitzat perquè pot ser una font de H_2S. El fosfat de diamoni ($(NH_4)_2HPO_4$) és la font nitrogenada emprada més estesa, el qual aporta un 21,2 % de nitrogen p/p. Valors per sobre els 300 mg / L són quantitats permissibles per la legislació europea.

L'addició de fosfat de diamoni en qualsevol moment de la fase exponencial de creixement del llevat, fa augmentar ràpidament el creixement dels llevats i la velocitat de fermentació, de manera que disminueix el temps total de fermentació. El millor moment d'addició d'una font nitrogenada seria a la meitat de la progressió de la fermentació alcohòlica.

En relació a la qualitat del vi l'addició de fosfat de diamoni, augmenten significativament el contingut en èsters del vi, i disminueixen les quantitats d'alcohols superiors. També disminueix la formació d'H_2S. Per tant l'addició de substàncies nitrogenades contribueixen a la qualitat aromàtica del vi.

Els extractes de llevats a més de ser fonts nitrogenades en forma d'aminoàcids, són factors de creixement i de supervivència. Els "yeast foods" són mescles de fonts nitrogenades, vitamines, sals minerals, extractes de llevats en proporcions elaborades pels fabricants. Es solen afegir alhora amb el fosfat de diamoni.

B.5 Síntesi i evolució dels polisacàrids

Durant l'últim període de maduració es produeix una solubilització o hidròlisi parcial de les pectines parietals (les que formen les parets del raïm), sota la influència dels enzims pectolítics naturals que conté el raïm, cosa que explica la presència de l'àcid galacturónic al most, així com petites quantitats d'alcohol metílic. Els polisacàrids pèctics o pectines són polímers de l'àcid galacturónic i d'altres oses neutres com galactosa, arabinosa, etc. essent un elevat percentatge de les seves funcions àcides unides per enllaços metílics.

A la polpa, la multiplicació cel·lular i l'augment del volum de la mateixa no està acompanyat d'un creixement proporcional de les parets cosa que fa que es debilitin. Durant el període herbaci els principals components que formen la polpa són la cel·lulosa ($(C_5H_{10}O_5)_n$) i la hemicel·lulosa, apareixent després del període del verolat una gran quantitat de pectines que serveixen com a cola per configurar una major rigidesa.

El raïm és relativament pobre en compostos pèctics, en comparació amb d'altres fruits, essent formats de tres components majoritaris:

- Homogalacturonans: són cadenes lineals de l'àcid D – galacturónic unit en α (1 – 4) i formant les anomenades zones llises de la paret cel·lular. Són esterificats parcialment amb metanol i passen a àcid acètic. Són molt sensibles a la hidròlisi dels enzims

  pectolítics amb la qual cosa la part llisa de les parets cel·lulars és ràpidament degradada amb la posterior alliberació de les altres substàncies contingudes a les zones eriçades de les cèl·lules.

- Ramnogalacturonans I: resulten de la inserció de l'α - L – ramnosa entre una cadena d'àcid galacturónic, en forma d'espiral allargat i on s'ajunten lateralment en angle de 90º monosacàrids, arabinogalactans de tipus I i II (polisacàrids formats per arabinosa i galactosa) que són els que conformen un aspecte eriçat de les parets cel·lulars. Els arabinogalactans II són polisacàrids del most en concentracions de 100 a 200 mg/Lper a vi negre i de 50 a 150 mg/L per a blancs.

- Ramnogalacturonans II: són polisacàrids pèctics àcids, amb una estructura semblant a la dels homogalacturonans amb una cadena de 8 molècules d'àcid galacturònic. Es conserven sota aquesta forma en tots els teixits del regne vegetal i representen d'un 0,5 a un 5% de les parets primàries dels teixits.

- Xilogalacturonans i apigalcturonans │ Minoritaris

La síntesi d'aquestes substàncies es realitza a la mateixa baia a partir de la glucosa – 6 – fosfat:

Glucosa – 6 – fosfat $\xrightarrow{\text{fosfoglucomutasa}}$ glucosa – 1 – fosfat

Glucosa – 1 – fosfat + uridintrifosfat [a] (UTF) $\longleftrightarrow$ uridindifosfatglucosa (UDFG) + pirofosfat[c]

Uridindifosfatglucosa [b] + galactosa $\longrightarrow$ galactana + uridindifosfat [1]

Uridindifosfatglucosa + arabinosa $\longrightarrow$ arabana + uridindifosfat

1. uridindifosfatgalactosa (UDFGa) $\xrightarrow{\text{oxidació}}$ uridintrifosfat (UTF) + àc. Galacturònic [d]

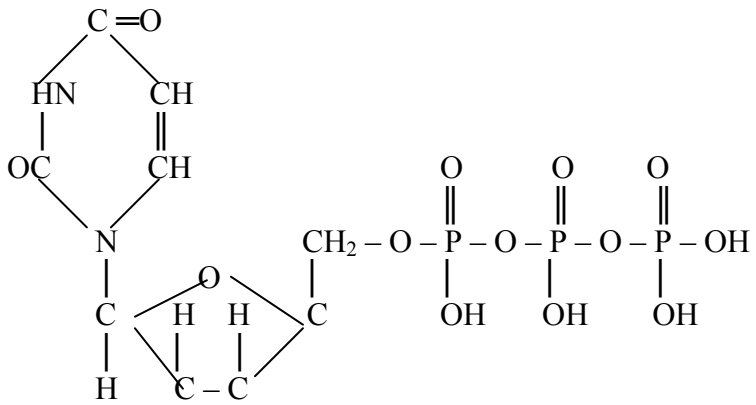
Uridindifosfatglucosa (UDFG) + fructosa $\longrightarrow$ uridindifosfat (UDF) + glucosa

(b) Des de la molècula de UDFG es poden formar tots els polisacàrids presents al raïm, substituint la molècula de glucosa per hidrats de carboni, com galactosa o arabinosa i formant – se galactana o arabana

(c) El pirofosfat que s'ha format queda alliberat al medi.

(d) L'àcid galacturònic és la molècula elemental de les substàncies pèctiques.

(a) Uridintrifosfat (UTF)



B.6 Síntesi i evolució dels compostos fenòlics

Els compostos fenòlics són els principals causants de la coloració del raïm i apareixen sobtadament durant el període del verolat substituint la clorofil·la, que fins llavors feia que el gra de raïm es comportés com un òrgan verd més de la planta, per convertir – se en un òrgan d'acumulació de diverses substàncies.

Hi ha dues teories que expliquen la síntesi d'aquests compostos fenòlics:

- La síntesi dels compostos fenòlics és una conseqüència col·lateral de la formació i acumulació de sucres al grà de raïm. A partir de les hexoses i mitjançant el cicle de les pentoses – fosfat hi ha la formació de l'eritrosa – 4 – fosfat. Aquest compost a través de la via de l'àcid xiquímic forma els àcids benzoics i aminats, acabant per la formació d'altres polifenols (flavones, antocians, flavonoides, tanins,...)
- Per altre part a través de la formació de la glicòlisis, a partir de 3 molècules d'àcid pirúvic es pot formar una molècula de cicle benzènic donant lloc als compostos anomenats anteriorment.

Hi ha una gran acumulació de polifenols a la pellofa del raïm com a conseqüència de que és aquí on s'ubica el principal enzim que els sintetitza. Dins el període herbaci la concentració d'aquest enzim és màxim a les llavors decreixent durant la maduració; mentre que a la pellofa del raïm, apareix la concentració d'aquest enzim bruscament durant el verolat, existint una estreta relació entre l'activitat de l'enzim i la síntesi dels compostos fenòlics.

Un altre enzim, la calco – sintetasa, específic d'una altre via de síntesi dels compostos fenòlics, arriba a la seva màxima concentració durant el verolat per llavors disminuir amb rapidesa.

L'evolució de la síntesi dels compostos fenòlics està descrita a continuació (Fig.1):

- Antocians: apareixen durant el verolat i s'acumulen durant la maduració, arribant al seu punt més àlgic quan la relació entre sucres/acidesa al raïm és màxima.
- Tanins: també s'incrementa durant el verolat encara que la seva acumulació és més lenta i el seu màxim s'arriba alguns dies més tard que els antocians. Els tanins de les llavors sofreixen un progressiu descens des del verolat fins a la maduració.

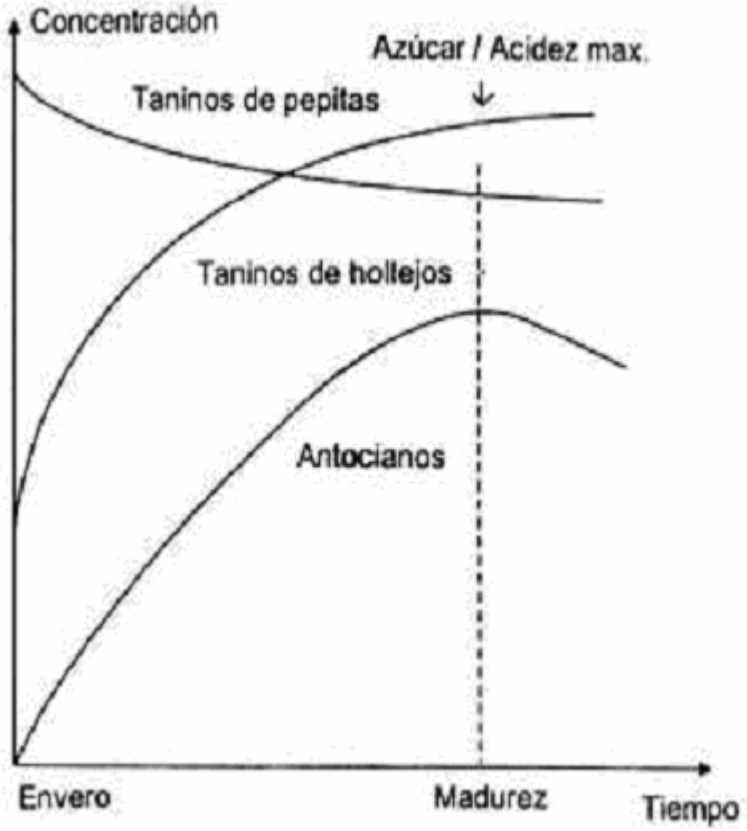


Fig.1 Evolució dels Antocians i Tanins a la pellofa i les llavors del raïm.

Els compostos fenòlics més simples no flavonoides s'ubiquen a tots els llocs del grà de raïm i no presenten cap tipus de coloració, sabors, ni olors particulars, encara que poden ser els precursors de fenols volàtils dins el vi per l'acció posterior de microorganismes.

Les flavones són pigments de color groc ubicats a la pellofa de les varietats blanques i negres comunicant el color característic de les diverses varietats.

Els antocians de color vermell o blavós es troben normalment a la pellofa i/o a la polpa de les varietats negres. Quan finalitza el cicle vegetatiu també es poden localitzar a les fulles del cep.

Les catequines es troben ubicades a totes les parts sòlides del raïm: pellofa i llavors.

Les principals propietats que transmeten els polifenols al vi i al mateix raïm són:

1. Color:

    1.1 Responsables del color en vi negre, rosat i blanc.
    1.2 Responsable del color del raïm (sobretot varietats negres)

2. Gust: dona sensació d'astringència (diferencia a la boca un vi blanc d'un vi negre)

3. Sabor: dóna una sensació amarga al vi.

4. Olfacte: dóna una olor característica al vi que permet la diferenciació entre vi blanc i negre.

5. Un estudi recent diu que els compost0os fenòlics tenen propietats bactericides davant de microorganismes patògens que es desenvolupen a l'intestí.

La distribució aproximada del polifenols al raïm és la següent:

- El carràs de raïm conté el 65 %.
- La rapa del raïm conté el 22 %.
- La pellofa el 12% de polifenols.
- La polpa l'1% restant.

Els principals polifenols que es troben al raïm són explicats a través de la figura 2, en la qual es veu quina és l'estructura elemental d'aquests i a partir de la substitució dels radicals es veu quina és la nova estructura que s'ha format.

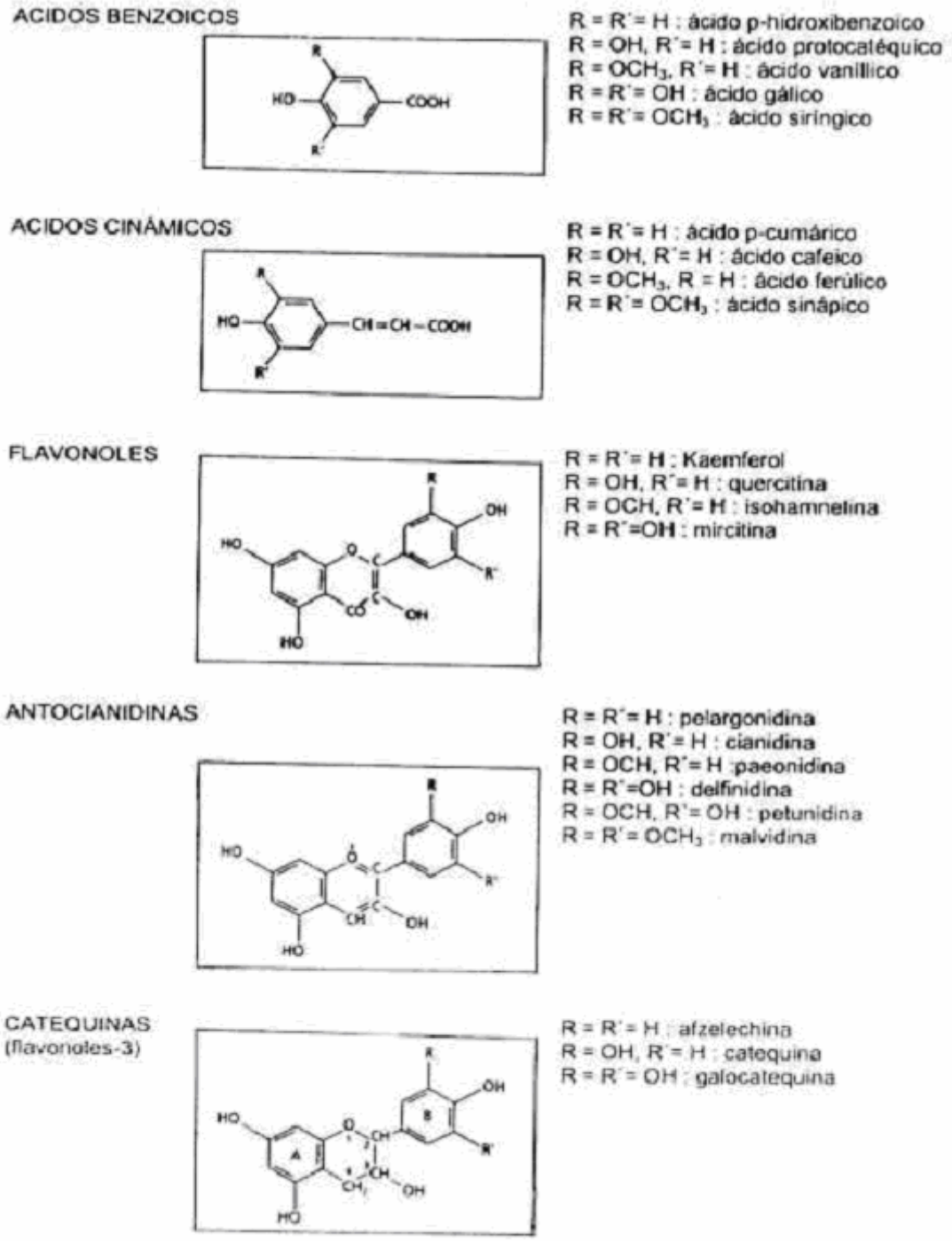


Fig. 2 Principals Polifenols del raïm

Les dues possibles evolucions dels compostos fenòlics (fig.3) es descriuen a continuació:

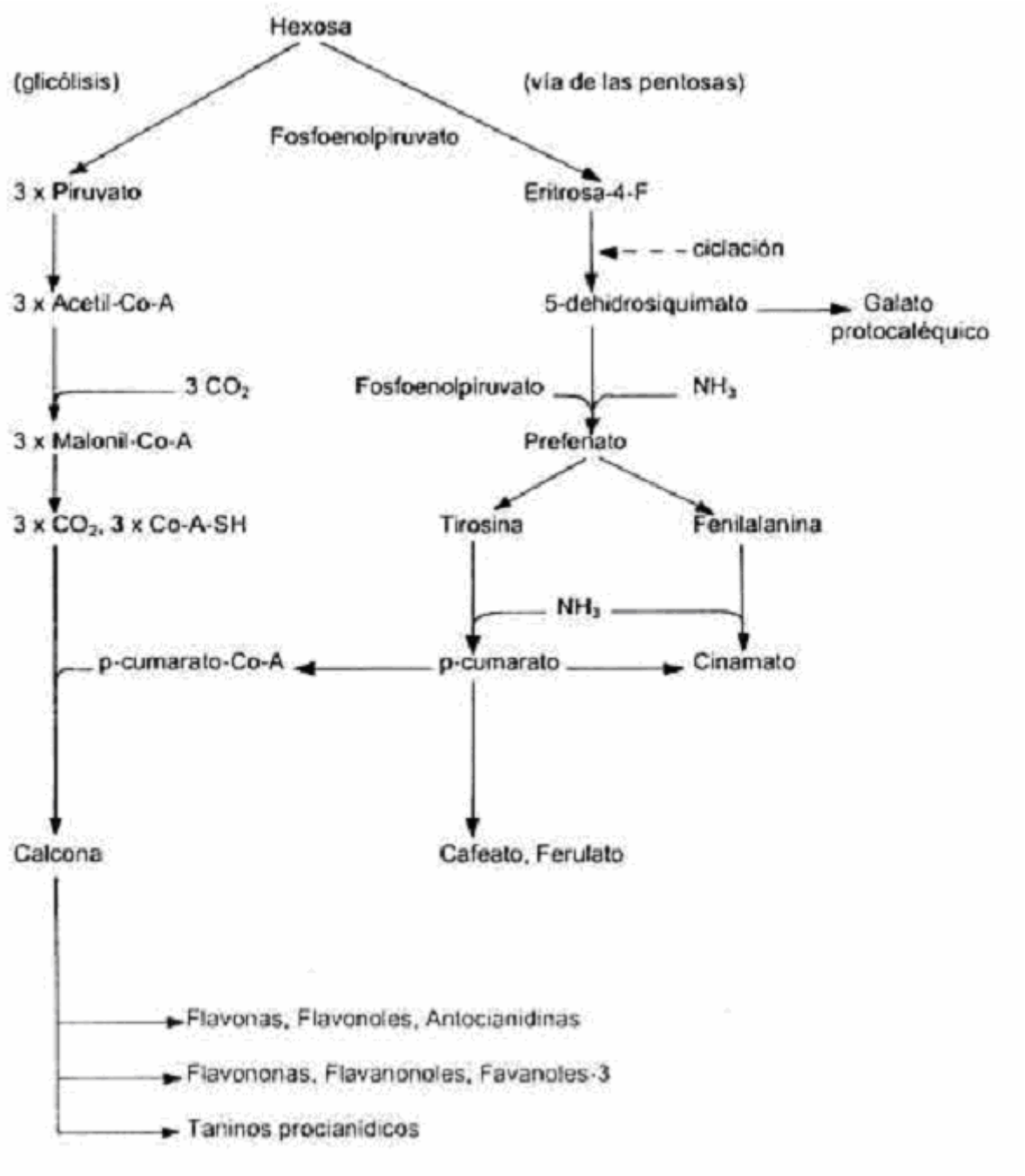


Figura 3. Evolució dels compostos fenòlics

Els compostos de fenol i concretament els antocians són aquells compostos que conté el raïm entre 500 a 3000 mg / Kg i que resulten més afectats per les condicions climatològiques del seu medi de cultiu i de les variacions anuals. Les temperatures altes no són les més adients ja que a partir de 35ºC s'inhibeix la síntesi dels antocians. Les condicions ideals per a la seva formació són temperatures diürnes d'entre 17 i 26ºC amb nits fredes. L'escassa composició de compostos nitrogenats al sòl també dóna una bona contribució per la formació de polifenols.

B.7 Síntesi i evolució de compostos aromàtics:

Els compostos aromàtics del vi es poden agrupar en dos apartats: les aromes primàries i les secundàries. La aroma primària és l'olor produïda per el conjunt de substàncies volàtils, que procedeixen del raïm madur. Les aromes del raïm evolucionen en funció de la maduresa del raïm. En canvi les aromes secundàries són el conjunt de substàncies volàtils que impresionen el nas i que s'han format durant la fermentació.

Les aromes primàries de vi jove es poden dividir en dos grups:

- Aromes primàries no específiques: es desenvolupen generalment durant la fermentació alcohòlica i en determinades condicions tecnològiques. Comprenen determinades substàncies com alcohols, aldehids, esters,...
- Aromes primàries específiques o varietals: són les que es troben als carrassos, ubicant – se principalment a les pellofes i que una vegada han passat al vi poden caracteritzar algunes de les varietats de raïm.

Dins d'aquest segon grup d'aromes varietals es poden trobar en dues formes:

- Lliures: percebudes per l'olfacte tal qual, i es troben ubicades al raïm.
- Combinades: sota aquest estat no presenten propietats olfactives però durant el transcurs de l'elaboració del vi poden transformar – se en aromes lliures i comunicar al vi diverses aromes.

Les varietats i les condicions de cultiu poden fer presentar un major o menor quantitat d'aquests compostos. Si agafem els compostos aromàtics varietals tenim que es poden dividir també, segons la varietat de raïm:

- Varietats molt aromàtiques moscatell: aquestes varietats són molt riques en compostos terpènics i tenen una relació geraniol / nerol ≈ 2,5 / 5. Exemples d'aquestes varietats poden ser: Moscatell d'Alexandria, Moscatell de gra petit, Malvasia...
- Varietats molt aromàtiques no moscatell: el seu contingut en compostos terpènics és de 5 a 20 vegades menor a la varietat moscatell. Exemples d'aquesta varietat pot ser: "Albariño", "Riesling"...
- Varietats aromàtiques: aquestes varietats contenen de 1 a 30 mg / L de compostos terpènics en la seva composició. Exemples d'aquesta varietat són: Cabernet Sauvignon, Merlot, "Tempranillo",...
- Varietats poc aromàtiques són aquelles que tenen dècimes de mg / L de compostos terpènics. La garnatxa seria un exemple d'aquestes varietats.

Entre els components de les aromes primàries destaquen per l'estructura molecular i les seves característiques d'aroma, hidrocarburs no saturats, derivats del ciclohexà, terpens i alcohols no saturats. Aquests es troben ubicats a la pellofa del raïm i tenen una concentració elevada en varietats aromàtiques com són moscatell i malvasia.

En les aromes secundàries, produïdes durant la fermentació, es troben principalment els alcohols que s'han format i aldehids precursors dels anteriors que ens han quedat en el medi. També trobem compostos amb funcions de cetona, àcids grassos volàtils i esters de formació biològica a l'interior de cèl·lules microbianes.

Les aromes del vi per poder arribar al seu millor estat necessiten temps, i aquest no serà el mateix per a tots els tipus de vi. Aquests compostos aromàtics passen per un cicle el qual evoluciona fins a un màxim en que comencen a decaure: infància, joventut, maduresa i decrepitud.

Els terpens, $(C_5H_8)_n$, són substàncies esteses en el món vegetal, atribuint propietats olfactives, sobretot als compostos de 10 àtoms de carboni (monoterpens) i als de 15 àtoms de carboni (sesquiterpè). Els monoterpens es troben en forma d'aldehids, alcohols, àcids, esters i hidrocarburs simples.

Les estructures atòmiques dels principals compostos terpènics són les que s'exposen a la figura 1 que s'adjunten a continuació:

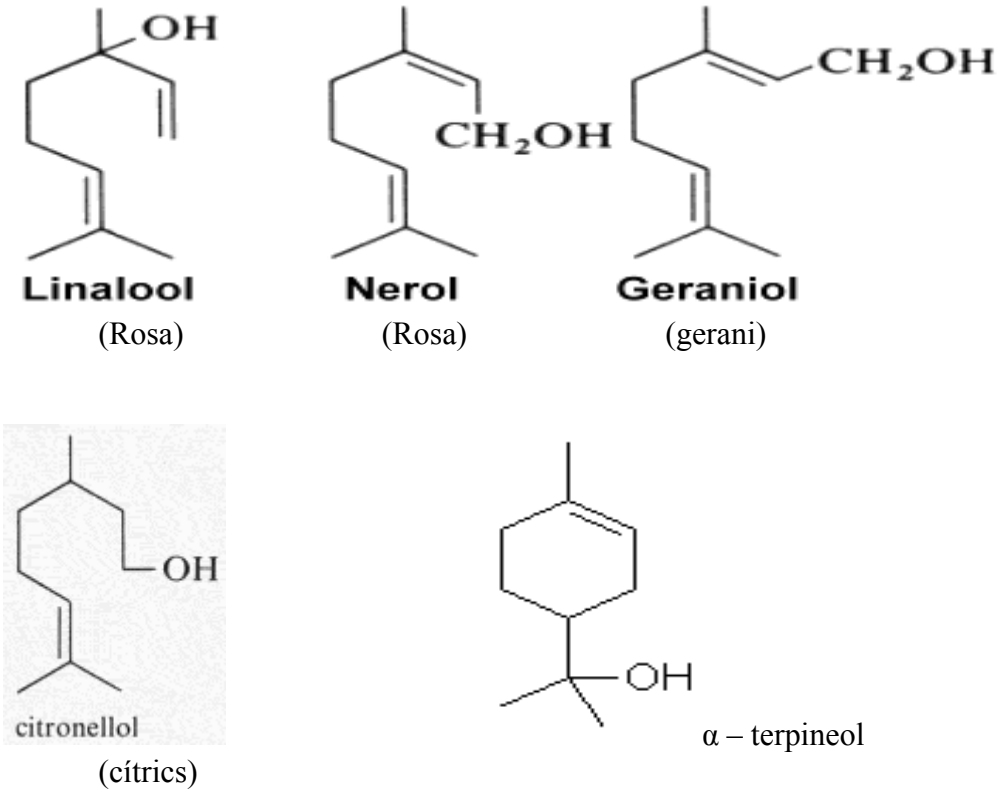


Figura 1. Principals compostos terpènics.

La síntesi dels compostos terpènics comença amb la glucosa transformant – se a àcid mevalònic, a través de l'acetil – coenzim A. A partir d'aquí passa a formar isopentil pirofosfat (IPP) amb els seu isòmer, el diametilalil pirofosfat (DMAPP) que s'acaba transformant a geranial pirofosfat (GPP), a partir del qual hi ha la transformació cap als compostos terpènics.

Els compostos aromàtics es troben ubicats fonamentalment a les últimes capes de la pellofa, quasi dintre de la polpa. En varietats més aromàtiques (moscatell o malvasia) es poden trobar ubicades dins la polpa i, per tant, es trobaran dins el most.

L'atac que sofreixen els carrells de raïm a través de la Botrytis Cinerea degrada la major part dels terpens especialment quan es troben a nivells de podridura superior a un 20%.

La síntesi dels compostos terpènics es troba representada amb el següent esquema (figura 2):

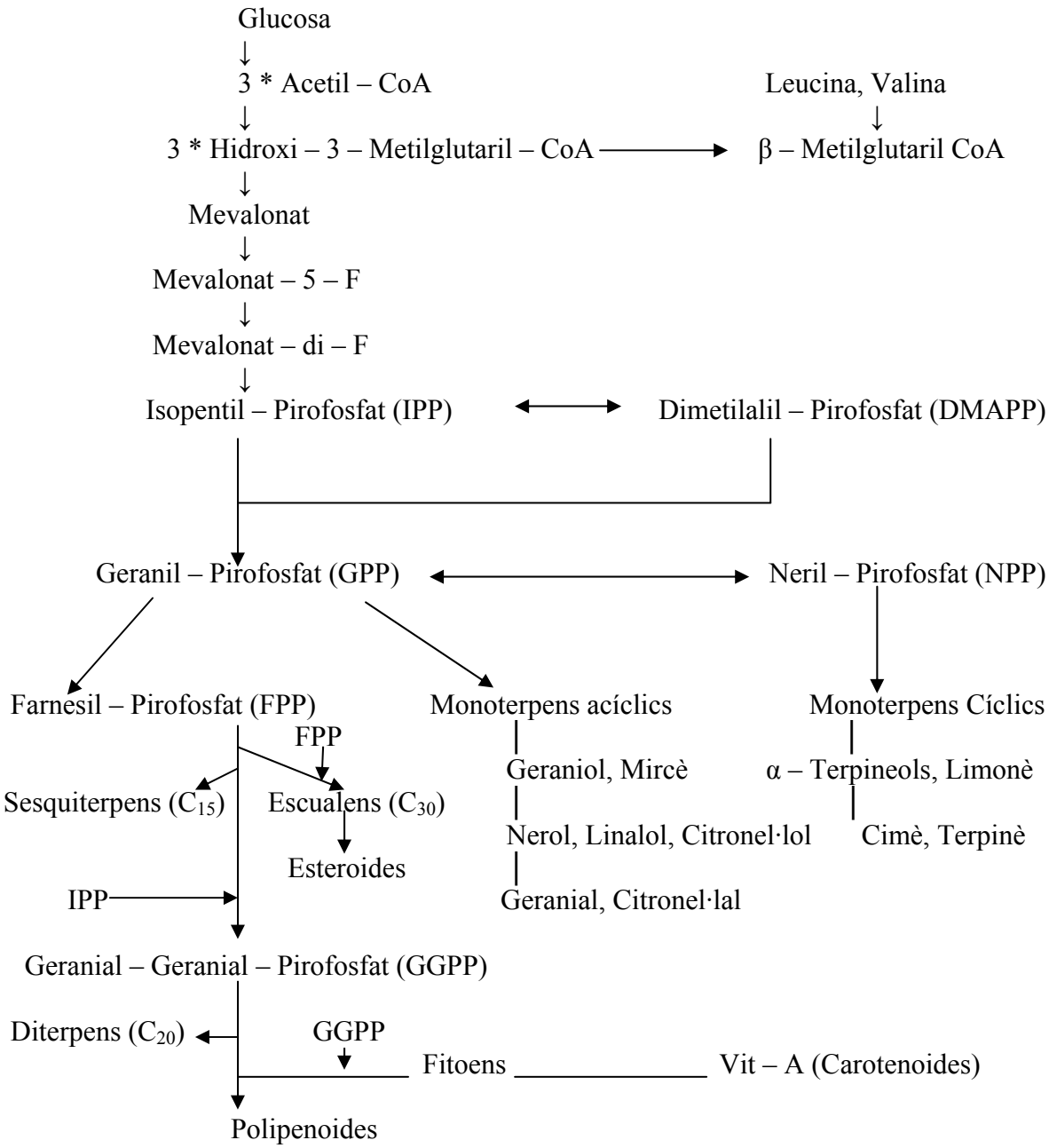


Figura 2.Síntesi dels principals compostos terpènics.

ANNEX C: Procés de fotosíntesi, reaccions de respiració i Cicle de Krebs:

C.1. Fotosíntesi

El procés constructiu és la fotosíntesis o funció clorofil·lica. Aquest procés té lloc en dues fases: una amb l'ajuda de la llum solar i de la clorofil·la, i l'altre que necessita els coenzims formats a la primera fase i l'anhídrid carbònic:

Fotosíntesis	Glucosa	Respiració
Diferents constituents químics		Diferents constituents químics
ENERGIA LUMÍNICA		ALLIBERACIÓ ENERGIA

$$\begin{matrix} CO_2 \\ + \\ H_2O \end{matrix} \longrightarrow A_1 \rightarrow A_2 \rightarrow A_3 \longrightarrow C_6H_{12}O_6 \longrightarrow B_1 \rightarrow B_2 \rightarrow B_3 \longrightarrow \begin{matrix} CO_2 \\ + \\ H_2O \end{matrix}$$

El procés catabòlic o d'alliberació d'energia és el procés de respiració que té lloc en dues fases:

- La glucòlisis fins a la formació d'àcid pirúvic i el trencament d'aquesta molècula.
- Seguida de l'entrada d'aquesta substància i la seva degradació cap a anhídrid carbònic i aigua mitjançant el cicle de Krebs

El resultat total d'aquestes reaccions és que una molècula d' hexosa produeix dos d'àcid pirúvic i hidrogen. Les molècules de pirúvic passen a 6 de CO_2 i la resta de l'hidrogen s'uneix amb l'O_2 de l'aire per formar H_2O.

Reaccions de fotosíntesi:

$$2\ ADP + 2P_i \xrightarrow[\text{CLOROFIL·LA}]{\text{LLUM}} 2\ ATP$$

$$2\ NADP^+ + 2H_2O \xrightarrow[\text{CLOROFIL·LA}]{\text{LLUM}} 2\ NADPH + O_2 + 2H^+$$

$$6CO_2 + 18ATP + 12NADPH + 12H^+ \longrightarrow \begin{matrix} COOH \\ | \\ 2CHOH + 18ADP + 4H_2O + 4H^+ + 16P_i \\ | \\ CH_2OPO_3H_2 * 12\ NADP^+ \end{matrix}$$

$$6\ CO_2 + 6\ H_2O + 680\ Kcal / mol \longleftrightarrow C_6H_{12}O_6 + 6O_2$$

C.2 Reaccions de respiració:

Reaccions respiració:

- En primer lloc hi ha la glucòlisis fins a la formació de l'àcid pirúvic:

Glucosa ⟶ Glucosa – 6 – Fosfat ⟶ Fructosa – 6 – Fosfat ⟶ Fructosa – 1,6 - Fosfat

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow \begin{array}{c} CH_2OH - CHOH - CHO \\ \updownarrow \\ CH_2OH - CO - CH_2OH \end{array}$$

$$CH_2OH - CHOH - CHO \longrightarrow CH_2OH - CHOH - COOH$$

$$\downarrow -H_2O$$

$$CH_3 - CO - COOH \longleftarrow CH_2 = COH - COOH$$

Àcid pirúvic

- Cicle de Krebs: representa la degradació de la molècula d'àcid pirúvic mitjançant inicialment la descarboxilació i la formació de l'Acetil Coenzim – A. Posteriorment es troba la degradació fins anhídrid carbònic i aigua:

La reacció global del cicle de Krebs, és la que s'exposa a continuació, més endavant (fig.1) es descriuen els diversos passos per arribar a aquesta reacció:

$$CH_3 - CO - COOH + Coa - SH \xrightarrow[-CO_2]{-2\,H} CH_3 - CO - S - CoA$$

C.3 Cicle de Krebs:

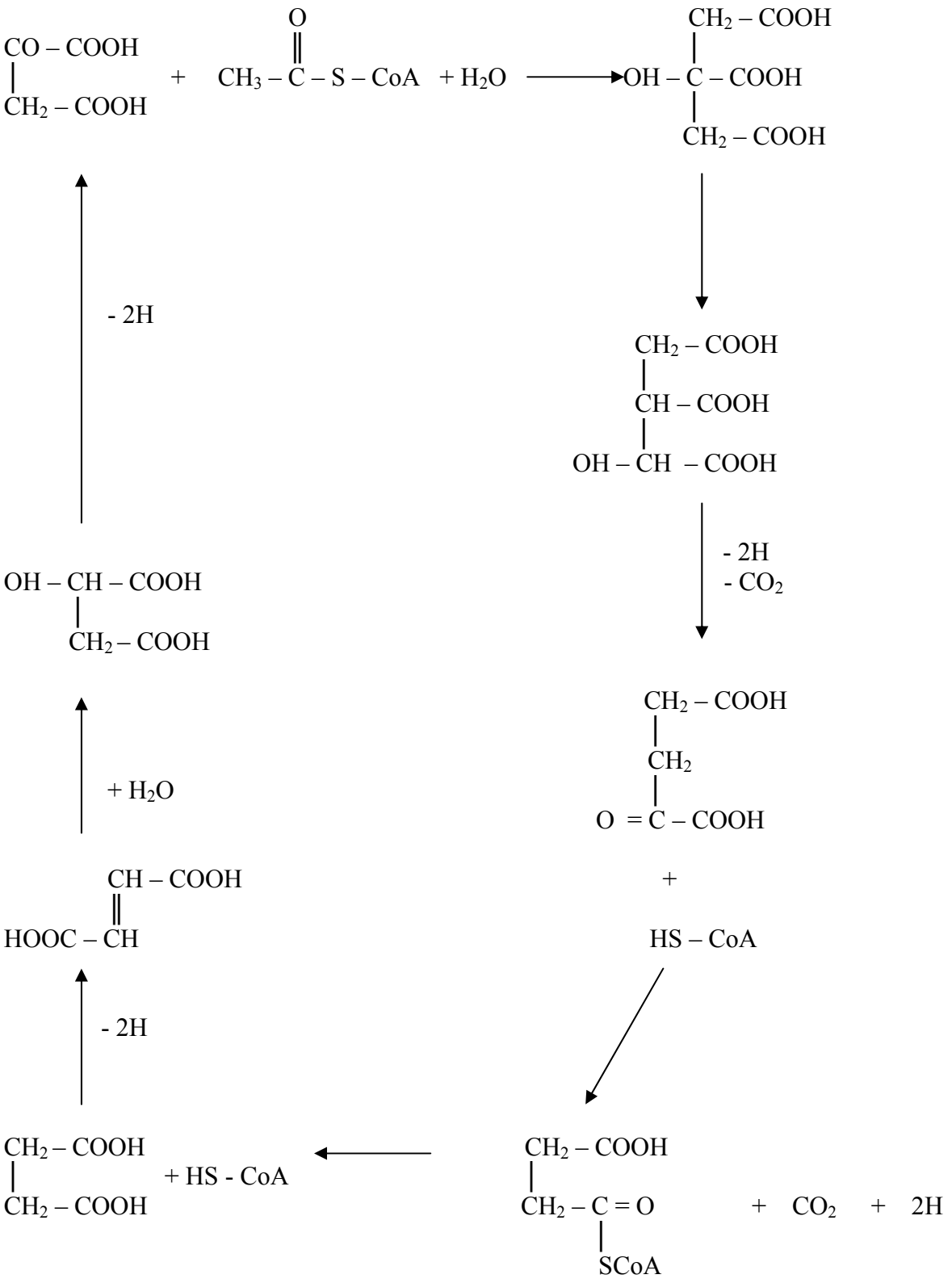


Figura 1. Cicle de Krebs

ANNEX D: Factors que influeixen a la maduració del raïm:

A continuació s'exposa un esquema amb els diferents factors que condicionen la maduració del raïm:

1. Factors permanents: són els que la seva acció es constant i que romanen immutables en el temps. Són molt difícils de modificar o de variar els efectes produïts.

    - Clima
    - Microclima
    - Sòl
    - Varietat de raïm
    - Densitat i disposició dels ceps
    - Sistemes de conducció del creixement del cep

2. Factors variables: són els que varien d'un any a l'altre, essent factors principalment de tipus climàtic on la mà de l'home poc té a fer per tal de modificar – los. L'expressió global d'aquest conjunt és el que s'anomena anyada del vi.

    - Anyada:

        - Temperatures: el règim de temperatures determina la qualitat de la collita del raïm, especialment en l'època de vegetació i de maduració de la vinya. La síntesi dels principals compostos del raïm (sucres, àcids, compostos nitrogenats, polifenols,...) venen determinats sobretot per aquest factor. S'ha comprovat que en temperatures altes hi ha una forta acumulació en sucres i una disminució de l'acidesa. En canvi quan les temperatures són baixes es troba una disminució de sucres i una acumulació d'àcids. Hi ha diferents intervals de temperatures òptimes per a cada període: en el període herbaci l'interval de temperatures es troba entre els 20 – 25ºC, ja que temperatures elevades no afavoreixen la multiplicació cel·lular. En el cas del període de maduració s'ha comprovat que el millor interval de temperatures seria una alternança entre temperatures altes i baixes durant les hores del dia i la nit, ja que produiria una maduració lenta i perllongada i s'aconseguiria produir una acumulació de les aromes varietals del raïm.

        - Il·luminació: té una forta influència biosintètica dels compostos acumulats al raïm, ja que la major part d'ells procedeixen de la fotosíntesis realitzada als òrgans verds de la planta. La quantitat de llum que necessita la vinya està directament relacionada amb la superfície foliar.

        - Humitat: la vinya és una planta molt resistent a la sequera i es molt sensible a l'excés d'humitat. Els millors intervals de pluviometria que es poden tenir per aconseguir una bona qualitat és d'uns 350 a 600 mm anuals. La humitat és totalment indispensable per a la vida del cep ja que és a partir de l'aigua que és dissolen els materials minerals que conté el sòl, i és a partir de les arrels per on s'absorbeixen. És en el període herbaci i en el període del verolat que es necessita una

constant disponibilitat d'aigua, ja que en el primer període es troba el creixement dels grans de raïm i en el segon ajudarà a ajustar la pressió osmòtica i permetrà una millor síntesi, transport i acumulació dels compostos formats al grà de raïm. Per contra en el període de maduració es necessita que certs moments hi hagi una falta d'aigua ja que a conseqüència d'això s'obtindrà una certa concentració dels compostos de bondat (aromes, antocians, tanins,...). L'excés d'humitat pot ser contraproduent ja que en els carrells del raïm és formen una menor quantitat de sucres, una major acidesa i afavoreix la possible aparició de malalties criptogàmiques (relacionades amb la flor de raïm).

- Edat de la vinya: estudis efectuats anteriorment demostren que la qualitat de la verema augmenta de forma paral·lela en relació amb l'edat de la vinya, ja que es produeix un equilibri al llarg dels anys entre els medis de producció de la vinya i la seva collita fent que la maduració d'aquesta s'optimitzi. La potència i el sistema de les arrels a mesura que va avançant amb els anys explora un major volum de terreny i per tant assegura la nutrició mineral per part de la planta. La fusta vella del cep també juga un paper fonamental i és que acumula una major quantitat de reserves que podran ser mobilitzades cap als carrells de raïm, i que contribuiran a mantenir la qualitat a les successives veremes. Normalment els ceps vells contenen una major quantitat de cicatrius causades durant la poda i que fan que la circulació de la saba a través dels vasos conductors sigui més difícil, fet que es traduirà a la producció d'una menor quantitat de carrells i essent aquests de menor volum, cosa que es tradueix a una major qualitat.

3. Factors accidentals: factors que es produeixen generalment per una climatologia adversa. Aquests factors modifiquen tant el paràmetre quantitatiu de la collita com el qualitatiu. Es pot actuar sobre ells a través de sistemes de cultiu o amb tractaments directes.

   - Plagues: poden produir – se sobre qualsevol òrgan del cep, i està ocasionat per l'atac d'insectes, àcars i inclòs ocells, conills, cargols... el tractament per plagues sempre es molt eficaç si aquest és preventiu i a més d'aquesta forma s'arriba a respectar la integritat del cep cap a una major qualitat del raïm.

   - Malalties: degut a l'atac o al parasitisme de fongs, bactèries o virus.

   - Accidents meteorològics: les inclemències del temps són factors molt negatius per a un bon desenvolupament de la vinya, especialment si es produeixen durant el període vegetatiu o de maduració del raïm. Aquests accidents meteorològics poden actuar afectant únicament a la vegetació, causant danys a la mateixa o bé produint un endarreriment a la seva evolució que es veurà traduïda a una disminució de la collita i de la seva qualitat. Per defensar la vinya contra aquests factors existeixen diversos mètodes a utilitzar però que no seran de gran ajuda si el fenomen es d'importància: és el cas per exemple de barreres tallavents, sistemes anticongelants, sistemes de rec per aspersió...

4. Factors modificables: són característiques modificables pel viticultor amb l'objectiu de corregir i millorar sobre la vinya els factors anteriors. Es tracta de realitzar diverses tasques sobre la vinya amb la intenció de conduir els ceps cap a una millora de la qualitat o bé amb la intenció d'augmentar les qualitats de les diferents varietats.

- Podes i altres actuacions sobre el cep: la poda el principal objectiu que té és la d'equilibrar la producció de la vinya amb el potencial del medi vitícola (sòl, clima i microclima), així com també amb les fluctuacions anuals dels factors variables (il·luminació, temperatura, humitat). La poda, com s'ha dit abans el que intenta és trobar un equilibri entre la superfície foliar i els carrells de raïm que s'alimenten d'ella. Si l'equilibri és insuficient la maduració de la verema es veurà afectada negativament, ja que la maduració no transcorrerà de manera eficient. El valor ideal per aquesta tècnica és de 7 a 15 cm^2 de superfície foliar per gram de verema. L'augment d'aquest paràmetre no implica una millora en la maduració però un excés pot presentar problemes d'altres característiques. El que es fa principalment és la poda que es realitza a l'hivern abans de que broti el cep. Una altre operació és l'aclariment de fruit que es realitza abans de la verolació. També el que es realitza és l'eliminació de les fulles velles i fotosintèticament menys actives, que portarà a una millora de les condicions de maduració.

- Abonaments i esmeres (P, Mg, Ca, Fe, S, B, Mo, Mn, Zn, Cu, Na): la fertilització té un gran efecte sobre la qualitat i la quantitat de verema produïda. Els efectes que tenen sobre la vinya els diferents fertilitzants els donem a continuació: el fòsfor (P) és un element constitutiu en els teixits vegetals, intervé en el metabolisme dels hidrats de carboni i té un paper fonamental en el transport d'energia (ATP – ADP). Una deficiència en fòsfor es tradueix a una disminució en la fructificació, té un verolat tardà i les baies resulten petites. El magnesi (Mg) intervé com a element constituent de la clorofil·la, essent essencial pel metabolisme dels glúcids i pel transport del fòsfor. Actua en la formació de proteïnes de gran pes molecular i amb la formació de vitamines. Serveix també per augmentar la resistència de la planta en èpoques de sequera i malalties. La falta de magnesi es denota amb una forta debilitat de la planta que produeix una reducció del nº de brots i una conseqüent lentitud en el desenvolupament del tronc. També produeix una limitació en el sistema de les arrels i conseqüentment una reducció en la quantitat produïda de fruit. El calci (Ca) produeix un equilibri entre els àcids orgànics i minerals de la saba. Satura les funcions àcides de les pectines i de les parets cel·lulars i juga un paper antitòxic davant de possibles excessos de K, Na, i Mg. Un excés de Ca produeix la clorosi (síntesi deficient de clorofil·la, present especialment en les fulles a través d'un color groc clar). El ferro (Fe), es essencial per la formació de la clorofil·la, un dèficit en el sòl o induïda per un excés de Ca produeix la clorosi. El sofre (S) es el component majoritari de les proteïnes, estimula el desenvolupament del cep i optimitza la funció clorofil·lica. El bor (B) es un element important pel transport i la utilització de glúcids així com a l'elaboració de pectines i la mobilitat del Ca a través de la planta. Juga un important paper en la divisió cel·lular i sobretot en l'estabilitat de les cèl·lules vegetatives. Una mancança de bor genera una aguda clorosis i raquitisme així com també dóna problemes de quallat i fructificació. El molibdè (Mo) actua com a activador dels nombrosos processos del metabolisme nitrogenat, intervenint a més de la síntesi de pigments i clorofil·la. També afavoreix la fructificació i la floració.

El manganès (Mn) és important per la fotosíntesi i intervé a la respiració de la planta. El zinc (Zn), intervé en el metabolisme dels glúcids i és important per la síntesi de la clorofil·la. Participa també en el metabolisme proteic. El coure (Cu) forma part de nombrosos enzims sobretot els que intervenen en els processos d'assimilació. Si falta aquest element a la clorofil·la, aquesta es degrada ràpidament i minva el rendiment de la vinya. El sodi (Na), intervé en els balanços fisiològics entre anions i cations. La fertilització de la vinya és molt millor efectuar – la amb abonaments orgànics en lloc de minerals, i millor si aquests són d'origen vegetal, ja que aquests es mineralitzen lentament i són capaços de subministrar a la vinya els diferents nutrients necessaris.

- Regatge: és un dels factors més importants per controlar el vigor de la vinya. Solsament s'ha d'aplicar per afavorir el desenvolupament qualitatiu del raïm i mai per augmentar el volum de la collita. Durant l'època d'hibernació i fins el verolat el cep ja té prou humitat pel seu desenvolupament en canvi durant el període de maduració el control de la humitat es realitza a través de la tècnica de regulació del dèficit hídric on el que es pretén realitzar és la màxima activitat fotosintètica amb l'aportació de la menor quantitat d'aigua. Aquest punt està molt a prop del pansiment de la planta afavorint la maduració del raïm, reduint el volum dels raïms i millorant – ne la qualitat. Una vegada efectuada la verema el que es recomana és fer un regatge total de la vinya que el que afavorirà serà l'augment del nivell de reserves a la fusta. També el que es pot realitzar és una dessecació parcial de les arrels, mitjançant el subministrament alternatiu als recs que provocarà l'anomena't estrès hídric i afavorirà també l'augment de reserves de la planta.

- Treballs de cultiu: són els diferents treballs aplicats al sòl de la vinya. Generalment són destinats a facilitar l'acumulació d'aigua al subsòl i conseqüentment evitar la seva pèrdua per evaporació o pel consum de les males herbes.

- Altres treballs (de conservació): s'involucren dins aquest camp tots els treballs que tenen lloc al cultiu de la terra i que estan destinats a corregir i millorar els efectes negatius produïts per altres factors de producció com poden ser: tractaments fitosanitaris, recs, sistemes de protecció contra accidents meteorològics... Amb aquests treballs el que s'intenta no és millorar les condicions de maduració sinó l'estat de conservació de la vinya.

ANNEX E: Fermentació alcohòlica:

Una vegada el raïm ha realitzat el seu procés de maduració i es troba en el seu estat adequat de maduresa caldrà realitzar la verema, es a dir haurem de realitzar la recol·lecta del fruit. Una vegada el raïm ha estat recol·lectat el que es fa es transportar – lo al celler per tal de dipositar – lo dins les tines. Una vegada a dins, si es disposa a realitzar la fermentació alcohòlica conjuntament parts sòlides i el most es diu que tenim una vinificació en negre; si per contra el que realitzem és una separació entre el most i les parts sòlides el que es realitza és una vinificació en blanc.

En aquest procés hi ha un substrat (most de raïm madur), aigua en solució amb un conjunt de substàncies, les més importants de les quals són glucosa, fructosa (aproximadament 200 g/L) i matèria nitrogenada assimilable per part dels microorganismes. Dins aquest sistema també intervenen de manera important l'aire i concretament l'oxigen que conté, que es dissoldrà al most a les diverses formes que té aquest sistema. Un important paper que juguen en aquest sistema són els enzims vegetals que ajuden a la transformació del most en vi. Hi juga un paper fonamental la temperatura ambient, que intervé en el desenvolupament dels microorganismes. Els microorganismes que es poden desenvolupar al most i al vi són llevats, bactèries i el florit. El pas de most a vi es realitza pels llevats, procés enzimàtic que s'anomena, com s'ha dit abans fermentació alcohòlica.

E.1 Generalitats en la fermentació alcohòlica:

La transformació que existeix dins la fermentació alcohòlica és la transformació de sucres (en forma d'hexoses i fructoses) a uns productes principals que són alcohol (bàsicament etanol) i diòxid de carboni, i a uns productes secundaris que bàsicament poden ser: glicerina, àcid succínic, àcid acètic, butilenglicol, etanal, i acetoïna. La reacció principal és la següent:

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2\ CH_3 - CH_2OH + 2\ CO_2$$

Aqueta transformació és catabolitzada gràcies als microorganismes anomenats llevats del gènere Saccharomyces especialment S.cerevisiae i S.bayanus. Aquests microorganismes són fongs unicel·lulars microscòpics que es reprodueixen per gemmació. La epidermis del raïm, anomenada pruïna, reté aquets llevats (que realitzaran més tard efectes positius sobre el most: fermentació alcohòlica) i d'altres microorganismes no beneficiosos. El raïm verd no conté pràcticament llevats, és a partir de l'acumulació dels sucres que comencen a dipositar – se llevats dins els grans de raïm. Efectuat el trencament de l'estructura vegetal de la baia, el most es posa en contacte amb alguna cèl·lula de llevat i amb l'aire. Els microorganismes s'alimenten del substrat , respiren, es desenvolupen i es multipliquen, encara que només ho fan els que són resistents als components limitant del sistema: sulfurós, pH i al mateix aire. El llevat el que realitza és que respira en presència d'aire i fermenta quan li falta. Respiració i fermentació mai són simultànies.

Els llevats necessiten un substrat amb el qual podran desenvolupar les seves funcions vitals, a partir de les quals seran capaços de provocar una sèrie de reaccions de degradació (catabolisme) i amb les quals per una part obtindran energia i determinades substàncies (necessàries per a la realització de reaccions de síntesi) i per altre generaran substàncies de rebuig.

A partir del most, gràcies al principal substrat (sucres) i sota condicions anaeròbiques, els llevats són capaços de realitzar la fermentació alcohòlica. Aquest complex conjunt de reaccions bioquímiques es produeix amb una alliberació de calor ja que amb la degradació del sucre produeix un excés d'energia que no s'utilitzarà al complet pels processos de síntesi o de gemmació.

Sota condicions aeròbiques els llevats realitzen la respiració on els sucres i altres substrats són transformats a H_2O i CO_2, produint – se un alliberament d'energia més elevada que amb la fermentació. Sota aquestes condicions la seva multiplicació cel·lular serà més elevada que no pas amb la fermentació. És per això que durant el procés de la fermentació alcohòlica caldrà disposar de petites quantitats d'oxigen necessàries per la multiplicació i el desenvolupament dels llevats.

E.2 Cofactors:

Les reaccions químiques són realitzades a través d'enzims generats a través d'agents biològics causants del metabolisme; no obstant, pel correcte desenvolupament de la fermentació alcohòlica serà necessari l'actuació de diverses substàncies, encarregades del transport, que són el que anomenarem cofactors.

Els principals cofactors que existeixen són:

- ATP (Adenosina Trifosfat): element transportador d'energia de les diverses reaccions biològiques. Pot acumular energia mitjançant el seu enllaç fosfoanhídrid o bé pot cedir – la al passar d'ATP a ADP:

$$ATP + H_2O \longrightarrow ADP + Fosfat + Energia$$

- NAD (Nicotinamida Adenina Dinucleòtid): intervé en les reaccions d'hidrogenació o deshidrogenació fixant o alliberant dos hidrògens. Actua solsament en reaccions de reducció – oxidació:

$$NAD^+ + 2H \longrightarrow NADH^+ + H^+$$

- TPP (Pirofosfat de Tiamina): ester pirofosfòric de la vitamina B. Actua com a transportador de grups aldehids.

- CoA – SH (coenzim A): permet la fixació de les molècules de radical R – CO especialment l'acetil coenzim A que participa a la síntesi d'àcids grassos i de lípids.

E.3 Possibles transformacions del sucre:

Cal tenir en compte la glicòlisis, que es un conjunt de reaccions bioquímiques que permet a cèl·lules vives, la transformació de sucres de 6 àtoms de C (glucosa i fructosa) a àcid pirúvic. Aquestes reaccions es produeixen tan en medi aeròbic com en medi anaeròbic.

Dins la fermentació alcohòlica es poden trobar dues possibles transformacions del sucre: per una banda una gran quantitat de sucre passa a àcid pirúvic però una petita quantitat de sucres el que fa es transformar – se a glicerina en forma de glicerol:

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow \underset{\text{Glicerol}}{CH_2OH - CHOH - CH_2OH} + \underset{\text{Àcid pirúvic}}{CH_3 - CO - COOH}$$

Des del punt de vista de balanç energètic es troba que per una part es formen 4 ATP a partir de dues molècules de gliceraldehid – 3 – fosfat que procedeixen d'una molècula de sucre. Per altre part es consumeixen 2 ATP amb la fosforilació inicial del sucre. El resultat a que s'arriba es que el balanç energètic global serà la formació de 2 ATP per cada molècula de sucre fermentada.

$$C_6H_{12}O_6 + 2ADP + 2H_3PO_4 \longrightarrow 2CH_3 - CH_2OH + 2CO_2 + 2ATP + 2H_2O$$

Des d'un punt de vista termodinàmic la variació de l'energia lliure en la transformació d'una molècula de glucosa a etanol i diòxid de carboni és de 40 Kcal, mentre que l'energia utilitzada en la formació d'un enllaç ATP és de 7,3 Kcal; amb la qual cosa de les 40 Kcal alliberades a l'inici, 14,6 Kcal (2 enllaços ATP) són utilitzats per llevats, i la resta, 25.4 Kcal / mol, es desprendran en forma de calor que es cedirà al medi, cosa que afectarà amb un augment de la temperatura.
A la respiració en condicions aeròbiques l'àcid pirúvic format per la glicòlisis es transforma mitjançant el Cicle de Krebs a anhídrid carbònic i aigua:

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow CH_3 - CO - COOH + 5/2O_2 \longrightarrow 3CO_2 + 2H_2O$$

El balanç energètic durant la respiració a partir d'una molècula de glucosa és de 36 a 38 ATP, respecte a la fermentació alcohòlica, es a dir hi haurà una disponibilitat pels llevats 18 o 19 vegades més elevada, cosa que afectarà l'activitat vital dels llevats i la seva multiplicació serà molt més activa.

El transport de sucres està regulat per l'activitat de síntesis de proteïnes a la cèl·lula i també per la disponibilitat de nitrogen assimilable que posseeix el medi. Quan l'activitat de síntesis de proteïnes decreix també ho fa el transport de sucres.
Quan hi ha una disminució en l'activitat de síntesis de proteïnes una manera de tornar a activar aquesta síntesi és addicionant compostos nitrogenats assimilables per part dels llevats. Una altre manera de reactivar la síntesi és airejant el most a través d'un remuntat.

El principal producte que es forma durant la fermentació alcohòlica és l'etanol (CH_3CH_2OH), podent arribar a concentracions al medi de fins a 12 o 14 % vol, en condicions

normals. S'estima una transformació de 16 a 17 grams de sucre per grau alcohòlic format. La segona substància amb més importància dins el procés de fermentació alcohòlica és l'anhídrid carbònic (CO_2) que es pot desprendre de l'ordre de 0,4 a 0,5 grams per cada gram de sucre fermentat. La pressió d'aquest compost en el medi pot afectar negativament el seu desenvolupament.

La quantitat d'anhídrid carbònic format es aproximadament de l'ordre de 56 litres per cada litre de most amb un contingut de sucre d'aproximadament uns 210 g/L a uns 20ºC.

E.4 Reaccions durant la fermentació alcohòlica:

La sèrie de reaccions que tenen lloc durant la fermentació consten de tres fases:

1. Inici de les reaccions:

1.1. hexosa + ATP $\longrightarrow$ hexosadifosfat + ADP

1.2. hexosadifosfat + àcid adenílic $\longleftrightarrow$ 2 – triosafosfat

1.3. 2 – triosafosfat $\longrightarrow$ fosfat – 3 – gliceraldehid

2 – triosafosfat $\longrightarrow$ fosfat de dihidroxiacetona

1.4. fosfat – 3 – gliceraldehid + ½ O_2 $\longrightarrow$ 2 – àcid – 3 – fosfoglicèric

1.5. 2 – àcid – 3 – fosfoglicèric $\longleftrightarrow$ 2 – àcid – 2 – fosfoglicèric

1.6. 2 – àcid – 2 – fosfoglicèric $\longleftrightarrow$ 2 àcid fosfopirúvic + 2 H_2O

1.7. 2 – àcid fosfopirúvic + àcid adenílic $\longrightarrow$ 2 àcid pirúvic + ATP

2. Fase intermèdia:

2.1. fosfat de dihidroxiacetona + H_2 $\xrightarrow[\text{coenzimasa}]{\text{oxidoreductasa}}$ α – glicerofosfat

2.2. α – glicerofosfat + H_2O $\longrightarrow$ glicerol

3. Fase estacionària:

3.1. 2 àcid pirúvic $\longrightarrow$ 2 CO_2 + 2 acetaldehid + 3 triosafosfat

3.2. 2 acetaldehid + 2 H_2 $\longrightarrow$ 2 alcohol etílic

2 acetaldehid + 2 triosafosfat $\longrightarrow$ 2 – àcid – 3 – fosfoglicèric

E.5 Factors de creixement i desenvolupament dels llevats:

Una vegada explicat el procés de fermentació alcohòlica el que s'explicarà a continuació són els factors de creixement i desenvolupament que necessiten els llevats per a un correcte desenvolupament del procés. Aquests factors tenen una gran diversitat de paràmetres, que es poden dividir entre paràmetres fisicoquímics i necessitats nutritives dels llevats.

Dintre dels paràmetres fisicoquímics es troben una gran diversitat de factors que influeixen el creixement dels llevats i per tant el desenvolupament de la fermentació alcohòlica. Es destaca per la seva importància els següents: temperatura de fermentació, aireig del most, efectes del pH i la clarificació dels mostos.

- Temperatura: segons el balanç energètic de la fermentació alcohòlica per cada molècula de sucre fermentada es produeix un alliberament de calor cap al medi de 25,4 Kcal que representa sobre una verema amb un contingut alcohòlic del 12% en volum de 28.3 Kcal. Això suposa una elevació de la temperatura de 28,3 ºC si es desprengués tota la calor instantàneament. A la pràctica aquesta calor es desprèn en varis dies amb la qual cosa que l'augment de la temperatura serà menor i dependrà d'altres factors com són: quantitat de sucres que conté la verema, temperatura inicial d'aquesta, velocitat de fermentació, les dimensions del dipòsit, el material amb que està fet el dipòsit i les condicions tèrmiques que té el celler.
  Les temperatures compreses entre els 12º i els 30 º són possibles per a l'inici i el desenvolupament de la fermentació, trobant – se entre els 20º i els 28º el punt òptim de fermentació. Per sobre dels 35º a 40º es produeix una inhibició dels llevats a causa de la desnaturalització de les seves proteïnes. Per altre part també afecten les baixes temperatures ja que poden inhibir les funcions vitals dels llevats. La temperatura és el principal factor que pot incidir sobre la cinètica fermentativa. S'estima que per cada 10º que augmenta la temperatura els llevats són capaços de metabolitzar un 10% més de sucres (tenint en compte que aquesta temperatura no sobrepassi mai els 35º que es quant els llevats comencen a morir). La particularitat que té una fermentació a baixa temperatura és la formació de caràcters aromàtics que passaran al vi. En canvi en una fermentació a temperatura alta el que fa és reduir el poder fermentatiu dels llevats i produint menors quantitats d'etanol. És per això que els mostos de vi blanc es recomana conduir la fermentació al voltant dels 15º - 20º. Mentre que en una fermentació en negre la temperatura òptima es troba al voltant dels 25º a 30º. No obstant el que es recomana fonamentalment és que les fermentacions estiguin al voltant dels 15º per tal que el temps de fermentació sigui raonable i per sota dels 30º per tal de que no causi una aturada per inactivació o mort dels llevats.

- Aireig: encara que la fermentació alcohòlica dels sucres es realitza sense presència d'aire, un bon desenvolupament d'aquesta necessita que se n'hi aporti certa quantitat, amb la qual cosa no es podrà definir el procés d'anaeròbic estricte sinó semianaerobi. La presència d'oxigen és necessari per la multiplicació dels llevats, així com també per certes funcions del metabolisme dels llevats, que en defecte d'oxigen podria afectar el bon funcionament de les cèl·lules. Sense aquesta presència el que pot succeir és que hi hagi o bé un retard en l'inici o bé una aturada dins el procés. Un altre part que efecte l'aireig és l'augment en el consum de compostos nitrogenats

assimilables pels llevats ja siguin els que conté inicialment el most, o bé el que s'hagin pogut afegir durant el procés. La principal utilitat de l'oxigen pel llevats es durant les fases de multiplicació ja que permet augmentar la resistència de les membranes cel·lulars a la acció impermeabilitzadora de l'etanol i dels àcids grassos de cadena curta. La manera en que s'aireja un most és a través del remuntat a circuit obert, on l'aire de l'ambient es barreja amb el most en circulació.

- Clarificació: l'efecte del desfangat dels mostos es tradueix en la modificació dels llevats cap a la formació d'àcids grassos i esters d'alcohols superiors, a més de limitar la maceració fermentativa amb els fangs que comuniquen al vi aromes fortes i vegetals. No obstant una forta clarificació és pot traduir en una paràlisi fermentativa o en un alentiment en el procés. Per tal d'harmonitzar els efectes positius del desfangat el que és fa és una clarificació molt acurada dels fangs. Una vegada ha estat clarificat, el que es farà serà afegir els nivells necessaris per tal d'aconseguir el nivell de terbolesa desitjat.

- Altres paràmetres fisicoquímics:

    - Acidesa: l'acidesa del citoplasma dels llevats és troba al voltant de la neutralitat. En canvi la del medi on es troben els llevats és bastant més alta fet pel qual el que produeix és una difusió de protons cap a l'interior de la cèl·lula que tendeix a acidificar el citoplasma i a paralitzar la fermentació. El que fa la cèl·lula en aquests casos és utilitzar la ATPasa com a bomba de protons de la membrana plasmàtica, si és que el nivell d'etanol al most ho permet. El pH òptim de desenvolupament dels llevats es troba entre 4 i 6 amb un valor mínim de 2,6 a 2,8 en els quals per sota d'aquests el desenvolupament de la fermentació es impossible. Tenint en compte que els valors de pH oscil·len entre 3 i 3,8 no tindrem, en principi, cap dificultat per a portar a terme la fermentació. Cal però mirar que el pH no es situï per sota de 3 ja que si hi hagués una parada en el procés fermentatiu, hi haurien les condicions òptimes pel desenvolupament de bactèries nocives pel nostre most.

    - Pressió: la pressió és un altre factor que pot influir dins el metabolisme dels llevats, essent limitant la pressió produïda amb anhídrid carbònic, i poden mantenir la seva activitat vital fins a una pressió de 5 a 6 atmosferes mesurada a 20º. La pressió osmòtica és una altre tema que influencia el correcte desenvolupament de la nostre fermentació. Un medi com un most concentrat pot arribar a produir la mort de les cèl·lules, ja que causa la sortida de l'aigua a través de la membrana citoplasmàtica.

    - Radiacions: les radiacions lumíniques poden estimular l'activitat dels llevats, augmentant l'energia fermentativa d'aquests.

Pel que fa a les necessitats alimentaries dels llevats el most conté una quantitat suficient de nutrients per desenvolupar la fermentació alcohòlica, podent trobar en mostos excessivament desfangats mancances de substàncies carbonades, nitrogenades i de minerals.

- Compostos carbonats: els sucres fermentables pels llevats són la principal font d'alimentació carbonada , especialment els compostos de glucosa i fructosa, que són la base per a la seva transformació a energia i poden atendre les seves funcions vitals. Generalment i per terme mig els mostos tenen una concentració aproximada de 170 a 220 g/L que correspon a una producció d'alcohol de 10 a 13% en volum. La concentració de sucres en un most determina la velocitat de fermentació. Així mostos amb una concentració de 10 g/L tenen una velocitat de fermentació molt lenta. El procés augmenta de velocitat fins a concentracions de 20 g/L. La velocitat es manté constant fins arribar a un llindar de 200 g/L, en el qual la velocitat decreix a mesura que augmenta la concentració, fins arribar a una concentració aproximada de 600 g/L en la qual, a causa de la forta pressió osmòtica que realitza la fermentació s'atura. Quan s'ha de realitzar una addició de sucres mitjançant sacarosa, s'addiciona most concentrat normalment i s'ha de portar a terme en els dos primers dies de la fermentació, ja que és en aquest període quan els llevats s'estan multiplicant, i és en funció de la riquesa en matèries carbonades que es determinarà la població de llevats capaços de transformar la totalitat dels sucres a etanol. Quan l'addició de sucres es realitza tard (en fase estacionaria) i en un medi ric en alcohol normalment la fermentació no es completa i el vi ens quedarà dolç.

- Compostos nitrogenats: el most és un medi bastant ric en nitrogen, repartint – se aquesta riquesa en diferents formes de compostos nitrogenats els quals ja s'han descrit en l'annex B.4 en el qual es parla de la seva síntesi i de la seva evolució en el procés de maduració. Els llevats necessiten disposar de compostos nitrogenats per poder sintetitzar les proteïnes necessàries pel seu creixement i desenvolupament, agafant aquests compostos de les formes nitrogenades més assimilables per a ells. Aquests compostos més fàcilment assimilables són principalment el ió amoni, els aminoàcids, i així com també alguns pèptids de baix pes molecular. Generalment un most ja té la suficient quantitat de compostos nitrogenats pel desenvolupament de la fermentació sense problemes, ara bé hi pot haver ocasions en que l'addició de compostos nitrogenats sigui forçosa. Quan s'hagi de realitzar aquesta aportació el que es farà serà una addició en forma de sals amoniacals, com fosfat d'amònic, sulfit amònic, o bisulfit amònic. Aproximadament 100 g de sulfat o fosfat d'amònic, conté al voltant de 27 mg d'amoni i 73 mg de sulfat o fosfat. Preferiblement el que s'afegirà serà sulfat, ja que amb l'altre tenim el perill que es produeixi el trencament fèrric. Les necessitats de substàncies nitrogenades d'un most es poden determinar mesurant l'índex de nitrogen fàcilment assimilable (NFA). On serà necessària per a mostos amb un nivell NFA inferior a 150 mg/L. L'addició de substàncies nitrogenades també està indicada en mostos en els quals el nivell de sucre és elevat i per tant es preveu un acabament de la fermentació molt difícil a causa de l'acumulació de substàncies tòxiques o impermeabilitzants a les parets cel·lulars dels llevats. També és indicada l'addició de compostos nitrogenats per evitar la formació de compostos de sofre amb que es genera una olor molt desagradable. No obstant un excés de compostos nitrogenats pot induir a la formació excessiva de carbamat d'etil, el qual en moltes legislacions està limitada per les seves propietats cancerígenes. La dosificació de les sals amoniacals es realitza quasi sempre al final de la fase de multiplicació dels llevats, durant el segon o tercer dia de fermentació, ja que es en aquest moment, en el qual, si que poden ajudar positivament amb l'augment de la població de llevats. En l'addició d'aquests

compostos és molt important que es realitzi a través d'una mescla que es pot fer amb un remuntat. Si l'addició es realitza en la fase estacionaria es veurà que aquest augment dels compostos nitrogenats no comportarà un augment de la població, però podrà reactivar la síntesi proteica dels llevats existents, assegurant durant molt més temps l'activitat fermentativa.

- Compostos minerals: els mostos contenen quantitats suficients de minerals per assegurar – se un bon desenvolupament de la fermentació. Aquests compostos són essencials per a les funcions vitals dels llevats. Els compostos minerals són un 5 o 10% del pes sec del most i la seva distribució és la següent:

Compostos	% (en pes de cendres)
P_2O_5	45 a 59
K_2O	23 a 48
MgO	3.7 a 8.5
CaO	1.0 a 4.5
SO_3	0.4 a 6.3
Na_2O	0.1 a 2.2
Fe_2O_3	0.1 a 7.3
SiO_3	0 a 1.8
Cl	0.1 a 1

A part dels elements que descrits abans també formen part del most una sèrie de oligoelements en quantitats molt petites però que són essencials pels llevats: Al, Br, Cr, Cu, Pb, Mn, As, Sr, Sn, Zn,...

E.6 Possibles causes de les aturades de la fermentació:

Pel que fa a possibles aturades de la fermentació, normalment es donen per falta de nutrients necessaris per mantenir una abundant concentració de llevats. Una possible solució per portar a terme abans d'efectuar la collita és un correcte abonament del camp durant tot el procés de maduració del raïm.

Una altre possible solució, en els casos en que el most té una deficiència de compostos assimilables per part dels llevats, seria barrejar el nostre most amb un altre que no tingués aquestes mancances, o bé afegir sals amoniacals i mitjançant un remuntat homogeneïtzar el most.

En aquest cas es poden efectuar diferents mètodes per a fer front aquesta aturada:

1. Afegir sals amoniacals.
2. Sembrar amb llevats que tolerin l'alcohol tot disminuint la temperatura.
3. Produir un aireig en el most.

Cal tenir en compte que els mostos que hagin sofert alguna aturada la seva qualitat es veurà afectada.

Aquestes parades que poden passar a la fermentació, poden deixar la concentració en sucres en el vi amb més o menys quantitat de sucres. Això el que pot succeir és que el nostre most sofreixi un atac de les bactèries làctiques sobre els sucres i que succeeixi el que s'anomena picat làctic. Els factors que poden ser causa d'una aturada a la fermentació són els següents:

- Concentració de sucres: un elevat nivell de sucre pot retardar l'inici de la fermentació alcohòlica, ja que genera una elevada pressió osmòtica dins el medi que limitarà la població cel·lular, a més a més de generar molta més quantitat d'etanol que provocarà finals de fermentació més difícils.

- Etanol: l'etanol el que afecte en els medis fermentatius, és que augmenta la permeabilitat de la membrana plasmàtica i disminueix el poder de selectivitat, incrementant el flux d'entrada de protons cap al citoplasma fet que inhibirà l'activitat de la ATPasa, inactivant les funcions vitals dels llevats i per tant paralitzant la fermentació alcohòlica. Els alcohols superiors procedents del metabolisme dels aminoàcids, també presenten el mateix efecte sobre els llevats, estant lligada la toxicitat a la longitud de la cadena carbonatada d'acord amb el següent ordre:

$$C_2 < C_3 < C_4 < C_5 < C_6 > C_7 > C_8 > C_9 > C_{10} > C_{11}$$

- Els àcids grassos de cadena curta, constituïts durant la fermentació alcohòlica, actuen en la permeabilitat de les parets cel·lulars dels llevats impedint un correcte intercanvi de substàncies amb l'exterior.

- L'anhídrid carbònic que és desprèn de la fermentació a altes concentracions pot presentar un efecte tòxic pels llevats es llavors que es pot tenir una aturada en el procés fermentatiu. Amb un remuntat amb aireig es pot eradicar el problema.

- Presència de pesticides: les restes de pesticides que es poden trobar en els mostos poden ser causants de males olors o bé també de ser tòxics pels llevats i per tant generar aturades a la fermentació. Els fungicides són els pesticides que més problemes porten a la fermentació. La major part dels casos si es dona un problema amb els pesticides, es degut a que s'han efectuat tractaments tardans al raïm o bé no s'ha respectat el pla de seguretat que s'ha fixat.

- Temperatura de fermentació: quan la temperatura sobrepassa als 35º - 40º es produeix una paràlisi dels llevats. És per això que es considera sobre els 30º la temperatura límit

per a la realització de la fermentació. També cal tenir en compte que quan s'inicia la fermentació si la temperatura inicial és molt baixa limitarà el creixement dels llevats i per tant es podrà arribar a tenir una fermentació incompleta dels sucres.

- Anaerobiosis estricte: la falta total d'oxigen al medi fermentatiu, especialment en la fase de desenvolupament dels llevats, el que succeeix es que hi ha una disminució d'esteroides i àcids grassos de cadena llarga que afectarà la permeabilitat de les parets cel·lulars dels llevats.

- La manca en el most de nutrients o factors de creixement també pot ser causa d'una aturada de la fermentació, encara que no són les vitamines les que presenten mancança sinó les substàncies nitrogenades.

- Els antocians i tanins extrets de les pellofes del raïm poden fixar – se a les parets cel·lulars d'alguns llevats, produint una impermeabilització de les mateixes per una coagulació entre aquestes substàncies i les proteïnes que formen la membrana.

E.7 Control de la fermentació alcohòlica:

El control de la fermentació alcohòlica vindrà determinada segons el tipus de vi que el viticultor vulgui elaborar. Caldrà que l'enòleg interpreti la cinètica de les fermentacions per tal que es pugui arribar a aconseguir el tipus de vi desitjat, i per tal de detectar possibles problemes que sorgeixin mentre transcorre la fermentació.

En aquest procés no és molt freqüent que s'hagi de fer un recompte del nº de cèl·lules en cada període, encara que si es vol realitzar, es pot fer a través d'una càmera de recompte i un microscopi.

Per tal de seguir la cinètica de la fermentació caldrà només anar seguint quina és l'evolució de la concentració dels compostos sintetitzats o bé mirar, per densitats, quina és l'evolució dels sucres que contenen els mostos. Aquesta tècnica és suficient per poder controlar la fermentació , arribant al seu punt i final quan es troben densitats entre 991 – 993 mg/L (per vi blanc) o bé 992 – 994 (per a vi negre). Aquest control cal efectuar – se dues vegades al dia i sempre del mateix lloc (cal agafar les mostres), poden utilitzar un remuntat, ja que homogeneïtzarà la mostra.

E.8 Maceració:

S'entén per maceració l'intercanvi de substàncies entre les parts sòlides del raïm i el most una vegada premsada la verema, o bé l'intercanvi entre les parts sòlides del raïm efectuada pel most. Els principals compostos que intervenen en aquesta tècnica són l'aportació d'antocians i tanins. Aquesta tècnica és la que diferencia entre les tècniques de vinificació en blanc o en negre. Els principis que regnen la maceració són:

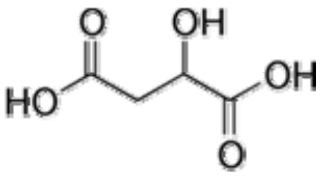
- Extracció i dissolució de les substàncies que contenen els teixits vegetals de les pellofes i les llavors.
- Difusió al most de les substàncies extretes.
- Modificació dels compostos extrets.

ANNEX F: Fermentació malolàctica:

F.1 Generalitats de la fermentació malolàctica:

Una vegada ha estat descubat el vi de la seva tina, no significa que el procés de vinificació ha estat acabat, sinó que caldrà que hi hagi una altre transformació biològica per tal de que s'optimitzi la qualitat i s'estabilitzi l'estat biològic del vi. S'aconsegueix a través de bactèries làctiques disminuir l'acidesa fixa i accentuar posteriorment la suavitat del vi. Es tracta d'un fenomen bioquímic, bacterià i imprescindible quan el raïm conté àcid màlic. La fermentació malolàctica és una transformació positiva per tal d'optimitzar la qualitat i estabilitzar l'estat biològic del vi. A més d'estabilitzar i optimitzar el vi la fermentació malolàctica ajuda a disminuir l'acidesa total, que repercutirà a la qualitat, ja que és el causant de donar un caràcter àcid al vi (ja que ens dona la sensació de fruita verda). Per altre banda l'àcid màlic ´`es un nutrient de fàcil assimilació per part de bactèries làctiques i per t5ant ens dona inestabilitat microbiana al vi.

La fermentació malolàctica és la transformació de l'àcid màlic que conté el vi a àcid làctic, per mitjà de bactèries làctiques presents en el mateix. La transformació malolàctica que sofreix el vi, es realitza just desprès que acabi la fermentació alcohòlica, fet que fa que moltes vegades passi desapercebuda. Provoca un conjunt de modificacions, que en alguns casos pot esser aconsellable i avantatjosa, però que en d'altres ens pot provocar alteracions en el vi.



→ CH3CHOHCOOH+ CO2

També cal mencionar que les bactèries làctiques actuen sobre altres components que conté el vi i que poden suposar el desenvolupament de malalties. Aquestes bactèries són de grandària inferior als llevats, amb possibilitats bioquímiques més reduïdes que els llevats, tenen menor resistència a les condicions adverses i també tenen una estructura cel·lular molt més senzilla.

F.2 Bactèries làctiques:

Els bacteris làctics es poden formar per tres raons principals: la primera es que la mateixa verema les contingui, una altre pot esser per la contaminació que es pugui tenir a través de la maquinaria, i per últim es poden afegir a través d'un cultiu extern.

Aproximadament un 60% de les bactèries són cocs de forma esfèrica i el 40% restant són bacils o bastons de forma allargada. Els bacteris làctics del vi poden agrupar – se en tres gèneres: lactobacils, leuconostocs, pediococs. Aquests gèneres es poden agrupar en dues famílies: homolàctiques (si produeixen majoritàriament àcid làctic) o bé heterolàctiques (si produeixen a més d'àcid làctic altres substàncies com l'àcid acètic).

Els bacteris làctics són molt sensibles a les condicions adverses del medi, molt més que no pas els llevats, és per això que caldrà rebaixar els nivells dels factors d'estabilitat (nivells de sulfurós, pH, temperatures extremes). Si no es realitzen accions per tal de disminuir aquests nivells el que pot succeir és que es desenvolupin altres bacteris que metabolitzin sucres, restes d'hexoses, en lloc d'àcid màlic.

Existeixen tres valors de pH que diferenciaran els tres possibles substrats que metabolitzaran els bacteris:

- pH $\leq 3 \rightarrow$ en aquest valor de pH impossibilita l'existència de bactèries.
- pH $\approx 3.23 \rightarrow$ pH de metabolització de l'àcid màlic.
- pH $\geq 3.51 \rightarrow$ pH en el qual comença l'atac de sucres.

El contingut en etanol no serà un impediment definitiu pel desenvolupament de la fermentació, ara bé serà més fàcil el desenvolupament de la fermentació en continguts més baixos en etanol. En canvi un contingut elevat de sulfurós si que pot provocar una paràlisi del procés, igual que un pH baix (per sota de 3).

En cellers de relativa antiguitat es veu que la fermentació malolàctica es desenvolupa espontàniament ja que segurament hi haurà una sembra espontània al nostre vi de bactèries del vi que ha estat dipositat anteriorment dins aquella tina. En canvi en llocs nous per al dipòsit del vi normalment s'haurà de recórrer a mostos que ja hagin sofert la fermentació malolàctica per tal que pugui desenvolupar – la al nou vi (inoculació de bactèries a través de vi que ja estat complerta la fermentació o bé que està en procés).

F.3 Mecanisme bioquímic:

El procés bioquímic per a la transformació de l'àcid màlic consta d'una primera descarboxilació de l'àcid màlic de quatre àtoms de carboni, en la qual s'allibera una molècula d'anhídrid carbònic i una altre d'àcid L(+) – làctic. Per poder realitzar aquesta transformació les bactèries agafen l'energia que necessiten dels sucres, de molècules de 5 o 6 àtoms de carboni, existents en el vi com a sucres residuals. L'entrada a la cèl·lula de l'àcid màlic es compensa amb la sortida de l'àcid làctic, anhídrid carbònic i varis protons. Mentre el potencial termodinàmic s'oposa a aquesta penetració, mantenint un pH baix dins la mateixa cèl·lula, (quan es metabolitzen sucres el pH serà més elevat), el gradient de protons permet la formació de ATP per mitjà de la ATPasa i es forma l'energia necessària per atendre les funcions vitals.

Aquesta transformació produeix un important descens de l'acidesa total del vi, ja que es passa de tenir un àcid fort amb dues funcions àcides a un àcid més dèbil amb una sola funció àcida. Una altre causa per la disminució de l'acidesa total es deu a que la presència d'àcid màlic en el vi augmenta la solubilitat del bitartrat potàssic, que presenta una funció àcida. Quant l'àcid màlic es va transformant el que succeeix es que la solubilitat del bitartrat potàssic disminueix i per tant fa disminuir l'acidesa total del vi.

Les anàlisis efectuades en un vi abans i desprès de la fermentació malolàctica demostren les variacions de l'acidesa al vi:

Meq / L	Abans	Després
Acidesa total	100	78
Acidesa volàtil	4,3	5,6
Àcid màlic	48	8
Àcid làctic	1,4	20
Acidesa fixa	96	73

Veient aquests paràmetres es pot comprovar si la fermentació malolàctica ha estat finalitzada o no: l'àcid làctic format ha de ser aproximadament la meitat de l'àcid màlic que s'ha transformat.

També es pot veure que a través de la fermentació malolàctica hi ha un petit augment de l'acidesa volàtil, això es degut a l'atac de l'àcid cítric per part de les bactèries làctiques.

F.4 Control de la fermentació malolàctica

Abans de començar la fermentació malolàctica caldrà realitzar una sèrie d'anàlisis per tal de conèixer alguns dels seus paràmetres físic – químics que uns serviran per poder determinar possibles problemes del medi per iniciar la fermentació malolàctica (control de l'anhídrid sulfurós lliure i total, sucres, pH i grau alcohòlic) i d'altres que serviran per poder controlar el desenvolupament de la fermentació malolàctica (acidesa total i volàtil, àcid màlic).
La manifestació externa que es denota la presència de la fermentació malolàctica és el despreniment de l'anhídrid carbònic que formarà una espuma característica a la superfície del vi. Una altre manera de veure la progressió de la fermentació malolàctica és a través de la disminució progressiva de l'acidesa total, disminució de l'àcid màlic i l'augment de l'àcid làctic. L'evolució de l'àcid màlic i làctic es pot mesurar mitjançant un mètode enzimàtic, encara que resultarà molt més fàcil fer – ho a través de cromatografia sobre paper, que suposarà un mètode semi – quantitatiu i ràpid de realitzar.

Per tal de poder controlar – ne el procés el que farem serà controlar que decreixi l'àcid màlic i que no augmenti de forma alarmant l'àcid acètic.

F.5 Factors que influeixen a la fermentació malolàctica:

Durant la fermentació malolàctica, cal tenir en compte una sèrie de factors que influencien tot el procés. Aquests factors poden ser de procedència externa o bé interna del propi vi, i que determinaran que la transformació sigui viable si els factors són favorables i inviable quan aquests siguin desfavorables.

Aquests factors són els següents:

- Factors ampelogràfics: són aquells que comprenen la naturalesa de la verema i sobretot les condicions de desenvolupament de la maduració, com poden ser: acidesa – pH, grau alcohòlic i els compostos fenòlics.

- Època: aquests factors són els que engloben les condicions ambientals el celler, especialment es té en compte la temperatura. Existeixen dues èpoques on es poden desenvolupar una fermentació malolàctica, una és la de la tardor o primera època, i l'altre la de la primavera o segona època. El millor es intentar desenvolupar la fermentació malolàctica a la primera època ja que és més fàcil de poder conduir la fermentació, i una altre raó seria que podent realitzar – ho dins aquesta primera època el que fem és disminuir el cicle comercial del vi.

- Temperatura: la temperatura és un dels factors primordials dins aquesta fermentació, essent la òptima entre els intervals de 10 – 30ºC, les quals sobrepassades aquestes dues tant si és per sobre com per sota les bactèries làctiques quedaran inhibides. La temperatura que s'ha fixat com a recomanable es troba entre els 20 – 23ºC per a vi que es troben entre els 12 i 14 % vol. d'alcohol. Si es desitja que aquesta transformació es trobi dintre la primera època el que es pot efectuar és tancar el celler ja que així no hi haurà pèrdues de calor durant l'hivern i la temperatura interior pujarà. Per sobre dels 25º l'activitat de les bactèries disminueix, no obstant no vol dir que les bactèries malolàcliques s'inhibeixin sinó que la fermentació es realitzarà d'una manera més lenta.
- Aireig: les condicions ideals pel que fa a l'aire es troben sota unes condicions d'anaerobiosis no estricte, això indica que es necessiten tenir petites quantitats d'aire. Les condicions d'aerobiosis dificulten el procés i fins i tot el poden arribar a impedir, raó per la qual es recomana no airejar el vi. Amb presència d'anhídrid carbònic, el medi es troba sota règim d'anaerobiosi i per tant afavorirà el desenvolupament de la fermentació malolàctica. Es per això que durant l'època de tardor serà més desitjable conduir la fermentació malolàctica, ja que encara restarà en el medi gran part de l'anhídrid carbònic després en la fermentació alcohòlica.

- Acidesa – pH: el valor de pH òptim per els microorganismes es troba al voltant de 4,2 i 4,5 molt superior als valors normals del vi, mentre que el valor de pH en el qual és impossible desenvolupar la fermentació malolàctica està entre 2,9 i 3. Els valors de pH per a la degradació dels sucres es troba al voltant de 3,5 essent els següents límits de pH els recomanats:

    1. Per a vi amb sucre residual: 3,2 a 3,5
    2. Per a vi sense sucre residual: > 3,2

  Si es realitza la fermentació malolàctica amb sucres residuals i amb un valor de pH més gran de 3,5 es produeix una degradació en paral·lel de l'àcid màlic i també dels sucres residuals que el que afectarà serà l'acidesa volàtil amb un augment d'aquesta. Els valors baixos de pH el que representen és un retràs en el començament de la fermentació malolàctica, encara que una vegada iniciada aquesta, el desenvolupament és molt bo ja que es produeix quasi exclusivament àcid làctic i poca acidesa volàtil. La concentració d'altres àcids diferents de l'àcid màlic també influencien negativament el desenvolupament de la fermentació. Si el valor de pH en el vi és baix el que es pot fer és desacidificar mitjançant dues tècniques: es pot realitzar l'addició de carbonat càlcic amb la qual s'aconsegueix la precipitació de la sal de tartàric en forma de sal càlcica, cosa que augmentarà els valors de pH. Una altre opció serà realitzar la mateixa tècnica

però només amb una part del vi i una vegada els valors de pH han augmentat el que es fa és utilitzar – lo com a inòcul per a la resta del vi.

- Alcohol etílic: les petites quantitats d'alcohol etílic fins a una concentració de 3 o 4% en volum estimulen el desenvolupament bacterià. A partir d'aquesta concentració l'activitat bacteriana disminueix linealment fins a arribar a valors de 14 o 15 % en volum en els quals l'activitat queda totalment inhibida.

- Anhídrid sulfurós: totes les formes d'anhídrid sulfurós posseeixen activitats antibacterianes, incloses les fraccions de SO_2 més estables i menys dissociables com pot ser l'acetaldehid i l'àcid pirúvic. Dels tipus de bactèries existents en el nostre vi els cocs (leuconostocs, oenococs, pediococs) són els menys resistents, a l'acció de l'anhídrid sulfurós, que els bacils (lactobacils). L'efecte que té el sulfurós és que la seva forma activa es difon dins la cèl·lula bacteriana en forma de SO_3H^- que reacciona amb els components cel·lulars provocant la seva mort. El sulfurós per tant és un eficaç instrument per a la inhibició del desenvolupament de la fermentació malolàctica.

- Compostos fenòlics: la riquesa en compostos fenòlics pot influir en el desenvolupament de les bactèries làctiques, presentant un efecte inhibidor en alguns casos i en d'altres un efecte estimulant. Un vi ric en polifenols la seva fermentació es desenvolupa amb una major dificultat.

- Necessitats nutritives: les bactèries làctiques necessiten de diferents substrats per tal de desenvolupar – se i multiplicar – se correctament. Generalment en el vi ja existeix una quantitat suficient de compostos pel bon desenvolupament de la fermentació malolàctica. L'energia necessària s'obté principalment per la degradació dels sucres, així com també pel metabolisme dels àcids orgànics i d'alguns aminoàcids. Aquesta energia és necessària per la cèl·lula per permetre l'entrada de substàncies cap a l'interior pel seu metabolisme; també es necessària per mantenir una certa acidesa i per últim facilitar la sortida de compostos formats. Les bacteries necessiten dels compostos nitrogenats (especialment aminoàcids) per la síntesi de les proteïnes que permetran efectuar un correcte creixement de les cèl·lules. Uns altres factors de creixement són les vitamines, els elements minerals (Mg, K, Na, Cu, Fe, Mo, sulfats, fosfats) que normalment ja estan presents en el vi per tal d'efectuar un correcte desenvolupament de la fermentació malolàctica.

- Un altre factor a tenir en compte són les interaccions microbianes entre els llevats explicats durant la fermentació alcohòlica i les bactèries. En un vi on contingui aquests dos tipus de microorganismes seran els primers (llevats) en desenvolupar – se ja sigui per carències nutritives per part de les bactèries, com pels compostos que segreguen i inhibeixen el creixement de les bactèries.

F.6 Efectes de la fermentació malolàctica en el vi:

Els efectes sobre el vi que produeix la fermentació malolàctica pot ser beneficiosa o desitjable en alguns casos i per contra en d'altres totalment indesitjables. Un exemple que hi ha serà el vi negre de criança on és imprescindible obtenir una bona estabilitat biològica que garanteixi la seva conservació en el temps. Un altre exemple seria el vi amb una acidesa màlica molt elevada en la qual la desacidificació biològica és la única solució possible. Els efectes positius o negatius d'una fermentació malolàctica poden ser els següents:

- Important disminució de l'acidesa total en que pot comportar una disminució del 50% de l'acidesa inicial i fins i tot l'eliminació de l'àcid màlic (amb característiques organolèptiques com a gust aspre i astringent) cap a l'aparició de l'àcid làctic de gust més vinós i suau.

- Increment de l'acidesa volàtil: degut a la degradació dels sucres residuals, i sobretot a la metabolització de l'àcid cítric que es produeix al final de l'etapa de fermentació malolàctica i que causa la total desaparició d'aquest compost.

- Disminució de la intensitat de color: aquesta disminució és explicada a través de la modificació del pH del vi, que implica una modificació en els antocians que conté el vi.

- Modificació de l'aroma: degut en part a la disminució de les aromes varietals per una degradació o hidròlisi dels compostos aromàtics del raïm, i per altre a la desaparició dels compostos aromàtics formats durant la fermentació alcohòlica. Per una part pot ser que els compostos eliminats siguin beneficiosos pel vi i no es desitgi aquesta eliminació, o bé que convingui aquesta eliminació.

- Acumulació de monoproteïnes: procedents de les parets cel·lulars dels llevats, i de les pròpies bactèries làctiques i que comuniquen en el vi una agradables sensació grassa i de volum.

- Major estabilitat biològica: degut a l'empobriment de nutrients o factors de creixement, així com també la presència de factors inhibidors per part dels microorganismes.

- Degradació dels aminoàcids: degut a la seva descarboxilació i produint diferents substàncies desagradables.

- Formació de polisacàrids exocel·lulars: aquestes substàncies són produïdes per una espècie de lactobacil i es la causant de donar al vi un aspecte viscós i dens.

ESTUDI ECONÒMIC

Per realitzar l'estudi econòmic el que es fa és la separació entre els dos mètodes utilitzats, es calcula el pressupost per cada un i finalment el que es fa és la suma dels dos mètodes i es calculen les hores que es destinen per efectuar els mètodes:

Mètode Kjeldhal

1. Instrumentació: (Catàleg Afora 2007)

- Aparell Kjeldhal Bouat – Afora	1437 €
- Digestor	2800 €
- Vas de precipitats	3 €
- Pipeta 25 Ml	16 €
- Pipeta 5 mL	5 €
- Pipeta 10 mL (doble enràs)	9 €
- Pipeta 20 mL (doble enràs)	13 €
- Proveta 50 mL	13 €
- Matràs aforat 50 mL	9,7 €
- Anaclins (400u.)	24 €
- Bureta 10 mL	65 €
Total s / IVA	**4394,7 €**

2. Reactius: (Catàleg Schaulab – 2007)

- Barreja catalitzadora ref. HE06801000 1Kg	54,06 €
- Àcid sulfúric 98% ref. AC20661000 1L	13,56€
- NaOH 40% ref. SO04221000 1L	20,16 €
- HCl 0.2N ref. AC07401000 1L	17,02 €
- Indicador Fenolftaleïna sol. 1% ref. FE04960100 100 mL	10,95 €
- Glicocol·la ref .AC04020250 250g	19,38 €
Total s / IVA	**135,13 €**

3. Hores destinades a la preparació i anàlisi d'una mostra:

- Preparació de la mostra per efectuar la corresponent digestió:
  a. Preparació de reactius i addició: 10 – 15 min
  b. Realització de la digestió: 6 – 7 h

- Condicionament de la mostra i valoració:
  a. Efectuar enras de la mostra digerida, agafar alíquota de 20 mL afegir excés de NaOH i V d'H_2O: 15 min
  b. Efectuar valoració: 15 – 20 min

- Realització dels càlculs oportuns per l'obtenció de resultats:
  a. Realització de càlculs: 10 – 15 min
  b. Tractament de dades: 4 – 5 h

S'agafaren les mostres de les següent manera:

6 mostres	6 mostres	6 mostres	6 mostres	6 mostres	4 mostres

De tal manera que pel càlcul de les hores que es destinaren per efectuar tot l'anàlisi del N_{TOTAL} són:

a) 15 min + 7 * 60 min = 435 min → 7,25 h

7.25 h * 6 grups = 43,5 h Total

b) 15 min + 20 min = 35 min → 0,583 h

0.583 h * 34 mostres = 19,82 h Total

c) 15 min + 5 h * 60 min = 315 min → 5,25 h Total

Total hores destinades a la preparació de la mostra, digestió, valoració i tractament de dades:

Total Hores = 43,5 + 19,82 + 5,25 = 68,57 h

Cost Total = 68,57 h * 8 € / h = **548,56 €**

Cost Total per l'anàlisi del mètode Kjeldhal:

1. Instrumentació	4394,7 €
2. Reactius	135,13 €
3. Cost hores	548,56 €
TOTAL s / IVA	**5078,39 €**

Mètode Sorensen

1. Instrumentació: (Catàleg Afora 2007)

- pH – metre	490 €
- Bureta 25 mL	70 €
- Bureta 10 mL	65 €
- Pipeta 10 mL (doble enras)	9 €
- Vas de precipitats 100 mL	2,70 €
- Vas de precipitats 50 mL	2,1 €
Total s / IVA	**638,8 €**

2. Reactius: (Catàleg Schaulab 2007)

- NaOH 0.1N SO04431000 1L	11,58 €
- Formaldehid 37 – 38% p/p FO00111000 1L	16,05 €
- Peròxid d'hidrogen 30% p/v HI01381000 1L	23,91€
Total s / IVA	**51,54 €**

3. Hores destinades a la preparació i anàlisi d'una mostra a través del mètode Sorensen:

- Preparació de la mostra per efectuar la corresponen valoració:
  - Preparació dels corresponents reactius i addició d'aquests: 10 – 15 min.
  - Preparació del muntatge: 10 min.

- Valoració de la mostra: 20 min

- Realització dels càlculs i obtenció de resultats:
  - Realització dels càlculs: 15 min
  - Tractament de dades: 4 – 5 h

De tal manera que el temps destinat per a l'anàlisi del NFA de totes les mostres fou:

a) 15 min + 10 min = 25 min → 0,416 h

b) 20 min = 0,333 h → 0,333 h * 34 mostres = 11,33 h

c) 15 min + 300 min = 315 min → 5.25 h

Total hores = 0,416 + 11,33 + 5,25 = 16,996 h

Cost Total = 16,996 h * 8 € / h = **135,968 €**

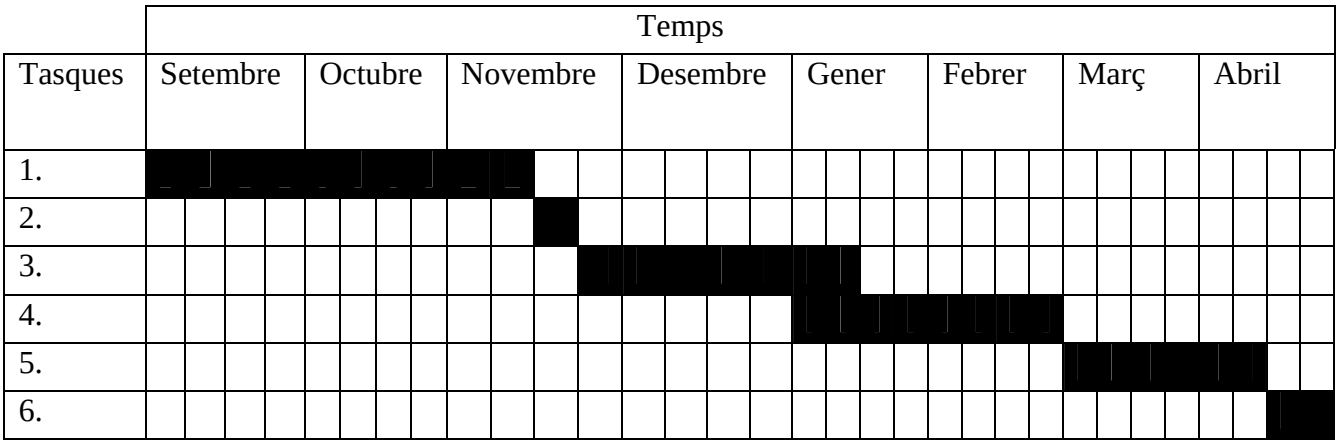
Cost total per l'anàlisi del mètode Sorensen:

1. Instrumentació	638,8 €
2. Reactius	51,54 €
3. Hores	135,97 €
Total s / IVA	**826,31 €**

Pressupost Total:

CONCEPTE	UNITATS	PREU UNITARI	PREU
Aparell Kjeldhal	1	1437	1437
Digestor	1	2800	2800
Vas precipitats 250	1	3	3
Pipeta 25 ml	1	16	16
Pipeta 5 ml	1	5	5
Pipeta doble enràs 10 ml	1	9	9
Pipeta doble enràs 20 ml	1	13	13
Proveta 50 ml	1	13	13
Matràs aforat 50 ml	1	9,7	9.7
Anaclins (400 u.)	1	24	24
Bureta 10 ml	1	65	65
ph – metre	1	490	490
Bureta 25 ml	1	70	70
Pipeta 10 ml doble enràs	1	9	9
Vas precipitats 100 ml	1	2,7	2,7
Vas precipitats 50 ml	1	2,1	2,1
H_2SO_4 98 %	1L	13,56	13,56
NaOH 40 %	1L	20,16	20,16
HCl 0.2 N	1L	17,02	17,02
Fenolftaleïna	100 ml	10,95	10,95
Glicocol·la	250 g	19,38	19,38
NaOH 0.1 N	1L	11,58	11,58
Formaldehid 37 – 38 % p/p	1L	16,05	16,05
Peròxid d'hidrogen 30 % p/v	1L	23,91	23,91
H mètode Kjeldhal	68.57 h	8 € / h	548,56
H mètode Sorensen	17 h	8 € / h	136
		Total s / IVA	**5904,73**

A continuació el que s'ha realitzat és la distribució de les tasques en relació amb el temps destinat a cada una.



1. Recopilació d'informació bibliogràfica i dels mètodes d'anàlisi.
2. Posada a punt d'aparells.
3. Anàlisis de les mostres.
4. Obtenció de resultats.
5. Tractament de dades.
6. Conclusions.

Bibliografía

Aleixandre Benavent, José Luis. Manual de Enologia. Servicio de Publicaciones de la Universidad Politécnica de Valencia. Valencia 1999

American Journal Oenology and viticulture. Vol.32 Nº 2. 1981

Amerine, M.A y C.s.Ough. Methods for Analysis of Musts and Wines, New York 1980

Amerine, M.A y C.s.Ough. Análisis de vinos y mostos. Ed. Acribia 1976

Enciclopèdia Catalana. Barcelona, 1ª edició 1978

ESCOLA POLITÈCNICA SUPERIOR. Dossier de Pràctiques Experimentació en Química. Girona 2003.

Flanzy, C. Enologia: Fundamentos Científicos y Tecnológicos, ed. Mundi – Prensa 2003

Garcia Barceló, J. Técnicas analíticas para vinos y mostos. Ed. GAB, Barcelona 1990

Hidalgo Fernández – Cano, Luis. Tratado de Viticultura general. Ediciones Mundi – Prensa. Madrid 1993

Hidalgo Torres, J. Tratado de Enología. Ediciones Mundi – Prensa. Madrid 2003

http://ca.wikipedia.org/wiki 15, 16, 23 de setembre, 9, 12, 25, d'octubre (Obtenció de les diferents molècules que composen el raïm, juntament amb definicions dels processos de vinificació.)

http:// www.cannirus.net 25, 26 d'octubre, 1, 2, 5 de novembre (Obtenció de les dades climatològiques pertinents a l'anyada de recol·lecció de les mostres.)

http://www.gencat.net/darp/c/incavi/docpral/cinc09.htm 21, 22, 23, 30 de setembre (Determinació de tècniques analítiques per part de l'Incavi)

http://www.inm.es 10, 11, 12 de novembre (Determinació de les dades meteorològiques per al posterior estudi climatològic.)

http://www.meteocat.com 10, 11, 12 de novembre (Determinació de les dades meteorològiques per al posterior estudi climatològic.)

http://www.panreac.com 13, 14, 15, 16 d'octubre (Per tal de mirar els catàlegs de preus dels productes d'aquesta marca.)

http://www.tdx.cesca.es/TESIS_URV/AVAILABLE/TDX_0115103_114605/2Introducció.pdf 14, 16, 17 de setembre, 2, 3, 4 d'octubre (per tal de contrarestar possibles tractaments de les

mostres i mirar quines són les tècniques utilitzades per a la determinació dels diferents compostos nitrogenats als mosts.)

Larrea Redondo, Antonio. Enologia Bàsica. Editorial Aedos. Barcelona 1983

Métodos Oficiales de análisis. Ministerio de Agricultura, pesca y alimentación. Madrid 1993

Mareca Cortés, I. Origen, composición y evolución del vino. Ed Alhambra (1ª ed. 1983)

Ough, C.S. Tratado básico de enología. Editorial Acribia. Zaragoza 1996

Peynaud, Emile. Enología práctica: conocimiento y elaboración del vino. Ed. Mundi – Prensa. Madrid 1989

Rankine, Bryce. Manual práctico de enología. Editorial Acribia Zaragoza 1999

Recueil des methodes Internationales d'Analyse des vins et des Mouts. Office International de la Vigne et du Vin. Paris, 2002

Ribereau – Gayon, J. Et Autres. Ciencias y técnicas del Vino. Ed. Hemisferio sur 1989

Suàrez Lepe, José Antonio. Microbiología enológica: fundamentos de vinificación. Editorial Mundi – Prensa. Madrid 1992

Troost, R. Gerhard. Tecnología del vino. Editorial Omega. Barcelona 1985

Usseglio – Tomasset, Luciano. Chimie Oenologique. Edizioni AEB 1989

Usseglio – Tomasset, Lucioano. Química enológica

Dedico el meu Treball de final de carrera a la meva germana Laura, que tant em va ajudar a arribar a realitzar la meva formació.

M'agradaria donar les gràcies a les següents persones, que amb el seu ajut el meu projecte a pogut veure's completat:

- Primer de tot donar les gràcies al Sr. Eduard Puig Vayreda per deixar – me treballar al seu costat i per l'ajuda i la implicació que en tot moment ha donat.

- També donar les gràcies a la Sra. Carme Coll, per l'ajuda que he rebut a l'hora de realitzar les anàlisis de les mostres i per la seva implicació en el treball.

- A la Sra. Núria Cabezas que en tot moment em va ajudar en el que va caldre.

- Al Sr. Joan Garcia, de l'INCAVI, per l'atenció que em va donar a les diferents visites realitzades a l'Institut Català de la Vinya i el Vi i per la informació aportada per aquest Departament.

- A la companya Aida per l'intercanvi d'informació que em tingut en les diferents visites a l'INCAVI.

- Al Sr. Pou, per la informació facilitada en l'apartat de les condicions climatològiques, ja que en diversos departaments consultats no tenien les dades climatològiques que necessitàvem per la realització del projecte.

- A la meva família, pares, germà, tota en general, pel recolzament donat en tot moment de la realització del projecte.

- Per últim, donar les gràcies a tots els companys que m'han recolzat i m'han donat suport en tot moment per la realització d'aquest projecte.