

Arnau Just Borràs

Efecte de l'aplicació de l'intercanvi catiònic sobre la composició i qualitat del Cava



Treball de final de Màster

Tutors: Fernando Zamora Marín i Joan Miquel Canals Bosch

Màster en begudes fermentades. Facultat d'Enologia



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
Tarragona

Índex

Abstract	3
Resumen	4
Resum	5
Introducció	6
Materials i mètodes	15
Resultats i discussió	21
Conclusions	29
Perspectives de futur	30
Agraïments	30
Bibliografia	31
Annex 1: Propietats inicials del most	34

Abstract

Sparkling wines are the result of the second fermentation of a base wine and are characterized for having a low alcohol content (no more than 11°). Cava is the brand for the sparkling wine produced mainly in Catalonia. This industry is an important sector for the local economy. It is regulated by the Cava Regulatory Board.

The Cava must have high acidity levels and low pH to ensure an optimal freshness and conservation during ageing. However, due to climate change the grape juice “must” obtained from the grapes is changing its properties. The main consequence of the climate change is the increase of must’s pH which results in a higher accumulation of sugar in grapes. Therefore, the higher pH could endanger the oenological, chemical and organoleptic properties of the product in the future years. To revert these effects and acidify musts, there are some methods like adding “legal” acids or using cation exchange columns. These columns decrease the pH by replacing the potassium ions (K^+) present in the must with protons (H^+).

The aim of this work was to analyse which effect will have the cation exchange FreeK⁺ column by AGROVIN in the enological, chemical and organoleptic properties of Cava. To study these effects, different blendings were made by mixing normal must with increasing percentages of must (from 0% to 45%) treated with the FreeK⁺ columns. After the blending, the musts were fermented to obtain the base wine. These base wines were submitted to a second fermentation to obtain Cava.

Different parameters have been analysed both in the base wine and in the young Cava aged for eleven months and results have shown that the system did not damage any quality of the product, thus confirming that the cation exchange is a promising system.

Key words:

Sparkling wine, Cava, cationic exchange column, climate variability, alcoholic fermentation, potassium, *Sccharomyces cerevisiae*, pH, acidity, HPLC, Mosalux.

Resumen

Los vinos espumosos son el resultado de la refermentación de un vino base de baja graduación alcohólica (como máximo 11°). En Catalunya una de las industrias enológicas más conocidas es la elaboración de vino espumoso o Cava. Esta industria en muchas regiones del territorio está regulada por el Consell Regulador del Cava.

El mosto destinado a la producción de Cava tiene que tener una acidez elevada y un pH bajo para asegurar un nivel óptimo de frescura y conservación durante el envejecimiento. El cambio climático está haciendo que los mostos tengan cada vez un pH más elevado, hecho que afecta negativamente las propiedades enológicas, químicas y organolépticas del producto final. Con el objetivo de disminuir este efecto existen alternativas de acidificación como la adición directa de ácidos en los mostos o el uso de columnas con resinas de intercambio catiónico. Estas columnas captan el potasio (K^+) del mosto y liberan protones (H^+) para acidificar el mosto.

El objetivo de este Trabajo es evaluar cual es el efecto que podría tener la columna de intercambio catiónico FreeK⁺ de la empresa AGROVIN sobre las propiedades enológicas, químicas y organolépticas del Cava. Para estudiar estos efectos se hicieron diferentes coupages con concentraciones crecientes de mosto (de 0% a 45%) tratado con la columna FreeK⁺. Después de hacer los coupages se hicieron fermentar los mostos para obtener vino base. Los vinos base se sometieron a una segunda fermentación para obtener Cava.

Se han analizado diferentes parámetros tanto en el vino base como en el Cava joven una vez transcurridos once meses de envejecimiento y los resultados muestran que el sistema no ha provocado ningún efecto negativo en la calidad del producto y que por tanto las columnas de intercambio catiónico son un método prometedor.

Palabras clave:

Vino espumoso, Cava, Columna de intercambio catiónico, Cambio climático, fermentación alcohólica, potasio, *Saccharomyces cerevisiae*, pH, acidez, HPLC, Mosalux.

Resum

Els vins escumosos són el resultat de la refermentació d'un vi base de baixa graduació alcohòlica (com a màxim 11°). A Catalunya una de les indústries enològiques més conegudes és la elaboració de vi escumós o Cava. Aquesta indústria en moltes de les regions del territori, està regulada per el Consell Regulador del Cava.

El most destinat a la producció del Cava ha de tenir acidesa elevada i pH baix per tal d'assegurar un òptim nivell de frescor i conservació durant l'envelliment. No obstant, el canvi climàtic està fent que els mostos cada vegada tinguin un pH més elevat, fet que afecta negativament les propietats enològiques, químiques i organolèptiques del producte final. Per tal de disminuir aquest efecte existeixen alternatives d'acidificació com l'addició directe d'àcids legals en els mostos o l'ús de columnes amb resines d'intercanvi catiònic. Aquestes columnes capten el potassi del most (K^+) i alliberen protons (H^+) per tal d'acidificar el most.

L'objectiu d'aquest treball és avaluar quin efecte que podria tenir la columna d'intercanvi catiònic FreeK⁺ de l'empresa AGROVIN sobre les propietats enològiques, químiques i organolèptiques del Cava. Per estudiar aquests efectes es van fer diferents cupatges amb concentracions creixents de most (de 0% a 45%) tractat amb la columna FreeK⁺. Després de fer els cupatges es van fer fermentar els mosts per obtenir vi base. Els vins base es van sotmetre a una segona fermentació per tal d'obtenir Cava.

S'han analitzat diferents paràmetres tant en el vi base com en el Cava jove un cop transcorreguts onze mesos d'envelliment i els resultats mostren que el sistema no ha provocat cap efecte negatiu en la qualitat del producte i que per tant les columnes d'intercanvi catiònic són un mètode prometedor.

Paraules clau:

Vi escumós, Cava, Columna d'intercanvi Catiònic, Canvi climàtic, fermentació alcohòlica, potassi, *Saccharomyces cerevisiae*, pH, acidesa, HPLC, Mosalux.

Introducció

El Cava en l'actualitat

DO Cava

Els vins escumosos són vins blancs o rosats que resulten de dues fermentacions alcohòliques. La primera transforma el most, suc obtingut del premsat del raïm, en vi base i la segona, el vi base en escumós a través de l'addició de sucre i nous llevats al medi.

Els vins escumosos més reconeguts en la Península Ibèrica es recullen sota la Denominació d'Origen Cava (DO Cava) que vetlla pel compliment dels requisits per obtenir un producte de qualitat. La DO Cava defineix el seu producte com *un vi escumós de qualitat, obtingut mitjançant la realització d'una segona fermentació alcohòlica, en ampolla, del vi base i complint el "mètode tradicional", en una zona geogràfica determinada. A més afegeix que "el vi ha de restar, al menys, nou mesos en contacte amb les lïes (biomassa formada per la població de llevats) en la mateixa ampolla en la que ha tingut lloc la segona fermentació"*. La DO Cava també limita les varietats que es poden utilitzar a Macabeu, Xarel·lo, Parellada, Malvasia riojana i Chardonnay pel que fa les varietats blanques i Garnatxa negra, Monastrell, *Pinot Noir* i Trepapat per les negres (DO Cava, 2019).

L'efecte del canvi climàtic en la maduració

Una de les etapes més importants per a l'obtenció d'un producte de qualitat és la maduració tecnològica, o acumulació de sucres (majoritàriament glucosa i fructosa en concentracions entre 150 i 250 g/L) en els grans de raïm. La concentració de sucres es troba inversament relacionada amb la concentració d'àcids. Els àcids més abundants són l'àcid L-tartàric (5,5-2 g/L), cítric (1,5-0,5 g/L) i màlic (6,5-1,5 g/L) en la polpa (Ribéreau-Gayon et al., 2006; Mato et al., 2007; Kontoudakis, 2010; Coelho et al., 2018).

En la maduració també hi té un paper important el potassi. Aquest element s'acumula en la polpa en forma d'ió K^+ des del principi del desenvolupament dels grans de raïm, ja que no es metabolitza, i assoleix concentracions d'entre 0,5-2 g/L (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

La maduració es pot veure alterada per dos tipus de factors. Per una banda els immutables, és a dir, que no es poden controlar, com la tipologia de plantació i varietat del cep, el clima, sòl, i orientació del terreny. Per altra banda, els factors variables com la temperatura, radiació i humitat que poden variar dins d'un rang de valors entre veremes (Gil-Cortiella, 2014).

El procés de maduració de la vinya, tan vinculat a les característiques del seu entorn, s'està veient forçat a canviar degut al canvi climàtic. Ja és reconegut per les institucions competents d'abast internacional, com la ONU, que la temperatura de la Terra augmenta 0,2°C cada dècada (dades del *Intergovernmental Panel on Climate Change* (IPCC)). Aquest procés, més evident en l'hemisferi Nord, portarà la concentració de pluges en una època concreta de l'any (Masson-Delmotte et al., 2018).

En conseqüència, l'escalfament global fa que les condicions òptimes de creixement de vinya cada cop es situïn en cotes més elevades i que el procés de maduració del raïm estigui variant. L'augment de les temperatures ha provocat que la verema es faci més aviat degut a que l'acumulació de sucres en el raïm s'ha accelerat, la qual cosa comporta una acceleració en la desaparició d'àcids en el raïm i un augment del pH en els grans, i per tant en el most. El pH òptim del Cava es situa entre 3,0 i 3,2 tot i que la DO accepta productes amb pHs fins a 3,4. Per tal d'obtenir aquests pHs el raïm destinat al Cava es verema quan la concentració d'àcids és elevada. Aquest nivell baix de pH avui és més difícil d'obtenir degut a que els mostos i per tant els vins base són menys àcids.

A diferència de l'acumulació de sucres, l'acumulació de compostos fenòlics no s'ha vist accelerada de la mateixa manera. En conseqüència, l'equilibri d'acumulació d'aquest dos tipus de substàncies en el raïm ha deixat d'existir (Mira de Orduña, 2010; Royo, 2015).

A més, també s'ha observat que amb el canvi climàtic ha augmentat la presència de cations de potassi (K^+) en el most. L'augment de temperatures afavoreix el transport d'aquests cations a través de la membrana intracel·lular intercanviant-los per protons (H^+) de dins de les cèl·lules, provocant un augment del pH. És per aquests motius que cada vegada és més habitual trobar mostos amb pH

superiors a 4 en les zones vitícoles més càlides (Mira de Orduña, 2010; Royo, 2015).

Per tal de solucionar aquest problema existeixen diferents mètodes d'actuació sobre els mostos com l'acidificació afegint most de raïm veremat abans del seu punt òptim de recol·lecció o l'ús d'àcids orgànics febles, com l'àcid cítric, làctic o tartàric. Aquest últim, el més utilitzat, permet mantenir la frescor i fermesa dels vins. No obstant, la baixa solubilitat de les sals que forma l'àcid tartàric amb el potassi és un inconvenient ja que el seu ús obliga a establir el vi base per evitar la precipitació de sals en l'ampolla (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Columnes d'intercanvi catiònic

Una de les tècniques recentment autoritzades per la Organització internacional de la Vinya i el vi (OIV) és l'intercanvi catiònic en columnes. Les columnes d'intercanvi catiònic estan compostes per resines que atrapen de forma específica cations. En el cas dels vins són resines específiques per capturar cations de potassi (K^+) i substituir-los per protons (H^+). Amb aquest mètode no només s'aconsegueix rebaixar el pH sinó que també s'estabilitza el most evitant la precipitació de bitartrat de potassi (Agrovin, 2011). Aquest mètode, aprovat per la legislació europea (CE) i regulat per la OIV, manté algunes restriccions (OIV, 2000; Comunitat Europea, 2009):

- El tractament no ha d'alterar la natura del vi.
- El tractament no ha de reduir la intensitat del color del vi.
- El tractament no ha de reduir la concentració d'ions metàl·lics per sota de 300 mg/L.
- El tractament no ha de baixar el pH per sota de 3.0 i la disminució de pH no pot superar les 0,3 unitats de pH.
- La resina no ha de deixar substàncies en el vi o donar-li característiques que normalment no existeixen en el vi.

Aquesta tècnica no implica cap canvi en el procés de vinificació més enllà de la realització d'un cupatge entre el most que es fa circular per la columna d'intercanvi catiònic i el most no tractat. Per tant, el most s'obté de manera convencional, a baixa pressió de premsat, amb la mínima activitat mecànica i a

temperatures inferiors a 20 °C per no afectar la composició del most ni afavorir la maceració amb les parts sòlides del gra (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Característiques del most

En el most hi destaquen dos tipus de macromolècules: els polisacàrids i les proteïnes vegetals. Els polisacàrids provenen de la ruptura de les parets cel·lulars dels grans de raïm. Es poden diferenciar les gomes (formades per sucres simples neutres com l'arabinosa, ramnosa i galactosa) i, en menor quantitat, les pectines (formades per àcid galacturònic i ramnosa). Ambdós es degraden parcialment mitjançant pectinases presents de forma natural en el most fins obtenir monosacàrids (Madalena et al., 2014). Per altra banda, les proteïnes, com que no poden ser digerides pels llevats, podrien generar terbolesa durant la fermentació i per tant s'afavoreix la seva precipitació en el desfangat del most. El desfangat és un procés que permet l'eliminació de les partícules més grolleres que hi pot haver en suspensió en el most.

El most és molt sensible a l'oxidació de manera que, per protegir-lo d'aquesta i alhora per evitar la proliferació de microorganismes contaminants, es combina la saturació dels cups amb gasos inerts i l'addició de diòxid de sofre (SO₂). A la UE les addicions no poden assolir els 200 mg/L finals en vins convencionals o 150mg/L en vins blancs amb certificat orgànic (Ardilouze, 2006; Lisanti et al., 2019).

Actualment estan sorgint tècniques alternatives a l'addició de SO₂ ja que s'ha detectat que aquest pot actuar com a agent hipersensibilitzant, és a dir que pot tenir un comportament al·lèrgic. Tot i això, les alternatives com el lisozim, l'àcid sòrbic, el *quitosano*, el glutatió o els tanins enològics fins ara no han estat tan eficaços com el SO₂ (Ribéreau-Gayon et al., 2006; Lisanti et al., 2019).

Elaboració del vi base

La transformació del most en vi base és, metabòlicament, una fermentació alcohòlica duta a terme pels llevats *Saccharomyces cerevisiae*, que transformen els substrats glucosa i fructosa en etanol i CO₂ (*Figura 1*). *S.cerevisiae* s'inocula en concentracions de 20 a 40 g/hL o 5·10⁶ cèl·lules/mL en els cellers i es manté

la temperatura entre 14°C i 18°C per no afectar la qualitat del vi (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Per tal de que el llevat pugui realitzar la fermentació sense problemes es necessiten com a mínim 25 mg d'amoni i 160 mg de nitrogen total assimilable per litre de most. Si el most de partida no compleix aquestes condicions, es permeten addicions de diferents substàncies com el fosfat amònic o d'autolisats de llevat que aporten aminoàcids al medi.

Un dels tractaments post-fermentació més importants és l'eliminació de la terbolesa associada a proteïnes de petit pes molecular (<35 kDa) i a altres cossos que queden en suspensió en el vi. També és important evitar la precipitació cúprica i l'acció dels enzims oxidatius del most. Amb aquests tres objectius s'empra argila Bentonita en concentracions de 20-100 g/hL. Degut al pH àcid del vi les proteïnes tenen càrrega positiva, en canvi la Bentonita té un grup de silicats d'alumini hidratat amb càrrega negativa de manera que s'uneixen formant agregats insolubles que precipiten (Sipag Bisalta; Ribéreau-Gayon et al., 2006).

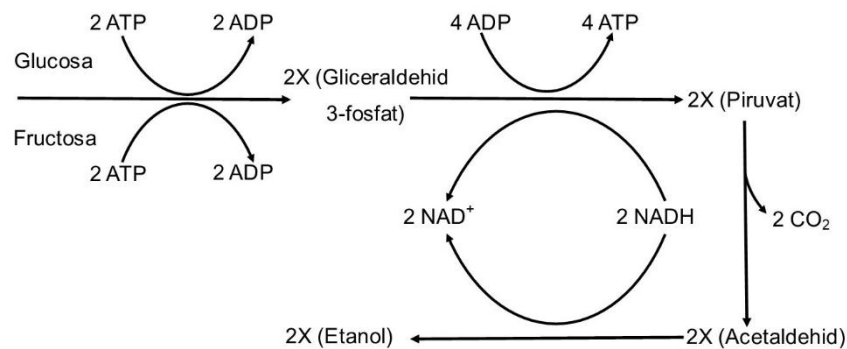


Figura 1: Esquema del procés metabòlic de la fermentació alcohòlica.

Elaboració del Cava

Un cop s'ha obtingut el vi base, es sotmet a un procés anomenat segona fermentació alcohòlica i que té lloc a l'ampolla (*Figura 2*). Aquest procés utilitza el vi base obtingut en la primera fermentació enriquit amb sacarosa com a font de carboni per als llevats, que la transformaran en etanol.

Tot i que s'empren soques de llevats amb alta resistència a les altes pressions generades en l'ampolla i nivells d'etanol, s'adapten prèviament a les condicions d'acidesa i grau alcohòlic a les que són inoculats a través d'un procés d'adaptació

que s'anomena peu de cup. El peu de cup consisteix en multiplicar una població de llevats en un medi amb sacarosa que es modifica progressivament per ser cada cop més similar al vi base. Aquest procés dona avantatge als llevats respecte altres organismes que podrien ser presents en el vi base i modificar-lo (IOC, 2014; Pons Mercadé, 2015; DO Cava, 2019).

Segons la DO Cava la segona fermentació que convertirà el vi base en Cava ha de transcórrer seguint el mètode tradicional o “*Champenoise*” en que l'ampolla es troba en posició horitzontal. Aquest procés ha d'anar seguit d'un procés de criança que ha de transcórrer en la mateixa ampolla on ha tingut lloc la segona fermentació, a una temperatura constant, normalment per sota dels 15°C. La criança o envelliment del Cava que li confereix un caràcter propi ha de durar un mínim de 9 mesos per obtenir Cava jove, 15 mesos per al Cava reserva o 30 mesos per al Cava Gran reserva durant el qual el Cava està en contacte amb les lies (biomassa de llevats) .

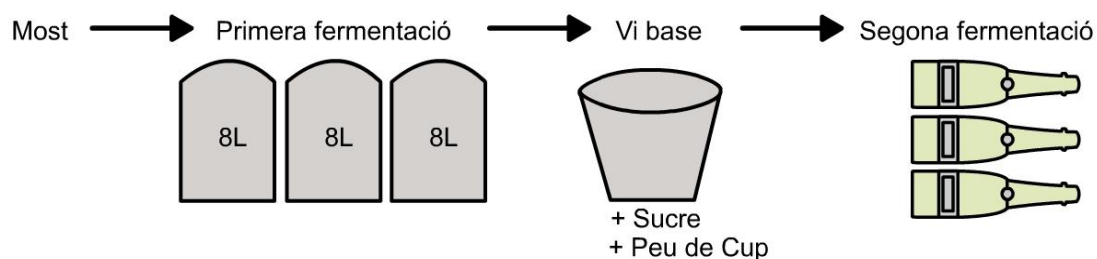


Figura 2: Procés d'elaboració del Cava fins on s'ha dut a terme en l'experiment.

Envelliment del Cava

L'envelliment del Cava dura tot el temps en que aquest es manté en contacte amb les lies de la fermentació. S'han fet pocs estudis que es focalitzen en el procés d'envelliment i en els canvis que pateixen els llevats durant aquest procediment. No obstant, en les lies amb més temps d'envelliment, la paret cel·lular dels llevats és més prima que en aquelles amb menys temps d'envelliment fet que evidencia una degradació de les lies i un alliberament de substàncies. Els components alliberats adopten un rol important en el producte ja que confereixen al Cava capacitat estabilitzadora de proteïnes, redueixen l'amargor i en milloren l'aroma. També s'ha vist que poden absorbir compostos

fenòlics oxidants de manera que eviten l'enfosquiment (Tudela et al., 2012; del Barrio-Galán et al., 2016).

En acord, existeixen evidències de que els vins amb més temps de criança sobre lies són més estructurats, amb més plenitud, més complexos aromàticament i amb el CO₂ millor integrat (Stefenon and Bonesi, 2017).

Durant les primeres etapes de l'envelliment, els llevats inicien un procés d'autofàgia en el que es formen grans vacuoles al seu interior que degraden els òrgànuls i altres components cel·lulars afectats per l'hostilitat del medi. Amb el pas del temps l'autofàgia esdevé autòlisis, un procés lent que provoca la mort dels llevats mitjançant enzims hidrolítics que alliberen components citoplasmàtics i de la paret cel·lular al vi. El trencament de la paret cel·lular es comença a fer evident a partir dels nou mesos d'envelliment mentre que a partir dels dotze mesos s'observa un augment en l'alliberació de polisacàrids, proteïnes solubles i polifenols dels llevats al vi. Passats divuit mesos d'envelliment, la velocitat del procés disminueix (Andrés-Lacueva et al., 1997; Tudela et al., 2012)

Pel que fa les macromolècules alliberades, s'ha vist que la majoria de proteïnes que es troben en el Cava provenen del procés d'envelliment i també s'ha observat una correlació positiva entre l'augment de temperatura i l'alliberament dels polisacàrids, malgrat això cal recordar que el Cava es conserva durant l'envelliment a temperatures relativament baixes i per tant el procés d'alliberació de polisacàrids és lent (del Barrio-Galán et al., 2016).

Paràmetres de qualitat del Cava

L'acidesa

Segons la normativa vigent de la Denominació d'Origen, en el Cava l'acidesa total ha de trobar-se al voltant de 5 g/L i la acidesa volàtil ha de ser menor a 0,65 g/L. Pel que fa el pH s'estableix un rang de pH legal comprès entre 2,8 i 3,4 (DO Cava, 2019).

L'acidesa total és la suma de tots els cations àcids, és a dir, derivats de tots els àcids presents en la mostra que en el most són principalment el tartàric, màlic i cítric i a mesura que la fermentació avança se'n generen d'altres com el làctic,

succínic i acètic. La contribució a l'acidesa que fan tots els àcids ve determinada per la seva concentració i de la força de dissociació (pKa) de cadascun. Així, com menor és la pKa, més forts són els àcids i més elevat és el grau de dissociació en el que es troben de manera que formen més sals i això redueix l'acidesa final del producte (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

En concret, els àcids presents en la mostra interactuen amb les proteïnes de la matriu del vi provocant un pH superior a l'esperat en el medi fet que facilita que espècies com *Saccharomyces cerevisiae* s'hi desenvolupin. Quan aquestes espècies comencen el procés de fermentació alcohòlica, l'augment de la concentració d'etanol fa disminuir la solubilitat d'algunes sals, formades a partir dels àcids dissociats com és el cas del bitartrat de potassi, que precipiten provocant una disminució de l'acidesa.

Part de l'acidesa depèn de l'àcid acètic. Aquesta acidesa es coneix com acidesa volàtil i la seva percepció és negativa. Aquest àcid el sintetitzen els bacteris acètics que es desenvolupen en presència d'oxigen durant la fermentació, si bé també el poden sintetitzar els llevats en condicions complicades de fermentació o els bacteris làctics durant la fermentació malolàctica (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

La capacitat escumant

Degut a la segona fermentació en ampolla, el CO₂ generat durant la segona fermentació alcohòlica queda retingut en el Cava i genera una gran pressió dins de l'ampolla. La pressió fa que al obrir-se l'ampolla de cop, el CO₂ s'alliberi i interaccioni amb les proteïnes, manoproteïnes i polisacàrids del Cava, formant bombolles que interaccionen entre elles i formen l'escuma (Martínez-Lapuente et al., 2015).

L'escuma és un paràmetre de qualitat molt important ja que afecta a la percepció del producte. Cal que sigui persistent en la copa i que les bombolles que la conformen siguin petites. Es mesura mitjançant l'escumabilitat relativa, un paràmetre que es pot veure influenciat per variables com la varietat de raïm, el tipus de verema i el mètode de producció del vi, l'envelliment del producte i les macromolècules que el constitueixen. Dins de l'escumabilitat relativa s'avaluen

dos factors, el nivell màxim d'escuma (HM) i el nivell d'escuma estable (HS) (Andrés-Lacueva et al., 1997).

Les proteïnes i els aminoàcids lliures generats durant la segona fermentació prenen una rellevància especial en l'estabilitat de les bombolles ja que confereixen resistència i augmenten la durabilitat en copa d'aquestes. No obstant, no influencien la seva formació. Per altra banda, les glicoproteïnes (50% glucosa i manosa i 50% proteic), i les manoproteïnes (90% manosa i la resta proteïna), alliberades pels llevats durant la primera i segona fermentació, s'han definit com a formadors d'escuma més importants (Martínez-Lapuente et al., 2015).

Així doncs, el canvi climàtic provoca canvis en la matèria prima del Cava i per tant posa en perill el procés d'obtenció d'un producte de qualitat. En aquest treball es pretén analitzar quin pot ser l'efecte de les columnes d'intercanvi catiònic sobre l'obtenció i l'envelliment del Cava, a partir de diferents mesures analítiques, ja que s'han postulat com una de les alternatives a combatre els efectes del canvi climàtic sobre els mostos.

Hipòtesis i Objectius

El canvi climàtic està fent que el most de Cava cada cop tingui un pH menys àcid. Aquest fet afecta la qualitat del producte i és necessari investigar en nous mètodes eficaços i segurs d'acidificació com són les columnes d'intercanvi catiònic.

Les hipòtesis d'aquest treball són que el tractament del most amb una columna d'intercanvi catiònic pot tenir un efecte sobre les macromolècules que hi estan dissoltes i per tant en les propietats enològiques del Cava i que el percentatge de most que ha circulat per la columna d'intercanvi catiònic afegit en el cupatge pot afectar a l'envelliment i a les característiques del Cava resultant.

Així, l'objectiu d'aquest treball és analitzar diferents paràmetres analítics i organolèptics del Cava jove per tal de determinar si el percentatge de most fet

circular per la columna d'intercanvi catiònic afegit en un most control pot alterar el producte obtingut.

Materials i mètodes

Obtenció de les mostres

Per fer aquest treball s'ha partit de vi base obtingut del most de Macabeu de l'Alt Penedès de les Bodegues Juvé & Camps. Part del most inicial es va fer circular per una columna d'intercanvi catiònic fins a obtenir un most amb una acidesa total de 8,7 g/L d'àcid tartàric i un pH de 1,9 (a partir d'ara, most FreeK⁺).

Per tal de comprovar que la columna d'intercanvi catiònic no afectava la qualitat del Cava, es van fer diferents grups experimentals als quals s'hi afegia un 0%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 35% o un 45% de most FreeK⁺. Seguidament, es van fer les analítiques amb els vins base i s'han repetit amb els Cava envellit que ha estat en contacte amb les lies durant onze mesos en horitzontal en la bodega experimental de la Universitat Rovira i Virgili Mas dels Frares. Després de ser desgorjades, es van centrifugar en envasos de centrifugació de 250mL a 16.266 g durant 15 minuts per a que perdessin el gas i precipitessin les impureses. Aquestes mostres s'han emprat per fer les analítiques que necessitaven més volum de mostra. Per altra banda, es van omplir i congelar a -22 °C 2 tubs de 50 mL de cada una de les mostres per tal que perdessin tot el gas i precipités la biomassa de llevats.

Fermentacions

Primera fermentació

Per la primera fermentació, es va inocular llevat comercial *Saccharomyces cerevisiae* EC118 (*Lallemand*) al most. Es van realitzar triplicats per cada grup experimental en dipòsits de 8L (*Figura 2*), a una temperatura de 17 °C i monitoritzades diàriament amb un densímetre *Mettler Toledo* (*PortableLab*™). A mesura que avança la fermentació la concentració de sucres es va anar reduint i per tant la densitat també ho fa proporcionalment. Un cop totes les mostres van finalitzar la primera fermentació, es van guardar en una cambra freda a 4°C per tal d'estabilitzar i clarificar els vins.

Segona fermentació

Primerament, el peu de cup es va realitzar amb vi de la varietat Macabeu, aigua i sacarosa inoculant el llevat *Saccharomyces cerevisiae* IOC 18-2007 (IOC, 2014). Aquest peu de cup es va mantenir afegint vi i sucre per tal de multiplicar els llevats fins assolir una població que permetés que al barrejar-la al 1-2 % amb el vi base suposés una població de uns 2 milions de cèl·lules/mL.

La segona fermentació es va realitzar segons el mètode tradicional de segona fermentació en ampolla horitzontal. Es van emprar ampolles verdes, obturador de plàstic i xapa metàl·lica. Els vins base es van enriquir amb 22 g de sacarosa/L i s'hi va afegir 20 ml/hL d'un clarificant a base de bentonita líquida (*Inoclair*) per afavorir el remogut dels caves (IOC, 2013) i es van inocular amb el peu de cup. El seguiment de l'evolució de la fermentació es va realitzar amb un mètode de determinació de la pressió dins de l'ampolla (*L. Sensor CO₂ (FTSYSTEM)*) que permet conèixer la pressió de CO₂ en l'interior de les ampolles de forma no destructiva. Es van mesurar les pressions de les 3 ampolles de cada grup experimental en intervals creixents d'entre 3 i 7 dies.

Les mostres analitzades en aquest treball han reposat sobre les lies de segona fermentació des del febrer de 2019 fins al gener del 2020, de tal manera que en el moment del desgorjat el seu temps dins de l'ampolla havia estat d'onze mesos.

Polisacàrids

Per determinar la concentració de polisacàrids presents en les mostres s'empra el protocol de determinació per cromatografia líquida d'alta resolució (*High Performance Liquid Chromatography - HPLC*) descrit per Ayestarán i el seu equip (Ayestarán et al., 2004).

Es concentren 10mL de mostra fins arribar als 2mL aproximats a través de la centrifugació al buit (*Concentrator plus- Eppendorf*). Un cop s'ha concentrat la mostra s'afegeixen 10mL d'alcohol àcid (dissolució 0,3M d'HCl en etanol pur) i es deixa 24h en cambra freda (4°C) per tal de que els polisacàrids precipitin.

Es centrifuga la mostra 20 minuts a 11.752 g, es resuspèn el sediment en 1mL d'aigua miliQ i es congela. Finalment, es liofilitza (*Telstar LyoQuest*) i es resuspèn el sediment amb 1mL de formiat d'amoni 50mM.

Un cop resuspès, el sediment de polisacàrids es filtra i es passa en un vial d'HPLC per tal d'analitzar-lo en el cromatògraf d'alta resolució (*Agilent Technologies 1200-1100*). L'HPLC injecta a les columnes Shodex OHpak SB-803 HQ i SB-804 HQ connectades en sèrie 100µL de mostra. La fase mòbil és un cabal constant a 0,6mL/min de format d'amoni (50mM), i l'anàlisi dura 60 minuts. El calibratge dels temps d'exclusió molecular es fa a través de l'anàlisi de diferents dextrans de diferents pesos moleculars per la columna. La recta patró s'obté injectant solucions patró en les mateixes condicions en rangs de 0 a 2g/L. Amb aquestes dues calibracions s'aconsegueixen els temps d'exclusió que permeten separar les fraccions de polisacàrids de les mostres segons el seu pes (*Taula 1*).

Taula 1: Separació dels diferents grups de sacàrids segons el temps d'exclusió molecular de cadascun en HPLC.

Temps inici exclusió (minuts)	Temps final exclusió (minuts)	kDa	Grup
18,12	21,8	>180	Polisacàrids
21,8	24,86	180-40	
24,86	28,26	40-7,5	
28,26	32,36	7,5-1	Oligosacàrids

Proteïnes

L'anàlisi de proteïnes seguint la metodologia HPLC precisa d'un procés de purificació previ (Medina-Trujillo et al., 2017). Aquest procés de purificació està basat en una diàlisi en que es disposen 15mL de mostra en sacs de cel·lulosa de 3,5 kDa. Aquest procés dura 4 dies. Els dos primers dies el líquid de diàlisi és una solució 0,3M d'acetat d'amoni i els altres dos és aigua miliQ. Un cop acabada la diàlisi, la mostra es situa en una placa de petri, on es congela per la seva posterior liofilització. Un cop liofilitzada la mostra es recupera el contingut de la placa amb 1,5 mL d'aigua miliQ, es diposita en envasos *ependorf* i es torna a liofilitzar.

El sediment resultant es suspèn amb 0,6mL d'acetat d'amoni 0,3M, es filtra i es passa a un vial d'HPLC per tal d'analitzar en el cromatògraf d'alta resolució (HPLC *Agilent Technologies 1200-1100*). S'injecten 100µL de mostra en la columna 165 Shodex OHpak SB-803 HQ. La fase mòbil és acetat d'amoni 0,3M. S'estableix un cabal de 0,6mL/min i l'anàlisi dura 70 minuts. El calibratge

qualitatiu dels diferents temps d'exclusió molecular es fa amb diferents proteïnes d'entre 2 i 150 kDa. La recta de calibratge quantitativa es realitza amb Bovine Serum Albumin (BSA) en les mateixes condicions en unes concentracions entre 0 i 6000 mg/mL. Amb aquestes dues calibracions s'obtenen uns temps d'exclusió que permeten separar les fraccions de proteïnes de les mostres segons el seu pes (*Taula 2*).

Taula 2: Separació dels diferents grups de proteïnes segons el temps d'exclusió molecular de cadascun en HPLC.

Temps inici exclusió (minuts)	Temps final exclusió (minuts)	kDa	Grup
10,87	11,99	>150	Alt pes molecular
11,99	12,97	150-75	
12,97	13,54	75-50	Mitjà pes molecular
13,54	14,52	50-25	Petit pes molecular
14,52	18,08	25-2	Pèptids
18,08	24,57	<2	

Paràmetres enològics

S'entenen com a paràmetres enològics totes les mesures que permeten conèixer de forma analítica els valors de grau alcohòlic, l'acidesa total i volàtil i el pH. El grau alcohòlic es calcula amb el microebulliòmetre μ EBU GAB (GAB-SistemáticaAnalítica), l'acidesa total es calcula a través d'una valoració àcid-base amb NaOH 0,1 normal fins assolir un pH de 8,2 i la volàtil amb un volatímetre (OIV, 2015) i el pH es calcula amb un pH-metre (CRISON pH-meter Basic 20+) (CRISON, 2008).

Escumabilitat

L'escumabilitat es determina amb la tècnica semi-quantitativa *Mosalux* descrita el 1990 per (Maujean et al., 1990; Poinssaut, 1991) i utilitzada en altres treballs del grup de recerca (Esteruelas et al., 2014) que permet determinar el HM i el HS a partir de 100mL de vi base.

Aquesta tècnica utilitza una columna graduada i amb una membrana porosa en la part inferior. La mostra es diposita a la columna i la membrana permet l'intercanvi de gasos però no l'intercanvi de líquids. Per sota de la membrana s'injecta un flux continu de gas CO₂ ajustat a una pressió de 2 bars a la sortida

de la bombona. El gas passa per un regulador de flux ajustat a 7L/hora abans de ser injectat a la columna.

Color

El color de les mostres es calcula a través de l'absorbància de cada mostra en longituds d'ona diferents (420 nm, 450 nm, 520 nm, 570 nm, 620 nm i 630 nm). Les mostres desgasades per mitjà de la centrifugació es posen en cubetes de 10mm.

Un cop obtinguts els valors de les absorbàncies s'introdueixen les dades obtingudes per les absorbàncies 450 nm, 520 nm, 570 nm i 630 nm en el programa *MSCV-Coordenadas* desenvolupat pel *Grupo de Color* del Departament de Química de la Universidad de la Rioja (UR) (Ayala, 2012). Aquest programa integra les absorbàncies per tal de convertir-les en coordenades d'una esfera de color (Esfera CIELAB – Espai de color *CIE 1976 L*a*b**, *Figura 3*). En l'esfera de color hi ha tres eixos, a i b ens aporten la saturació o croma i L la claredat (Fernando Zamora, 2004).

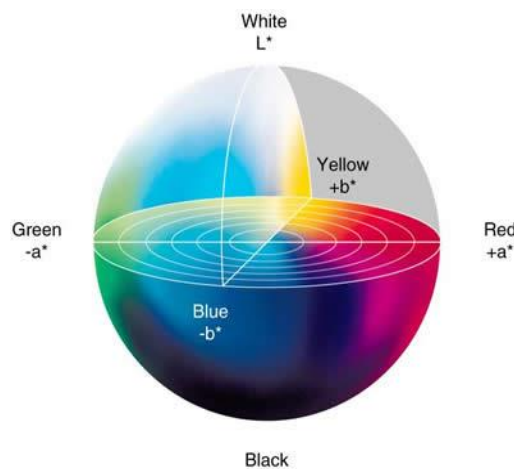


Figura 3: Esfera CIELAB

Índex de polifenols totals

El contingut total de polifenols, o índex de polifenols totals reflexa el contingut total de compostos fenòlics en el vi. Els compostos fenòlics són components del vi que influencien generalment en el color i l'astringència del producte. La seva presència es determina a través de la quantificació de l'absorbància de la mostra

diluída 10 vegades a 280 nm utilitzant l'espectròmetre. Per tal de fer aquesta analítica s'utilitzen cubetes de quarts d'1mm (Mataix and Luque de Castro, 2001).

Tractament estadístic

Les dades mostrades són mitjanes aritmètiques dels triplicats amb la desviació estàndard per cada paràmetre. Les dades han estat analitzades amb el *software XLSTAT*. S'han fet tests ANOVA de comparacions per parelles mitjançant el test de Tukey (HSD) per comparar mostres intragrupals i intergrupals. L'interval de confiança utilitzat en els tests ha estat del 95% ($\alpha=0,05$). En els resultats s'utilitzen lletres per diferenciar els grups estadístics amb diferències significatives entre ells (p valor $< 0,05$).

Resultats i discussió

Propietats inicials del vi base

Les propietats inicials del most es mostren en l'Annex 1.

Els vins base de partida es van tractar uniformement per tal de que fessin la segona fermentació en les mateixes condicions i es van fer triplicats. Els resultats van mostrar que dos mesos després del tiratge tots els grups havien consumit tot el sucre disponible del medi (Just-Borràs, 2019). Tal com ens mostra la Taula 3, es partia de vins base amb pHs inversament proporcionals al percentatge de most FreeK⁺ del grup. Aquests resultats mostren que la menor concentració de l'ió K⁺ limita la precipitació d'àcid tartàric en forma de bitartrat de potassi de manera que l'acidesa es manté.

Taula 3: Acidesa i el pH del vi base de cada grup experimental. Cada lletra indica un grup estadístic diferent.

Grup	pH	Acidesa (g/L d'àcid tartàric)
C	3,13 ± 0,01 A	5,53 ± 0,04 FG
5%	3,06 ± 0,06 BC	5,76 ± 0,02 EF
10%	3,06 ± 0,00 BC	6,02 ± 0,06 DE
15%	3,02 ± 0,00 CD	6,20 ± 0,05 DE
20%	2,97 ± 0,01 DE	6,49 ± 0,04 CD
25%	2,94 ± 0,01 E	6,74 ± 0,05 C
35%	2,87 ± 0,01 F	7,30 ± 0,05 B
45%	2,81 ± 0,02 G	7,92 ± 0,17 A

Polisacàrids

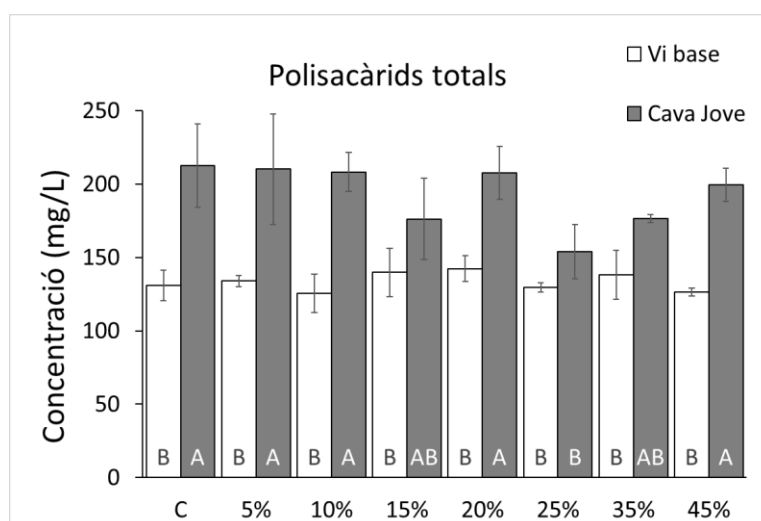


Figura 4: Contingut en polisacàrids totals del Vi base i del Cava jove. Cada lletra mostra un grup estadístic diferent. Tots els grups a excepció del 15%, 25% i 35% mostren un augment significatiu del contingut de polisacàrids en el Cava jove respecte el Vi base.

Tal com s'observa en la Figura 4, els resultats mostren que hi ha un increment de la concentració de polisacàrids en tots els grups experimentals durant la segona fermentació. Aquest fenomen és degut a la secreció de polisacàrids al medi per part dels llevats durant el procés d'autofàgia iniciat durant aquests mesos.

Les diferències significatives que s'observen entre el grup 25% i la resta podrien ser enteses com a diferències a l'hora d'agafar o tractar la mostra o del procés de fermentació.

Tot i que els llevats dels grups experimentals més àcids es troben en una situació d'estrès, no s'observa un augment significatiu de la secreció de polisacàrids com es podria pensar *a priori*. Aquest resultat és interessant ja que permet pensar que, al no haver-hi una diferència important en aquest component entre els vins base que partien de pHs i acideses molt diferents, les propietats organolèptiques del Cava no es veuran alterades.

Els resultats obtinguts amb l'HPLC mostren que els polisacàrids de major pes molecular (>180 kDa) són els que han augmentat més en tots els grups experimentals (Taula 4). En la segona fracció (180-40 kDa) el contingut de polisacàrids ha augmentat significativament només en els grups C, 5% i 10% (dades no mostrades) fet que podria deixar entreveure una relació entre el contingut en FreeK⁺ i la secreció d'aquest tipus de polisacàrids, mentre que en la tercera fracció (40-7,5 kDa) no ha augmentat significativament en cap grup.

Taula 4: Contingut de polisacàrids > 180 kDa en el Vi base i en el Cava jove de cada grup experimental. Cada lletra mostra grups estadístics diferents. En tots els grups experimentals hi ha un augment significatiu del contingut d'aquest tipus de polisacàrids.

Grup	Polisacàrids (>180 kDa) del Vi base (mg/L)				Polisacàrids (>180 kDa) del Cava jove (mg/L)			
C	24,67	±	2,35	D	85,08	±	4,39	A
5%	25,56	±	1,69	CD	72,81	±	11,11	AB
10%	22,65	±	0,73	D	75,08	±	8,85	A
15%	27,31	±	0,73	CD	69,23	±	5,64	AB
20%	29,82	±	1,21	C	73,90	±	4,88	A
25%	25,99	±	6,72	CD	55,70	±	7,90	B
35%	26,10	±	6,51	D	69,72	±	4,03	AB
45%	27,30	±	5,01	CD	83,73	±	7,63	A

Proteïnes

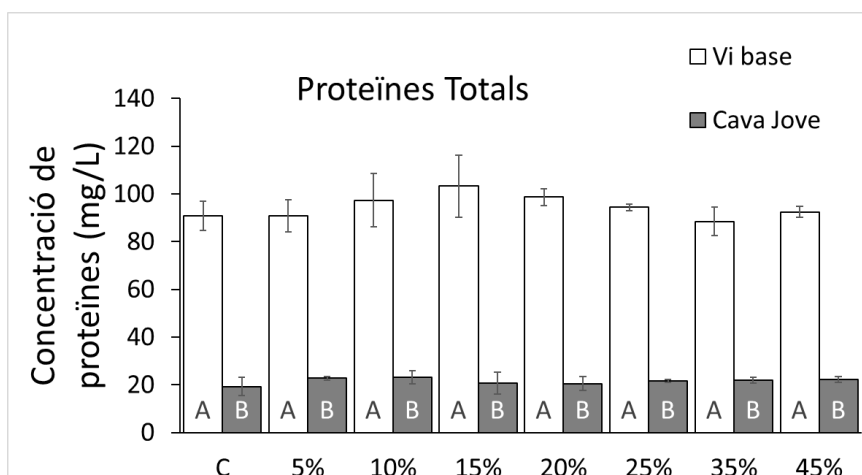


Figura 5: Contingut en proteïnes totals del Vi base i del Cava jove de cada grup experimental. Cada lletra mostra un grup estadístic diferent. Tots els grups mostren una disminució significativa del contingut proteic.

Els resultats mostren una disminució significativa en el contingut proteic de totes les mostres (*Figura 5*). En el vi base, tots els valors es troben entre 88 i 104 mg/L de proteïnes i pertanyen al mateix grup estadístic. Pel que fa el Cava jove, tots els valors es troben entre 19 i 26 mg/L de proteïnes i també pertanyen tots al mateix grup estadístic.

Aquests resultats podrien semblar contradictoris degut a que existeix en els llevats una síntesi i una secreció de proteïnes durant l'autofàgia en l'envelliment (Ribéreau-Gayon et al., 2006). No obstant, aquests resultats es poden relacionar amb el tractament que es va fer dels vins base a l'hora de fer el tiratge. Al ser afegida la mateixa concentració de Bentonita en cada grup experimental és coherent que en totes les mostres hagi sedimentat la mateixa quantitat de proteïna. Per tant l'acidesa del grup experimental no és un inconvenient per l'acció del clarificant. Resultats semblants ja han estat descrits prèviament a la bibliografia (Vanrell et al., 2006).

Per altra banda, els resultats de l'HPLC mostren que en les tres fraccions separades (>75 kDa, 75-50 kDa i 50—25 kDa) ha disminuït la concentració proteica de forma significativa del Cava respecte al vi base (*Figura 6*). En concret, el contingut de proteïnes en les fraccions de >75 kDa i de 75-50 kDa s'ha reduït el ~50% en tots els grups (*Figura 6*, comparació de les columnes del mateix color

dels panells superior i inferior). En el grup de 50-25 kDa, les concentracions s'han reduït un -90% durant la segona fermentació.

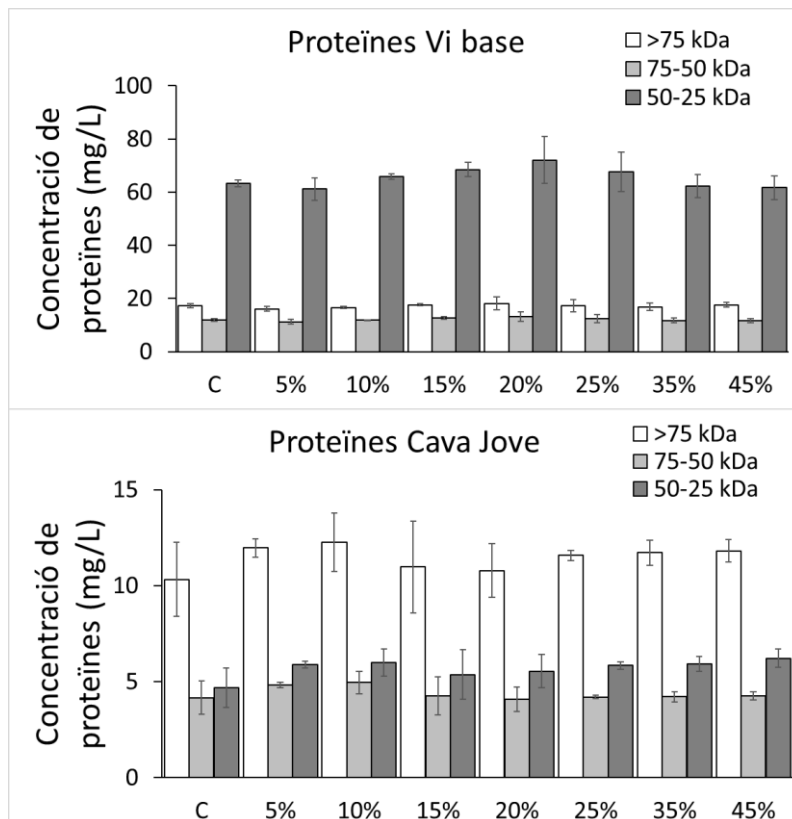


Figura 6: Concentració de proteïnes del Vi base (superior) i del Cava jove (inferior) en funció de la fracció de pes a la qual pertanyen.

Acidesa total i acidesa volàtil

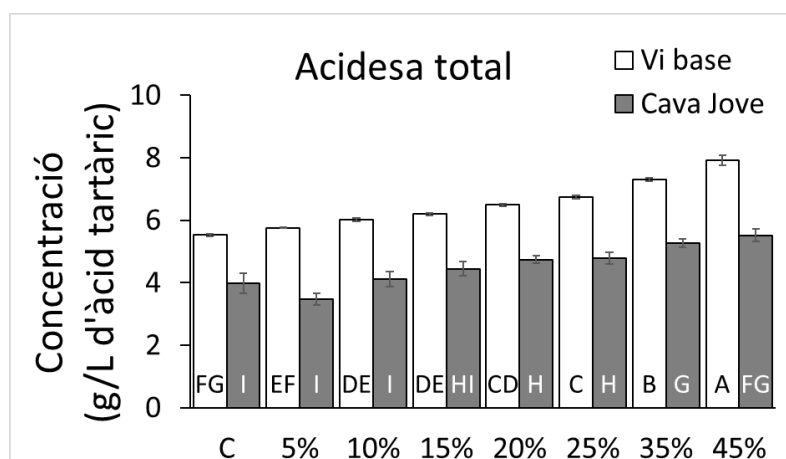


Figura 7: Acidesa del Vi base i del Cava jove de cada grup experimental. Cada lletra mostra un grup estadístic diferent. En tots els grups hi ha hagut una disminució significativa de l'acidesa durant l'evolució de vi base a Cava jove.

Com es pot observar en la Figura 7, les acideses de partida augmentaven conforme augmenta el percentatge de most tractat afegit, essent la del grup C la més baixa i la del grup 45% la més alta. L'acidesa ha disminuït en tots els grups

de forma significativa en el Cava jove respecte el Vi base. Amb la segona fermentació, l'acidesa ha baixat proporcionalment en tots els grups experimentals i el gràfic dibuixa una escala similar a la que presenta l'acidesa del vi base. Malgrat això, les diferències entre els grups de Cava jove s'han reduït de manera que els 4 primers (C-15%) són equivalents, els grups 15% - 25% i els dos últims grups també són equivalents. La disminució de l'acidesa ve provocada per l'augment de la concentració d'etanol en el Cava respecte del vi base. La solubilitat del tartrat àcid de potassi disminueix al augmentar el grau alcohòlic i per tant precipita disminuint l'acidesa.

En aquest treball també s'ha quantificat la presència d'àcid acètic. La *Figura 8* mostra una tendència a disminuir, però estadísticament s'ha pogut observar que només és significativa en els grups 10% i 45%. Els resultats obtinguts són importants perquè mostren que el percentatge de most passat per la columna d'intercanvi catiónic no provoca un problema d'augment de síntesi d'àcid acètic, acidesa volàtil, en el producte final. Aquests resultats solucionen la preocupació que es plantejava en la comparativa de l'acidesa volàtil del vi base respecte el most, en que es suggeria que l'acidesa del grup experimental 45% provocava estrès als llevats i un augment en la síntesi d'àcid acètic (Just-Borràs, 2019).

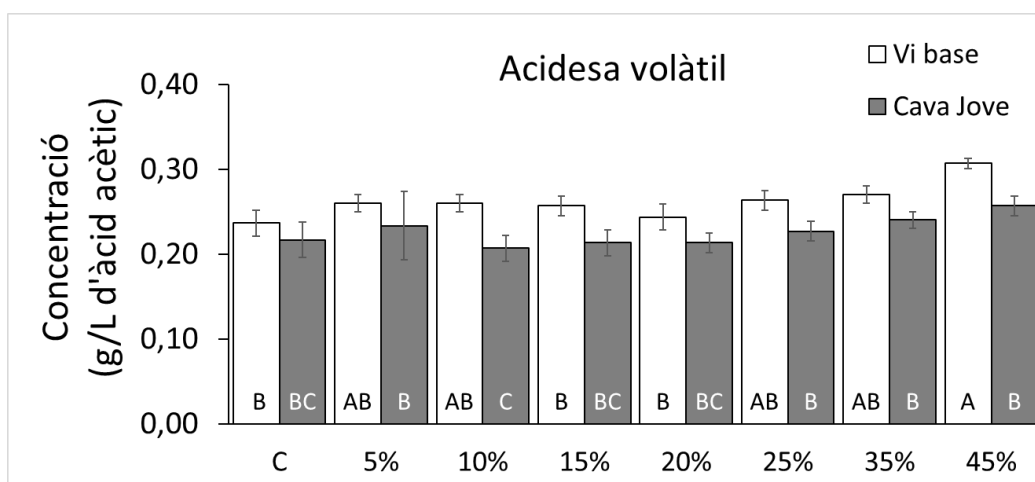


Figura 8: Acidesa volàtil del Vi base i del Cava jove de cada grup experimental. Cada lletra mostra un grup estadístic diferent. Només hi ha una disminució significativa de l'acidesa volàtil del Vi base al Cava jove en els grups 10% i 45%.

pH

El pH mostra una tendència a augmentar entre el Cava jove i el vi base, és a dir, a la alcalinització (*Taula 5*). Malgrat això, no en tots els grups experimentals l'increment és significatiu. Aquesta tendència es pot explicar degut a la

precipitació d'alguns àcids en forma de sals (com el cas del tartrat àcid de potassi) i a l'alcoholització del medi al llarg de la segona fermentació que comporta un augment del pH. Que en la segona fermentació el grau alcohòlic augmenti relativament poc explicaria que la alcalinització del medi tampoc sigui significativa.

Taula 5: pH del Vi base i del Cava jove de cada grup estadístic. Cada lletra mostra un grup estadístic diferent.

Grup	Vi base			Cava jove		
C	3,13	± 0,01	A	3,17	± 0,01	A
5%	3,06	± 0,06	BC	3,09	± 0,03	B
10%	3,06	± 0,00	BC	3,05	± 0,01	C
15%	3,02	± 0,00	CD	3,06	± 0,03	D
20%	2,97	± 0,01	DE	3,08	± 0,01	B
25%	2,94	± 0,01	E	2,97	± 0,00	EF
35%	2,87	± 0,01	F	2,91	± 0,01	G
45%	2,81	± 0,02	G	2,88	± 0,02	H

Índex de polifenols totals

La Taula 6 mostra que no hi ha una tendència clara cap a la disminució o augment de l'IPT. Mostra unes diferències significatives entre alguns grups que no permeten intuir cap perfil. Les diferències significatives que han esdevingut entre grups no segueixen cap patró en relació amb el percentatge de FreeK⁺ del grup i l'IPT. Per exemple el grup C té diferències amb els grups 20%,25% i 35% però no amb el 45%. És per això que sembla que l' IPT no es veu influenciat pel percentatge de most passat per la columna d'intercanvi catiònic afegit.

Taula 6: Índex de polifenols totals en cada grup experimental de Cava jove. Cada lletra correspon a un grup estadístic diferent.

Grup	IPT		
C	5,80	± 0,20	A
5%	5,55	± 0,15	AB
10%	5,76	± 0,15	A
15%	5,54	± 0,06	AB
20%	4,80	± 0,37	BC
25%	4,69	± 0,66	C
35%	4,91	± 0,22	BC
45%	5,36	± 0,09	ABC

Escumabilitat

L'escumabilitat relativa es presenta dividida en els dos paràmetres que la conformen en la Taula 7. El pic màxim d'escumabilitat (HM) és estadísticament el mateix en tots els grups de vi base. En canvi, en el Cava jove disminueix de

forma significativa en els grups 10% - 45%, mentre que en el grup C i en el 5% la disminució no és significativa (*Taula 7 superior*).

Per altra banda l'estabilitat de l'escuma (HS) en el vi base no presenta diferències significatives entre cap grup, tot i que la del grup control és lleugerament més elevada (*Taula 7 inferior*). Tots els grups experimentals, a excepció del 45%, presenten un augment significatiu en el volum d'escuma estable del Cava jove respecte el vi base respectiu. Aquest fet podria indicar que les condicions d'acidesa i baix pH del grup 45% porten a la desestructuració més ràpida de l'escuma respecte en els altres grups experimentals.

Taula 7: Pic màxim d'escumabilitat (HM) i escumabilitat estable (HS) del Vi base i del Cava jove de cada grup experimental. Cada lletra mostra un grup estadístic diferent.

HM							
Grup	Vi base			Cava jove			
C	190,33	±	15,70	A	191,67	±	10,41 AB
5%	187,67	±	8,62	A	141,33	±	16,29 BC
10%	236,67	±	10,41	A	121,67	±	12,58 C
15%	230,67	±	14,01	A	109,00	±	10,15 C
20%	235,00	±	10,00	A	128,33	±	2,89 C
25%	204,67	±	9,07	A	85,00	±	61,44 C
35%	211,33	±	11,85	A	125,00	±	13,23 C
45%	206,00	±	11,53	A	110,67	±	9,02 C

HS							
Grup	Vi base			Cava jove			
C	51,67	±	7,64	B	85,33	±	15,50 A
5%	43,67	±	3,21	B	82,00	±	2,65 A
10%	45,33	±	0,58	B	79,00	±	5,29 A
15%	44,00	±	3,00	B	86,67	±	7,64 A
20%	46,33	±	2,08	B	73,33	±	5,77 A
25%	44,00	±	2,65	B	75,00	±	13,23 A
35%	38,33	±	2,31	B	76,00	±	8,54 A
45%	43,00	±	1,00	B	61,33	±	20,50 AB

L'escuma està directament relacionada amb la presència de proteïnes i polisacàrids en la mostra. Els resultats d'aquests dos paràmetres han estat d'un increment en el contingut de polisacàrids, en especial dels més pesats, i una disminució de les proteïnes. De fet, diferents estudis relacionen la concentració proteica amb el HM, però no en la seva estabilitat (HS) (Medina-Trujillo, 2017). Pel que fa als polisacàrids, també es coneix una relació entre la seva

concentració i la capacitat escumant, tant HM com HS (Martínez-Lapuente et al., 2015).

Color

Els resultats del color es mostren dividits en tres paràmetres en la *Taula 8*. Un de claredat (L) i dos de croms (a i b). La claredat no ha presentat canvis significatius en el procés de transformació del vi base fins al Cava jove en cap grup experimental. En canvi, en el croms, l'eix "a" mostra un canvi significatiu en tots els grups experimentals i s'observa que el vi base té uns nombres més grans que els del Cava jove i que per tant el Cava jove té una tonalitat més verda que el vi base. En l'eix "b", cap grup experimental ha presentat cap canvi significatiu i per tant es pot dir que tots els grups conserven la mateixa tonalitat de groc.

Taula 8: Paràmetres de color en l'espai CIELAB de les mostres de Vi base i Cava jove de cada grup experimental. Cada lletra mostra grups experimentals diferents en cada paràmetre de color.

Grup	L			A			b			
Vi base	C	97,90	± 0,36	A	-0,03	± 0,01	A	5,75	± 0,29	A
	5%	98,27	± 0,12	A	0,02	± 0,06	A	5,88	± 0,13	A
	10%	98,27	± 0,06	A	-0,05	± 0,06	A	5,97	± 0,13	A
	15%	98,10	± 0,20	A	-0,18	± 0,07	A	5,78	± 0,05	A
	20%	97,77	± 0,25	A	-0,17	± 0,12	A	6,01	± 0,18	A
	25%	97,80	± 0,17	A	-0,22	± 0,20	A	5,97	± 0,17	A
	35%	97,30	± 0,36	B	-0,24	± 0,14	A	6,28	± 0,24	A
	45%	97,55	± 0,35	A	-0,14	± 0,06	A	6,50	± 0,56	A
Cava jove	C	97,80	± 1,73	A	-1,18	± 0,47	C	4,99	± 2,88	A
	5%	98,63	± 0,06	A	-0,87	± 0,04	BC	6,64	± 0,08	A
	10%	98,80	± 0,10	A	-0,79	± 0,03	BC	6,55	± 0,07	A
	15%	98,77	± 0,06	A	-0,76	± 0,05	BC	6,34	± 0,02	A
	20%	98,37	± 0,06	A	-0,69	± 0,04	B	6,36	± 0,04	A
	25%	98,50	± 0,10	A	-0,72	± 0,04	B	6,19	± 0,02	A
	35%	98,47	± 0,06	AB	-0,75	± 0,02	BC	6,27	± 0,09	A
	45%	98,40	± 0,10	A	-0,63	± 0,10	B	5,97	± 0,04	A

L'evolució del color no es valora negativament. De fet, l'oxidació (negativa) del vi base acostuma a implicar una evolució cap al vermell de manera que l'evolució cap a verd indica que aquesta oxidació no s'ha produït i que, per tant, el producte conserva les propietats organolèptiques.

Conclusions

- Els resultats obtinguts confirmen que l'ús de columnes d'intercanvi catiònic és eficaç per reduir el pH i augmentar l'acidesa total dels vins base i del Cava.
- El tractament per intercanvi catiònic a nivell macromolecular no ha tingut efecte ja que els les proteïnes i polisacàrids es mantenen en nivells similars entre els grups. Aquest fet també permet afirmar que el percentatge de most FreeK⁺ utilitzat no ha alterat la síntesi i secreció d'aquestes molècules per part dels llevats durant el procés d'envelliment.
- El color no s'ha vist afectat negativament durant l'envelliment ni tampoc pel percentatge de most FreeK⁺ afegit en cada columna. De fet es podria considerar com a efecte positiu el fet de que els grups tractats presentin tonalitats més verdoses i groguenques, que indiquen menys oxidació.
- L'acidesa total disminueix en tots els grups experimentals durant el procés de segona fermentació i criança. Malgrat això, s'ha observat una relació positiva amb la conservació de l'acidesa i el percentatge de most FreeK⁺ afegit.
- Pel que fa a l'acidesa volàtil, s'ha observat una disminució del seu valor en tots els grups experimentals i per tant es veu com el percentatge de most FreeK⁺ afegit no provoca un augment de la síntesi d'àcid acètic.
- No s'observa cap efecte clar del tractament sobre l'índex de polifenols totals i, per tant, tampoc se'n pot extreure cap conclusió concisa, tot i observar-se a priori un efecte mínim de la columna d'intercanvi catiònic en aquest paràmetre.
- La columna d'intercanvi catiònic no afecta a l'escumabilitat HS dels vins base. No obstant, si que s'ha vist una disminució del pic màxim d'escuma (HM) en la majoria dels grups experimentals tractats. Aquest fet volia ser contrastat amb la repetició de les analítiques però degut al confinament provocat per la crisi del COVID-19 no ha estat possible.
- Malgrat que no s'ha pogut realitzar l'anàlisi sensorial dels caves obtinguts per un panell entrenat els resultats indiquen que el tractament del most amb resines d'intercanvi catiònic no ha suposat un efecte negatiu a la qualitat del producte.

Perspectives de futur

Durant les pràctiques que he realitzat en el laboratori he pogut fer les analítiques mostrades al llarg d'aquest treball. Degut a la crisi sanitària pel COVID-19, m'ha estat impossible realitzar el tast experimental. L'anàlisi sensorial hagués estat útil per determinar sensorialment quin és el percentatge òptim de most tractat per les columnes d'intercanvi catiònic a afegir per combatre els efectes en la qualitat que el canvi climàtic està provocant.

A més també estava prevista la realització de l'analítica de determinació de contingut en potassi de les mostres i la repetició de les analítiques en contingut en alcohol, ja que es van donar per erronis els resultats obtinguts en la primera analítica, i d'escumabilitat "*Mosalux*" que pels mateixos motius no han pogut ser realitzades dins del termini d'entrega del treball. Malgrat que aquestes analítiques s'han vist interrompudes per l'aturada d'activitat en el laboratori, seran realitzades tot i no poder-les adjuntar en aquest treball.

La DO Cava considera tres categories de producte en funció del temps d'envelliment sobre les lies. Seguint la normativa establerta, s'haurà de continuar amb l'envelliment del producte per tal de fer les analítiques corresponents de manera que es pugui valorar la influència a llarg termini de fer cupatges amb most FreeK⁺.

Amb els resultats mostrats, caldrà veure com l'Índex de polifenols totals es comporta en els productes amb un major envelliment ja que no ha estat possible extreure conclusions clares. També caldrà fer un seguiment de l'escumabilitat i de les macromolècules que la determinen ja que d'acord amb els resultats de HS caldria determinar quin component és el seu principal influent.

Agraïments

En primer lloc m'agradaria donar les gràcies al Dr. Fernando Zamora i al Dr. Joan Miquel Canals per acollir-me al seu laboratori i permetre'm realitzar les pràctiques del treball.

Gràcies al Pere i al Pol per ajudar-me a fer tot el treball i per la paciència. També gràcies a tothom del laboratori i als tècnics. També m'agradaria donar les gràcies a la Laia i a la Carme per l'ajuda.

Bibliografia

Agrovin (2011). Estabilización tartárica de vinos sistema.

Andrés-Lacueva, C., Lamuela-Raventós, R. M., Buxaderas, S., and De La Torre-Boronat, M. D. C. (1997). Influence of Variety and Aging on Foaming Properties of Cava (Sparkling Wine). 2. *J. Agric. Food Chem.* 45, 2520–2525. doi:10.1021/jf960905p.

Ardilouze, C. (2006). Reductive Vinification of White and Rosé Wines: the Question of Must Extraction. *Internet J. Vitic. Enol.* 10, 1–9.

Ayala, F. (2012). Universidad de La Rioja. Departamento de química-Grupo de color-MSCV. Available at: <https://www.unirioja.es/color/descargas.shtml>.

Ayestarán, B., Guadalupe, Z., and León, D. (2004). Quantification of major grape polysaccharides (Tempranillo v.) released by maceration enzymes during the fermentation process. *Anal. Chim. Acta* 513, 29–39. doi:10.1016/j.aca.2003.12.012.

Boulton, R. (1980). The general relationship between potassium, sodium and pH in grape juice and wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 31, 2–6.

Coelho, E. M., da Silva Padilha, C. V., Miskinis, G. A., de Sá, A. G. B., Pereira, G. E., de Azevêdo, L. C., et al. (2018). Simultaneous analysis of sugars and organic acids in wine and grape juices by HPLC: Method validation and characterization of products from northeast Brazil. *J. Food Compos. Anal.* 66, 160–167. doi:10.1016/j.jfca.2017.12.017.

Comunitat Europea (2009). Reglamento(CE) No 606/2009 de la Comisión de 10 de julio de 2009. *D. Of. la Unión Eur.*, 1–59.

CRISON (2008). pH-meter Basic 20. Manual del usuario. Available at: http://www.crison.it/pdfs_en/basic_20.pdf.

del Barrio-Galán, R., Medel-Marabolí, M., and Peña-Neira, Á. (2016). Effect of different ageing techniques on the polysaccharide and phenolic composition and sensorial characteristics of Chardonnay white wines fermented with different selected *Saccharomyces Cerevisiae* yeast strains. *Eur. Food Res. Technol.* 242, 1069–1085. doi:10.1007/s00217-015-2612-x.

DO Cava (2019). Pliego de condiciones Denominación de Origen Protegida “Cava.”

Esteruelas, M., González-Royo, E., Kontoudakis, N., Orte, A., Cantos, A., Canals, J. M., et al. (2014). Influence of grape maturity on the foaming properties of base wines and sparkling wines (Cava). *J. Sci. Food Agric.* 95, 2071–2080.

doi:10.1002/jsfa.6922.

Fernando Zamora (2004). *ELABORACION Y CRIANZA DEL VINO TINTO: ASPECTOS CIENTIFICOS Y TECNICOS*. Madrid: EDITOR ANTONIO MADRID VICENTE.

GAB-SistemáticaAnalítica Ebuliometro GAB (ref. 1010004) - Configuración del equipo e Instrucciones.

Gil-Cortiella, M. (2014). Influencia de la madurez de las uvas y de ciertas prácticas vitivinícolas sobre el color, los compuestos fenólicos y los polisacáridos del vino tinto.

IOC (2013). INOCLAIR 2 LIQUIDE VINIFICATION - CLARIFICATION. *Data sheet*, 0–1. Available at: http://www.papersearch.net/view/detail.asp?detail_key=10000715.

IOC (2014). Ficha técnica IOC 18-2007. 1–2.

Just-Borràs, A. (2019). Efecte de l'aplicació de l'intercanvi catiónic sobre la composició i qualitat del Cava.

Kontoudakis, N. (2010). Grape phenolic maturity; Determination methods and consequences on wine phenolic composition.

Lisanti, M. T., Blaiotta, G., Nioi, C., and Moio, L. (2019). Alternative Methods to SO₂ for Microbiological Stabilization of Wine. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 18, 455–479. doi:10.1111/1541-4337.12422.

Madalena, B. D. S., Maria, N. D. P., and Paulo, S. (2014). The role of polysaccharides on the grape must ultrafiltration performance. *Ciência e Técnica Vitivinícola* 29, 16–27.

Martínez-Lapuente, L., Guadalupe, Z., Ayestarán, B., and Pérez-Magariño, S. (2015). Role of major wine constituents in the foam properties of white and rosé sparkling wines. *Food Chem.* 174, 330–338. doi:10.1016/j.foodchem.2014.10.080.

Masson-Delmotte, V., Pörtner, H.-O., Skea, J., Zhai, P., Roberts, D., and Shukla, P. R. (2018). Global warming of 1.5°C An. Switzerland.

Mataix, E., and Luque de Castro, M. D. (2001). Simultaneous (or sequential) determination of the total polyphenol index (or I280) and density in wines by flow injection. *Analyst* 126, 251–255. doi:10.1039/b007898k.

Mato, I., Suárez-Luque, S., and Huidobro, J. F. (2007). Simple determination of main organic acids in grape juice and wine by using capillary zone electrophoresis with direct UV detection. *Food Chem.* 102, 104–112. doi:10.1016/j.foodchem.2006.05.002.

Maujean, A., Poinsaut, P., Dantan, H., Brissonet, F., and Cossiez, E. (1990). Étude de la tenue et de la qualité de mousse des vins effervescents II. Mise au point d'une technique de mesure de la moussabilité, de la tenue et de la stabilité de la mousse des vins effervescents. *Bull. l'OIV*, 405–426.

- Medina-Trujillo, L. (2017). Estudio de los factores que influyen en las propiedades espumantes de los vinos espumosos (Cava); influencia de la aplicación de nuevas herramientas biotecnológicas.
- Medina-Trujillo, L., Matias-Guiu, P., López-Bonillo, F., Canals, J. M., and Zamora, F. (2017). Physicochemical characterization of the foam of white and rosé base wines for sparkling wine production (AOC Cava). *Am. J. Enol. Vitic.* 68, 485–495. doi:10.5344/ajev.2017.17008.
- Mira de Orduña, R. (2010). Climate change associated effects on grape and wine quality and production. *Food Res. Int.* 43, 1844–1855. doi:10.1016/j.foodres.2010.05.001.
- OIV (2000). Cation -exchange resins (Oeno 43/2000). *Int. OENOLOGICAL CODEX* 43/2000, 1–8.
- OIV (2015). Compendium of international methods of analysis- OIV Volatile acidity.
- Poinsaut, P. (1991). LeMosalux, appareil de mesure du pouvoir moussant d'un vin. *Rev. des OEnologues* 59, 35–43.
- Pons Mercadé, P. (2015). Els llevats del vi.
- Ribéreau-Gayon, P., Dubourdiu, D., Donèche, B., and Lonvaud, A. (2006). *Handbook of Enology: Volume 1, The Microbiology of Wine and Vinifications*. doi:10.1002/0470010398.
- Ribereau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., and Dubourdiu, D. (2006). *Handbook of Enology Volume 2 The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments*. Chichester.
- Royo, E. G. (2015). Aplicación de nuevas herramientas biotecnológicas para compensar los efectos negativos del cambio climático sobre vinos espumosos (Cava) y vinos tintos.
- Sipag Bisalta La Bentonite.
- Stefenon, C. A., and Bonesi, C. de M. (2017). Interesting Approaches on the Quality in Sparkling Wines Around the World. 5, 186–193.
- Tudela, R., Gallardo-Chacón, J. J., Rius, N., López-Tamames, E., and Buxaderas, S. (2012). Ultrastructural changes of sparkling wine lees during long-term aging in real enological conditions. *FEMS Yeast Res.* 12, 466–476. doi:10.1111/j.1567-1364.2012.00800.x.
- Vanrell, G., Canals, R., Esteruelas, M., Fort, F., Canals, J. M., and Zamora, F. (2006). Influence of the use of bentonite as a riddling agent on foam quality and protein fraction of sparkling wines (Cava). *Food Chem.* 104.

Annex 1: Propietats inicials del most

El most de partida era un most amb una acidesa de 5,7 g/L d'àcid tartàric i un pH de 3,2 i el most FreeK⁺ tenia una acidesa de 8,7 g/L d'àcid tartàric i un pH de 1,9. Un cop obtingut el most FreeK⁺ es van realitzar diferents cupatges entre el most inicial i el FreeK⁺ (*Taula 3*).

Taula 6: Composició inicial del most de cada grup experimental així com l'acidesa i el pH. Les lletres indiquen els grups de most que tenien característiques estadísticament iguals.

Grup experimental	% Most	% FreeK ⁺	pH		Acidesa	
					(g/L d'àcid tartàric)	
C	100	0	3,21	A	5,70	F
5%	95	5	3,15	A	5,93	EF
10%	90	10	3,13	A	5,93	EF
15%	85	15	3,05	B	6,00	DEF
20%	80	20	3,02	B	6,23	DE
25%	75	25	2,98	B	6,38	CD
35%	65	35	2,90	C	6,68	BC
45%	55	45	2,77	D	6,98	B
FreeK ⁺	0	100	1,90	E	8,70	A

Els resultats de la Taula 9 mostren que l'addició de protons en el most va provocar una disminució del pH. Tot i això, aquesta va ser menor de l'esperada degut a l'efecte tampó del vi. Pel que fa a l'acidesa respecte el grup control, va augmentar de forma significativa a partir del grup 20%. Aquest fenomen es va atribuir al poc K⁺ de la mostra que pogués reaccionar amb l'àcid tartàric (Just-Borràs, 2019).

Les diferències en el pH es van reduir després de la primera fermentació entre els grups experimentals, fet que es va atribuir al contingut de K⁺. A més ió K⁺ en la mostra, més precipitació de sals d'àcid durant la fermentació i per tant més alliberació de protons (H⁺). Aquest fet també afecta a l'acidesa ja que a més precipitació de sals d'àcids, menys acidesa (Boulton, 1980; Just-Borràs, 2019).

Durant la primera fermentació, l'alcoholització del medi provoca una alcalinització del medi. No obstant, si la precipitació de sals de bitartrat és més potent que l'alcoholització del medi (grups C, 5%, 10%, 15%, 20%, 25% i 35%), el pH baixa, si pel contrari el fenomen de precipitació és més fluix que l'alcoholització (grup 45%), el pH puja.

Finalment, el baix pH dels últims grups sumat a l'ambient hostil pel llevat va fer que la primera fermentació fos més difícil i s'obtinguessin valors entre 1 i 2g/L de sucre residual en els vins base dels grups 25%, 35% i 45%. L'ambient hostil també es va considerar la causa de la generació de més àcid acètic (acidesa volàtil) en els grups amb un percentatge més elevat de most FreeK⁺ (Just-Borràs, 2019).