



2^a Jornada de Recerca en Enologia i Viticultura a Catalunya

Llibre de resums de la Jornada organitzada pel CEICS
Tarragona, 11 desembre 2014

Campus d'Excel·lència Internacional Catalunya Sud



Centre de Formació Permanent

Edició: Albert Bordons de Porrata-Doria
Josep Maria Llauredó Reverchon

Títol original:

2ª Jornada de Recerca en Enologia i Viticultura a Catalunya.

Llibre de resums de la Jornada organitzada pel CEICS, Tarragona 11 desembre 2014

Edició:

Albert Bordons de Porrata-Doria

Coordinador del Subcampus Enologia del CEICS

Catedràtic Emèrit, Departament de Bioquímica i Biotecnologia, Facultat d'Enologia, URV

Josep M. Llauradó Reverchon

Gestor del Subcampus Enologia del CEICS

Professor associat, Departament de Bioquímica i Biotecnologia, Facultat d'Enologia, URV

Gerent del celler Mas del Botó, Alforja



Amb la col·laboració de la **Facultat d'Enologia** de Tarragona



ISBN: 978-84-8424-351-9

Servei de Publicacions de la Universitat Rovira i Virgili

Tarragona, desembre 2014

PRÒLEG

Un dels objectius principals del Campus d'Excel·lència Internacional Catalunya Sud (CEICS) és promoure la visibilitat de la recerca que es fa al territori. Per això, ja des dels inicis del CEICS, amb motiu del 1r Fòrum que tingué lloc el novembre del 2011, es va pensar en fer Jornades com aquesta en l'àmbit català de recerca vitivinícola.

El 4 de juny de 2013 vam celebrar la 1a Jornada de Recerca en Enologia i Viticultura de Catalunya i em plau dir que fou un èxit, tant de participació, amb 70 assistents i 44 pòsters presentats, com de difusió de la recerca vitivinícola catalana, i de promoció de les interrelacions entre tots. Per això aleshores quedà ben manifesta la voluntat d'organitzar-ne altres Jornades amb un caire semblant i de forma periòdica, com aquesta 2a Jornada.

En aquesta ocasió, de cara a la seva programació, s'ha optat per cercar les darreres publicacions internacionals indexades (2013-2014) dels grups d'investigadors que treballen a Catalunya: s'han trobat 127 articles publicats en un any i mig. Amb aquest llistat, s'han triat 12 grups en base a la seva qualitat per tal que presentin els seus treballs en forma de ponències breus.

A més a més, tots els investigadors de Catalunya relacionats amb aquest àmbit, des d'un punt de vista molt ample, han estat convidats a la Jornada per presentar els seus treballs en forma de pòsters. La multiplicitat d'àmbits de coneixement que tenen que veure directament o indirectament amb el vi i la vinya queda reflectida amb aquesta recerca de qualitat que s'hi fa, i amb això veiem treballs de temes tan diversos que inclouen fins i tot l'arqueologia, l'economia o la salut humana.

Finalment, s'aprofitarà la Jornada per debatre les possibilitats d'interrelacions dels investigadors amb el sector i per fer una prospecció de quins són els reptes del sector de cara al futur. També s'inclou a la Jornada una part més lúdica, amb un senzill Concurs de tast de vins, el guanyador/a del qual serà premiat amb un obsequi de la Facultat d'Enologia de la URV.

Aquesta Jornada serà una altra ocasió per trobar-se, descobrir i comentar els detalls dels darrers treballs amb els companys d'altres centres, potser fins i tot conèixer-se per primer cop personalment en alguns casos, i promoure les col·laboracions entre els diferents grups.

Però a més aquesta Jornada no és una trobada exclusiva per als científics. Per això s'ha intentat difondre al màxim la Jornada, per tal que hi assistissin els possibles interessats, sobretot els professionals del sector, enòlegs, viticultors, empresaris i altres, però també estudiants i altres investigadors o altres persones interessades.

La Jornada també té una finalitat formativa, i per això consta com a Jornada Tècnica, promoguda com a Curs d'Extensió Universitària (codi CREVEA-A2-2014-2) pel Centre de Formació Permanent de la Fundació URV.

Només em resta desitjar-vos a tots que la Jornada us sigui ben profitosa, i que d'aquí en sorgeixin noves possibilitats de col·laboració i de coordinació entre tots els implicats en la recerca en enologia i viticultura a Catalunya, per tal d'aportar millores científiques i tecnològiques al sector.

Albert Bordons, coordinador de la Jornada

ÍNDIX

	pàgines
Pròleg	2
Programa de la Jornada	4
Resums de les Ponències	6
Resums dels Pòsters presentats	19

PROGRAMA

Lloc: Facultat d'Enologia de Tarragona, Campus Sescelades, Universitat Rovira i Virgili

Sessions plenàries: aula 202, edifici aulari N1

Sala de pòsters: vestíbul de planta 2 del mateix aulari

8h30-9h00 Recollida de documentació i col·locació de pòsters: vestíbul de planta 2 de l'aulari

- 9h00 **Benvinguda i presentació de la Jornada:** Josep Anton Ferré, rector de la URV; Jordi Cartanyà, director executiu del CEICS; i Joan Miquel Canals, Degà de la Facultat d'Enologia de Tarragona.
- 9h30 **Fernando Zamora** (URV): Influència del tamany del gra de raïm sobre el color i la composició dels vins.
- 9h50 **Manel del Valle** (UAB): Ús d'una llengua electrònica en el tast de vins blancs de DOs catalanes.
- 10h10 **Montserrat Riu** (UB): L'hidroximetilfurfural com a marcador de l'envelliment en vins espumosos.
- 10h30 **Alessandra Pecci** (UB, Univ. della Calabria): Identificació de residuos vínicos en materiales arqueológicos.
- 10h50 **Sessió de pòsters amb cafè.** Concurs de tast de vins: veure *
- 11h30 **Pau Ferrer** (UAB): Anàlisi de fluxos metabòlics de llevats en condicions de vinificació.
- 11h50 **Gemma Beltran** (URV): Utilització de diferents fonts de nitrogen per part de *Saccharomyces cerevisiae*: resposta fisiològica i molecular.
- 12h10 **M. Jesús Torija** (URV): Ús de tècniques independents de cultiu per a la detecció de bacteris acètics en vins i vinagres.
- 12h30 **Rosa M. Lamuela** (UB): Vi, polifenols i malalties cardiovasculars.
- 12h50 **Cinta Bladé** (URV): Efectes epigenètics dels polifenols: modulació dels microRNAs.
- 13h10 Dinar a la cafeteria del Campus Sescelades. Concurs de tast de vins: veure *

- 15h00 **Sessió de pòsters.** Concurs de tast de vins: veure *
- 15h30 **M. Concepción Ramos** (UdL): Influencia de las propiedades del suelo y del clima en la fracción transpirable del agua del suelo en dos variedades de uva: Cabernet Sauvignon y Chardonnay.
- 15h50 **Cristina González-Flor** (UPC): Predicció de paràmetres de qualitat del raïm en vinyes cv. Xarel·lo en secà utilitzant els índexs hiperespectrals NDVI i PRI.
- 16h10 **Cristina Escobar** i **Chema Gil** (CREDA-UPC-IRTA): Explorant les preferències del consumidor de vi a Catalunya.
- 16h30 **Taula rodona i debat** sobre les possibilitats d'interrelacions dels investigadors amb el sector de cara al futur. Moderador: Jordi Cartanyà. Convidats: Sergi de Lamo, Jaume Gramona i Jordi Torrens.
- * Durant les sessions de pòsters i el dinar: **Concurs de tast de vins** (Sala de Tast, 3a planta del mateix aulari) amb premi de la Facultat d'Enologia. Coordinació: Josep M. Llauradó.
- 17h40 Lliurament del **premi del Concurs de tast**, amb el degà de la Facultat d'Enologia, Joan M. Canals. Guanyador del concurs: Jaume Gramona
- 18h00 **Clausura**: Albert Bordons, coordinador del subcampus Enologia del CEICS.

Moderadors de les sessions de ponències:

Olga Busto, grup de Sensometria Instrumental, URV
Cristina Reguant, grup de Biotecnologia Enològica, URV
M. Josepa Salvadó, grup de Nutrigenòmica, URV
Carme Domingo, INCAVI

RESUMS DE LES PONÈNCIES

Influence of berry size on red wine color and composition

Mariona Gil,^a Olga Pascual,^a Sergio Gómez-Alonso,^b Esteban García-Romero,^c Isidro Hermosín-Gutiérrez,^b **Fernando Zamora,^a** and Joan Miquel Canals^{a*}

^a *Departament de Bioquímica i Biotecnologia, Facultat d'Enologia de Tarragona, Grup de Recerca en Tecnologia Enològica (Tecnenol), Universitat Rovira i Virgili, Campus de Sescelades, C/Marcel·lí Domingo s/n, 43007 Tarragona, Spain.*

^b *Instituto Regional de Investigación Científica Aplicada, Universidad de Castilla-La Mancha, Campus Universitario s/n, 13071 Ciudad Real, Spain.*

^c *Instituto de la Vid y el Vino de Castilla-La Mancha, Ctra. Toledo-Albacete s/n, 13700 Tomelloso, Ciudad Real, Spain.*

According to one of the classical postulates of viticulture, cultivars with smaller berries produce the best red wines. During grape development, some differences at berry level lead to a wide range of fruit heterogeneity at harvest. One of those heterogeneity sources at harvest is berry size. The aim of this paper is study how berry size affects color and chemical composition of wine.

Grapes of Cabernet Sauvignon were harvested at optimal maturity, and screened by two different sieves, to select three grape groups of different sizes (large, medium and small). Every size class was used for winemaking by triplicate, besides unselected grapes used for winemaking as a control. Wines were analyzed to determine their color properties and phenolic composition.

Small berry grapes have a higher proportion of skins and a lower seeds contribution. Additionally, small berry grapes show a higher titratable acidity and total soluble solids, and a lower pH. Wines obtained from each grape size class were characterized and compared giving some interesting differences. The clearest trend among wines from different berry sizes is related with wine color: the smaller the berry the deeper the wine color. Moreover pH, TPI, total anthocyanins (Spectrophotometric measurement), total amount of hydroxycinnamic acids, as well as stilbene concentration also increase when berry size decreases. In contrast, total anthocyanins (HPLC quantification), pyranoanthocyanins, total flavonols and total polysaccharides of wines do not show any clear trend among wines from different berry sizes. In general, small grape wines contain a higher amount of ionized anthocyanins and a higher amount of flavanols (in its monomeric, dimeric and polymeric forms). Finally, it seems that hydrolysis of glycosidic linkage of flavonol glycosides is highly favored during winemaking in the case of small grape wines. Further studies will be necessary for a better understanding of the driving force of these processes.

According to all these results it can be asserted that grape size screening could be an interesting tool for management of wine quality in wineries, especially to improve wine color.

Ús d'una llengua electrònica en el tast de vins blancs de DOs catalanes

Xavier Cetó^a, Andreu González-Calabuig^a, Josefina Capdevila^b, Anna Puig-Pujol^b, **Manel del Valle**^{a,*}

^a Grup de Sensors i Biosensors, Departament de Química, Universitat Autònoma de Barcelona, Edifici Cn, 08193 Bellaterra, Barcelona, Espanya

^b Departament de Recerca Enològica, INCAVI-IRTA, 08720 Vilafranca del Penedès, Espanya

manel.delvalle@uab.cat

El vi és una barreja complexa de diverses substàncies, les quals tenen gran influència en el seu gust i característiques. Es manifesta l'interès en el tast estandaritzat per ser emprat en el control de qualitat del producte, una operació totalment acceptada i introduïda, basada en gran mesura en les habilitats del panell de tast. Encara i així serien evidents les avantatges que podrien proporcionar una mesura equivalent però per part d'un sistema instrumental basat en sensors o d'altres. La capacitat del tast per detectar simultàniament un ampli espectre de compostos en una sola operació i qualificar un vi en un temps reduït seria una de les prestacions bàsiques que hauria de tenir un sistema analític equivalent, situació que concorda plenament amb el concepte de la llengua electrònica (ET).

Aquest treball presenta l'aplicació d'una llengua electrònica voltamperomètrica com una eina per al tast de vins estandaritzada; concretament, per aconseguir la discriminació de diferents denominacions d'origen (DO) en vins i la predicció de la puntuació global assignada per un panell sensorial d'experts. Per a aquest objectiu, es va utilitzar una matriu de 6 sensors voltamperomètrics i eines quimiomètriques de processament avançat. La matriu de sensors emprada està formada per sensors d'epoxy-grafit modificats i diferents elèctrodes metàl·lics. Els elèctrodes es van utilitzar per a la part de detecció, mentre que les eines quimiomètriques com ara l'anàlisi discriminant lineal (LDA) i les xarxes neuronals artificials (ANN) van ser utilitzats per a la modelització qualitativa i quantitativa.

Les dades de partida van ser el conjunt de voltamogrames. Aquests van ser preprocessats primerament amb la Transformada Ràpida de Fourier (FFT) i després emprant el mètode d'inclusió gradual per tal d'eliminar els coeficients menys significatius. Les tendències, en les puntuacions globals, van ser modelada amb un èxit del 92,9% per a la identificació qualitativa, i amb un coeficient de correlació de 0,830 per al model quantitatiu (amb 14 i 20 mostres per a cada subconjunt de prova extern, respectivament). D'aquesta manera es demostra l'utilitat de la llengua electrònica en aplicacions qualitatives de identificació de varietats i DOs i també en l'aplicació quantitativa de predir la nota de tast.

L'hidroximetilfurfural com a marcador de l'envelliment en vins espumosos

Montserrat Riu-Aumatell, Rebeca Tudela, Susana Buxaderas, Elvira López-Tamames

Departament de Nutrició i Bromatologia. Campus de l'Alimentació de Torribera. Universitat de Barcelona. Av. Prat de la Riba, 171, 08921 Santa Coloma de Gramenet, Spain.

El cava i el vi espumós son vins de qualitat que pateixen un procés de criaça, envelliment i emmagatzematge fins al seu consum. L'estabilitat d'aquests vins dependrà de les condicions de conservació com ara temps i temperatura, així com la presència o no de les mares. Les bodegues coneixen bé la pèrdua de qualitat dels vins espumosos durant l'emmagatzematge un cop efectuat el degorjat. Aquesta pèrdua de qualitat s'atribueix a la oxidació dels fenols i per això clàssicament s'ha utilitzat com a paràmetre de mesura l'absorbància a 280 nm (A_{280}). No obstant això, els cellers necessiten un paràmetre més objectiu per mesurar/controlar l'estabilitat d'aquests productes durant la seva vida comercial. En aquest sentit durant l'envelliment de caves en contacte amb les mares es va observar un augment d'un compost correlacionat amb el temps d'envelliment. Aquest compost va ser identificat com 5-hidroximetilfurfural (5-HMF) i el seu origen sembla ser la deshidratació de sucres especialment de fructosa. Per això s'ha plantejat avaluar l'eficàcia del 5-HMF com a marcador del temps d'envelliment de caves o vins espumosos. Així, s'ha comparat la validesa del 5-HMF amb els paràmetres utilitzats habitualment com a indicadors de l'envelliment i d'enfosquiment, les absorbàncies a 280 nm i a 420nm (A_{420}), i amb els compostos fenòlics. S'han analitzat durant gairebé 3 anys, 4 series de cava, 2 series de cava envellit en contacte amb les mares i 2 series durant la seva vida comercial. En els diferents vins espumosos analitzats amb i sense mares, s'ha observat una relació lineal entre el temps i l' A_{420} , i el 5-HMF també evoluciona amb el temps però amb diferent grau d'increment segons es consideri criaça o vida comercial. El 5-HMF compleix totes les característiques necessàries de precisió i sensibilitat, es considera que pot ser utilitzat com a millor marcador de temps i temperatura. En aquest sentit, s'ha pogut comprovar que el 5-HMF és millor marcador envers els paràmetres clàssics i els compostos fenòlics. ja que és eficaç inclús a baixes temperatures. Mitjançant models matemàtics predictius es pot utilitzar el 5-HMF per avaluar el temps màxim òptim d'emmagatzematge en funció de les diferents condicions de conservació.

Identifying wine residues in archaeological materials: the residue analysis of ancient ceramics and plasters

Alessandra Pecci¹, Miguel Ángel Cau Ontiveros²

¹Dipartimento di Biologia, Ecologia e Scienze della Terra (DIBEST), Università della Calabria; Equip de Recerca Arqueològica i Arqueomètrica, Universitat de Barcelona (ERAAUB), Universitat de Barcelona, alepecci@gmail.com

²Institució Catalana de Recerca i Estudis Avançats (ICREA); Equip de Recerca Arqueològica i Arqueomètrica, Universitat de Barcelona (ERAAUB), Universitat de Barcelona, macau@ub.edu

Key words: wine, archaeology, amphorae, dolia, vats, organic residues, gas chromatography-mass spectrometry

Wine is one of the most important beverages that has been produced, consumed and traded in the Mediterranean area. Many ceramic vessels have been regarded as used to store, trade and serve it, being the *amphorae* the most common transport container. In order to go further into the study of the history of wine and to provide the archaeological proves of its distribution, it is necessary to know whether these materials actually contained wine or its derivatives.

This can be done through the residue analysis of these materials, that allow the identification of the wine traces.

We present here the results obtained analyzing different materials with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), which allowed identifying tartaric acid and other markers of wine following the method proposed by Pecci et al. (2013). This method can be applied both to the study of ceramic materials and plasters.

In particular the results of the study of experimental, ethnoarchaeological and archaeological materials from different sites in the Mediterranean area will be shown.

This contribution is part of the activities of the Equip de Recerca Arqueològica i Arqueomètrica de la Universitat de Barcelona (ERAAUB), Consolidated group (2014 SGR 845) thanks to the support of the Commissionat per a Universitats i Recerca del DIUE de la Generalitat de Catalunya and the Dipartimento di Biologia, Ecologia e Scienze della Terra (DIBEST), Università della Calabria.

References:

Pecci A., Giorgi G., Salvini L., Cau M. A., 2013, Identifying wine markers in ceramics and plasters with gas chromatography - mass spectrometry. Experimental and archaeological materials, *Journal of Archaeological Science*, 40, 109-115.

Anàlisi de fluxos metabòlics de llevats en condicions de vinificació

Pau Ferrer¹, Pilar Morales², Joan Albiol¹ i Ramón González²

¹*Departament d'Enginyeria Química. Escola d'Enginyeria, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra (Cerdanyola del Vallès).*

²*Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino. CSIC-UR-CAR, Logroño.*

Durant els darrers anys, les eines de la fisiologia quantitativa com ara les plataformes analítiques de genòmica i metabolòmica han permès descobrir trets importants de la fisiologia dels llevats, permetent comprendre i predir l'efecte de canvis ambientals i rerefons genètics diferents en les fermentacions víniques. L'objectiu principal d'aquest treball ha estat la posta a punt i aplicació d'eines d'anàlisi quantitativu i modelatge del metabolisme per tal d'estudiar l'efecte de factors ambientals rellevants com ara el contingut en sucre i nitrogen o la temperatura sobre les soques de llevat en condicions de cultiu al laboratori que simulin fermentacions víniques reals.

Així, hem mimetitzat fermentacions víniques en bioreactors d'escala laboratori sota condicions ambientals estrictament controlades, utilitzant *Saccharomyces cerevisiae* EC1118 com a soca model, permetent l'anàlisi quantitativa del seu comportament metabòlic. Concretament, hem utilitzat cultius operats en continu (quimiostats) per tal d'obtenir estats metabòlics estacionaris que mimetitzen les diferents fases descrites en processos de fermentació vínica clàssics, operats en discontinu. Aquesta aproximació experimental ens ha permès portar a terme l'anàlisi de fluxos metabòlics per a cada fase de fermentació, així com caracteritzar l'impacte de la temperatura (16° vs 28°C) i concentració de sucre inicial (24 vs 28 %) sobre la distribució de fluxos metabòlics durant la fase de creixement exponencial de la fermentació. Cal destacar que el model metabòlic emprat integra tant el metabolisme central del carboni com el del nitrogen, així com les rutes de síntesi dels principals precursors de compostos aromàtics.

Utilització de diferents fonts de nitrogen per part de soques víniques de *Saccharomyces cerevisiae*: resposta fisiològica i molecular

Gemma Beltran, A. Gutiérrez, M. Sancho, M. Martí-Raga, J.M. Guillamón, A. Mas

(1) Departament de Bioquímica i Biotecnologia, Universitat Rovira i Virgili, Tarragona, Spain.

(2) Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos (CSIC), Burjassot (València), Spain.

El nitrogen juga un paper important durant la fermentació alcohòlica, ja que afecta tant al creixement cel·lular dels llevats, com a la velocitat de fermentació, i al perfil aromàtic dels vins. El nitrogen en el most està present en dos formes clarament diferenciades: la inorgànica, bàsicament en forma d'amoni, i l'orgànica, formada per aminoàcids, pèptids i proteïnes. *S. cerevisiae* és capaç d'utilitzar una àmplia varietat de compostos nitrogenats per a créixer, però no tots ells proporcionen la mateixa eficiència de creixement o fermentativa. Conèixer quines fonts de nitrogen milloren o perjudiquen el creixement de les soques víniques industrials pot donar informació sobre els avantatges o els problemes d'aquests llevats per metabolitzar fonts de nitrogen específiques durant la fermentació. A més, la informació dels gens responsables d'aquests fenotips és crucial per millorar el procés en el celler i la qualitat del vi final. L'objectiu d'aquest estudi és doncs avaluar la resposta, tant fisiològica com molecular, de diferents llevats vínic a diferents fonts nitrogenades, per així classificar aquests compostos en diferents paràmetres de creixement i de cinètica, i determinar quins d'ells són més òptims per al creixement cel·lular, o pel manteniment de l'activitat metabòlica del llevat, i determinar-ne els gens responsables que causen diferents fenotips entre les soques. S'han utilitzat 4 soques víniques comercials, 24 fonts de nitrogen i s'han determinat els paràmetres de creixement, de fermentació, i l'expressió d'alguns marcadors moleculars de repressió per nitrogen. Els resultats obtinguts mostren una correlació directa entre la velocitat de fermentació i de creixement, així com entre el consum de nitrogen i el consum de sucre. La utilització de les diferents fonts de nitrogen pel llevat vínic difereix sistemàticament dels resultats obtinguts amb la soca de laboratori, però també s'observen diferències entre diferents soques víniques. Utilitzant una anàlisi de hemizigosis massiva, hem aconseguit traçar la base genètica d'algun d'aquests defectes, com la incapacitat de la soca PDM per utilitzar metionina. També es van identificar mutacions candidates causants en els gens involucrats.

Ús de tècniques independents de cultiu per a la detecció de bacteris acètics en vins i vinagres

M^aJosé Valera, Florencia Sainz, Estibaliz Mateo, Albert Mas, M^aJesús Torija

Bioteχνologia Enològica. Dept. Bioquímica i Bioteχνologia, Facultat d'Enologia. Universitat Rovira i Virgili. C/ Marcel·lí Domingo 1, 43007 Tarragona, España. Telf: 977558442 e-mail: mjesus.torija@urv.cat

Els bacteris acètics (BA) són un dels principals maldecaps dels enòlegs degut al problema que comporta un augment significatiu de l'acidesa volàtil d'un vi. No obstant, els BA són els microorganismes responsables de la producció de vinagres. Aquesta doble vessant dels BA, microorganismes positius o alterants depenent del producte que ens interressi, vi o vinagre, fa de gran interès la seva detecció ràpida i encara més, la seva quantificació. Les tècniques més habitualment utilitzades per la identificació dels BA són tècniques depenents de cultiu, com el anàlisi de restricció del amplificat del gen ribosomal 16S (RFLP-PCR 16S rRNA) o de l'espaiador entre els gens ribosomals 16S i 23S (RFLP-PCR ITS 16S-23S rRNA). Però, els BA presenten una baixa cultivabilitat en el medis de laboratori convencionals, característica que fa que es coneguin com microorganismes "fastidiosos". Aquesta baixa recuperació en placa implica que els BA detectats representen un percentatge molt baix respecte a la població total, al voltants de l'1%. Per tal de solucionar aquest inconvenient, s'han posat a punt diferents tècniques independents de cultiu per la detecció i quantificació de BA, com la PCR quantitativa a temps real (qPCR), electroforesis desnaturalitzant en un gel en gradient (DGGE-PCR) o la hibridació fluorescent in situ (FISH).

En el cas de la qPCR, el nostre grup d'investigació ha dissenyat cebadors específics per a la detecció i quantificació de BA totals i sondes TaqMan-MGB per set espècies de BA que s'han aïllat de forma habitual en vins i vinagres (*Acetobacter (A.) pasteurianus*, *A. aceti*, *A. malorum*, *A. cerevisiae*, *Gluconobacter oxydans*, *Komagataibacter (Ko.) europaeus*, *Ko. hansenii*), les quals ens permeten detectar i quantificar aquestes espècies. El problema d'aquesta tècnica és que només detectarem aquelles espècies de les quals tenim sondes o cebadors específics i per tant, no detectarem la resta d'espècies de BA. De manera similar, la tècnica FISH també utilitza sondes específiques i per tant, només detectarem aquelles espècies de les qual disposem d'una sonda. Per últim, la tècnica DGGE-PCR ens permet conèixer la biodiversitat ja que disposem d'uns cebadors genèrics per BA i per tant, podem detectar, però no quantificar, totes les espècies presents a la mostra, encara que habitualment només es detecten les majoritàries.

Finalment, les noves tècniques de seqüenciació massiva que s'han desenvolupat en els últims anys ens permetran tenir una visió més real i completa de la veritable diversitat present tant a les mostres de vi com de vinagres.

Wine, polyphenols and cardiovascular disease

Lamuela-Raventós RM*; Quifer-Rada P; Tresserra-Rimbau A; Creus. A; Sasot, G. University of Barcelona, Barcelona, Spain

**Nutrition and Food Science Department, School of Pharmacy, University of Barcelona. Avinguda Joan XXII s/n 08028 Barcelona, Spain. CIBEROBN*

Email: lamuela@ub.edu

Polyphenols are bioactive compounds present mainly in plant foods and beverages. They constitute a very heterogeneous group of compounds, with over 8000 different molecules. Recently, we have observed that polyphenols seem to play an important role in the prevention of cardiovascular events and in mortality within the PREDIMED population. Over an average of 4.3 years of follow-up, 273 confirmed cases of cardiovascular diseases and 327 all-cause deaths were reported among 7172 participants. After multivariate adjustment and comparing Q5 vs. Q1 of total polyphenol intake, we observed a 46% reduction in risk of CVD and 37% reduction of all-cause death.

One drink of red wine (150 mL) contains 300 mg of total polyphenols, respectively. These polyphenols may contribute to the total polyphenol effect observed in the prevention of cardiovascular events and reduction of mortality. Moreover, in some European populations, wine represent the major food contributors of some polyphenols such as flavanols, stilbenes and hydroxybenzoic acids, respectively. and these compounds significantly decrease mortality and cardiovascular events. Therefore, moderate consumption of wine and along with a healthy life style may contribute to the decrease of the ongoing effects of chronic diseases and mortality.

Efectes epigenètics dels polifenols: modulació dels microRNAs

Cinta Bladé

Grup de recerca en Nutrigenòmica. Departament de Bioquímica i Biotecnologia. Universitat Rovira i Virgili

Els polifenols de la dieta tenen efectes positius sobre la salut perquè modifiquen la funcionalitat de les cèl·lules. Aquests canvis els indueixen, bàsicament, per la seva interacció amb les cascades de senyalització cel·lular que, en últim terme, són les que controlen la funció cel·lular. Però en els darrers anys s'ha demostrat que els polifenols de la dieta també modulen la funcionalitat cel·lular per mecanismes epigenètics, com la metilació de l'ADN, la modificació d'histones i la modulació dels microRNAs.

Els microRNAs (miRNAs) són RNAs que no codifiquen per proteïnes i que tenen una mida petita, d'uns 18-25 nucleòtits. Aquests miRNAs s'uneixen de manera complementaria a la regió 3'UTR dels seus mRNAs diana, induint la seva degradació o reprimint la seva traducció a proteïna. Un únic miRNA pot regular l'expressió de diversos mRNAs i cada mRNA pot estar regulat per diversos miRNAs.

El nostre grup de recerca s'ha centrat en l'estudi del paper que juguen els miRNAs com a mediadors de l'efecte hipolipèmiat de les proantocianidines. L'estudi s'ha fet amb el miR-33 i el miR-122, dos dels miRNAs més implicats en la modulació del metabolisme lipídic al fetge. Els resultats demostren que les proantocianidines de pinyol de raïm reprimeixen l'expressió d'aquests dos miRNAs en hepatòcits de rata, tant *in vivo* com *in vitro*. Els resultats *in vivo* indiquen que les proantocianidines són efectives reprimint l'expressió del miR-33 i del miR-122 tant en condicions de normo-lipèmia com d'híper-lipèmia.

Posteriorment s'ha estudiat si la repressió d'aquests miRNAs és una propietat general dels polifenols, demostrant-se que l'estructura química de cada polifenol condiciona la seva efectivitat. Per exemple, l'epigal·locatequina gal·lat reprimeix miR33 i miR122 mentre que el resveratrol incrementa la seva expressió.

Utilitzant la tècnica de ressonància magnètica nuclear (RMN), hem demostrat que els polifenols es lliguen directament a miR-33 i miR-122, indicant que aquest podria ser el mecanisme pel qual els polifenols modularien els nivells de miRNAs en les cèl·lules. A més, s'ha constatat que l'epigal·locatequina gal·lat i el resveratrol, que tenen efectes contraris sobre l'expressió d'aquests dos miRNAs, es lliguen a miR-33 i miR-122 de manera específica i diferent.

Influencia de las propiedades del suelo y del clima en la fracción transpirable del agua del suelo en dos variedades de uva: Cabernet Sauvignon y Chardonnay

Maria Concepción Ramos

*Dep. Medio Ambiente y Ciencias del Suelo, Universidad de Lleida, Alcalde Rovira Roure 191, 25198 Lleida
(cramos@macs.udl.es, 0034 973702613)*

El trabajo presenta un análisis del contenido de agua en el suelo en dos viñedos plantados con Chardonnay y Cabernet Sauvignon en la comarca de la Anoia, bajo la denominación de origen Penedès. El área tiene un clima Mediterráneo con influencia marítima. Los principales tipos de suelo son *Typic Xerorthent* y *Fluventic Haploxerep*. Debido a la escasez de agua, los viñedos se cultivan manteniendo el suelo sin cubierta la mayor parte del año para evitar la competencia por el agua. El sistema de plantación es emparrado y similar en ambos viñedos, con 1.3 m entre cepas y 3 m entre filas. En cada parcela se analizaron características de los suelos tales como textura, materia orgánica y capacidad de retención de agua a diferentes profundidades así como la profundidad de enraizamiento y la capacidad de infiltración de agua en el suelo. Durante los dos ciclos de cultivo correspondientes a los años 2010-2011 y 2011-2012 se controló en continuo el contenido de agua en el suelo a 10, 30, 50 y 70 cm de profundidad utilizando sondas TDF. Para cada ciclo de cultivo se realizó un balance de agua en el suelo y se comparó con los correspondientes a años con diferentes características climáticas registrados durante el período 2000-2012, condiciones que fueron simuladas con el modelo SWAT. Para cada año y parcela se analizó la fracción transpirable de agua del suelo (FTSW). Se encontraron diferencias en las propiedades de los suelos, que en gran parte podrían ser atribuidas a las nivelaciones llevadas a cabo en la preparación de las parcelas antes de la plantación. Ello influyó en el contenido de agua del suelo y en el agua disponible para la planta. Dada las diferencias en la fenología encontradas entre las dos variedades analizadas, bajo una misma cantidad y distribución de lluvia, el agua disponible para la viña durante el ciclo de cultivo era diferente para las dos variedades. La fracción de agua transpirable alcanzó valores muy bajos, próximos a 0.1, particularmente en la variedad con un ciclo más temprano y bajo determinados patrones de distribución de lluvia. La disponibilidad de agua en las fases floración - envero, afectó a la producción llegando a producir reducciones del rendimiento de hasta un 38% en relación a la media registrada en la zona.

Predicció de paràmetres de qualitat del raïm en vinyes cv. Xarel·lo en secà utilitzant els índexs hiperespectrals NDVI i PRI

González-Flor, Cristina; Serrano, Lydia; i Gorchs, Gil.

Departament d'Enginyeria Agroalimentària i Biotecnologia, Universitat Politècnica de Catalunya, c/ Esteve Terradas 8, 08860 Castelldefels (Barcelona, Spain).

En vinyes de secà, la disponibilitat hídrica té una influència molt destacada sobre el creixement vegetatiu i reproductiu, i per tant, sobre la qualitat del raïm. Els índexs espectrals de banda estreta poden donar informació de l'estructura de la vinya i del seu estat fisiològic, de manera que podria ser útil per la predicció de la qualitat del raïm. En el present estudi s'ha comprovat la capacitat dels índexs hiperespectrals Normalized Difference Vegetation Index (NDVI) i Photochemical Reflectance Index (PRI) per a detectar la qualitat del raïm. L'estudi es va desenvolupar en cinc vinyes comercials de la varietat Xarel·lo durant el 2009 i 2010. Es van prendre mesures al verol de potencial hídric a l'alba (Ψ_{pd}), diferència de temperatura entre fulla i aire (ΔT_m), fracció de PAR interceptada (fIPAR), superfície foliar exposada (SFE) i reflectivitat de la coberta vegetal. En la verema es van determinar el pes del raïm (BW), els sòlids solubles totals (TSS) i l'acidesa titratable (TA). Els valors de Ψ_{pd} van indicar que l'estrés hídric de les vinyes era entre lleu i moderadament sever. El NDVI va ser capaç de caracteritzar els efectes de la disponibilitat hídrica sobre el vigor de la vinya (fIPAR) mentre que el PRI va mostrar correlació amb l'estat hídric (Ψ_{pd}). De la mateixa manera que l'estat hídric va influir sobre els atributs de qualitat del raïm en les vinyes a estudi, el NDVI va estar relacionat amb TA i IMAD (TSS/TA) mentre que PRI va estar relacionat amb TSS i IMAD. A més, el PRI va estar relacionat positivament amb el pes de la baia. Els resultats obtinguts suggereixen el potencials dels índexs hiperespectrals de banda estreta per estimar la qualitat del raïm en vinyes sota dèficits hídrics.

Explorant les preferències del consumidor de vi a Catalunya

Escobar, C., Kallas, Z. i Gil J.M.

CREDA-UPC-IRTA

Parc Mediterrani de la Tecnologia. Edifici ESAB. Castelldefels (Barcelona).

www.creda.cat

El treball que es presenta en aquesta jornada uneix diferents estudis realitzats en el marc de les preferències del consumidor de vi a Catalunya. En aquests estudis es para especial atenció a l'origen del vi. Un dels objectius principals del nostre treball és la determinació de l'heterogeneïtat del consumidor, que ens servirà per recomanar estratègies de màrqueting pels segments identificats. La finalitat d'aquestes estratègies és la millora de la quota de mercat del vi català a Catalunya.

La metodologia emprada són els experiments d'elecció, que també ens serviran per valorar l'impacte de campanyes publicitàries en les preferències dels consumidors. En aquest treball s'introdueix una variació en el disseny, més concretament, en el disseny dels experiments d'elecció de doble resposta (EEDR). Aquesta modificació permet l'anàlisi simultani del que els consumidors "preferirien" (1a etapa de l'EEDR) i del que "comprarien" (2a etapa de l'EEDR). Els resultats que presentem han estat obtinguts a partir del model economètric heteroscedastic de valors extrems.

Les variables emprades per a la determinació de l'heterogeneïtat dels consumidors són variables socio-demogràfiques, la freqüència de consum de vi i el grau d'implicació amb el vi. Pel que fa aquesta última variable, es desenvolupa una escala específica per mesurar-la. També s'ha tingut en compte l'ocasió de consum, ja que les preferències del consumidor estan condicionades per aquesta. En aquest sentit, els resultats fan referència a un vi negre per consumir en una ocasió especial.

Les dades varen ser obtingudes a partir de dos sondejos, concretament, abans i després d'una campanya publicitària del vi a Catalunya. La mostra va estar formada per 299 i 400 individus, respectivament. Els resultats posen de manifest com la campanya publicitària no va generar canvis en el rànquing d'atributs preferits, tanmateix, la importància relativa del nivell "vi de Catalunya" respecte el "vi d'Espanya" incrementa després de la campanya publicitària. El producte preferit és un vi de Catalunya, de la varietat Cabernet sauvignon. Els vins que s'han tastat prèviament es prefereixen per sobre dels recomanats o de prestigi, malgrat que els vins prestigiosos incrementen la seva importància relativa després de la publicitat.

RESUMS DELS PÒSTERS PRESENTATS

1 Caracterització edafològica i mineral de la DO Montsant

Grau, M.Claustre; Masqué, M.Carme; Valiente, Llop, Jessica; Josep; Elorduy, Xoán

Estació de Viticultura i Enologia de Reus – Institut Català de la Vinya i el Vi (INCAVI), Passeig Sunyer, 4-6 43202 Reus claustre.grau@gencat.cat

Des de l'INCAVI estem treballant per a millorar el coneixement del territori que ens és més proper, i en aquest cas ho fem juntament amb la DO Montsant. Del 2009 al 2012 hem fet una zonificació de la DO Montsant a partir de criteris climàtics, paisatgístics i enològics. La continuació d'aquest estudi és la caracterització edafològica i mineral dels sòls de la DO Montsant i de la vinya, centrant-nos en la garnatxa i el samsó com a varietats majoritàries i que el CR diferencia positivament ja que distingeix els vins monovarietals de Garnatxa i Samsó amb una etiqueta específica.

Amb aquest estudi pretenem aprofundir en el coneixement dels diferents *terroirs* de la DO Montsant i de les dues varietats principals de la DO Montsant (Garnatxa i Samsó), elements determinants a l'hora d'obtenir un producte de qualitat i diferenciat

A partir de les zones de producció homogènia de la DO Montsant hem seleccionat finques representatives de cada zona, tenint en compte criteris de proporcionalitat de superfície de vinya plantada.

L'extracció de les mostres de terra l'hem fet a nivell de sòl i subsòl, agafant diversos punts de mostreig per obtenir un conjunt homogeni i representatiu.

Els paràmetres analitzats (Calç activa, Conductivitat, pH a l'aigua i pH a KCl, Matèria orgànica, textura, Nitrogen, Potassi de canvi, Magnesi de canvi, relació C/N, relació K/Mg i Calci extraïble) per cada mostra de sòl i subsòl ens donen una visió de conjunt del sòl vitícola de la DO Montsant.

Hem observat que els sòls vitícoles de la DO Montsant són majoritàriament de textura franca, bàsics, pobres amb matèria orgànica, amb una correcta relació C/N i en general sense carències de K i Mg. Els nivells de calç activa, en general et permeten plantar qualsevol peu.

2 Recuperació de varietats perdudes i desconegudes. Una opció per fer front als nous reptes del sector vitivinícola. Cas de les Bodegues Albet i Noya

Gemma Marsal, Josep Maria Albet Josep Maria Mateo, Joan Miquel Canals, Fernando Zamora, i Francesca Fort

Grup de Tecnologia Enològica (TECNENOL), Departament de Bioquímica i Biotecnologia, Facultat d'Enologia de Tarragona, Universitat Rovira i Virgili, Facultat d'Enologia de Tarragona, Campus Sescelades, C/ Marcel·lí Domingo s/n, 43007-Tarragona, Spain.

Des de temps immemorials l'home ha actuat com a seleccionador de les *Vitis*. Aquesta estratègia li ha servit per a preservar els exemplars que ell valorava, i així d'una manera espontània les ha anat domesticant. Aquest home nòmada i "a posteriori" sedentari, actuava de manera sostenible amb la natura i aquesta davant de determinades actuacions poc equilibrades, mantenia la capacitat de restaurar-se.

Actualment l'home actua de manera molt discutible. Sovint trenca els equilibris propis de l'espècie agredida. En el cas de *Vitis vinifera* subesp. *sativa* o *vinifera*, s'ha arribat a l'extrem de vinificar el 90% dels vins comercials del món només amb una cinquantena de varietats. Atès que la Biodiversitat d'aquesta espècie es calcula en uns 5000 exemplars, l'erosió genètica actual és més que un fet plausible. Impactes ecològics com les espècies invasores (míldiu, oïdi o la fil·loxera...), la introducció de varietats estrangeres, les modes i tendències, la legislació Europea (PAC (Política Agrícola Comú de la Unió Europea)), les polítiques restrictives de les DOP (Denominacions d'Origen Protegides) i el Canvi Climàtic, agreugen cada cop més aquesta situació.

Des de fa uns anys el sector ha començat a reaccionar davant d'aquest fet. Actualment la recuperació de varietats minoritàries, autòctones i fins i tot assilvestrades és una pràctica comú entre viticultors i bodeguers. En aquest sentit la mentalitat oberta i innovadora de les noves generacions queda palesa en la creació de grans i petites col·leccions de plantes de *Vitis* que hi ha en la comarca del Penedès. Parlem de la col·lecció "La Vinya del Món", la de l'Escola Mercé Rossell i Domènech – Escola Espiells, i potser amb no tants exemplars, el recull de varietats que ha fet les Bodegues Albet i Noya.

En aquest sentit, presentem un estudi de caracterització molecular de 11 entrades. Aquestes han estat recollides des del Penedès al Pirineu a partir de diversos criteris, però amb la finalitat sempre innovadora, de cobrir des de problemàtiques de malalties de vinya, fins al coneixement de les aptituds agronòmiques d'exemplars assilvestrats

3 Els protocols d'extracció d'ADN propis del Grup de Recerca de TECNENOL (Tecnologia Enològica) (URV)

Gemma Marsal, Nuria Boronat, Josep Sabaté, Joan Miquel Canals, Fernando Zamora, i Francesca Fort

Grup de Tecnologia Enològica (TECNENOL), Departament de Bioquímica i Biotecnologia, Facultat d'Enologia de Tarragona, Universitat Rovira i Virgili, Facultat d'Enologia de Tarragona, Campus Sescelades, C/ Marcel·lí Domingo s/n, 43007-Tarragona, Spain.

El Grup de Recerca de Qualitat de Tecnologia Enològica (TECNENOL), en una de les seves línies de recerca disposa de dos mètodes d'extracció d'ADN que, sense cap mena de dubte, ofereixen a la comunitat científica clares avantatges respecte a la resta protocols tant convencionals com comercials (rapidesa, comoditat i preu).

En la proposta més polivalent hi trobem el primer protocol dissenyat: Marsal i col. 2011. Aquest protocol ofereix poder extreure ADN pur i gaire bé intacte en unes 2h 30 minuts (del mateix ordre que un "kit" comercial però aquest només extreu a partir de teixit foliar). La polivalència li ve atribuïda perquè pot obtenir ADN tant de mostres de fulla jove com adulta, tant de sarment (fusta) com de llavor. Aquests darrers són teixits anomenats recalcitrants en els àmbits anglosaxons perquè presenten una major dificultat d'extracció i purificació, al posseir en les seves estructures un major nombre de contaminants i al ser, al mateix temps, estructures més complexes.

La proposta de mètode d'extracció i purificació més ràpida té una durada de 1h 30 minuts, però queda restringida al teixit foliar, tant jove com adult (Marsal i col. 2013). Aquesta és una reducció de l'anterior mètode, on el rendiment i la puresa de l'ADN extret no és significativament inferior.

Ambdós presenten l'avantatge de treballar, en tot moment, en petits volums de mostra, fet que fa que tot el protocol s'executi utilitzant tubs Eppendorf. Aquesta reducció de volum de mostra, a part de fer més àgil la metodologia, porta implícita una reducció de volums dels reactius i solucions utilitzats, que junt amb l'absència de la digestió amb ARNasa, fan que tots dos protocols resultin veritablement econòmics. Respecte els mètodes que comparem, l'estalvi en euros va de 2 a 8 vegades.

4 El silici vegetal en la lluita contra *Botrytis cinerea* a la vinya

Domingo, C.¹, Puig, S.¹, Farré, L.², Allué J.³, Poschenrieder C.³, Llugany, M.³

¹ Institut Català de la Vinya i el Vi (INCAVI). Estació de Viticultura y Enologia de Vilafranca del Penedès. Pl. Àgora, 2 08720 Vilafranca del Penedès Tel. 93.8900211 carme.domingo@gencat.cat

² ADV Sant Martí - Penedès Superior

³ Unitat de Fisiologia Vegetal. Departament de Biologia Animal, Vegetal i Ecologia Facultat de Biociències. Universitat Autònoma de Barcelona. Edifici C. Campus de Bellaterra 08193 Bellaterra tel. 93 5811794
merce.llugany@uab.cat

Les estratègies de control químic cada cop són més restringides i menys efectives perquè han portat a la degradació de l'entorn per l'aplicació de productes que esdevenen tòxics, i per l'aparició de fongs resistents per l'ús reiterat i de vegades indiscriminat d'aquests productes. Aquesta situació conjuntament amb la demanada per part del consumidor de vins ecològics ha estimulat el desenvolupament de mètodes de control alternatius respectuosos amb el medi ambient. El silici molt abundant en l'escorça terrestre incrementa en molts conreus la resistència davant diferents estressos abiòtics i biòtics com les malalties fúngiques. Tenint en compte aquests antecedents, la unitat de Fisiologia vegetal de la UAB i l'INCAVI han dut a terme una experiència basada en la utilització d'extractes vegetals rics en silici (cua de cavall i ortiga, subministrats per l'empresa de Tractaments Bio-Ecològics SA), per avaluar la seva eficiència davant *Botrytis cinerea* com a mètode alternatiu de control de malalties fúngiques.

S'han proposat dos mecanismes pels quals el Si pot incrementar la resistència davant les malalties. El primer està basat en la doble capa que forma el Si en les parets cel·lulars que actuaria de barrera física impeding la penetració dels fongs i evitant els processos d'infecció. El segon es fonamenta en el fet que el Si actuaria com a desencadenant de la resposta de defensa en front als patògens en la planta. Diversos estudis en conreus de monocotiledònies (blat) i dicotiledònies (cogombre) i en flor ornamental (rosa miniatura) han demostrat que el Si indueix la formació d'àcids fenòlics i flavonoids amb acció antifúngica.

Tot i tenir evidències del paper del Si en induir les defenses en la planta encara no es coneix el mecanisme de com el Si soluble interacciona amb les vies metabòliques per estimular la síntesis d'aquestes substàncies. Es sap que l'expressió de la resposta de defensa a patògens induïda en les plantes està regulada per una xarxa complexa de senyalització on juguen un paper decisiu les hormones vegetals àcid jasmònic (JA) i àcid salicílic (SA).

En el nostre estudi després de diverses aplicacions dels extractes rics en Si vam observar un augment significatiu en fulla d'aquestes hormones i una tendència a la disminució del percentatge de podrit a nivell visual. Es va realitzar una inoculació artificial del raïm veremat i els tractament amb els extractes, especialment la cua de cavall, van conferir de forma significativa més resistència a la proliferació de la infecció.

Generalitat de Catalunya 2012 AGECE 00053

5 **Cóm afecten el clima i la topografia a la composició fenòlica de garnatxa en ecosistemes vitícoles vulnerables ?**

M. Nadal, A. Sánchez-Ortiz

Grup de recerca en Vitivinicultura, Departament de Bioquímica i Biotecnologia, Facultat d'Enologia, Universitat Rovira i Virgili, Tarragona. e-mail: montserrat.nadal@urv.cat.

El clima mediterrani a la DOQ Priorat presenta certa tendència a la continentalitat degut a la seva orografia, les precipitacions són escasses i la temperatura a l'estiu s'eleva sovint per damunt 35°C. Endemés, el sòl pobre format per esquistos acusa la severitat i sequetat del clima fent perillar per tant, la sostenibilitat del cultiu de la vinya. Per avaluar l'efecte del terreny i la climatologia es varen escollir vuit vinyets de garnatxa cultivats en terrasses en quatre municipis de la DOQ, distribuïts en zona mesoclimàtica precoç i en tardana. L'estudi es va dur a terme en dues anyades ben diferenciades, una temperada i l'altra càlida severa. Els ceps de vigor mitjà baix i de edat entre 6 i 10 anys estan formades en cordó bilateral i empeltats en R110. Durant la maduració es van determinar sucres, acidesa total, pH, maduresa fenòlica de la baia i també es va calcular la producció per cep. Els resultats varen ser tractats mitjançant ANOVA i el test de Tukey (SPSS versió 21.0) va permetre determinar les diferències entre parcel·les.

Els sucres van ser més elevats en zona precoç i s'acumulen preferentment en terrasses superiors. En anys càlids els antocians disminueixen en regió precoç. Contràriament en anys temperats, els antocians són similars entre parcel·les, exceptuant les zones de maduració tardana i en altitud on la maduració resulta incompleta. A destacar, la disminució apreciable d'antocians una setmana abans de la verema que té lloc només en zones precoces. La topografia és la variable amb més influència sobre el rendiment; en terrasses superiors la collita de raïm resulta menor. L'efecte sever causat per l'increment de temperatures entre verol i maduració afecten la composició de la polpa, provocant una disjunció entre la maduresa de la polpa i la fenòlica de la pell. Els resultats d'aquest estudi ens indiquen que les parcel·les situades en zones primerenques i en sòls més pedregosos són més vulnerables en anyades de climatologia severa, mostrant al final de maduració un important augment de sucres que no es correspon amb la consegüent concentració de antocians en baia.

Paraules clau: terroir, orografia, microclima parcel·lar, antocians, producció.

6 Adaptació de la varietat Marselan al clima mediterrani. Resultats de la composició fenòlica del raïm

M. Nadal, A. Sánchez-Ortiz

Grup de recerca en Vitivinicultura, Departament de Bioquímica i Biotecnologia, Facultat d'Enologia, Universitat Rovira i Virgili, Tarragona. e-mail: montserrat.nadal@urv.cat.

La disminució de la síntesi de fenols en la varietat mediterrània Garnatxa sota condicions d'estrès hídric sever, cada cop més freqüents en el nou escenari de canvi global, ens porta a l'estudi d'un nou material genètic que proporcioni el potencial fenòlic adequat al vi final. L'efecte del portaempelt sobre la varietat, tant en relació amb el vigor com la seva influència en la composició del raïm és un dels factors a considerar cara a la sostenibilitat del cultiu de la vinya. Aquest estudi es realitzà en un vinyet plantat en 2009 al camp de la URV a Constantí (Tarragona). El clima és mediterrani i el sòl calcari amb una textura franco-llimosa, la qual cosa li permet mantenir una reserva hídrica mitjana. La varietat Marselan (V.vinifera Garnatxa x V.vinifera Cabernet sauvignon), en un marc de plantació de 2,4m x 1,1m, està conduïda en cordó bilateral i espatllera vertical. Els portaempelts objecte de l'assaig foren: Richter-110, 140-Ruggeri, 41B i Fercal. El disseny experimental split-plot es va establir en blocs a l'atzar amb tres repeticions. L'any 2013, es va mesurar el potencial hídric foliar en verol i verema. Nou controls de maduració es realitzaren a partir de 400 baies destinades a avaluar l'evolució dels compostos fenòlics. Es van determinar i quantificar per HPLC- DAD/FLD 28 compostos pertanyents a 6 famílies: àcids fenòlics (OHC, OHB), estilbens, antocianines, flavanols i proantocianidines (ProA). Els resultats van ser analitzats mitjançant (ANOVA) i el test de Tukey (SPSS versió 21.0). El potencial hídric dels portaempelts 140Ru i 41B indiquen un millor resistència front al dèficit hídric. 140Ru i 41B varen mostrar un retard en finalitzar el verol, evidenciant valors més elevats de ProA durant aquest període. Per altra banda, R110 acumulà un percentatge relatiu més elevat de OHC, flavanols i ProA al final de la maduració. En considerar les famílies de fenols, els percentatges relatius a R110 van resultar diferents dels altres patrons. Quant a la qualitat fenòlica i en les nostres condicions d'assaig, els patrons R110 i 41B resulten els més adequats per presentar un contingut més elevat de proantocianidines i antocianines en verema. Caldria confirmar aquests resultats en altres anyades.

Paraules clau: *Vitis vinifera*, HPLC- DAD/FLD, proantocianidines, antocianines, verol

7 Influencia del aclareo de racimos y deshojado en las propiedades químicas y organolépticas de los vinos de garnacha en la D.O. Montsant

F. Javier Castaño*, David Velado, Anna Brull, Enric Nart, Miguel Tejerina

VITEC, Parc Tecnològic del Vi, Carretera de Porrera km 1, 43730 Falset (Tarragona, Spain)

*Corresponding author: Castaño, F.J.; javier.castano@vitec.cat

La Garnacha (*Vitis vinifera* L.) es una de las variedades de vid más cultivadas en la DO Montsant, donde normalmente se mezcla con otras variedades, debido a su baja intensidad de color. El empleo de técnicas vitícolas como el deshojado y el aclareo de racimos puede mejorar las características organolépticas, el color y la estructura de sus vinos. La aplicación de estas técnicas, para mejorar la composición de la uva y la calidad del vino, no se ha estudiado de forma detallada en la D.O. Montsant. El objetivo de este estudio, llevado a cabo durante los años 2012 y 2013, fue cuantificar el efecto del deshojado y aclareo de racimos en el rendimiento y las características químicas y sensoriales de la variedad Garnacha, en condiciones de la DO. Montsant. Se realizaron cuatro tratamientos por triplicado en un viñedo de secano: C: Control; DH: Deshojado; AC: Aclareo de racimos; DH+AC: Deshojado + Aclareo de racimos. El deshojado se realizó después de cuajado, desde la base del pámpano hasta la hoja opuesta al segundo racimo. El aclareo, justo antes de envero, dejando un racimo por pámpano. En los tratamientos en los que se realizó el deshojado se observó un aumento de antocianos (totales y extraíbles), un mayor índice de polifenoles totales (IPT) y mayor intensidad de color. El tratamiento DH+AC mostró los valores más altos de antocianos extraíbles, IPT y grado alcohólico (% vol), tanto en 2012 como 2013. Por otra parte, ambos años los vinos de este tratamiento fueron los mejor valorados por un panel de cata entrenado. Sin embargo, se observó una pérdida de rendimiento (40% en 2012 y 27% en 2013) en el tratamiento DH + AC en comparación con el tratamiento C. Este estudio ofrece a los viticultores de la DO. Montsant la capacidad para decidir la idoneidad de estas prácticas culturales.

Palabras clave: Deshojado, aclareo de racimos, Garnacha, antocianos, color.

8 Influence of grape maturity and cluster treatment of Grenache cultivar on wine composition and quality

Olga Pascual¹, Jeanette Ortiz¹, Maruxa Roel¹, Nikolaos Kountoudakis¹, Mariona Gil¹, Sergio Gómez-Alonso², Esteban García-Romero³, Joan Miquel Canals¹, Isidro Hermosín-Guitierrez² and Fernando Zamora¹

¹ *Departament de Bioquímica i Biotecnologia, Facultat d'Enologia de Tarragona, Universitat Rovira i Virgili, Campus de Sescelades, C/Marcel·li Domingo, s/n. 43007 Tarragona (fernando.zamora@urv.cat)*

² *Instituto Regional de Investigación Científica Aplicada, Universidad de Castilla-La Mancha, Campus Universitario s/n, 13071 Ciudad Real*

³ *Instituto de la Vid y el Vino de Castilla-La Mancha, Ctra. Toledo-Albacete s/n, 13700 Tomelloso, Ciudad Real*

It has been reported that unripe grapes have a lower extractability of anthocyanins and proanthocyanidins from skins and a higher extractability of proanthocyanidins from seeds. For this reason, immature grapes may produce more astringent wines as their seeds can release a higher amount of highly galloylated proanthocyanidins. In addition, it has been shown that stems can release highly astringent, herbaceous, and bitter proanthocyanidins. Other arguments for removing stems include their presence reduce alcohol content, decreases color, increase pH and they take up valuable space in the tank. As a result, destemming grapes is a common procedure in red winemaking. On the contrary, some winemakers argue that the presence of stem may occasionally have positive effects. These views claim that retaining stems produce wines with a higher concentration of proanthocyanidins, which help to stabilize color and improve the body of the wine. The aim of this work was to study how different grape maturity levels and cluster treatment affect the color and phenolic composition of Grenache wines.

The experiment was carried out with red Grenache cultivar from two different vineyards during 2013 vintage. One vineyard was in Darnós (AOC Montsant) and other in Bellmunt del Priorat (AOC Priorat). The grapes from Darnós were harvested at three maturity levels (3, 5, and 7 weeks after veraison). At each maturity, five experimental conditions were performed by triplicate: Control (destemming and crushing), Submerged Cap (destemming and crushing), Whole Berry (destemming without crushing), Crushed Cluster (crushing without destemming) and Whole Cluster (no treatment). The grapes from Bellmunt vineyard were harvested only at the optimal maturity level. 15 microvinifications in the same conditions than the grapes of Darnós were performed. These grapes were also employed for three vinifications with 430 kg each one in opened oak barrels. In that case the experimental conditions were only Control, Whole Berry and Whole Cluster. All winemaking trials were carried out at 25 ± 1 °C during 15 days applying one punch-down by day, excluding the submerged caps system.

The results indicate clearly that maturity level exert a great influence on colour and wine composition independently of the cluster treatment and winemaking procedure employed. Specifically, the greater maturity the higher ethanol content, pH, colour intensity, anthocyanin and proanthocyanidin concentration and also its mean degree of polymerization (MDP). The cluster treatment and winemaking procedure also has influence on colour and polyphenol extraction. In all micro-winemaking trials, the higher colour intensity and the higher polyphenol extraction were obtained in submerged Cap Vinifications. The presence of stems (Crushed Cluster and Whole Cluster) also increased the total polyphenol extraction and proanthocyanidin concentration. These results were confirmed in oak barrel fermentations in which conditions were more similar to the real conditions of industrial winemaking.

9 Efecte de tractaments vitivinícoles en l'expressió aromàtica de vins elaborats amb Garnatxa blanca

P. Cabanillas, N. Rozes, L. Aceña, O. Busto, M. Mestres

Grup de Sensometria Instrumental (iSens)

Departament de Química Analítica i Química Orgànica

Facultat d'Enologia. Campus Sescel·lades. Edifici N4. Universitat Rovira i Virgili

e-mail: isens@urv.cat

La Garnatxa Blanca ha estat considerada, durant molts anys, una varietat neutra poc aromàtica. No obstant, les darreres tendències en l'elaboració de vins de qualitat tot emprant varietats autòctones han permès mostrar el potencial que té aquesta varietat pel que fa a les qualitats organolèptiques.

L'objectiu del nostre estudi ha estat avaluar l'efecte de la fertilització foliar i l'ús de dues soques de llevat (una usual i una altra potenciadora de l'expressió de compostos sofrats) sobre l'expressió aromàtica del vi elaborat amb Garnatxa Blanca.

Per tal de dur a terme aquest estudi s'ha treballat amb Garnatxa Blanca procedent de la finca experimental Mas dels Frares pertanyent a la Facultat d'Enologia de la Universitat Rovira i Virgili. La vinya va ser dividida en dos blocs (control i tractat) i el raïm procedent dels dos blocs va ser vinificats per separat i emprant les dues soques de llevat en cada cas. En tots els casos es van realitzar les fermentacions per triplicat.

Les mostres obtingudes en els diferents tractaments van ser analitzades tant cromatogràficament com sensorial. D'aquesta manera, amb la primera anàlisi es disposava d'una resposta objectiva que permetia determinar si els diferents tractaments implicaven diferències en el perfil volàtil de les diferents mostres i, amb la segona tècnica, es podia corroborar si les diferències cromatogràfiques es traduïen en diferències sensorials.

Donada la complexitat de la matriu vínica, així com les baixes concentracions a les que apareixen molts dels components que constitueixen la fracció volàtil d'aquesta, es va emprar la microextracció en fase sòlida aplicada a l'espai de cap de les mostres (HS-SPME) per tal d'extreure i concentrar els diferents analits en un sol pas. Tot seguit, aquests analits van ser introduïts directament al cromatògraf de gasos equipat amb un detector d'espectrometria de masses (GC-MS). Pel que fa a l'anàlisi sensorial, el panell de tast el conformaren 24 tastadors (familiaritzats amb l'anàlisi sensorial de vins) que van avaluar les diferents mostres mitjançant l'ús del test triangular per tal de detectar si hi havia diferències significatives entre les mostres tractades i la mostra control.

Els resultats van mostrar que l'aplicació dels tractaments emprats impliquen canvis en la fracció volàtil que, tot i que cal millorar, poden afavorir l'expressió aromàtica de la varietat estudiada.

El grup iSens agraeix al Ministerio de Economía y Competitividad el finançament rebut (projecte AGL2011-26456)

10 Comparison of methods for quantification of gluconic acid in grape juice and wine

Mariona Gil, Laura Medina, Nikolaos Kontoudakis, Francesca Fort, Joan Miquel Canals and Fernando Zamora

Departament de Bioquímica i Biotecnologia, Facultat d'Enologia de Tarragona, Universitat Rovira i Virgili, Campus de Sescelades, C/Marcel·li Domingo, s/n. 43007 Tarragona, Spain.

Grey rot is probably the worst fungal disease affecting grape production. This plague, due to the development of the filamentous fungus *Botrytis cinerea*, provokes several problems such as color oxidation, difficulties of settling and filtration, risk of microbiological deviations and the apparition of fungal odors. For that reason, winemakers are very interested in determining the presence of this disease in grapes when the harvest arrives to the winery with the aim of classifying and separating grapes in function of its fungal healthy. Even some wineries often impose price penalties if more than 3–5% of the harvested crop is affected by *Botrytis cinerea*.

There are many analytical methods for the estimation of gluconic acid from which it can be highlighted HPLC, gas chromatography and capillary electrophoresis. However, all these methods are hardly applicable in wineries because are timeconsuming and require highly trained technicians. Better suited to use in wineries are FT-IR techniques and enzymatic methods. Probably, nowadays, the enzymatic method is the most widely used method in wine analysis while the Fourier transformed infrared method (FT-IR) is mainly used for the evaluation of grape/must. Recently, a biosensor (BIOLAN Microbiosensores, Bilbao, Spain), using gluconate dehydrogenase, has been developed for that purpose. This work compares the efficacy of this new biosensor with the other two most usually employed methods for gluconic acid analysis (enzymatic and FT-IR).

A wine-simulated solution, a red and a white wines and a grape juice were supplemented with 25, 50, 100, 200 and 500 mg/l of gluconic acid and used for the analysis. All the samples were analysed by quintuplicate by FTIR, enzymatic method (manual and automatic) and biosensor analysis.

The obtained results indicate that FT-IR has not the needed accuracy to analyze specifically gluconic acid in grape juice. In contrast, enzymatic methods and biosensor are adequate to measure gluconic acid in the four studied matrixes, synthetic solution, grape juice, white wine and red wine. As a final conclusion it can be stated that the biosensor is a perfectly valid for the determination of gluconic acid in grape juice and wines. Biosensor provides results comparable or even better than those obtained with enzymatic methods. Moreover, it has the advantages of being quicker and cheaper. This coupled with the fact of not needing any pretreatment of the sample makes this method best suited for the grey rot control just when grapes arrive to the winery.

11 Influencia de las enzimas de maceración *Rapidase Extra Color* y *Rapidase Extra Fruit* sobre diferentes parámetros de calidad del vino

* Brull, A.^a, Puxeu, M.^a, Nart, E.^a, Roselló, J.^a Pellerin, P.^b

^a Parc Tecnològic del Vi (VITEC), Carretera de Porrera Km 1, 43730, Falset, España.

^b OENOBANDS, Parc Scientifique Agropolis II, bat 5, 2196 Blvd de la Lironde, CS 34603, 34397 Montpellier Cedex 5, Francia.

* Email: anna.brull@vitec.cat

La utilización de enzimas para la elaboración de vino es una práctica ampliamente extendida con el fin de mejorar algunas de sus características como pueden ser color y aroma. Una de las aplicaciones más interesantes en la elaboración de vinos tintos recae en el incremento de la extracción de antocianos y polifenoles durante la etapa de maceración de los hollejos. No obstante ciertos trabajos han descrito una liberación de potasio en el medio, que repercute en un incremento de pH y disminución de la acidez total de los vinos. El objetivo del presente estudio es cuantificar el impacto de dos enzimas de maceración en vino tinto - *Rapidase Color Extra* y *Rapidase Extra Fruit* - sobre diferentes parámetros de calidad en un proceso típico de elaboración de vino tinto de la variedad Tempranillo. Se realizaron tres ensayos de maceración, uno con cada enzima y un ensayo control, a partir de microvinificaciones de 50kg de uva, que se maceraron en depósitos de acero inoxidable de 50 litros de capacidad total durante 4, 8 y 12 días. Se analizaron y estudiaron los siguientes parámetros: pH, acidez total tartárica, potasio, índice de polifenoles totales y las características cromáticas de los vinos resultantes. Se observó que el uso de enzimas durante la fase de maceración mejora el contenido de polifenoles y el color del vino. En maceraciones cortas de 4 días el uso de enzimas favorece la disminución del pH, incrementando consecuentemente la acidez total sin afectar la liberación de potasio. Después de 8 días de maceración las enzimas continúan favoreciendo la disminución del pH y disminuye también la concentración de potasio. En la maceración larga de 12 días el uso de enzimas tiende a incrementar la concentración de potasio sin que la acidez o el pH se vean afectados de manera significativa.

12 Oxygen consumption by oak chips; influence of the botanical origin, toast level and content in ellagitannins

M. Navarro¹, Nikolaos Kountoudakis¹, Sergio Gómez-Alonso², Esteban García-Romero³, Joan Miquel Canals¹, Isidro Hermosín-Guitiérrez² and Fernando Zamora¹

¹ Departament de Bioquímica i Biotecnologia, Facultat d'Enologia, Universitat Rovira i Virgili, Tarragona.

(fernando.zamora@urv.cat) ² Instituto Regional de Investigación Científica Aplicada, Universidad de Castilla-La Mancha, Ciudad Real ³ Instituto de la Vid y el Vino de Castilla-La Mancha, Tomelloso, Ciudad Real.

The use of oak chips to flavor wine is a well known technique and its employment coupled with micro-oxygenation can reproduce the processes taking place in the barrels more economically and quickly. Oxygen is required in red wines to induce a series of reactions between polyphenols to achieve stabilization of color and decrease in astringency. In any case, the oxygen supply should be adequate as excess causes oxidation and therefore the quality deterioration. In this regard it has been postulated that the released ellagitannins from oak can consume oxygen and protect the wine of excessive oxidation. There are several studies on the influence of the use of oak chips on the contribution of flavor to the wine, but only scarce information exists on its effect on the release of ellagitannins and even less on oxygen consumption by them. Therefore the objective of this work was to study the relationship between the release of ellagitannins from oak chips and oxygen consumption.

For this study we used 2, 5 and 10 g/L of oak chips of French (*Q. petraea*) and American (*Q. alba*) origin and three toast levels (light, medium and strong) provided by the company Pronektar. In the case of medium toast French oak, chips with three releasing ellagitannins potential levels were used. The releasing ellagitannins potential was determined by the company Pronektar by means of its non-invasive measurement method by infrared spectrometry. The chips were introduced in clear glass bottles to which they had previously inserted a pill for non-invasive measurement of dissolved oxygen by luminescence by means of Noma Sense equipment. The bottles were completely filled with a wine similar synthetic solution previously saturated with oxygen. Once capped bottles with a crown cap avoiding the presence of bubbles in the headspace, oxygen measurement was done every 24 hours. All assays were performed in triplicate considering as reference control bottles with the oxygen saturated solution but without addition of chips. After the experiment, the bottles were opened and ellagitannins analyzed by HPLC-mass.

No oxygen consumption was observed in the Control bottles while in all containing chips bottles oxygen concentration decreased at different rates depending on the amount of chips, the botanical origin, the toast level and its releasing ellagitannins potential. The main results are summarized in the following points:

- The greater the amount of chips the faster oxygen consumption.
- French oak chips released more ellagitannins and consume faster the oxygen than American oak chips.
- In the French oak chips, the ellagitannin release and the oxygen consumption decrease with increasing the toast level.
- In American oak chips, toasting level has only a slight effect on the ellagitannin release and oxygen consumption.
- The ellagitannins concentration and oxygen consumption increase with the ellagitannins releasing potential.

It can be concluded that there exists a clear relationship between ellagitannin release and oxygen consumption rate. Therefore the choice of oak in terms of its potential in ellagitannins should be considered, not only for its direct impact on the flavor and body of the wine, but also for its possible protective effect against oxidation.

13 Screening the polyphenolic metabolic differences between wine and dealcoholized wine in plasma by high resolution mass spectrometry

Anna Creus-Cuadros¹, Paola Quifer-Rada^{1,2}, Guo Xiaohui¹, Mariel Colman¹, Mercè Mercader Martí³, Rosa M. Lamuela-Raventós^{1,2}

¹Nutrition and Food Science Department, XaRTA, INSA. Pharmacy School, University of Barcelona, Av. Joan XXIII s/n Barcelona, Spain

²CIBER 06/003 Physiopathology of obesity and nutrition (CIBEROBN) and RETICS RD06/0045/0003. Institute of Health Carlos III, Spain

³Miguel Torres, Vilafranca del Penedès, Spain

Introduction: Red wine is a rich source of polyphenols. Its moderate intake is associated with beneficial effects on health, such as cardiovascular disease prevention. Up to now, only a few studies have focused on the bioavailability of polyphenols considering the matrix of wine, such as alcohol. Nowadays, there is no consensus if alcohol increases polyphenols bioavailability by improving polyphenol's solubility or increases the elimination as a result of the diuretic effect. The aim of this study was to analyze the phenolic profile and their metabolites in plasma after an acute intervention of wine and dealcoholized wine (DW) in order to test if the alcohol present in the wine matrix affected phenolic absorption and metabolism.

Material and methods: Liquid chromatography coupled to high resolution mass spectrometry was used for an accurate identification of polyphenols and polyphenolic metabolites in plasma at 0h, 2h and 4h after an acute consumption of wine and dealcoholized wine.

Results and conclusion: 67 and 66 phenolic compounds were identified in wine and dealcoholized wine, respectively. Syringic acid was only identified in wine sample. 49 and 53 polyphenolic metabolites were identified in plasma after wine and DW, respectively. Some differences in the metabolism of polyphenols in plasma were observed between the two interventions since plasma polyphenols remained longer after the DW intervention (at least 2h), certainly due to the diuretic effect of the ethanol. Metabolites of benzoic acids, hydroxycinnamic acid, stilbenes, flavones, flavonols and their derivatives were identified; including metabolites derived from the microbiota metabolism such as propionic acids, phenylacetic acids, hydroxyphenylpentanoic acids and valerolactones. Also, several conjugated metabolites of the phase II metabolism were identified such as glucuronidated and sulfated metabolites. For example protocatechuic acid was observed in wine and its conjugated form protocatechuic-O-sulfate acid was identified in plasma. In addition, methylated, methyl-glucuronidated, diglucuronidated, di- and trisulfated and sulfated-glucuronidated conjugated forms occurred during the phase II metabolism were also identified.

14 Use of ATR-FTIR spectroscopy combined with multivariate analysis as a rapid tool to discriminate between native *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* yeast strains isolated from Grenache blanc from Terra Alta

Puxeu, M.^{a*}, Andorrà, I.^a, Brull, A.^a, De Lamo-Castellvi, S.^{b*}

^a Parc Tecnològic del Vi (VITEC), Carretera de Porrera Km 1, 43730, Falset, Spain.

^b Department d'Enginyeria Química, ETSEQ, Food Innovation and Engineering (FoodIE), Avinguda dels Països Catalans 26, Campus Sescelades, 43007 Tarragona, Spain

* Email: miquel.puxeu@vitec.cat; silvia.delamo@urv.cat

The winemaking sector is in need for new yeast strains capable of producing wines with different sensorial attributes. In the past years, *Saccharomyces cerevisiae* strains have been selected for their oenological properties to successfully perform alcoholic fermentation. The sensory quality of the resulting wines is affected by the diversity of yeast species present throughout the vinification process. Therefore, wine researchers and winemakers have started to study the use of local autochthonous *S. cerevisiae* or non-*S. cerevisiae* strains to improve the wine's organoleptic profile. Non-*Saccharomyces* yeasts such as *Kluyveromyces*, *Hanseniaspora*, *Pichia*, *Debaromyces* and *Hansenula* are now being studied for their unique metabolic and structural properties. The main objective of this study was to evaluate the potential of using attenuated total reflectance infrared spectroscopy (ATR-FTIR) combined with multivariate analysis to discriminate *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* yeast cultures. For this purpose, four autochthonous *Saccharomyces* strains and four non-*Saccharomyces* (*K. thermotolerans*, *H. uvarum*, *P. anomala* and *D. hansenii*) strains isolated from grape and grape must (Terra Alta Qualified Region, Catalonia, Spain) were selected for this research. The isolation and growth were done in YPD medium at 28°C. After that, pure cultures were centrifuged and washed with saline solution. Each pellet was placed onto ZnSe crystal and between three and six spectra per sample were collected in the attenuated total reflectance (ATR) mode in the mid-infrared region (4000-800 cm⁻¹). IR data was analysed by soft independent modelling of class analogy (SIMCA). The main differences found between *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* yeast strains were related to mannans and $\beta(1\rightarrow3)$ $\beta(1\rightarrow4)$ and $\beta(1\rightarrow6)$ glucans from the yeast cell wall.

15 Evolución de la microbiota de fermentaciones vínicas inoculadas con *Hanseniaspora vineae* y *Saccharomyces cerevisiae* mediante técnicas independientes de cultivo

Maria Manzano¹, Jessica Lleixà¹, Valentina Martín², Braulio Esteve-Zarzoso¹, Albert Mas¹ y M^a Carmen Portillo¹

¹Departament de Bioquímica i Biotecnologia, Facultat d'Enologia, Universitat Rovira i Virgili, Marcel·lí Domingo 1, Tarragona 43007, España, maria.manzano@estudiants.urv.cat

² Enology Section, Food Science and Technology Department, Facultat de Química, Universidad de la República (UdelaR), 11800 Montevideo, Uruguay

En interés por las levaduras no-*Saccharomyces* en la elaboración de vinos se relaciona con la mejora organoléptica de éstos, aunque en general no sobrevivan a las condiciones extremas que se desarrollan al final de la fermentación. Uno de los géneros de levaduras no-*Saccharomyces* con mayor presencia al principio de la fermentación alcohólica es *Hanseniaspora*, aunque es rápidamente sustituido por *Saccharomyces*. En este estudio se han inoculado mostos de las variedades macabeo y merlot con cepas de *Saccharomyces cerevisiae* o *Hanseniaspora vineae*, utilizada previamente con éxito en la elaboración de vinos. A lo largo de la vinificación, se ha analizado la dinámica poblacional de estas especies de levaduras mediante técnicas moleculares independientes de cultivo, concretamente qPCR y PCR-DGGE.

Mediante qPCR se cuantificaron tanto los géneros de *Saccharomyces* y *Hanseniaspora* como la población total de levaduras presentes. El comportamiento de las poblaciones microbianas ha resultado diferente en ambos mostos inoculados. La inoculación de *H. vineae* en merlot permite un aumento de su población mientras que en macabeo no, manteniéndose la población inoculada. Además, se han detectado otras *Saccharomyces* en las muestras no inoculadas con *S. cerevisiae*. Mediante PCR-DGGE se comprobó que los depósitos inoculados con *S. cerevisiae*, mantienen esta levadura como predominante a lo largo de toda la fermentación. En cambio, en los aquellos inoculados con *Hanseniaspora* se observan levaduras *H. vineae* y *S. cerevisiae* hasta el final de la vinificación. Finalmente, gracias a PCR-DGGE se determinaron otras levaduras presentes, sobretudo en mostos inoculados con *H. vineae* ya que en los inoculados con *S. cerevisiae*, se observó una biodiversidad menor.

De esta forma, gracias a la qPCR se cuantifican las poblaciones de *Hanseniaspora* durante la fermentación, incluso cuando este género permanece indetectable por PCR-DGGE mientras que, gracias a los perfiles moleculares obtenidos en DGGE, se detectan y monitorizan otras levaduras que no se han tenido en cuenta en el análisis de qPCR.

16 Dominancia de *Saccharomyces cerevisiae* sobre *Hanseniaspora uvarum* durante fermentaciones alcohólicas

Chunxiao Wang, Albert Mas y Braulio Esteve-Zarzoso

Departament de Bioquímica i Biotecnologia, Facultat d'Enologia, Universitat Rovira i Virgili, Marcel·lí Domingo 1, Tarragona 43007, España, braulio.esteve@urv.cat

La fermentación alcohólica se caracteriza por la sucesión de diferentes especies de microorganismos, siendo las levaduras uno de los principales tipos microbianos involucrados. Especies de levaduras denominadas genéricamente no-*Saccharomyces* son mayoritarias al principio de la fermentación, pero con las transformaciones sufridas durante la fermentación alcohólica, son reemplazadas por la especie de levaduras *Saccharomyces cerevisiae*, que es la única especie de levaduras aislada en placa al final de la fermentación. Recientes estudios indican que el contacto entre células o compuestos antimicrobianos producidos por *S. cerevisiae* son los responsables de este cambio en las poblaciones de levaduras, y la dominancia al final de esta última especie. En este trabajo, se ha realizado el seguimiento de las poblaciones viables de levaduras en fermentaciones mixtas (*S. cerevisiae* y *Hanseniaspora uvarum*) en varios dispositivos, de manera que las células estaban en compartimentos separados o no. Los resultados muestran que las poblaciones de *H. uvarum* decrecen bruscamente cuando son inoculadas junto con *S. cerevisiae*, tanto en el mismo como en compartimentos diferentes. Esta pérdida de la capacidad de crecimiento en placa de cultivo está relacionada con la proporción de *S. cerevisiae* presente en el dispositivo, cuanto mayor es la proporción de *S. cerevisiae* antes se observa el fenómeno de pérdida de viabilidad por *H. uvarum*. Esto parece indicar que el contacto célula-célula no parece ser el principal responsable de la falta de cultivabilidad de *H. uvarum*. Así mismo, se realizaron pruebas para comprobar si el Etanol, u otros productos fruto del metabolismo de *S. cerevisiae*, eran los responsable de esta pérdida de viabilidad. También se realizó un ensayo para comprobar si el contenido nitrogenado del medio podría tener algún efecto en la pérdida de viabilidad de *H. uvarum*. Los resultados nos permiten concluir, que, a pesar de que el etanol siempre se ha asociado siempre con esta falta de viabilidad, los datos obtenidos nos muestran que la ausencia de compuestos nitrogenados, u otros productos del metabolismo de *S. cerevisiae* excretados al medio, tienen un papel fundamental en la falta de cultivabilidad de *H. uvarum* en las últimas etapas de la fermentación alcohólica.

Agradecimientos: Chunxiao Wang ha recibido una beca del China Scholarship Council (Num. 201206300028). El presente trabajo se encuentra enmarcado en el Proyecto Europeo Wildwine (Ref. 315065)

17 Inoculation of autochthonous non-*Saccharomyces* and *Saccharomyces cerevisiae* strains for wine making in DOQ Priorat

Beatriz Padilla, Àngela Ferreres, Braulio Esteve-Zarzoso, Gemma Beltran and Albert Mas

Universitat Rovira i Virgili. Marcel·li Domingo 1. Campus Sescelades. Departament de Bioquímica i Biotecnologia.
43007 Tarragona

Yeast biodiversity during the alcoholic fermentation plays an important role in the final characteristics of the wine. In grapes, mainly non-*Saccharomyces* yeasts are present; however, these yeasts are gradually replaced by the species *Saccharomyces cerevisiae* since it dominates the fermentation process. Recently, starter cultures of non-*Saccharomyces* species combined with *S. cerevisiae* strains have been proposed in order to improve the chemical and the sensory properties of the final beverage. The use of native yeasts could ensure the production of wines reflecting *Terroir*.

In the present study, yeasts previously isolated from DOQ Priorat and selected for their oenological potential were used as starters to perform sequential inoculation in industrial conditions with Garnatxa must. The composition of the inoculum reflected the biodiversity naturally found in Priorat spontaneous fermentations observed in previous works. The first day, non-*Saccharomyces* species including *Hanseniaspora uvarum*, *Candida zemplinina*, *Tosulaspora delbrueckii* and *Metschnikowia pulcherrima* were added into the must. After 24 h, three strains of *S. cerevisiae* were also incorporated. Fermentation kinetics development, yeast growth and evolution of the different species were followed through the process. Yeast identification was carried out by RFLP-PCR of the ITS region and sequencing D1/D2 region of the 26S rRNA gene. Moreover, analysis of inter-delta elements of *S. cerevisiae* isolates was performed.

The alcoholic fermentation lasted 9 days. The initial must presented the typical rich biodiversity concerning yeast composition. Once the must was inoculated with non-*Saccharomyces* yeasts, the four species aforementioned were recovered from the fermenting musts. Afterwards, the three *S. cerevisiae* strains were inoculated, and gradually dominated the process, although *H. uvarum* was found after the 5th fermentation day. It is important to remark that all *S. cerevisiae* isolated at the end of the fermentation presented the inter-delta pattern belonging to the three strains inoculated, being able to dominate the process, finishing the must fermentation.

The present study has shown the suitability of the selected autochthonous non-*Saccharomyces* and *Saccharomyces* strains to succeed as sequential mixed culture in the alcoholic fermentation of wines produced in the DOQ Priorat.

Acknowledgements: The present study is part of the WILDWINE European Project (Ref. 315065).

18 Vinos fermentados con *Hanseniaspora vineae* y *Saccharomyces cerevisiae*. Comparación microbiológica, química y sensorial de los vinos obtenidos

Jessica Lleixà^a, Valentina Martín^b, Braulio Esteve-Zarzoso^a, Albert Mas^a, Francisco Carrau^b

^aDepartamento de Bioquímica i Biotecnología, Facultad de Enología, Universidad Rovira i Virgili, Marcel·lí Domingo 1, Tarragona 43007, España, jessica.lleixa@estudiants.urv.cat

^bEnology Section, Food Science and Technology Department, Facultad de Química, Universidad de la República (UdelaR), 11800 Montevideo, Uruguay

En el presente trabajo se han realizado fermentaciones alcohólicas con las levaduras *Hanseniaspora vineae* (seleccionada en Uruguay) y *Saccharomyces cerevisiae* (cepa comercial, QA23). Se han utilizado dos mostos (Macabeo, tratado en filtro de vacío; y Merlot, con vendimia seleccionada). Se han realizado las fermentaciones en triplicado en depósitos de 100 l a 18°C (Macabeo) o 6 kg con sombrero sumergido a 26°C (Merlot) en la bodega experimental Mas dels Frares de la Facultad de Enología de la URV. Las fermentaciones se siguieron por densidad y se analizaron las poblaciones de levaduras (medios YPD y agar lisina); mientras que los azúcares residuales se analizaron por kit enzimático. Asimismo se realizó una cata triangular y descriptiva de los vinos producidos.

S. cerevisiae se impuso rápidamente en ambos mostos y finalizó la fermentación en 14 días (Macabeo) y 8 días (Merlot). *H. vineae* realizó la fermentación con una cinética de fermentación ligeramente inferior a la de *S. cerevisiae*, con una fase de latencia mayor, si bien en macabeo fue menor que en merlot. Las poblaciones totales de levaduras fueron similares en ambas fermentaciones, variando las proporciones de cada una de las especies según inóculos. *H. vineae* consiguió desplazar la microbiota levaduriforme presente en los mostos en ambas fermentaciones independientemente de la carga microbiana inicial. Los vinos obtenidos con la variedad macabeo inoculados con *H. vineae* presentaron cantidades detectables de fructosa (9,7 g/l), ausente en las fermentaciones con merlot. En la cata triangular, los catadores diferenciaron significativamente los vinos fermentados con una u otra especie de levaduras y, la gran mayoría mostró preferencia por *H. vineae*. En la cata descriptiva, el vino fermentado con *H. vineae* fue el mejor evaluado por su carácter afrutado y sus aromas florales.

H. vineae es una levadura de gran interés enológico capaz de iniciar la fermentación e imponerse a las levaduras autóctonas. El análisis sensorial demostró que los vinos fermentados con *H. vineae* presentan un perfil aromático más floral y afrutado que los elaborados con *S. cerevisiae*.

Agradecimientos: Este trabajo se ha realizado como una actividad dentro del proyecto europeo Wildwine (Ref. 315065).

19 Selecció, identificació i caracterització de llevats autòctons per a la producció d'un vi sense sulfurós

Laura Martín, Jennifer Tomé, Anna Brull, Miquel Puxeu, Imma Andorrà *

Fundació Parc Tecnològic del Vi. Ctra. Porrera, km 1, Falset 43730

* Email: Imma.andorra@vitec.cat

Els llevats que realitzen la fermentació alcohòlica tenen un impacte en les qualitats organolèptiques del vi. S'ha descrit que la utilització de llevats comercials presenta un efecte uniformitzador sobre els vins, obtenint vins amb menys complexitat organolèptica. Per això, cada cop més s'està apostant per utilitzar llevats autòctons propis del celler o de la zona vitivinícola. Aquests potencien les característiques peculiars del terroir, recuperen la biodiversitat del ecosistema vitivinícola, permeten obtenir un producte elaborat 100% amb matèria prima pròpia del celler, un producte singular, d'alta qualitat i diferenciat de la competència. D'altra banda, el sulfurós o diòxid de sofre, el antimicrobià per excel·lència de la indústria vitivinícola, pot presentar reaccions al·lèrgiques als consumidors tals com dermatitis, urticària, dolor abdominal, diarrea, anafilaxia, etc. Per aquest motiu hi ha una tendència actual en disminuir la dosis de diòxid de sofre present en el vi. L'objectiu d'aquest treball es obtenir uns llevats autòctons propis del celler que presentin bones característiques fermentatives i millorin les qualitats organolèptiques del vi sense produir diòxid de sofre. En aquest treball s'han aïllat i identificat diferents llevats autòctons presents durant una fermentació alcohòlica espontània i sobre les lies. Posteriorment s'han estudiat les característiques fermentatives de les soques aïllades. S'han obtingut un total de 8 soques autòctones de *S. cerevisiae* durant la fermentació alcohòlica (P1-P8) i un total de 6 soques autòctones sobre les lies (L1-L6). Del total de les 14 soques totes elles han realitzat la fermentació alcohòlica amb èxit excepte dos soques. S'han obtingut diferències significatives en la producció de diòxid de sofre, àcid acètic i grau alcohòlic. Finalment s'han realitzat inoculacions massives amb els diferents llevats autòctons, per obtenir la capacitat d'imposició de les diferents soques de l'estudi. De les 14 soques identificades i caracteritzades dos soques han mostrat tenir una elevada capacitat d'imposició competint amb altres soques, bones característiques fermentatives i amb una baixa producció de diòxid de sofre, inferior a 10mg/l.

20 Efecto de los aminoácidos aromáticos y sus derivados sobre el crecimiento de diferentes levaduras vínicas

Beatriz González, Jennifer Vázquez, Gemma Beltran, M^a Jesús Torija y Albert Mas

Biotechnologia Enològica. Dept. Bioquímica i Biotecnologia, Facultat d'Enologia. Universitat Rovira i Virgili C/ Marcel·lí Domingo s/n. 43007 Tarragona, España 977558463. Beatriz.gonzalez@urv.cat

Algunos compuestos derivados del metabolismo de los aminoácidos aromáticos pueden actuar como reguladores del crecimiento y de la morfología de las levaduras (*quorum sensing*). De hecho, las levaduras son capaces de adaptarse de manera colectiva a las condiciones del medio, y uno de estos mecanismos de adaptación consiste en la secreción de sustancias que ejercen una señal intracelular, como algunos alcoholes superiores derivados del metabolismo de aminoácidos aromáticos (tirosol, triptofol, feniletanol). Asimismo, se ha descrito que la melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina), derivada del metabolismo del triptófano, se sintetiza durante la fermentación alcohólica desconociéndose cuál es el papel que desempeña para la levadura. Otros metabolitos relacionados con ésta son la triptamina y la serotonina, que son asimismo compuestos bioactivos. El objetivo de este estudio es evaluar cómo afectan las diferentes concentraciones de estos compuestos bioactivos al crecimiento de diferentes especies y cepas de levaduras, en medios con diferentes concentraciones de nitrógeno. Para ello, se monitorizó el crecimiento de levaduras *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida zemplinina*, *Hanseniaspora uvarum*, *Mestchnikowia pulcherrima* y *Torulaspota delbrueckii*, a diferentes concentraciones de melatonina, serotonina, triptófano, triptofol, triptamina, tirosol y feniletanol de 1ppm hasta 1000ppm. Además se estudió si estos compuestos podrían actuar como fuente de nitrógeno para las levaduras. Los resultados obtenidos fueron diferentes para cada una de las levaduras estudiadas, pero se observó de forma general que los compuestos que causaron una mayor inhibición en la mayoría de las especies fueron la triptamina y el triptofol. Esta inhibición también era diferente dependiendo de la concentración de nitrógeno en el medio, además se observó que la capacidad de utilizar dichos compuestos como fuente de nitrógeno fue cepa dependiente.

21 Efecto de la melatonina frente al estrés oxidativo en *Saccharomyces cerevisiae*

Jennifer Vázquez, Beatriz González, Gemma Beltran, M^a Jesús Torija, Albert Mas

Bioteconologia Enològica. Dept. Bioquímica i Biotecnologia, Facultat d'Enologia. Universitat Rovira i Virgili C/ Marcel·lí Domingo s/n. 43007 Tarragona, España 977558463. jennifer.vazquez@urv.cat

La Melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina) está presente en vinos en concentraciones de 0,4 a 130µg/L. Se trata de una indolamina ubicua derivada del metabolismo del triptofano, formada por un anillo indólico unido a un grupo metoxilo y una amida. A estos grupos funcionales se le han asociado múltiples mecanismos de acción en humanos y es por ello, que se le atribuyen un amplio abanico de efectos en el organismo. Una de las funciones biológicas asociadas a la melatonina es el efecto antioxidante, ya que protege a varias biomoléculas frente al daño provocado por los radicales libres y especies reactivas de oxígeno (ROS). Estas especies están asociadas a múltiples formas de daños tisular e implicadas en el envejecimiento celular. Los organismos han desarrollado procesos de defensas enzimáticos y no enzimáticos frente a los efectos de los radicales libres que derivan en especies tóxicas. Recientemente se ha descrito que la melatonina se sintetiza durante la fermentación alcohólica pero se desconoce cuál es el papel que desempeña para la levadura en el proceso de elaboración del vino. El objetivo de este estudio es evaluar cómo afecta la presencia de melatonina en el medio a diferentes cepas de *Saccharomyces cerevisiae* cuando éstas son expuestas a estrés oxidativo con peróxido de hidrógeno (H₂O₂). Para ello, se hicieron crecer las diferentes cepas (QA23, BY4741, BY4742 y Sigma1278) en medio rico YPD en presencia o ausencia de melatonina y se les aplicó un estrés oxidativo con H₂O₂ (2mM). Los radicales libres intracelulares fueron detectados usando dihidrorodamina-123 (DHR: 2,5µg/mL) y la intensidad de fluorescencia fue detectada por citometría de flujo. También se tomaron imágenes al microscopio de fluorescencia. En todas las levaduras estudiadas se observó que la presencia de melatonina aumentaba la tolerancia al estrés oxidativo disminuyendo de manera significativa las moléculas ROS, de manera similar a lo que ocurre en presencia de vitamina C. Adicionalmente, la presencia de melatonina en el medio parece aumentar el número de células.

22 Desenvolupament d'un protocol per a l'obtenció de *Schizosaccharomyces pombe* en forma de LSA

Gemma Roca, Gema López Martínez, Óscar Candelas Rivera, Ricardo Cordero Otero

C/ Marcel·lí Domingo s/n - 43007 Tarragona. Universitat Rovira i Virgili. Departament de Bioquímica i Biotecnologia, Facultat d'Enologia.

e-mail: ricardo.cordero@urv.cat

En l'actualitat, s'està observant que el gènere *Schizosaccharomyces* pot ser útil en processos d'elaboració del vi degut a les seves propietats metabòliques. En aquest estudi es treballa amb el llevat *Schizosaccharomyces pombe*, espècie no usada habitualment ja que presenta certs compostos que alliberen aromes desagradables associats al seu metabolisme, com pot ser la producció de H₂S, acetaldehid, acetoina i etilacetat (Yokotsuka *et al.* 1993, S. Benito *et al.* 2013). Ara bé, aquest llevat no-*Saccharomyces* ha d'espertat l'interès del camp enològic pel seu elevat poder fermentatiu (Peynaud *et al.* 1962), i per la seva capacitat de metabolitzar el màlic (L-màlic) en etanol i diòxid de carboni. Més concretament, en condicions d'anaerobiosis és capaç de degradar 2,33 g·l⁻¹ de L-màlic en 0,1% (v/v) d'alcohol (Taillandier *et al.* 1991).

Principalment, l'ús de *S. pombe* en l'actualitat es basa en la co-inoculació amb *S. cerevisiae* (Yokotsuka K *et al.* 1993). Tot i que, també es pot usar com a llevat encapsulat en perles humides d'alginat, les quals immobilitzades disposen de la capacitat de reduir l'acidesa del vi aplicant-se en el most abans d'iniciar la fermentació alcohòlica per tal d'evitar la inhibició metabòlica per l'etanol (Dharmadhikari *et al.* 1998).

Per tant, l'objectiu d'aquest projecte es basa en el desenvolupament d'un protocol de sacat i rehidratació per a soques víniques de *S. pombe* per tal d'obtenir-ne en format de Llevat Sec Actiu (LSA) amb una viabilitat cel·lular òptima que garanteixi la seva aplicació per part de les indústries productores d'inòculs.

Per realitzar-ho, es va avaluar la viabilitat cel·lular de tres soques víniques de *S. pombe*, i es va determinar l'estat fisiològic cel·lular en el que s'observava una major tolerància a la deshidratació. També es va avaluar la concentració de trehalosa necessària per un increment de viabilitat significatiu mitjançant la protecció de les membranes abans del secat de les cèl·lules. A més es va avaluar el temps d'incubació i la temperatura de rehidratació i el seu efecte en la viabilitat cel·lular. Finalment, es va dur a terme la rehidratació cel·lular amb diferents compostos com compostos nitrogenats, antioxidants, oxidants, entre d'altres. Una vegada definides les condicions avaluades amb el protocol definitiu establert, es va aconseguir incrementar un 15% la viabilitat cel·lular respecte les condicions de referència.

23 Selecció i caracterització de bacteris làctics autòctons de raïm i vins del Priorat

Judit Franquès, Bet Palahí, Isabel Araque, Cristina Reguant i Albert Bordons

Grup de Biotecnologia Enològica, Departament de Bioquímica i Biotecnologia, Facultat d'Enologia, Universitat Rovira i Virgili, Campus Sescelades N4, 43007 Tarragona, juditfranques@gmail.com

La fermentació malolàctica (FML) té lloc normalment després de la fermentació alcohòlica en vins negres i en alguns blancs amb acidesa alta, i contribueix a l'acabat més suau dels vins, així com a l'estabilitat microbiològica del producte final. La FML és duta a terme per bacteris làctics (BL), sobretot per soques d'*Oenococcus oeni*.

En els últims anys, l'oportunitat per als països productors de vi amb terroirs peculiars i de tradició ha vingut donada pel canvi de preferències dels consumidors cap a vins més ecològics. Això implica plantejar-se estratègies noves en la producció vitivinícola, tals com l'ús de BL autòctons com inòcul per a la FML. Per això, l'objectiu d'aquest treball ha estat aïllar, seleccionar i caracteritzar soques autòctones de BL de finques i cellers de la DOQ Priorat, zona vitivinícola de prestigi i d'especial sòl i microclima.

Es van prendre mostres de raïm de les varietats garnatxa i carinyena de dues veremes consecutives (anys 2012 i 2013) de diferents finques de la DOQ Priorat, així com també de vins realitzats amb el mateix raïm. De totes les mostres es van obtenir 1900 aïllats de BL. La gran majoria es van confirmar que eren *Oenococcus oeni* mitjançant PCR específica i es van tipificar utilitzant la tècnica de VNTR (*variable number tandem repeat*). Es van obtenir un total de 180 perfils diferents, dels quals es van escollir els majoritaris. En el cas dels bacils i altres cocs, es van analitzar mitjançant la tècnica 16S-ARDRA i digestió amb MseI, i finalment es van confirmar per seqüenciació del fragment 16S. A partir de tots ells, s'han seleccionat un total de 50 perfils diferents de BL i s'han caracteritzat tant en quant a la seva eficiència de degradació de l'àcid màlic en vi simulat (amb 12 i 14% etanol), com per la seva interrelació genotípica.

Agraïments: Aquest treball s'ha realitzat gràcies a la financiació del projecte europeu Wildwine FP7-SME-2012-315065 en el que participen el Consell Regulador de la DOQ Priorat i el celler Ferrer-Bobet. També s'agraeix la col·laboració dels altres cellers i finques de les que s'han obtingut les mostres.

24 GSH and Trx systems are involved in the adaptation of *Oenococcus oeni* to wine conditions

Mar Margalef, Isabel Araque, Albert Bordons and Cristina Reguant

Grup de Biotecnologia Enològica, Departament de Bioquímica i Biotecnologia, Facultat d'Enologia, Universitat Rovira i Virgili, Campus Sescelades N4, 43007 Tarragona.

Oenococcus oeni is the species of lactic acid bacteria (LAB) more adapted to wine and it is mostly used for induction of malolactic fermentation (MLF). Despite the difficulty of *O. oeni* to develop itself in wine's conditions, its ability to better withstand various types of stress than other LAB species results in an interesting model of study.

Mechanisms of oxidative stress response are used in glutathione / glutathione reductase and thioredoxin / thioredoxin reductase systems. Glutathione (Glu-Cys-Gly) is a nonproteic tripeptide almost universal, that in its reduced form (GSH) acts as an antioxidant, through the thiol group of cysteine, which neutralizes the ROS. Similarly, thioredoxin (TRX) is a small oxidoreductase (12 kD) which acts as an antioxidant neutralizing ROS through its active site Cys-Gly-Pro-Cys. The main function is the maintenance of many intracellular proteins in a reduced state.

The hypothesis of this study is that GSH and Trx systems are involved in the adaptation of *O. oeni* to wine. Several objectives were planned to prove this hypothesis and this summary shows, in general terms, what has been done during three years of work.

The accumulation of GSH into cell has been proved and it has been measured a higher growth with the addition of 5mM of this antioxidant. It has been observed that the addition of GSH enhances cell growth in the presence of stress factors such as ethanol (6%) and low pH (3,4 and 4). Further studies need to be done to prove whether this addition can be used as an adaptation step before wine inoculation in order to carry on a better MLF. Moreover, a study of the bacterial membrane has been developed analysing the fatty acid composition. Our results show that GSH addition produces a higher amount of unsaturated fatty acids in all the strains tested.

Regarding the thioredoxin system (trx), the relative expression of the five *trx* genes described for *O. oeni* during a growth and performing the MLF in synthetic wine has been tested and 3 different expression profiles have been described. Finally, a transcriptomic and proteomic analysis has been carried out to elucidate which genes and proteins are involved during the first hours of adaptation to wine before the start of the MLF. The first results indicate an overexpression of genes related with the amino acid metabolism.

25 Efecte de la font nitrogenada del peu de cuva en la segona fermentació

Maria Martí-Raga^{1,2}, Philippe Marullo², Albert Mas¹, Gemma Beltran¹

¹: Universitat Rovira i Virgili, dept Bioquímica i Biotecnologia. Grup Biotecnologia enològica. c/ Marcel·lí Domingo s/n, 43007 Tarragona.

² ISVV Univ. de Bordeaux EA 4577 Unité recherche OEnologie/Biolaffort. 210 chemin de Leysotte – CS 50008, 33882 Villenave d'Omon, France

El mètode tradicional utilitzat en la producció de cava es basa en dues etapes successives. En primer lloc es fermenta el most per generar el vi base. Posteriorment, al vi base se li afegeix com a mínim sacarosa i un coadjuvant i opcionalment una font de nitrogen. Abans de ser inoculats al vi base, els llevats han de ser adaptats per superar les diferents fonts d'estrès presents en la segona fermentació (alt contingut en etanol, baixa disponibilitat d'oxigen, creixent pressió de CO₂). Un cop el vi ha estat inoculat, aquest es introduït en ampolles i es dins de l'ampolla que tindrà lloc la segona fermentació.

Un dels factors més determinants en la fermentació alcohòlica és la composició i concentració de nitrogen del most. El contingut nitrogenat del most influeix en la cinètica fermentativa, en la producció de biomassa i en les característiques organolèptiques del producte final. Tot i això, el rol del nitrogen en la segona fermentació no ha estat prèviament estudiat.

Hem utilitzats 8 soques diferents de *Saccharomyces cerevisiae* i cinc fonts de nitrogen en el peu de cuva per analitzar com el nitrogen utilitzat en la fase d'adaptació del llevat afecta l'evolució de la segona fermentació. Addicionalment, la relació entre el peu de cuva i la segona fermentació ha estat analitzada per determinar si tots dos processos estan interrelacionats.

Els resultats obtingut indiquen que la font de nitrogen utilitzada en el peu de cuva afecta no només el creixement del llevat en la fase d'adaptació sinó que té un gran impacte en la cinètica fermentativa. Addicionalment, l'anàlisi dels dos processos ens ha permès detectar que existeix una relació entre peu de cuva i segona fermentació. Les soques que creixen més lentament durant el peu de cuva assoleixen una major pressió en la segona fermentació.

El resultats obtinguts indiquen que el nitrogen utilitzat en el peu de cuva té un paper determinant en el desenvolupament de la segona fermentació.

26 Influència de la criança amb llevats immobilitzats en biocàpsules sobre les característiques enològiques i cromàtiques de caves rosats

Anna Puig-Pujol ^{ab}, Fina Capdevila Mestres ^{ab}, M^a Carme Masqué Tell ^c

a) Institut Català de la Vinya i del Vi (INCAVI). Plaça de l'Àgora, 2-3 (Polígon Industrial Domenys II). 08720 Vilafranca del Penedès. apuigpujol@gencat.cat / anna.puig@irta.cat

b) Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA). Torre Marimon. 08140 Caldes de Montbui, Barcelona.

c) Institut Català de la Vinya i del Vi (INCAVI). Passeig Sunyer 4-6. 43202 Reus, Tarragona.

La immobilització cel·lular en processos fermentatius és una àrea de recerca en expansió degut al seu atractiu tècnic i a les avantatges econòmiques de la seva aplicació, comparat amb l'ús de sistemes de cèl·lules lliures. En el sector del cava, amb la finalitat de facilitar i abaratir el procés de remogut i aclarit de les botelles, en els darrers anys s'ha estudiat el comportament de la inclusió de llevats en diferents formats i suports d'immobilització. L'objectiu del present treball ha estat avaluar les variables enològiques i cromàtiques de caves rosats elaborats amb un mètode orgànic d'immobilització cel·lular: les biocàpsules, consistent en la bioimmobilització espontània entre un fong i les cèl·lules de llevat que porten a terme la segona fermentació. El resultat són unes esferes de tamany inferior a 0,5 cm de diàmetre on les hifes del fong, que mort en presència d'etanol, actuen com a xarxa de suport de *S. cerevisiae*, permetent l'intercanvi de metabòlits entre l'interior i l'exterior de les esferes durant el procés fermentatiu. Les característiques que li confereixen al cava les biocàpsules s'han comparat amb el mateix lot de vi base fermentat amb cèl·lules lliures de la mateixa soca de llevat, amb bentonita com agent clarificant.

La cinètica de segona fermentació mitjançant registre de pressió va indicar que els caves elaborats amb biocàpsules van tenir un retard en el seu inici d'uns 17 dies respecte als que fermentaven amb cèl·lules lliures. No obstant, l'anàlisi de sucres residuals als 4 mesos de criança va determinar que els dos lots havien completat la fermentació. Els caves rosats es van analitzar als 14 i 20 mesos de criança (denominació cava i reserva, respectivament). No es van observar diferències significatives en quant als paràmetres físico-químics entre els dos sistemes: llevats lliures o immobilitzats. Respecte als paràmetres cromàtics es va detectar que els caves elaborats amb biocàpsules presentaven una intensitat colorant lleugerament superior i amb un contingut d'antocians totals més elevat, preservant millor la tonalitat vermella respecte als fermentats amb cèl·lules lliures. L'anàlisi sensorial dels caves als 14 mesos de criança no va determinar diferències significatives en la cata triangular ni en la preferència d'ambdós lots. No obstant, en el test realitzat per 8 catadors amb 15 descriptors visuals, d'aroma i gust, la intensitat de color i la valoració final del cava fermentat amb biocàpsules va valorar-se millor que el fermentat i criat amb lies de llevats lliures.

Agraïments: Aquest treball ha estat finançat pel Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO-INIA). Projecte RTA2011-00020-C02-01.

27 Estudi del procés d'acimatació a l'etanol de *Saccharomyces cerevisiae* per a la producció de vi escumós

Eugènia Miró Abella, Anna Borrull Riera, Montse Poblet Icart i Nicolas Rozès

Facultat d'Enologia, Dpt. Bioquímica i Biotecnologia, Grup de Recerca de Biotecnologia Microbiana dels Aliments, Universitat Rovira i Virgili, c/ Marcel·lí Domingo, s/n, 43007 Tarragona. Responsable: nicolasrozes@urv.cat

Els vins escumosos necessiten per la seva elaboració dues fermentacions consecutives. La primera, una fermentació alcohòlica clàssica per obtenir el vi base i una segona fermentació en ampolla, segons el mètode *Champenois*. *Saccharomyces cerevisiae* és el llevat que realitza generalment aquest procés de doble fermentació. Les condicions en les quals *S. cerevisiae* l'ha de dur a terme són difícils i poden provocar fases de latència molt llargues i a vegades parades de fermentació. Els factors condicionants són la graduació alcohòlica (10 - 11%, v/v), el pH baix (2.9 - 3.2), la presència de molècules inhibidores del creixement del llevat, la carència en factors nutricionals o la baixa temperatura de la segona fermentació (10-16°C). Per assegurar que es realitzi aquesta segona fermentació els llevats han de ser prèviament acimatats a la condició vi i principalment al factor més estressant, l'etanol. Malgrat que l'acimatació dels llevats és un procés ben definit des de fa anys en la indústria dels vins escumosos, no existeix cap estudi que descriu amb detall els canvis fisiològics que experimenta el llevat durant aquest procés.

L'objectiu d'aquesta treball és estudiar aquest procés i seleccionar les condicions òptimes de temperatura (15 i 25°C) i d'aeració del cultiu per l'acimatació mitjançant l'anàlisi de paràmetres com la viabilitat, les espècies reactives de l'oxigen o **ROS** (*Reactive Oxidative Species*), el creixement en vi definit i la composició lipídica de les cèl·lules acimatades.

Globalment, els resultats mostren que els dos factors estudiats, l'oxigen i la temperatura, durant l'acimatació a l'etanol del llevat, afecten de manera diferent el procés de la segona fermentació. La condició més desfavorable per una bona acimatació sembla ser la presència d'oxigen (agitació continua durant tot el procés) a 25°C. Les cèl·lules generen més ROS, tenen una viabilitat més baixa i finalment dificultat per realitzar la segona fermentació a 15°C. Pel que fa a la composició lipídica, s'observa que en les condicions descrites, la temperatura sembla ser el factor més determinant en la relació instauració/saturació dels àcids grassos; les cèl·lules tenen una insaturació més elevada a 15°C que a 25°C, tanmateix aquest fenomen no s'observa en la composició d'ergosterol i esqualè. En aquestes condicions, la presència d'oxigen permet una síntesi més elevada d'ergosterol en les cèl·lules.

En conclusió, una disminució de la temperatura durant el procés permet obtenir llevats més bé acimatats a les condicions de segona fermentació dels vins escumosos.

28 Influence of sequential inoculation with *Torulaspora delbrueckii* and *Saccharomyces cerevisiae* in foaming properties of base wine

Elena González-Royo, Olga Pascual, Nikolaos Kountoudakis, Mireia Esteruelas, Braulio Esteve-Zaroso, Albert Mas, Joan Miquel Canals and Fernando Zamora

Departament de Bioquímica i Biotecnologia, Facultat d'Enologia de Tarragona, Universitat Rovira i Virgili, Campus de Sescelades, C/Marcel·li Domingo, s/n. 43007 Tarragona, Spain. (fernando.zamora@urv.cat)

In recent years use of non-*Saccharomyces* yeasts for the production of quality wine is increasingly frequent. The aim is to reproduce the advantages of spontaneous fermentation without any of the drawbacks and risks. Several studies about the influence of *Torulaspora delbrueckii* on chemical composition have been reported, especially in aspects concerning aroma. However, to our knowledge no studies have been done about the influence of this non-*Saccharomyces* yeast on the foam properties of sparkling wines. For that reason, the aim of this study was to determine the effect of sequential inoculation of *T. delbrueckii* and *S. cerevisiae* during the first fermentation of base wines of the AOC Cava.

The study was carried out with grapes of the *Vitis vinifera* cv. Macabeo in the AOC Cava during the 2013 vintage. The grapes were crushed, pressed, slightly sulfited (30 mg/l) and filtered with a rotary vacuum filter. Three tanks were immediately inoculated with 250 mg/L of a *S. cerevisiae* yeast strain (QA23, Lallemand Inc.). Other three tanks were initially inoculated with 250 mg/l of *T. delbrueckii* (Biodiva™, Lallemand Inc.) and 24 hours later, when density was fall down around ten units, were reinoculated with 250 mg/l of the same *S. cerevisiae* yeast strain. All vinifications were performed at 18 ± 1 °C. Once alcoholic fermentations were finished, wines were racked and sulfited (20 mg/l).

The analytical methods recommended by the OIV (2014) were used to determine the ethanol content, titratable acidity, pH, volatile acidity and glycerol. Yeast imposition was determined by means of PCR-RFLP of the 5.8S-ITS ribosomal region. The Measurement of foaming properties was carried out by means of Mosalux procedure. Polysaccharides and proteins were analyzed by HPLC.

The obtained results showed that *T. delbrueckii* was present at around 50 % at the beginning of fermentation and around 10 % at the end in tanks from sequential inoculation. And, as it was expected, *T. delbrueckii* was not detected in the tanks inoculated only with *S. cerevisiae*.

Sequential inoculation originated wines with similar ethanol content, pH and titratable acidity than controls but with significant lower volatile acidity and significant higher glycerol concentration than controls. Moreover, sequential inoculation improved the foam characteristics of the wine because augmented significantly both parameters, foamability (Hm) and foam persistence (Hs), around 17 % and 20 % respectively.

Total polysaccharide concentration of white wine fermented by sequential inoculation was very similar than in controls. Total protein content of wines was significant higher in samples from sequential inoculation. These differences were mainly due to the lower molecular weight fraction (LMw; molecular weight < 60 kDa). Since, proteins and manoproteins can stabilize the bubble's film because of their surface properties, the increase in LMw protein fraction may be related to the improved foam parameters observed in this wine.

It can be concluded therefore that the sequential inoculation with *Torulaspora delbrueckii* can be an interesting tool for improving the foaming properties of base wines.

29 Caracterización de la actividad antioxidante de las lías del cava

M^a Ángeles Aguilera, Montserrat Riu-Aumatell, Rebeca Tudela, Susana Buxaderas, Elvira López-Tamames

Departament de Nutrició i Bromatologia. Campus de l'Alimentació de Torribera. Universitat de Barcelona. Av. Prat de la Riba, 171, 08921 Santa Coloma de Gramenet, Spain.

La elaboración de cava se realiza mediante el método tradicional que consiste en una segunda fermentación en botella de un vino base al que se le adicionan levaduras, azúcares y coadyuvantes de fermentación (licor de tiraje). Una vez que esta segunda fermentación ha terminado, el vino sufre una crianza biológica en presencia de las células muertas de levadura (lías) por un período mínimo de 9 meses y conocido como *sur lie*. Alrededor de 200 toneladas de lías de cava se generan anualmente, constituyendo un subproducto que actualmente se destina a destilación.

La levadura contiene un porcentaje de materia orgánica entre la que pueden destacar polisacáridos de la pared celular con características antioxidantes remarcables. Posiblemente las lías conserven compuestos interesantes (algunos aportados por el contacto con el vino y otros propios) que muestren actividad bioactiva y que pueda sugerir una reutilización en la industria alimentaria, en la alimentación animal o bien en la obtención de compuestos bioactivos de alto valor añadido.

Sobre estas bases, se ha realizado una caracterización del potencial antioxidante de las lías de la elaboración de cava, con el fin de conocer qué componentes pueden contribuir en las posibles propiedades bioactivas y dónde residen. Para ello, se dispuso de muestras de lías y de un producto enológico enriquecido en compuestos antioxidantes (cortezas de levaduras comerciales). Ambos tipos de muestras fueron sometidas a disrupción celular con el fin de separar el citoplasma de la pared. Posteriormente, estas paredes celulares se fraccionaron mediante tratamiento térmico y enzimático, de forma que se pudieran separar sus principales constituyentes. Se analizaron proteínas, aminoácidos, polisacáridos, compuestos con grupo tiol y polisacáridos de todas las fracciones consideradas. Asimismo, se determinó la actividad antioxidante por los métodos de Folin-Ciocalteu, FRAP y DPPH.

Los resultados muestran que las lías mantiene una actividad antioxidante sustancial en sus paredes celulares, mientras que los componentes citoplasmáticos son irrelevantes. La actividad antioxidante de las paredes celulares parece residir en sus fracciones más proteínicas, principalmente en la capa más externa de manoproteínas.

30 Efecto de la aplicación de la ultra alta presión de homogenización como alternativa a la utilización de sulfitos

Claudia Solans-Fernández^a, Anna Puig Pujol^{bc}, Josefina Capdevila^{bc}, Santiago Mínguez Sanz^a, Joan J. Gallardo-Chacón^{ad}

a) Centre Especial de Recerca, Planta Tecnologia dels Aliments (CERPTA) - Universitat Autònoma de Barcelona, Facultat de Veterinària, Bellaterra (Barcelona)

b) Institut Català de la Vinya i del Vi (INCAVI) Vilafranca del Penedès.

c) Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA) Torre Marimón, Caldes de Montbuí, Barcelona.

d) CARINSA, Creaciones aromáticas SA. Sant Quirze del Vallès, Barcelona.

Introducción: La estrategia actual más utilizada para prevenir el deterioro de un vino reside en el uso de dióxido de azufre. No obstante, este producto se enfrenta a políticas, basadas en la seguridad alimentaria, que tienden a restringir su uso y a considerar diversas soluciones tecnológicas como alternativas. La aplicación de una tecnología exclusivamente física, como la Ultra Alta Presión Homogenización (UHPH) durante la elaboración del vino, podría considerarse una alternativa eficaz al uso del SO₂, considerándose su efecto sobre las propiedades físico-químicas, sensoriales y sobre la inactivación de los microorganismos del mosto y vino.

Objetivo: El objetivo es determinar el efecto de la Ultra Alta Presión de Homogenización (UHPH) sobre las características físico-químicas y cromáticas así como sobre la inactivación microbiológica conseguida en un vino elaborado con bajas dosis o ausencia de SO₂.

Material y métodos: Los vinos de la variedad *Cabernet sauvignon* y *Syrah* utilizados para esta investigación fueron proporcionados por la Escola de Viticultura i Enologia Mercè Rossell i Domènech (Espells, Sant Sadurn d'Anoia, Barcelona). Ambos vinos realizaron la fermentación maloláctica y fueron sulfitados durante la fermentación, aunque el contenido en sulfuroso no fue corregido antes de ser embotellado. Los vinos se trataron por UHPH a presiones comprendidas entre 50 y 300 MPa. Una muestra sin tratar fue tomada como control. Se analizaron los parámetros enológicos generales, contenido fenólico y el color mediante parámetros colorimétricos a 420, 520 y 620nm así como a partir de los componentes L*, a* y b*. También se determinó la actividad polifenoloxidásica (PFO) y peroxidásica (POD). Finalmente se realizaron controles de las principales poblaciones microbianas.

Resultados y discusión: En general, el tratamiento UHPH no afectó a los principales parámetros enológicos aunque sí disminuyó ligeramente el índice de polifenoles totales y los ácidos hidroxicinámicos de ambos vinos. Respecto al color, el *Cabernet sauvignon* se volvió más luminoso y el *Syrah* más opaco, en este último se incrementó el componente a* (rojo) y disminuyó el componente b* (amarillo). La inactivación de la PPO, reducción entre el 33-80% respecto la actividad inicial, resultó ser más eficaz que la inactivación de la enzima POD (25%). El grado de inactivación enzimática varió de manera diferente en cada tipo de uva y en cada presión utilizada, aunque se observó una mayor inactivación en el *Cabernet sauvignon*. En general, los tratamientos UHPH a 300 MPa mostraron mayor efecto antimicrobiano, inactivando los microorganismos aerobios totales, mohos y levaduras y bacterias lácticas, en ambas variedades de vino con recuentos inferiores a 1 ufc/mL.

Conclusiones: Los vinos de *Cabernet Sauvignon* y *Syrah*, tratados mediante UHPH, presentaron ligeras diferencias frente a los vinos no tratados, principalmente en polifenoles y parámetros cromáticos. Además, el tratamiento por UHPH, elimina los microorganismos alterantes y reduce notablemente la actividad enzimática POD.

31 Control i minimització del consum energètic en cellers de la DO Montsant

F. Xavier Ruiz Edo, Joan Ruiz Edo

Fundació Parc Tecnològic del Vi (VITEC), Carretera de Porrera km1, 43730 Falset.

El sector vitivinícola es troba immers en un mercat globalitzat i amb força competència on esdevé clau diferenciar-se. Aquesta diferenciació pot donar-se o bé oferint productes de qualitat a preus més competitius, o productes elaborats mitjançant processos més sostenibles o bé per la combinació d'ambdós assolint un doble avantatge competitiu.

Per una banda, el consumidor final valora cada cop més que el producte adquirit sigui sostenible. En altres paraules que per elaborar aquell vi hi hagi hagut un ús racional dels recursos que minimitzin el seu impacte sobre el medi ambient.

Per l'altra, la majoria de cellers no disposen del coneixement i recursos necessaris per optimitzar la seva despesa energètica, ni fer recerca o aplicar tecnologies més eficients així com tampoc per valoritzar diferents subproductes i residus generats en el procés d'elaboració del vi a fi de disminuir la seva demanda energètica externa.

L'optimització energètica ha esdevingut, doncs, un factor clau de competitivitat pels cellers, tant des del punt de vista d'optimització de costos de producció (cost de l'energia) com des del punt de vista ambiental (reducció d'efluents, consums d'aigua, energia i materials) i, fins i tot, comercial (reducció de petjada ecològica: carboni i/o hídrica, certificacions ambientals).

En aquest context s'han realitzat auditories energètiques en cellers de la DO Montsant (representant el 58% de la seva producció), segons la guia metodològica de l'ICAEN basada en la norma UNE 216501:2009, i aplicant-hi l'enfoc de l'anàlisi de cicle de vida (UNE-EN-ISO 14040:2006 i 14044:2006) per, a banda d'obtenir una "fotografia energètica" inicial de cada celler, poder detectar i establir recomanacions complementàries a fi de fer un ús més racional i sostenible dels recursos emprats al llarg del procés d'elaboració del vi.

En línies generals, la principal conclusió obtinguda, analitzant en detall les dades dels darrers 3 anys, és que una gestió eficient dels seus recursos energètics permet estalviar entre un 5 i un 10% de l'energia consumida, amb el conseqüent estalvi econòmic associat, modificant diverses pautes operatives així com petites inversions amb períodes de retorn en molts casos inferiors a 1 any. A partir de llavors, ja disposant de la informació de l'auditoria com a base, es poden establir una sèrie d'indicadors d'eficiència específics (kWh/kg raïm, litres aigua/ampolla, etc.) per tal de poder comparar l'eficiència de cada celler amb d'altres, analitzats per VITEC des de l'any 2010 o bé obtinguts segons bibliografia, amb independència de les seves característiques i volum de producció.

32 Red wine polyphenols have been associated with lower cardiovascular disease risk

Anna Tresserra-Rimbau^{1,2}, Xiaohui Guo¹, Alexander Medina-Remón^{2,3}, Ramon Estruch^{2,3}, Eric B Rimm⁴, Miguel Ángel Martínez-González^{2,5}, Jordi Salas-Salvadó^{2,6}, Dolores Corella^{2,7}, Montserrat Fitó^{2,8}, Enrique Gómez-Gracia^{2,9}, José Lapetra^{2,10}, Fernando Arós^{2,11}, Miquel Fiol^{2,12}, Emili Ros^{2,13}, Luis Serra-Majem^{2,14}, Xavier Pintó^{2,15}, Valentina Ruiz-Gutiérrez^{2,16}, and Rosa M^a Lamuela-Raventos^{1,2,*}, on behalf of the PREDIMED Study Investigators.

¹Nutrition and Food Science Department, XaRTA, INSA, Pharmacy School, University of Barcelona, Avda. Joan XXIII, s/n, Barcelona, Spain. *Telephone: +34-934034843, e-mail: lamuela@ub.edu. ²CIBER CB06/03 Fisiopatología de la Obesidad y la Nutrición (CIBEROBN), Spain. ³Internal Medicine Department, Hospital Clínic, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), University of Barcelona, Barcelona, Spain. ⁴Department of Nutrition, Harvard School of Public Health, Boston, MA, USA. ⁵Department of Preventive Medicine and Public Health, School of Medicine, University of Navarra, Pamplona, Spain. ⁶Human Nutrition Unit, School of Medicine, IISPV, University Rovira i Virgili, Reus, Spain. ⁷Department of Preventive Medicine and Public Health, Nutrition and Food Sciences, School of Medicine, University of Valencia, Valencia, Spain. ⁸Cardiovascular Risk and Nutrition Research Group, Hospital del Mar d'Investigacions Biomèdiques (IMIM), Barcelona, Spain. ⁹Department of Epidemiology, School of Medicine, University of Malaga, Málaga, Spain. ¹⁰Department of Family Medicine, San Pablo Health Center, Sevilla, Spain. ¹¹Department of Cardiology, Hospital Txangorritxu, Vitoria, Spain. ¹²Institut Universitari d'Investigació en Ciències de la Salut (IUNICS), Palma de Mallorca, Spain. ¹³Lipid Clinic, Endocrinology and Nutrition Service, IDIBAPS, Hospital Clínic, Barcelona, Spain. ¹⁴Department of Clinical Sciences, University of Las Palmas de Gran Canaria, Spain. ¹⁵Lipid and Vascular Risk Unit, Department of Internal Medicine, Hospital Universitari de Bellvitge, University of Barcelona. L'Hospitalet de Llobregat. FIPEC, Barcelona, Spain. ¹⁶Nutrition and Lipids Metabolism. Instituto de la Grasa. CSIC, Sevilla, Spain.

Moderate alcohol consumption has been associated with beneficial effects on the heart and the vascular system. Particularly, moderate red wine intake, consumed within a balanced diet, has been associated with lower cardiovascular disease (CVD) risk factors such as pro-inflammatory biomarkers, blood pressure, cholesterol, triglycerides or fasting plasma glucose. These effects can be explained by the high polyphenolic content of wine. A cup of wine (150 mL) contains more than 300 mg of total polyphenols, mainly flavanols, anthocyanidins and phenolic acids, but also stilbenes and other classes.

We assessed whether polyphenols from wine were associated with a reduction of cardiovascular events (including stroke, acute myocardial infarction or cardiovascular death) in the PREDIMED cohort (7447 participants at high cardiovascular risk, aged 55 to 80 years, ISRCTN number 35739639).

Cumulative polyphenol intake was calculated by matching food consumption data from yearly FFQ with the Phenol-Explorer database on polyphenol content in foods. We used Time-dependent Cox proportional hazards regression to estimate the Hazard Risk (HR) to relate polyphenol consumption and risk of cardiovascular event. All intakes were calories adjusted. Statistical analyses were conducted by using SAS software, version 9. All P values were 2-sided and differences below the probability level ($P < 0.05$) were considered significant.

Over an average of 4.3 years of follow-up, 273 confirmed cases of CVD were reported among 7172 participants from the PREDIMED. After multivariate adjustment and comparing Q5 vs. Q1, a significant reduction of CVD risk was observed for flavanols and hydroxybenzoic acids. Red wine was the main source of both polyphenolic classes. Therefore, a greater intake of polyphenols from wine was associated with a lower risk of CVD in an elderly population at high cardiovascular risk.

33 A novel high resolution LTQ-ORBITRAP-MS enhances the identification of polyphenols and their metabolites in a functional food made with grape extract and in human urine

Gemma Sasot¹, Miriam Martínez-Huélamo^{1,2}, Anna Vallverdú-Queralt^{1,2}, Mireia Roig¹, Jorge Regueiro³, Ramón Estruch^{2,4}, Gemma Chiva-Blanch^{2,4}, Mercè Mercader Martí⁵, Rosa M. Lamuela-Raventós^{1,2}

¹Nutrition and Food Science Department, XaRTA, INSA. Pharmacy School, University of Barcelona, Av. Joan XXIII s/n Barcelona, Spain

²CIBER 06/003 Physiopathology of obesity and nutrition (CIBEROBN) and RETICS RD06/0045/0003. Institute of Health Carlos III, Spain

³Nutrition and Food Science Group, Department of Analytical and Food Chemistry, Faculty of Food Science and Technology, University of Vigo, Spain

⁴Department of Internal Medicine, Hospital Clinic, Institute of Biomedical Investigation August Pi i Sunyer (IDIBAPS), University of Barcelona, Spain

⁵Miguel Torres, Vilafranca del Penedes, Spain

Grape pomaces are known to be a rich source of polyphenols with biological activity which may be used as functional ingredients for developing new interesting products. Numerous studies have reported that bioactive compounds may act through multiple mechanisms, like antioxidant, anticarcinogen or anti-inflammatory.

However, an exhaustive identification of the polyphenols present in this functional compound, grape extract (GE), and in biological samples obtained after the consumption of this novel food is required. In last years, there has been an increased interest in metabolites formed by the intestinal microbiota to understand the benefits derived from consumption. The application of high resolution mass spectrometry (HR-MS) allows the identification of phenolics using accurate mass measurements.

In order to verify the oral absorption and metabolism of the polyphenols content, we performed a prospective randomized, cross-over study in 12 healthy volunteers with three interventions: 500 mL of a functional beverage enriched with 100 mL of grape extract, 500 mL of the same beverage enriched with 200 mL of grape extract and 500 mL of a control beverage without grape extract.

LTQ-Orbitrap-MS enabled the identification of phenolics in grape extract and in human urine collected during the three interventions. Forty one polyphenols were identified in the extract mainly procyanidins, phenolic acids and flavonols. And more than sixty metabolites of phenolic compounds were detected including microbiota metabolites, glucuronides and sulfate derivatives in urine samples.

In conclusion, the HR-MS enhances the identification of large variety of phenolic compounds and their metabolites with very good mass accuracies for all molecular ions. Moreover, HR-MS allows unambiguous assignment of all fragment ions with fewer experiments and easier interpretation than previous methods.

2ª Jornada de Recerca en Enologia i Viticultura a Catalunya

**Llibre de resums de la Jornada organitzada pel CEICS
Tarragona, 11 desembre 2014**

Campus d'Excel·lència Internacional Catalunya Sud



ISBN: 978-84-8424-351-9

Servei de Publicacions de la Universitat Rovira i Virgili

