

Rebeca Martín Fernández

**Estudio de la influencia de la diferente composición del
suelo y de la carga productiva por cepa sobre la
composición y calidad de las uvas de vinos base y
cavas de la variedad Macabeo**

TRABAJO FINAL DE MÁSTER

**Dirigido por Fernando Zamora Marín y Joan Miquel Canals
Bosch**

Máster en BEBIDAS FERMENTADAS

Facultat d'Enologia



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

**Tarragona
1 de Septiembre de 2018**

Estudio de la influencia de la diferente composición del suelo y de la carga productiva por cepa sobre la composición y calidad de las uvas de vinos base y cavas de la variedad Macabeo

Autor: Rebeca Martín Fernández

e-mail: rebeca.martin@estudiants.urv.cat

Palabras clave: Cava; vino; propiedades espumantes; carga productiva, composición del suelo; Macabeo.

Agradecimientos

En primer lugar, quiero dar las gracias a mi familia por todo el apoyo que desde el primer momento me han brindado y me brindan en las duras y en las maduras.

También agradecer enormemente toda la paciencia y confianza hacia mi persona por parte de Fernando Zamora, quien ha sido un tutor excelente, ayudándome a dar mis primeros pasos dentro del mundo enológico como también a Joan Miquel Canals.

Y por supuesto a mis compañeros de batalla Pere, Pau, Jordi; y sobretodo, a Olga, quien además de solventar mis dudas, me ha dado su apoyo y confianza en todos los ámbitos de la vida.

Por último, agradecer a GLOBALVITI la posibilidad que brinda a los estudiantes de poder hacer su pequeña aportación dentro de sus proyectos.

A todos, **MUCHAS GRACIAS.**

“El vino es la única obra de arte que se puede beber”

Luis Fernando Olaverri

INDICE

Abstract.....	5
Resumen.....	5
1. Introducció.....	6
1.1. El Cava.....	6
1.2. Elaboració de Vino Espumoso.....	7
1.2.1. <i>Vino Espumoso natural.....</i>	<i>7</i>
1.2.2. <i>Cava: Método Tradicional (Champenoise).....</i>	<i>7</i>
1.2.3. <i>Granvás.....</i>	<i>8</i>
1.2.4. <i>Método Transfer.....</i>	<i>8</i>
1.3. Generalidades del Cava.....	9
1.4. La variedad Macabeo.....	10
1.5. Espuma y efervescencia.....	10
1.6. Factores que influyen en la estabilidad y persistencia de la espuma.....	11
1.6.1. <i>Etanol.....</i>	<i>11</i>
1.6.2. <i>Polisacáridos y manoproteínas.....</i>	<i>11</i>
1.6.3. <i>Proteínas.....</i>	<i>12</i>
1.6.4. <i>Otros factores: Madurez de la uva y condiciones de elaboración.....</i>	<i>12</i>
2. Hipótesis y Objetivos.....	13
3. Materiales y Métodos.....	14
3.1. <i>Clasificación edafológica del viñedo y carga productiva de viñas.....</i>	<i>14</i>
3.2. <i>Elaboración del vino base y espumoso.....</i>	<i>14</i>
3.3. <i>Determinación de la Presión.....</i>	<i>15</i>
3.4. <i>Preparación de muestras de vino espumoso.....</i>	<i>15</i>
3.5. <i>Análisis estándar de vinos espumosos.....</i>	<i>15</i>
3.5.1. <i>Grado alcohólico probable por ebullometría.....</i>	<i>15</i>
3.5.2. <i>pH y Acidez Total.....</i>	<i>16</i>
3.6. <i>Proteínas por HPLC-DAD.....</i>	<i>16</i>
3.7. <i>Polisacáridos por HPLC-RID.....</i>	<i>17</i>
3.8. <i>Mosalux.....</i>	<i>18</i>
3.9. <i>Análisis estadístico.....</i>	<i>18</i>
4. Resultados y discusión.....	19
4.1. Mostos.....	19
4.2. Vino base.....	20
4.3. Vino espumoso.....	22
5. Conclusiones y perspectivas.....	26
6. Bibliografía.....	28
7. Anexos. Tablas de resultados parámetros habituales y espumantes.....	30

ABSTRACT

This project shows the influence of the composition of the soil and productive yield on the composition and quality of the base wines and sparkling wines for the Macabeo cultivar.

Several parameters of the grape juice, base wine and sparkling wine were analyzed. Specifically, the foaming properties (MOSALUX) of the base wine and sparkling wine as well as the content of polysaccharides and proteins for the sparkling wine were determined. In both experiments, the foaming properties of the sparkling wine were significant lower than those of the base wine.

In the zonification experiment, the results obtained for the base wines clearly indicate that there is a subzone with a higher degree of maturity related to the higher alcohol content and lower content of assimilable nitrogen. This area offered the worst foaming properties. The results obtained in sparkling wines follow the same trend as base wines.

In the experiment for the yield, results obtained for the base wines indicate the lower the productive yield of the vineyard the higher the maturity level. Similar foaming properties were obtained for low and medium yield which in turned were better than in wines from the high yield. The same trend was observed for sparkling wines in the case of the foamability (HM). However, the foam stability (HS) in sparkling wines showed an erratic behavior.

RESUMEN

Este proyecto muestra la influencia que tiene la composición del suelo y la carga productiva por cepa sobre la composición y calidad de los vinos base y vinos espumosos para la variedad Macabeo.

Se analizaron varios de los parámetros habituales del mosto, vino base y vino espumoso. Así como también se determinaron las propiedades espumantes del vino base y vino espumoso, además del contenido en polisacáridos y proteínas para el vino espumoso. En ambos experimentos, las propiedades espumantes de los vinos espumosos eran significativamente menores que las de los vinos base.

En el experimento sobre la zonificación los resultados obtenidos para los vinos base indican claramente que hay una zona con un mayor grado de madurez relacionada con un mayor contenido alcohólico y un menor contenido en nitrógeno asimilable. Esta zona ofreció las peores propiedades espumantes. Los resultados obtenidos en vinos espumosos siguen la misma tendencia que los vinos base.

En el experimento sobre el rendimiento los resultados obtenidos para los vinos base indican que cuanto menor es la carga productiva de la viña, mayor es el grado de madurez. Se obtuvieron propiedades espumantes similares para rendimiento bajo y medio que resultaron ser mejores con respecto al rendimiento alto. En el caso de la espumabilidad (HM) se observó la misma tendencia en los vinos espumosos. Sin embargo, los valores de estabilidad de la espuma (HS) de vinos espumosos presentaron un comportamiento errático.

1. INTRODUCCION

1.1. El Cava

El cava es, bien sabido por todos, una bebida muy popular, obtenida a partir de las uvas; y que culturalmente se asocia a las celebraciones, lujo y fiestas.

Se trata de un vino espumoso de calidad con Denominación de Origen, cuya característica principal es que tanto la segunda fermentación como su crianza tienen lugar en la misma botella; es decir, es obtenido a partir del método tradicional de manera que sus burbujas características son producidas de una manera natural.

Es un producto exclusivamente elaborado en determinadas regiones de España.

Fig. 1. Distribución de regiones en las que se elabora el cava: Región del Cava.



Según el Consejo Regulador del Cava, la Región del Cava está formada por un total de 159 municipios repartidos por las provincias indicadas en la *fig. 1*. Aunque el grueso de la producción nacional se concentra en la zona del Penedés, entre Barcelona y Tarragona, destacando sobretodo la localidad de Sant Sadurni de Noya como el centro de producción más importante.

El Consejo Regulador del Cava es el organismo responsable de dar las directrices técnicas y legales a los productores y elaboradores del producto. Está integrado por los viticultores, productores, representantes de la Región del Cava y del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medioambiente.

1.2. Elaboración de Vinos Espumosos

En España existen hasta cuatro tipos de vinos espumosos en función de la técnica de elaboración. Estos son: Vino Espumoso natural, Cava, GranVás y Vino Espumoso a partir del Método Transfer.

1.2.1. *Vino Espumoso natural*

Es el vino espumoso que se obtiene por el método ancestral, es decir, la primera fermentación ocurre de manera natural, de una forma espontánea, y la segunda fermentación y formación de las burbujas características, ocurre gracias a los azúcares todavía presentes después de la primera fermentación. No es necesario añadir ni licor de tiraje ni licor de expedición (Stefani y col., 2015).

1.2.2. *Cava: Método Tradicional (Champenoise)*

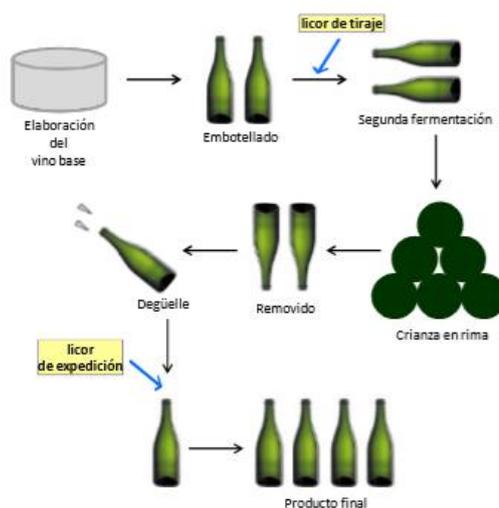
Es el método empleado para elaborar el Champagne francés, y también el método usado para la elaboración del vino espumoso denominado Cava.

Así pues, se define el cava como un vino espumoso elaborado según el método tradicional a partir de un vino base que procede de unas determinadas zonas geográficas españolas con Denominación de Origen según el Consejo Regulador del Cava (<http://www.docava.es/>).

Este método está principalmente caracterizado porque tanto la segunda fermentación como la crianza tienen lugar dentro de la misma botella en la que se realiza el tiraje.

A continuación la figura nos muestra las etapas principales del método tradicional:

Fig. 2. Etapas típicas del Método Tradicional.



- a) **Tiraje:** Se añade al vino base embotellado el licor de tiraje (mezcla de vino base, azúcar y levaduras; también ácido cítrico o activadores de la fermentación. Como clarificante se usa la bentonita o los alginatos. La botella se cierra herméticamente con corcho u otro dispositivo reglamentario.

- b) **Crianza en rima:** Las botellas se colocan en las “cavas” de las bodegas en posición horizontal formando las “rimas”. Esto se hace para favorecer la superficie de contacto entre las levaduras y los azúcares del vino base, y además a una temperatura controlada de 15°C. Para que un vino espumoso se denomine “cava”, el tiempo mínimo entre el tiraje y el degüelle ha de ser mínimo de 9 meses.
- c) **Removido:** Procedimiento a través del cual se depositan los restos de levaduras en el cuello de la botella. Estas se depositan en pupitres inclinados o giropalets automáticos. Este procedimiento consiste en girar manual o automáticamente las botellas inclinadas 1/8 de vuelta durante aproximadamente 24 días (3 vueltas completas). A la vez que se gira la botella, también se va aumentando el grado de inclinación hasta casi estar la botella boca abajo (en punta).
- d) **Degüelle:** Supone la eliminación de las lías depositadas. Puede ser en caliente de forma manual cuando la botella se cierra con corcho y grapa; o en frío, congelando el cuello de la botella y eliminando las lías con la botella en posición vertical de forma automática. Con este proceso se provoca una pérdida de parte del vino de modo que se le añada, o bien, vino espumoso de la misma partida, o bien “licor de expedición” (mosto de uva y/o parcialmente fermentado, y/o concentrado rectificado, vino base, sacarosa, etc). Por último se cierra la botella con tapón de corcho y se sujeta con un bozal de alambre.

1.2.3. GranVás

Este método se caracteriza por el hecho de que la segunda fermentación tiene lugar en grandes depósitos isobáricos (autoclaves). Este método origina vinos espumosos de peor calidad por los bajos tiempos de crianza en los depósitos, debido a que no se completa la autólisis de las levaduras empleadas. Sin embargo, a través de este método si es posible conservar todos los aromas frutales de las variedades empleadas para su elaboración.

Se denomina método corto, cuando el vino está en contacto con las lías durante 21 días, mientras que si permanece 6 meses se denomina método largo.

1.2.4. Método Transfer

Según este método, tanto las fermentaciones como la crianza tienen lugar dentro de la misma botella. Es una mezcla entre los métodos tradicional y granvás, en el que la fase de rima tiene una duración variable según la normativa que se aplique, después del cual se trasvasa el vino espumoso con las lías a un tanque presurizado. Posteriormente se realiza un filtrado isobárico previo al embotellado¹.

1.3. Generalidades del Cava

En la actualidad la elaboración de este vino espumoso de alta calidad está controlada por el Reglamento e la Denominación Cava y de su Consejo Regulador. Aprobado por Orden de 16.11.91 (BOE 20.11.91) y su correspondientes modificaciones posteriores. Cabe destacar las siguientes generalidades recogidas en esta Orden para la producción del Cava:

- Las variedades de vid autorizadas para la producción de cava son: Macabeo, Xarel.lo, Parellada, Malvasía y Chardonnay como variedades de uva blanca, siendo las tres primeras las más reconocidas. También está permitido elaborar cava a partir de las variedades de uva tinta la Garnacha tinta, Monastrell, Pinot Noir y Trepat, donde ésta última se puede usar para producir cava rosado. Están permitidas las mezclas (coupages) de las distintas variedades dentro del mismo tipo de uva blanca o tinta.
- Todos los viñedos, bodegas, almacenes, procesos en instalaciones deben estar incluidos en los registros correspondientes del Consejo Regulador.
- Para la elaboración del vino base el rendimiento máximo permitido es de 1 hectolitro de vino por cada 150 kg de uva, aunque según las circunstancias particulares de la añada y/o bodega puede cambiar, previa autorización. Siempre se utilizarán las primeras fracciones de prensado de la uva.
- Es requisito imprescindible que desde el tiraje hasta el degüelle transcurra en la misma botella, ambos inclusive.
- El tiempo mínimo de crianza para denominar Cava a un Vino Espumoso debe ser de 9 meses, contabilizado desde el tiraje hasta el degüelle.
- La presión mínima a 20°C del Cava, una vez finalizada su elaboración debe ser de 4 atmósferas.
- El contenido en ácido glucónico del mosto no debe superar los 600 mg/L.
- Los tipos de cava según la cantidad de azúcar presente se clasifican en:

Fig. 3. Tipos de Cava según el contenido en azúcar.

Tipo	Contenido en Azúcar
<i>Brut Nature</i>	Hasta 3 g/L (y sin adición de azúcar)
<i>Extra Brut</i>	Hasta 6 g/L
<i>Brut</i>	Hasta 15 g/L
<i>Extra Seco</i>	De 12 a 20 g/L
<i>Seco</i>	De 17 a 35 g/L
<i>Semi-seco</i>	De 33 a 50 g/L
<i>Dulce</i>	> 50 g/L

1.4. La variedad Macabeo

Es una variedad de uva blanca cultivada en algunas regiones del país. También conocida como Viura, se caracteriza por ofrecer unos racimos grandes y compactos, y unas uvas uniformes, de tamaño medio a grande con forma redondeada y hollejo grueso.

Fig. 4. Racimo de Macabeo



Se trata de una variedad fértil con una producción alta. Apta para elaborar cavas y otros vinos especiales por su aporte en aromas frutales y florales; con un correcto equilibrio entre alcohol y acidez. Tiene un sabor ligeramente astringente, y es válida para la crianza en barrica. Por otro lado, también presenta una elevada sensibilidad a la podredumbre gris, oídio y necrosis por ataque bacteriano.

1.5. Espuma y efervescencia

La espuma, tanto su formación como su permanencia, es el parámetro más importante a la hora de determinar la calidad de un Vino Espumoso.

La efervescencia es el proceso a través del cual se forman burbujas por el desprendimiento de dióxido de carbono que hay disuelto en el vino.

Cuando una copa de cava es servida en un vaso se puede apreciar cómo desde la base del mismo se originan las burbujas. Estas ascienden en forma de cordones hacia la superficie, donde se van agrupando y adhiriéndose en las paredes. Este fenómeno da lugar a un círculo de espuma conocido como corona². La persistencia de la espuma es el tiempo que dura el desprendimiento de gas, y está caracterizada por la igualdad entre la velocidad de desaparición en la superficie y la velocidad de formación en la base³.

La efervescencia se define como el proceso de formación de las burbujas gracias a las irregularidades de la copa en la que se sirve el espumoso. Es un proceso físico y dinámico que va cambiando de estado desde que se forman las burbujas hasta que desaparecen.

Existen tres mecanismos que explican la evolución temporal de la espuma:

- a) **Envejecimiento de Ostwald:** Difusión del gas entre dos burbujas que están en contacto; el sentido va desde la más pequeña que se encuentra a mayor presión hacia la más grande, hasta que finalmente se forma una única burbuja⁴.

- b) **Coalescència:** Fenòmen que ocorre sobre la interfase líquido-gas, y que explica la formació del collar de burbujes al·rededor de la pared de la copa. Supone la formació de una burbuja més grande por aproximació de dos burbujes més petites, para després desaparèixer la primera. Se forma debido a la menor pressió que hay en la zona de contacte de las dos burbujes con respecto a la pressió atmosfèrica sobre parte de mismas⁵.
- c) **Drenaje y explosión:** El drenaje es un proceso hidrodinámico en el que el líquido tiende a ir hacia abajo, atraído por la gravedad y la fase gaseosa tiende a subir. Se va produciendo una diferencia de presión del gas aumentando hacia la superficie. La explosión de las burbujas tiene lugar cuando el espesor de la película líquida que las envuelve se hace más fina, de manera que no es capaz de resistir la presión interna. La explosión de las burbujas es un parámetro muy importante en el análisis sensorial puesto que durante el estallido se liberan compuestos tensioactivos que formaban parte de la burbuja previamente a su estallido.

1.6. Factores influyentes en la estabilidad y persistencia de la espuma

1.6.1. Etanol

El etanol es un componente participante en la interfase líquido/gas de las burbujas y una molécula tensioactiva. Estudios experimentales han demostrado que en el cava, el efecto del etanol ejerce una influencia negativa sobre la espumabilidad debido a que este componente disminuye la tensión superficial de la burbuja⁶.

Además, el etanol tiene un papel desnaturalizante proteico debilitando las uniones hidrofóbicas entre las cadenas de proteínas⁷.

1.6.2. Polisacáridos y manoproteínas

Ambos son los componentes encargados de añadir sensaciones de cuerpo y volumen en boca. Su viscosidad ejerce un papel importante sobre las propiedades espumantes del cava⁸.

Desde el punto de vista cuantitativo, proceden principalmente de las uvas y levaduras empleadas en la elaboración del espumoso.

Estudios previos muestran resultados contradictorios; mientras que Moreno-Arribas y colaboradores (2000), y López-Barajas y colaboradores (2001) concluyen que tanto el contenido total de polisacáridos y los de carácter neutro como los distintos pesos de los mismos, contribuyen positivamente a las propiedades espumantes, Hm (espumabilidad) y Hs (estabilidad); a posteriori, Martínez-Lapuente y colaboradores (2015), encuentran que la cantidad total de estos componentes procedentes de uvas y levaduras no tiene efecto alguno sobre las propiedades espumantes.

Las manoproteínas son un tipo de glicoproteínas que se originan a partir de la autólisis de las levaduras. Se ha comprobado que su presencia sí mejora las propiedades espumantes⁹. Es por este motivo que cuanto mayor sea el tiempo de crianza sobre las lías mejor será la persistencia y más integrada estará la efervescencia de la espuma.

1.6.3. Las proteínas

Son biomoléculas que, además de añadir untuosidad al espumoso, son capaces de provocar la fijación de los aromas, y además tienen un efecto positivo sobre la espumabilidad gracias a sus propiedades tensioactivas ofreciendo elasticidad y resistencia a las películas superficiales de las burbujas¹⁰. Sin embargo, existe controversia en cuanto a la relación entre su presencia y la estabilidad de la espuma.

No obstante, debemos tener en cuenta que durante la elaboración del vino base para el cava por el método tradicional, se lleva a cabo la clarificación con bentonita; hecho por el cual se reduce considerablemente el contenido de proteínas, y por ende empeoran significativamente las propiedades espumantes.

1.6.4. Otros factores

- a) **Madurez de la uva:** Se ha demostrado que un incremento en ácido glucónico ejerce un efecto negativo sobre la espuma. Este incremento tiene lugar cuando la uva está muy madura; en tal situación el hongo *Botrytis Cinerea* es el encargado de la liberación de dicho ácido⁶. Por este motivo, la D.O. Cava limita la cantidad presente del ácido glucónico, seleccionando solamente los racimos que lo cumplen. También se debe tener en cuenta que la presencia del hongo provoca la secreción de proteasas que degradan las proteínas presentes¹¹.

En general, la cosecha temprana de las uvas origina cavas con mejores propiedades espumantes.

- b) **Condiciones de elaboración:** Se debe tener en cuenta que el prensado de la uva debe ser suave para evitar la extracción de los compuestos fenólicos; ya que éstos pueden reaccionar con las proteínas.

Del mismo modo, hay que tener en cuenta que tanto en la elaboración del vino base como del espumoso se emplea bentonita para clarificar el primero y facilitar el removido en el segundo. Y este tratamiento supone la eliminación de una gran fracción proteica, lo que va en detrimento de la espumabilidad como ya se comentó anteriormente.

Finalmente, hay que tener también en consideración el tipo de levadura y el tiempo de crianza, debido a que distintas levaduras liberan distintas cantidades y componentes diferentes durante la autólisis, originando también variaciones en el tiempo de crianza del espumoso sobre las lías.

2. HIPOTESIS Y OBJETIVOS

El presente trabajo de investigación se engloba dentro del proyecto CIEN "GLOBALVITI" que el grupo de investigación en tecnología enológica (TECNENOL) desarrolla en colaboración con la bodega elaboradora de Cava Juvé & Camps.

En la actualidad existen pocos estudios científicos sobre la relación que existe entre la composición del suelo y carga productiva de la viña con la composición y calidad de vinos base y sus cavas.

Por este motivo, las hipótesis que se plantean en este estudio son:

1º. **"La composición del suelo tiene influencia sobre la composición y calidad de vinos base y cavas"**.

2º. **"La carga productiva de la cepa también ejerce influencia sobre las propiedades y calidad de vinos base y cavas"**.

Así pues, con el fin de determinar la veracidad de estas hipótesis se plantea el siguiente objetivo:

- **Determinar el efecto que tienen sobre vinos base y cavas la composición del suelo sobre el que se recolecta la uva y la carga productiva por cepa.**

3. MATERIALES Y METODOS

3.1. Clasificación edafológica del viñedo y carga productiva de viñas

Este estudio ha sido llevado a cabo a través del grupo de investigación perteneciente al IRTA (Instituto de Investigación y Tecnología Agroalimentaria) dirigido por el Dr. Robert Savé. Este grupo ha realizado estudios edafológicos en un terreno perteneciente a los viñedos de Juvé and Camps SL (AOC Cava, Spain; 41° 26' 47.42" N y 1° 49' 0.63" E).

El estudio ha sido llevado a cabo mediante calicatas, que es una técnica de prospección, la cual consiste a grandes rasgos, determinar el perfil y composición del suelo a distintas profundidades.

En este trabajo no se presentan los resultados analíticos correspondientes a las calicatas por motivo de confidencialidad. Sin embargo, el grupo de investigación nos facilita una fotografía en la que clasifican el viñedo citado anteriormente en cuatro subparcelas a tenor de las características estudiadas.

Fig. 5. Clasificación del viñedo Juvé and Camps SL en subparcelas.



En el caso de la subparcela B, la de mayor superficie, se seleccionaron aleatoriamente cepas con distintos rendimientos (Bajo, Medio y Alto) para así poder estudiar la influencia de la carga por cepa.

3.2. Elaboración del vino base y espumoso

Durante la campaña de vendimia de Agosto del 2017, el día 17, tuvo lugar la vendimia experimental. Para cada subparcela se seleccionaron tres hileras de vides distribuidas de forma representativa de cada subparcela. En cada una de estas hileras se seleccionaron cepas de una carga productiva media (alrededor de 3,0 Kg/cepa) de tal manera que se vendimiaron una caja con unos 20 Kg de cada hilera a fin de poder realizar la experiencia con triplicados estadísticos. En el caso de la subparcela B, también se vendimiaron de forma similar vides con rendimientos bajos (alrededor de 1,5 Kg/cepa) y altos (alrededor de 4,5 Kg/cepa). Las uvas fueron trasladadas inmediatamente a la bodega experimental y docente del Mas dels Frares donde fueron procesadas.

Las uvas de cada replica fueron prensadas en una prensa neumática de agua de pequeño tamaño (50 Kg) en la que se extrajo alrededor del 55 % de mosto. El mosto se recogía en garrafas de 8 litros donde se sulfitaba con 100 mg/l de $K_2S_2O_7$ y se adicionaban enzimas pectolíticas (20mgL⁻¹, LallzymeC; Lallemand Inc.

Montreal, Canada). Tras un desfangado estático de 18 horas en la cámara frigorífica, el mosto limpio se trasegaba a garrafas de 6 litros donde se inoculaban 20 g/hl de levaduras seleccionadas (*Saccharomyces cerevisiae*, EC1118, Lallemant)¹², y a una temperatura controlada de 18 ± 2 °C. Una vez finalizada la fermentación alcohólica, el vino base era nuevamente sulfitado con 40 mg/l de $K_2S_2O_7$, y estabilizado a 4°C durante 2 meses.

Para la elaboración del vino espumoso, a principios de abril de 2018 se llevó a cabo del tiraje por adición de 22 g de azúcar/l y 2 g de bentonita/hl (Adjuvant83; Station Oenotechnique du Champagne, Epernay, France), y la misma levadura empleada en la fermentación alcohólica previamente adaptadas mediante un pie de cuba¹³. La temperatura de la segunda fermentación fue de 16 ± 2 °C.

3.3. Medidas de Presión

A principios de Junio de 2018, 3 meses después del tiraje, obtenemos el vino espumoso sobre el que realizamos las medidas de presión.

Para llevar a cabo estas medidas, utilizamos el dispositivo LPro Gas Sensing de la casa FTSsystem, que consiste en medir la Presión Total, la Presión de CO₂, y el CO₂ disuelto en la botella, a partir de un haz láser que atraviesa el cuello de la botella en la zona que no hay líquido. Este dispositivo nos facilita las medidas corregidas a 20°C, y el único parámetro que debemos introducir en el dispositivo es el diámetro de la botella, que en este caso es de 13.5 mm.

3.4. Preparación de muestras para el vino espumoso

El cava necesita por ley de un mínimo de 9 meses de crianza. No obstante y dado que era necesario poder presentar resultados analíticos en esta memoria de trabajo de fin de máster, nos vimos obligados a realizar un degüello prematuro a los 3 meses.

Dado que los vinos espumosos solo iban a ser analizados y no degustados no se llevo a cabo el removido sino que se degollaron y centrifugaron en el laboratorio. Para ello se tomaron dos tubos Falcon de 250 ml para cada muestra. Todas las muestras son centrifugadas para desgasificar y eliminar restos de levaduras y otros sólidos en suspensión (8500 rpm durante 10 minutos). Acto seguido, se refrigeran en cámara a 4°C para su análisis posterior.

3.5. Análisis estándar de vino espumoso

3.5.1. Grado alcohólico probable por ebulloimetría

Método basado en el cambio del punto de ebullición que experimentan las soluciones hidroalcohólicas, de manera que a medida que disminuye el punto de ebullición, aumenta el porcentaje de alcohol, tal y como expresa la ley de Raoult¹⁴.

Se emplea el ebulómetro de la casa GAB. Se prepara un patrón de etanol puro al 10% en volumen, el cual se utiliza para calibrar la regleta según la temperatura estable alcanzada por el termómetro. Se rellena hasta la marca el recipiente (aprox. 50 ml), se conecta el sistema de refrigeración y el encendido de la placa calefactora. A partir del calibrado, que en este caso ebulle a 92.3°C indicando una graduación alcohólica de 10°; se van realizando las medidas de

todas las muestras, lavando con agua destilada el recipiente entre cada medida.

3.5.2. Determinación del pH y Acidez total

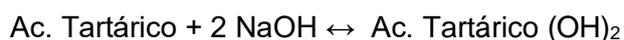
Para obtener las medidas del pH¹⁵, utilizamos un peachímetro, electrodo de la casa Crison (pH-Meter BASIC 20+). Este se calibra con dos disoluciones estándar; en primer lugar con solución salina a pH=7 y luego con solución salina pH=4; se realiza en este orden porque estaremos trabajando con pH's ácidos de muestras. La temperatura debe ser 20°C.

Una vez calibrado el electrodo, 5 ml de muestra son diluidos con agua destilada en un vaso de precipitados. Se toma la medida introduciendo el electrodo en la muestra, que se encuentra en agitación constante. Se lava con agua destilada el electrodo entre cada medida.

Una vez tenemos el valor del pH, podemos obtener el valor de la acidez total¹⁶ expresada como gramos de ácido tartárico, que es el mayoritario, por litro de vino mediante una volumetría con una disolución de NaOH 0.1N.

Para ello se va adicionando con una bureta la disolución alcalina de hidróxido sódico hasta alcanzar un pH=7. Como indicador se emplea el azul de bromotimol.

Podemos obtener la acidez total a partir de la siguiente información:



$$\text{ACIDEZ TOTAL} = (\text{Xml NaOH}_{0.1\text{N}} / \text{Yml muestra}) * 7.5 = \text{gr Ac. Tartárico/L}$$

Xml NaOH son los mililitros gastados durante la valoración hasta pH=7.

Yml muestra es el volumen inicial de muestra tomado; en este caso es 5ml.

3.6. **Determinación de Proteínas por HPLC-DAD**

Se emplea la técnica de Cromatografía Líquida de Alta Resolución basada en el principio de exclusión por tamaños. Como detector se usa el detector diodo array.

- **Preparación de muestras:** Se toman alícuotas de 15 ml de cada muestra y se introducen en papel de celulosa separando y etiquetando cada una con pinzas. Después se sumergen durante 48 horas en agua destilada y con agitación constante para eliminar los posibles interferentes gracias a un gradiente establecido. A continuación se trasvasan las muestras a placas Petri y se congelan a -20°C durante 24 horas, para después ser liofilizadas a -40°C durante otras 24 horas; esto es para eliminar el agua en las muestras. El paso siguiente consiste en resuspender las muestras en 150 µl de agua MiliQ guardándolas en eppendorfs, para volver a congelar y liofilizar. Por último se vuelven a resuspender en 600 µl de acetato de amonio 300 mmL⁻¹, y centrifugar a 12.000 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante se filtra con filtros de celulosa HPLC Millipore de 0.22 µm, y 100 µl de muestra se pasan a los viales HPLC.

Para llevar a cabo el análisis cualitativo y cuantitativo se empleó HPLC Agilent 1200 Series System junto con el detector que monitorizó las señales a 230, 280 y 320 nm. La temperatura del análisis fue de 20°C; la columna empleada, S 165 Shodex HPLC (OHpak 166 SB-803HQ,300mmx8mmi.d.; Showa Denko).

La fase móvil estuvo compuesta por una disolución acuosa de acetato de amonio 300 mmL^{-1} , con un flujo constante de 0.6 ml/min durante 70 minutos entre cada muestra. El orden de elución fue el siguiente: en primer lugar eluyen las proteínas en el rango de 25-50 kDa (LMW), después las comprendidas entre 50-75 kDa (IMW), y por último las de 75 kDa (HMW) o mayor peso.

Se cuantificaron según el área de pico cromatográfico usando un patrón estándar externo de serum de albúmina bovina (Sigma-Aldrich) entre 0-10 mg/ml.

3.7. **Determinación de Polisacáridos por HPLC-RID**

Para determinar la cantidad y tipos de polisacáridos en las muestras también empleamos la técnica HPLC basada en la exclusión por tamaños. Sin embargo, como detector usaremos un detector de índice de refracción.

- **Preparación de muestras:** 10 ml de cada muestra se introducen en tubos sin tapar y se llevan al speed back durante 7.5 horas, para eliminar el etanol presente y preconcentrar la muestra hasta los 2 ml. Después se llevan a tubos falcon y se añade hasta 10 ml de etanol acidificado 0.3M (HCl37%). Se centrifugan a 8500 rpm durante 15 minutos. Recogemos el sobrenadante con 1 ml de agua MiliQ y los introducimos en los eppendorfs, realizando previamente una perforación sobre sus tapones. Se congelan a -20°C durante 24 horas, y después se liofilizan a -40°C otras 24 horas. Se resuspende el sedimento con 1 ml de formiato de amonio 50mM y se filtra con papel de celulosa de $0.22 \mu\text{m}$ de diámetro de poro (HPLC Millipore).

Se emplea la misma instrumentación que para el análisis de las proteínas, con la diferencia de que cambiar el detector por el RID y se emplean dos columnas cromatográficas S 165 Shodex gel permeation (OHpak 166 SB-803 HQ and SB-804 HQ, $300\text{mm}\times 8\text{mm}$ i.d.; Showa Denko Europe GmbH, Munich, Germany). La separación fue llevada a cabo a 20°C ; la temperatura del detector fue de 35°C . Como fase móvil se empleó una disolución acuosa de formiato de amonio 50 mmL^{-1} , aplicando un flujo constante de 0.6 ml/min durante 70 minutos entre muestra y muestra. El orden de elución fue el siguiente; en primer lugar, eluyen los polisacáridos de alto peso molecular (HMW) con pesos igual o superior a 180 kDa, después los de peso intermedio (IMW) con pesos entre 40 y 180 kDa, seguidos de los de bajo peso molecular (LMW) con peso entre 7.5 y 40 kDa; y por último los oligosacáridos (TOS).

La cuantificación se realizó según el pico del área para cada fracción, usando un método estándar de patrón externo formado por pectina y dextrano entre 0-2 g/L.

3.8. Mosalux

Es el método utilizado para obtener las propiedades espumantes de vinos en condiciones estandarizadas de efervescencia artificial.

Para llevar a cabo estas medidas se emplea una probeta graduada con una membrana porosa, que permite el paso del dióxido de carbono, y con un orificio para conectar el gas que va a generar la efervescencia¹⁷.

Las muestras son desgasificadas previamente por centrifugación a 12.000 rpm durante 10 minutos y termostadas a 18°C durante al menos 24 horas antes del análisis.

Una vez realizado este proceso, se introducen 100 ml de muestra en el cilindro de vidrio y se conecta el flujo del CO₂. Las condiciones del experimento son:

P bombona gas= 2 bar, P interna=1.35 bar, flujo de CO₂ constante de 115 ml/min.

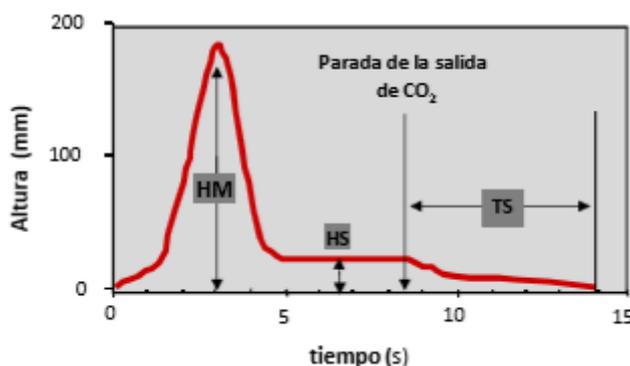
Normalmente este método realiza las medidas a partir de un haz infrarrojo. Sin embargo, no disponemos en el laboratorio de este tipo de detector. Por lo tanto, obtenemos las medidas visualmente con ayuda de la graduación del cilindro de vidrio.

Se determinan dos parámetros:

1º. **Hm**; que es la altura máxima que alcanza la espuma durante la inyección del gas carbónico. Nos da una idea de la espumabilidad del vino, es decir, de la capacidad que tiene para generar espuma. Se puede apreciar durante los dos primeros minutos.

2º. **Hs**; que es la altura estable de la espuma generada. Este parámetro nos da una idea sobre la estabilidad o persistencia de la espuma. Se puede apreciar normalmente entre 5-7 minutos después de la inyección.

Fig. 6. Curva típica de evolución de la espuma adaptada por Vanrell (2002).



Como se aprecia en la fig.6 aparece un tercer parámetro, Ts, que se define como el tiempo que transcurre desde que cesa la inyección del anhídrico carbónico hasta que la espuma desaparece. Sin embargo, en nuestro análisis utilizamos una modificación del método llevada a cabo por Moreno-Arribas y col. (2000), en el que sólo tenemos en cuenta las alturas definidas anteriormente.

3.9. ANALISIS ESTADISTICO

Para el análisis de las subparcelas del viñedo hay que tener en cuenta que todas las muestras tienen una carga productiva por viña de peso medio. Como ya se dijo anteriormente, se realizan dos experimentos distintos. En ambos todas las muestras se analizan por triplicado. En el primer experimento tenemos 4

subparcelas, lo que supone analizar un total de 12 muestras. En el segundo experimento tenemos 3 tipos de carga productiva para la subparcela B, por lo tanto se analizan 9 muestras. Hay que indicar que en el análisis por subparcelas se tiene en cuenta que la carga productiva es de peso medio, entonces tenemos un total de 18 muestras a analizar.

Se emplea el software IBM SPSS Statistics 19 para realizar los siguientes análisis estadísticos: Desviación estándar, ANOVA de una vía y Test de Comparación de Tukey.

4. RESULTADOS EXPERIMENTALES Y DISCUSION

4.1. MOSTOS

En la tabla 3 aparecen las medidas experimentales de los parámetros habituales que se analizan en el mosto.

Tabla 3. Parámetros experimentales para la zonificación en mostos.

PARAMETROS MEDIDOS	Subparcela A	Subparcela B	Subparcela C	Subparcela D
Grado alcohólico probable	11.00 ± 0.40 ^α	10.90 ± 0.20 ^α	10.90 ± 0.30 ^α	11.70 ± 0.60 ^α
Acidez Total (g/TH ₂ /L)	6.93 ± 0.06 ^α	6.50 ± 0.85 ^α	6.37 ± 0.12 ^α	5.93 ± 0.49 ^α
pH	3.04 ± 0.04 ^α	3.07 ± 0.08 ^α	3.15 ± 0.06 ^α	3.17 ± 0.08 ^α
Acido L-Málico (g/L)	1.18 ± 0.34 ^α	1.30 ± 0.10 ^α	1.10 ± 0.10 ^α	1.10 ± 0.10 ^α
Nitrógeno amínico (mg/L)	27.00 ± 5.00 ^α	27.50 ± 0.70 ^α	25.00 ± 2.60 ^α	23.00 ± 5.30 ^α
Amonio (mg/L)	52.00 ± 25.50 ^α	48.50 ± 13.40 ^α	32.30 ± 8.00 ^β	22.30 ± 16.20 ^γ
Nitrógeno asimilable (mg/L)	69.70 ± 25.80 ^α	67.50 ± 12.00 ^α	51.70 ± 9.00 ^β	41.30 ± 17.90 ^γ

(Las letras α, β, γ indican que hay diferencias significativas entre subparcelas)

Observando la tabla 3, encontramos valores habituales que entran dentro de los márgenes aplicables legalmente, para el grado alcohólico, acidez total y pH. Además, no se aprecian diferencias significativas entre las distintas subparcelas.

El ácido málico es un indicador del estado de madurez de la uva, tanto mayor cuanto menos maduro esté el fruto. En este mosto, sus valores son similares, y aparentemente todas las subparcelas tienen el mismo grado de madurez.

De otra parte, se observan diferencias apreciables para los compuestos nitrogenados. Se observa que tanto el contenido en amonio como el contenido de nitrógeno fácilmente asimilable son máximos para la Subparcela A y mínimos para la Subparcela D. Esta tendencia encontrada hace pensar, que efectivamente, existen diferencias en cuanto a la composición del suelo, a pesar de que en este trabajo no se disponen de los datos edafológicos.

Tabla 4. Parámetros experimentales para el rendimiento en mostos.

PARAMETROS MEDIDOS	PESO BAJO	PESO MEDIO	PESO ALTO
Grado alcohólico probable	11.20 ± 0.50 ^α	10.90 ± 0.20 ^α	10.70 ± 0.20 ^α
Acidez Total (g/TH ₂ /L)	6.17 ± 0.25 ^α	6.50 ± 0.85 ^α	6.67 ± 0.35 ^α
pH	3.09 ± 0.03 ^α	3.07 ± 0.08 ^α	3.09 ± 0.05 ^α
Acido L-Málico (g/L)	0.94 ± 0.06 ^α	1.31 ± 0.13 ^β	1.30 ± 0.04 ^β
Nitrógeno amínico (mg/L)	24.70 ± 3.10 ^α	27.50 ± 0.71 ^α	34.70 ± 6.70 ^β
Amonio (mg/L)	32.00 ± 8.50 ^α	48.50 ± 13.44 ^α	64.00 ± 18.00 ^β
Nitrógeno asimilable (mg/L)	51.00 ± 8.70 ^α	67.50 ± 12.02 ^α	87.00 ± 21.40 ^β

(Las letras α, β, γ indican que hay diferencias significativas según el rendimiento)

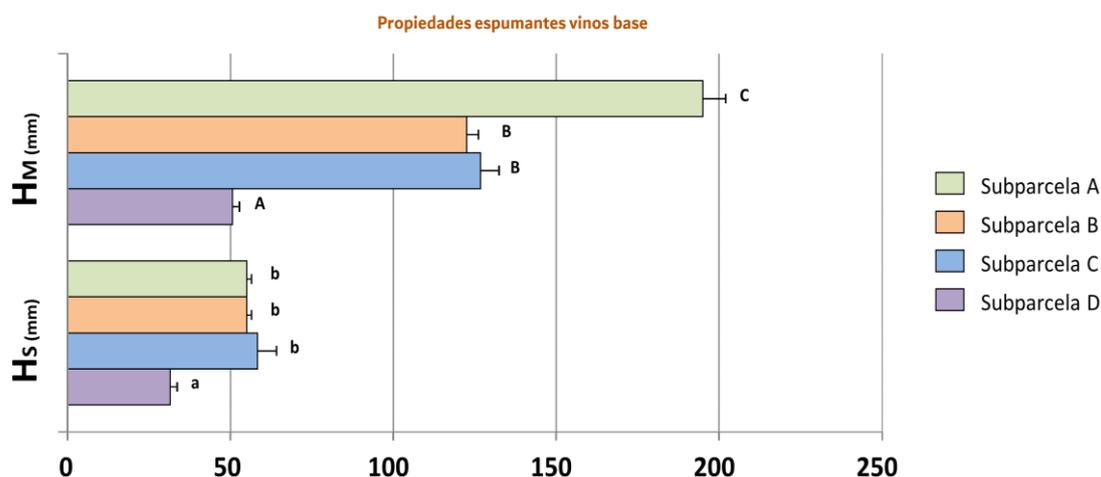
Para el análisis de los parámetros analizados en función de la carga productiva encontramos que el grado alcohólico disminuye ligeramente cuanto mayor sea el rendimiento; lo contrario ocurre para la acidez total.

A diferencia del estudio anterior, aquí se aprecian diferencias en el contenido de nitrógeno amínico, de modo que cuanto mayor es el rendimiento mayor contenido de este compuesto se obtiene. Se observa la misma tendencia tanto para el amonio como para el nitrógeno asimilable.

4.2. VINO BASE

Obtenemos los siguientes resultados para las propiedades espumantes medidas por Mosalux para ambos experimentos.

Fig.7. Propiedades espumantes para la zonificación en vino base.



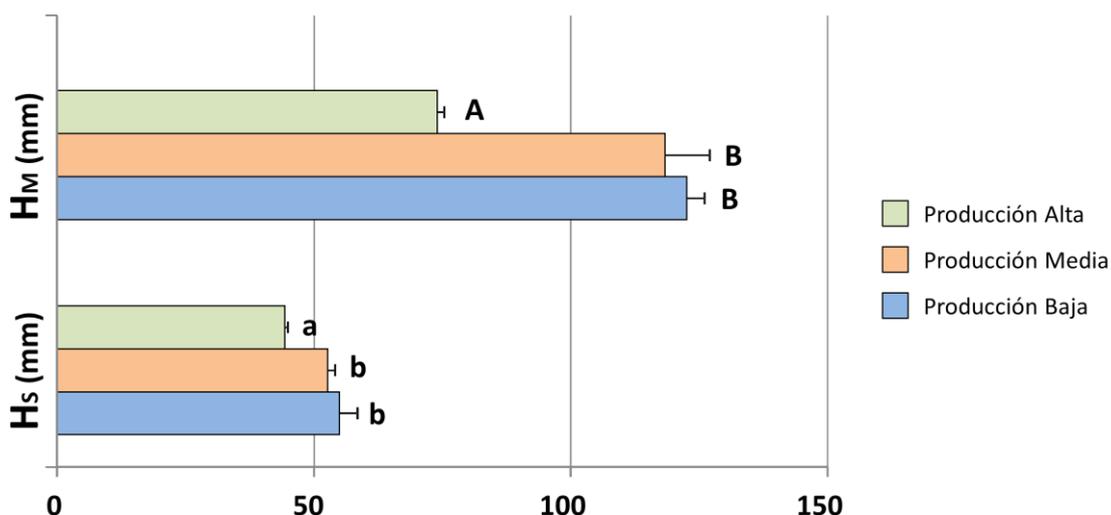
Según los resultados experimentales obtenidos podemos observar que existen diferencias entre las distintas subparcelas del viñedo. La subparcela A ofrece el mayor valor para H_m, muy por encima del resto; mientras que la subparcela D es la que tiene el valor mínimo. Este hecho hace pensar que para la subparcela D, el grado de madurez de la uva era mayor que en el resto. Hay estudios previos que relacionan la madurez de la uva con el grado alcohólico del vino base y cava, de modo que una

mayor madurez implica un mayor grado alcohólico, lo que a su vez se traduce en un descenso de las propiedades espumantes⁶. Además, este hecho resulta mucho más acusado en la espumabilidad (H_M) que en la estabilidad de la espuma H_S.

Del mismo modo, observamos en los resultados obtenidos respecto al contenido en compuestos nitrogenados (N amínico, ión amonio y N asimilable) para el mosto, que hay una correlación directa y positiva en cuanto a la espumabilidad y cantidad de este tipo de compuestos. Se observa que, de los tres parámetros medidos, el más relevante es el ión amonio; para el cual las diferencias entre las distintas subparcelas son mucho más significativas. Sin embargo, esta relación no está tan clara para el caso de la persistencia de la espuma, lo cual hace pensar que existen más factores que afectan a este factor.

Estas diferencias encontradas en las propiedades espumantes del vino base guardan relación directa con las diferencias en la composición del suelo. Y a pesar de no disponer de los datos edafológicos para este experimento, existen estudios que evidencian una relación directa entre distintos elementos traza y la calidad de las uvas y el vino¹⁸.

Fig.8. Propiedades espumantes para el rendimiento de vino base.



Para el estudio de la relación entre la carga productiva y las propiedades espumantes se observa que cuanto mayor sea el contenido de alcohol en mostos, mayores resultan los valores de H_M y H_S, siendo el contenido en alcohol mayor para la carga de producción baja. A su vez, en el caso de producción baja encontramos los valores más pequeños para el contenido en compuestos nitrogenados. Esto hace pensar que forzosamente existen otros parámetros, no determinados en este estudio que ejercen una influencia mucho mayor que el contenido en alcohol y/o compuestos nitrogenados. Si bien, el principal factor y más contribuyente a estas propiedades va a ser el contenido en polisacáridos y oligosacáridos¹⁹.

También encontramos otros experimentos que relacionan directamente el contenido de antocianinas con la espumabilidad y la persistencia de la espuma; y aminoácidos como la beta-alanina y ácido glutámico relacionados directamente con H_M²⁰.

4.3. VINO ESPUMOSO

Se obtuvieron los siguientes resultados.

Tabla 9. Parámetros experimentales para la zonificación en vino espumoso.

PARAMETROS MEDIDOS	Subparcela A	Subparcela B	Subparcela C	Subparcela D
Grado alcohólico adquirido	11.87 ± 0.05 ^α	11.97 ± 0.02 ^β	12.03 ± 0.00 ^γ	12.30 ± 0.07 ^δ
Acidez Total (g/TH ₂ /L)	7.15 ± 0.27 ^α	6.30 ± 0.01 ^β	5.85 ± 0.12 ^γ	5.75 ± 0.15 ^γ
pH	2.94 ± 0.02 ^α	2.99 ± 0.00 ^β	3.02 ± 0.01 ^γ	3.06 ± 0.02 ^δ
P total/bar	7.16 ± 0.02 ^α	7.53 ± 0.09 ^β	7.51 ± 0.08 ^β	6.75 ± 0.15 ^γ
CO ₂ dis (g/L)	10.40 ± 0.03 ^α	10.94 ± 0.13 ^β	10.92 ± 0.12 ^β	9.81 ± 0.21 ^γ

(Las distintas letras griegas indican diferencias estadísticamente significativas)

Se pueden observar los resultados experimentales obtenidos para algunos de los parámetros habituales del vino espumoso. Se puede ver que todos los valores están en consonancia con los valores habituales para esta variedad²¹. Respecto al grado alcohólico, se obtienen valores superiores para el vino espumoso de tres meses con respecto al mosto. Esto es lógico, debido a que para la elaboración del vino espumoso se añade azúcar al vino base y éste es sometido a una segunda fermentación. Nuevamente se aprecia el valor máximo de grado alcohólico para la Subparcela D.

En cuanto a la acidez total, se observa que para los vinos espumosos en todos los casos los valores obtenidos son ligeramente inferiores con respecto al vino base, a excepción de la Subparcela A, donde dicho valor es algo superior. Este hecho es debido al incremento alcohólico en el vino espumoso, el cual hace que el ácido tartárico disuelto precipite como tartrato, y éste a su vez sea eliminado en el proceso de degüelle, provocando así una menor acidez del vino espumoso.

Tabla 10. Parámetros experimentales para el rendimiento en vino espumoso.

PARAMETROS MEDIDOS	PESO BAJO	PESO MEDIO	PESO ALTO
Grado alcohólico adquirido	12.40 ± 0.10 ^α	11.97 ± 0.05 ^β	11.63 ± 0.16 ^γ
Acidez Total (g/TH ₂ /L)	6.50 ± 0.09 ^α	6.30 ± 0.02 ^β	5.90 ± 0.12 ^γ
pH	3.08 ± 0.01 ^α	2.99 ± 0.02 ^β	3.07 ± 0.01 ^α
P total/bar	7.12 ± 0.12 ^α	7.53 ± 0.02 ^β	7.75 ± 0.10 ^γ
CO ₂ dis (g/L)	10.35 ± 0.18 ^α	10.94 ± 0.03 ^β	11.26 ± 0.15 ^γ

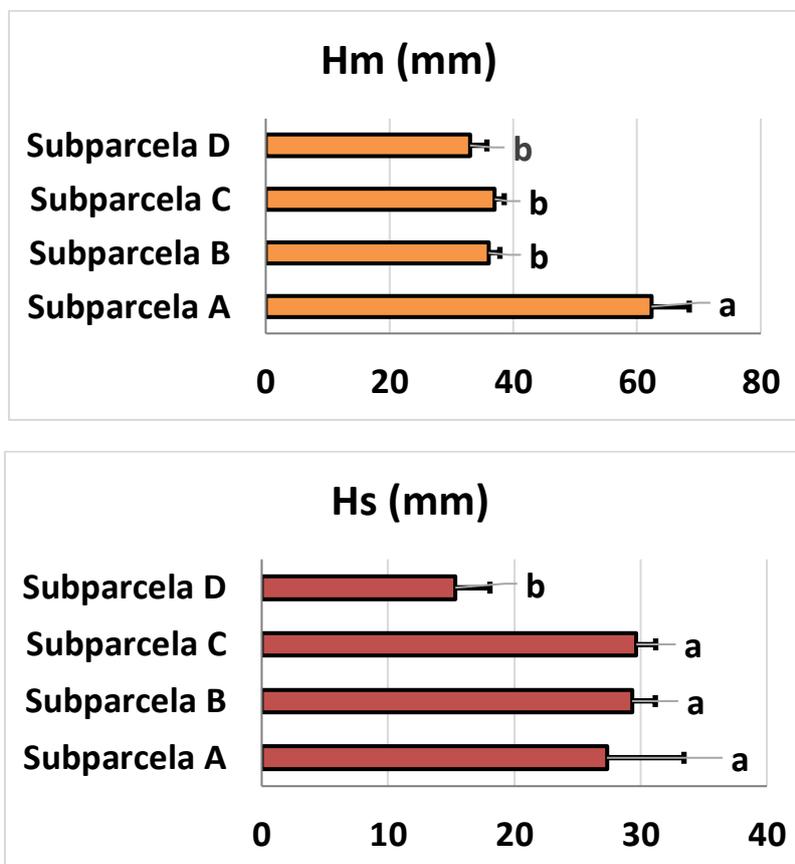
(Las distintas letras griegas indican diferencias estadísticamente significativas)

En el estudio de la relación entre propiedades espumantes y carga productiva se puede apreciar nuevamente el mayor valor en el contenido alcohólico en los vinos espumosos con respecto al mosto. Para el vino espumoso observamos la misma tendencia respecto del mosto; es decir, cuanto mayor es el rendimiento menor es el grado alcohólico. Por otra parte, encontramos la tendencia contraria para valores de la acidez tartárica, es decir, en mostos aumenta con el rendimiento, mientras que en el vino espumoso disminuye.

De otra parte, se observa en vino espumoso que la acidez total disminuye al aumentar la carga productiva, mientras que en el vino base se aprecia la tendencia contraria.

En el análisis de las propiedades espumantes se obtuvieron los siguientes resultados para ambos experimentos mediante el método Mosalux.

Fig.9. Propiedades espumantes para la zonificación en vino espumoso.



En el estudio por zonificación podemos observar la misma tendencia encontrada que para el caso de los vinos base, siendo nuevamente la Subparcela A la que presenta una mejor y más acusada espumabilidad, Hm; y correspondiendo con el menor grado alcohólico.

De otra parte, los valores que obtenemos para el parámetro Hm, en todos los casos es menor que en los vinos base. Esto es debido al ligero incremento en el grado alcohólico, consecuencia directa de la segunda fermentación.

Referente a la persistencia de la espuma, Hm, también se encuentra que la Subparcela D es la que nos ofrece un menor valor. Sin embargo, aunque la mejor persistencia corresponde a la Subparcela C, este valor se aproxima mucho al valor de la Subparcela B; mientras que para el vino base la mejor estabilidad sigue siendo para la Subparcela C, ligeramente por encima de la Subparcela B, que a su vez, es igual a la Subparcela A.

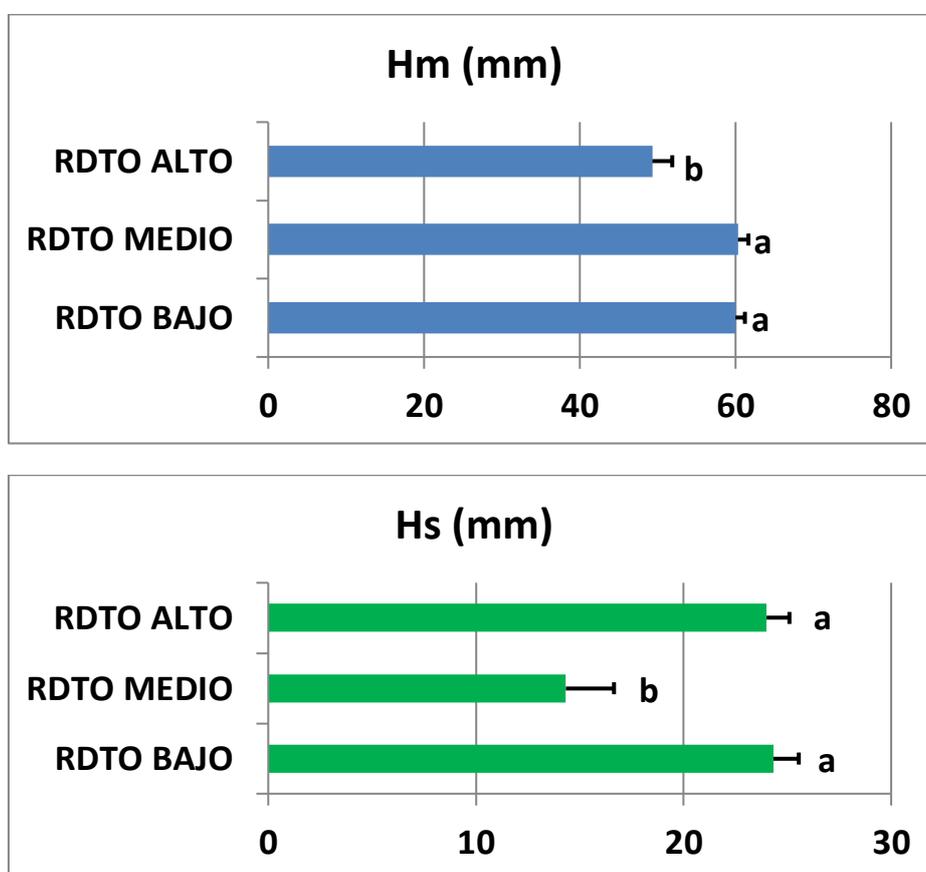
No obstante, tanto para vinos base como para espumosos, el valor más bajo para espumabilidad y estabilidad de la espuma corresponde a la Subparcela D, para la cual se obtienen los valores más altos de grado alcohólico probable y los más bajos para la acidez total. Esto pone de manifiesto la importante influencia que ejercen estos parámetros en las propiedades espumantes de vinos base, vinos espumosos y cava.

A su vez, es previsible que la subparcela D sea la que ofrezca unos racimos, que a igualdad del resto de condiciones, ofrezca un mayor grado de madurez que explique el mayor contenido alcohólico. Y este mayor grado de madurez puede ser explicado a partir de diferencias encontradas según el estudio edafológico de la parcela de estudio y su subdivisión en Subparcelas.

Como ya se dijo anteriormente, hay estudios que evidencian la relación entre la madurez de la uva, y por lo tanto, el grado alcohólico y acidez total; y la composición del suelo donde es cultivada la viña. En concreto, se encuentra relación entre Calcio, Estroncio, Bario, Plomo y Silicio con la madurez¹⁸.

Para el estudio de las propiedades espumantes respecto al rendimiento tenemos los siguientes valores.

Fig.10. Propiedades espumantes para el rendimiento en vino espumoso.



A primera vista según los datos de la figura 10 para las propiedades espumantes, se observa que los valores tanto de espumabilidad, Hm, como de persistencia, Hs, son siempre menores que los obtenidos para los vinos base, independientemente de la carga productiva.

En lo referido al parámetro a la espumabilidad, encontramos la misma tendencia observada que para el vino base, es decir, la carga productiva baja y media tienen un valor muy similar entre sí, y ambos se encuentran muy por encima de la carga

productiva alta. Sin embargo, en este caso concreto resulta que el grado alcohólico de la carga productiva alta es menor, lo cual se contradice con lo predicho anteriormente. Esto hace pensar nuevamente que más factores se encargan de regular la espumabilidad.

En cuanto a la estabilidad de la espuma, para el vino base se observa que aumenta a medida que disminuye la carga productiva, mientras que para el vino espumoso, se obtienen valores muy similares entre carga productiva baja y alta, siendo muy superiores éstos al valor obtenido para la carga productiva media. Se muestra entonces un comportamiento errático.

A continuación, se exponen los resultados obtenidos para polisacáridos y proteínas en ambas experiencias para el vino espumoso de tres meses de crianza.

Tabla 13. Polisacáridos para zonificación y rendimiento.

ZONIFICACION	HMW	IMW	LMW	TOS	TPS
Subparcela A	31.67 ± 0.84 ^α	34.17 ± 0.21 ^α	28.91 ± 0.90 ^α	55.58 ± 0.81 ^α	150.32 ± 0.72 ^α
Subparcela B	33.62 ± 0.25 ^β	28.22 ± 1.58 ^β	27.62 ± 1.29 ^α	40.09 ± 3.87 ^β	129.55 ± 6.99 ^β
Subparcela C	30.92 ± 1.07 ^α	34.64 ± 0.35 ^α	33.48 ± 0.48 ^β	66.24 ± 4.02 ^γ	165.28 ± 3.79 ^γ
Subparcela D	41.59 ± 2.15 ^γ	36.86 ± 1.02 ^γ	37.57 ± 1.71 ^γ	49.72 ± 0.96 ^δ	165.74 ± 3.92 ^γ
RENDIMIENTO	HMW	IMW	LMW	TOS	TPS
BAJO	37.23 ± 0.79 ^α	36.38 ± 1.45 ^α	33.17 ± 0.60 ^α	46.31 ± 1.45 ^α	153.10 ± 4.29 ^α
MEDIO	33.62 ± 0.48 ^β	28.22 ± 1.43 ^β	27.62 ± 1.37 ^β	40.09 ± 0.75 ^β	129.55 ± 4.03 ^β
ALTO	34.10 ± 0.31 ^β	32.22 ± 0.02 ^γ	33.67 ± 0.77 ^α	40.25 ± 0.70 ^β	140.24 ± 0.26 ^γ

(Las distintas letras griegas indican diferencias estadísticamente significativas. HMW: High Molecular Weight, IMW: Intermediate Molecular Weight, LMW: Low Molecular Weight, TOS: Total Oligosaccharides, TPS: Total Polisaccharides)

A la vista de estos resultados, no es posible extraer tendencias claras que relacionen los distintos polisacáridos analizados con las propiedades espumantes. Esto es probablemente debido a que no ha transcurrido el tiempo de crianza suficiente como para que los procesos de autólisis de las levaduras y la integración del gas carbónico hayan concluido.

Tabla 14. Proteínas para zonificación y rendimiento.

ZONIFICACION	HMW	IMW	LMW	TOT
Subparcela A	2.49 ± 0.06 ^α	6.15 ± 0.24 ^α	15.36 ± 0.10 ^α	24.01 ± 0.40 ^α
Subparcela B	0.97 ± 0.40 ^β	6.00 ± 0.20 ^α	16.10 ± 0.32 ^β	23.07 ± 0.12 ^β
Subparcela C	5.15 ± 0.86 ^γ	4.59 ± 0.23 ^β	14.59 ± 0.13 ^γ	24.33 ± 0.50 ^α
Subparcela D	0.55 ± 0.52 ^β	4.66 ± 0.21 ^β	14.07 ± 0.29 ^δ	19.29 ± 1.02 ^γ
RENDIMIENTO	HMW	IMW	LMW	TOT
BAJO	0.47 ± 0.15 ^α	3.44 ± 0.60 ^α	13.11 ± 0.80 ^α	17.02 ± 1.56 ^α
MEDIO	0.97 ± 0.02 ^β	6.00 ± 0.30 ^β	16.10 ± 0.25 ^β	23.07 ± 0.58 ^β
ALTO	1.28 ± 0.13 ^γ	6.00 ± 0.30 ^β	16.93 ± 0.55 ^γ	24.21 ± 0.98 ^β

(Las distintas letras griegas indican diferencias estadísticamente significativas. HMW: High Molecular Weight, IMW: Intermediate Molecular Weight, LMW: Low Molecular Weight, TOT: Total Proteins)

Para el estudio de las proteínas, ocurre exactamente lo mismo que en el caso de polisacáridos. No obstante, estos estudios serán repetidos en el futuro a distintos tiempos de crianza.

5. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.

Las conclusiones referentes a los vinos espumosos deben ser consideradas con precaución dado que fueron degollados a los tres meses del tiraje, debido a la necesidad de presentar este trabajo en los plazos establecidos. En tan corto tiempo de crianza los procesos de autólisis e integración del gas carbónico se encuentran en sus inicios lo que puede condicionar que esos resultados preliminares no sean concluyentes. Evidentemente estos vinos espumosos seguirán siendo estudiados a tiempos más largos de crianza dentro del contexto del proyecto GLOBALVITI.

A. ZONIFICACION

1. La subparcela D produjo uvas de mayor madurez que las otras tres subparcelas (A, B y C).
2. Los niveles de nitrógeno fácilmente asimilable presentaron valores mínimos en los mostos de la subparcela D y máximos en los de la subparcela A. Estas diferencias eran debidas principalmente a la concentración de amonio.
3. Tanto la espumabilidad (Hm), como la persistencia de la espuma (Hs), fueron significativamente mayores en los vinos base de la subparcela A y significativamente menores en los vinos base de a subparcela D, situándose los vinos base de las subparcelas B y C en niveles intermedios. Esta tendencia coincide en términos generales con la observada para el amonio de los mostos.
4. Los vinos espumosos a los 3 meses del tiraje presentaron valores menores de Hm y Hs que sus correspondientes vinos base probablemente debido al aumento del etanol y al efecto de la bentonita usada como coadyuvante.
5. En términos generales espumabilidad y persistencia de la espuma (Hm y Hs) mantienen la tendencia observada en los vinos base si bien las diferencias se amortiguan. En el caso de Hm se puede observar una cierta correlación con la concentración de proteínas de los vinos espumosos.

B. RENDIMIENTO

1. Existe una relación clara entre el nivel de rendimiento de las cepas y la madurez de las uvas, siendo la madurez mayor cuando el rendimiento es menor. Esta tendencia también se observa en el nitrógeno fácilmente asimilable.
2. Tanto la espumabilidad (Hm), como la persistencia de la espuma (Hs) fueron menores en los vinos base procedentes de las cepas de mayor rendimiento. Sin embargo, no hubo diferencias entre los vinos base de baja y media producción.
3. La espumabilidad, Hm, de los vinos espumosos mantuvo la tendencia observada en los vinos base. Por el contrario, la persistencia, Hs, mostró un

comportamiento errático y no coincidente con el observado en los vinos base.

La espumabilidad (Hm) y la persistencia de la espuma (Hs) son parámetros que indican la calidad de un vino espumoso o cava. A partir de los datos encontrados en este trabajo se puede observar que los valores de espumabilidad (Hm) para el rendimiento medio y bajo son muy similares, lo cual quiere decir, que para el viticultor o enólogo será más rentable obtener rendimientos medios que bajos, siendo de esta manera que se obtiene una espumabilidad muy similar.

Este estudio, se irá repitiendo a distintos tiempos de crianza hasta poder establecer unas conclusiones más contundentes.

6. BIBLIOGRAFIA

- (1) Hidalgo, J. (2011). *Tratado de Enología. Volumen I y II. (2ª ed.)*. Madrid: Mundi Prensa.
- (2) Cilindre, C., Liger-Belair, G., Villaume, S., Jeandet, P., & Marchal, R. (2010). Foaming properties of various Champagne wines depending on several parameters: Grape variety, aging, protein and CO₂ content. *Analytica Chimica Acta*, 660(1–2, SI), 164–170. DOI: 10.1016/j.aca.2009.10.021.
- (3) Vanrell, G., Cabanillas, P., Albet, S., Canals, J. M., Arola, L., & Zamora, F. (2002). Étude des composés influençant la mousse des cavas. *Revue Française d'Oenologie*, 196, 3036
- (4) Dressaire, E., Bee, R., Bell, D. C., Lips, A., & Stone, H. A. (2008). Interfacial polygonal nanopatterning of stable microbubbles. *Science*, 320(5880), 1198–1201. DOI: 10.1126/science.1154601
- (5) Schramm, L. L. (2005). *Emulsions, Foams, and Suspensions: Fundamentals and Applications*. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- (6) Esteruelas, M., González-Royo, E., Kontoudakis, N., Orte, A., Cantos, A., Canals, J. M., & Zamora, F. (2015). Influence of grape maturity on the foaming properties of base wines and sparkling wines (Cava). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(10), 2071–2080. DOI: 10.1002/jsfa.6922
- (7) Senée, J., Viaux, L., Robillard, B., Duteurtre, B., & Vignes-Adler, M. (1998). The endogenous particles of a sparkling wine and their influence on the foaming behaviour. *Food Hydrocolloids*, 12(2), 217-226.
- (8) Culbert, J. A., McRae, J. M., Condé, B. C., Schmidtke, L. M., Nicholson, E. L., Smith, P. A., Howell, K. S., Boss, P. K., & Wilkinson, K. L. (2017). Influence of Production Method on the Chemical Composition, Foaming Properties, and Quality of Australian Carbonated and Sparkling White Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(7), 1378– 1386. DOI: 10.1021/acs.jafc.6b05678
- (9) Pérez-Magariño, S., Martínez-Lapuente, L., Bueno-Herrera, M., Ortega-Heras, M., Guadalupe, Z., & Ayestarán, B. (2015). Use of Commercial Dry Yeast Products Rich in Mannoproteins for White and Rosé Sparkling Wine Elaboration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(23), 5670–5681. DOI: 10.1021/acs.jafc.5b01336
- (10) Malvy, J., Robillard, B., Duteurtre, B. (1994). Influence des protéines sur le comportement de la mousse des vins de Champagne. *Science des Aliments*, 14, 87-98.
- (11) Hong, Y. S., Cilindre, C., Liger-Belair, G., Jeandet, P., Hertkorn, N., & Schmitt-Kopplin, P. (2011). Metabolic influence of botrytis cinerea infection in champagne base wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(13), 7237–7245. DOI: 10.1021/jf200664t
- (12) <http://catalogapp.lallemandwine.com/uploads/yeasts/docs/47ea6ee34fcc94890477e4c0e25660d843b19816.pdf>
- (13) <http://www.oiv.int/public/medias/4902/code-2016-es.pdf> (pág.143).
- (14) http://www.acenologia.com/ciencia69_02.htm
- (15) Method OIV-MA-AS313-15 (<http://www.oiv.int/es/normas-y-documentos-tecnicos/metodos-de-analisis>)
- (16) Method OIV-MA-AS313-01 (<http://www.oiv.int/es/normas-y-documentos-tecnicos/metodos-de-analisis>)
- (17) Étude de la tenue et de la qualité de mousse des vins effervescents. Bulletin de l'OIV 711–712:405–426
- (18) The role of soil chemistry in wine grape quality and sustainable soil management in vineyards. Mackenzie and A.G. Christy Department of Earth and Marine Sciences, The Australian National University, Canberra ACT 0200, Australia (E-mail: Doug.Mackenzie@ems.anu.edu.au; andyc@ems.anu.edu.au)
- (19) *Journal of the Science of Food and Agriculture* Volume 98, Issue 1, January 2018, Pages 291-303 Polysaccharides, oligosaccharides and nitrogenous compounds change during the ageing of Tempranillo and Verdejo sparkling wines (Article) Martínez-Lapuente, L. Email

Author, Apolinar-Valiente, R.b, Guadalupe, Z.a, Ayestarán, B.a Email Author, Pérez-Magariño, S.c, Williams, P.b, Doco, T.b View Correspondence ([jump link](#))

(20) Role of major wine constituents in the foam properties of white and rosé sparkling wines Author [linksopenoverlaypanelLeticiaMartínezLapuenteaZenaidaGuadalupeaBelénAyestaránaSilviaPérez-Magariño](#)

(21) De La Presa-Owens C, Lamuela-Raventos RM, Buxaderas S and De La Torre-Boronat MC, Characterization of Macabeo, Xarel.lo, and Parellada white wines from the Penedès Region. II. Am J Enol Vitic 46:529–541(1995).

7. ANEXOS

Tabla 1. Carga productiva según la zonificación.

Subparcela	BLOQUE	Kg/cepa		sig
A	1	2.93	± 0.42	a
	2	3.03	± 0.41	a
	3	3.13	± 0.32	a
	media	3.03	± 0.10	A
B	1	2.58	± 0.46	a
	2	3.14	± 0.18	a
	3	3.02	± 0.34	a
	media	2.91	± 0.29	A
C	1	2.80	± 0.49	a
	2	3.08	± 0.57	a
	3	2.93	± 0.14	a
	media	2.94	± 0.14	A
D	1	3.07	± 0.6	a
	2	2.90	± 0.41	a
	3	2.74	± 0.36	a
	media	2.90	± 0.17	A

(No se aprecian diferencias estadísticamente significativas)

Tabla 2. Clasificación del rendimiento para la subparcela B.

ZONA B	BLOQUE	Kg/cepa		sig
Producción baja	1	1.53	± 0.24	a
	2	1.71	± 0.48	a
	3	1.69	± 0.16	a
	media	1.64	± 0.10	A
Producción media	1	2.58	± 0.46	a
	2	3.14	± 0.18	a
	3	3.02	± 0.34	a
	media	2.91	± 0.29	B
Producción alta	1	4.09	± 0.64	a
	2	5.64	± 1.5	a
	3	4.79	± 0.79	a
	media	4.84	± 0.78	C

(No se aprecian diferencias estadísticamente significativas)

Tabla 5. Parámetros experimentales para la zonificación en vino base.

PARAMETROS MEDIDOS	Subparcela A	Subparcela B	Subparcela C	Subparcela D
Acidez Total (g/TH ₂ /L)	6.85 ± 0.07 ^α	6.60 ± 0.01 ^β	6.50 ± 0.04 ^γ	6.55 ± 0.02 ^γ
pH	2.98 ± 0.01 ^α	2.97 ± 0.01 ^β	3.08 ± 0.02 ^γ	3.03 ± 0.00 ^δ

(Las distintas letras griegas indican diferencias estadísticamente significativas)

Tabla 6. Parámetros experimentales para el rendimiento en vino base.

PARAMETROS MEDIDOS	PESO BAJO	PESO MEDIO	PESO ALTO
Acidez Total (g/TH ₂ /L)	6.85 ± 0.04 ^α	6.60 ± 0.05 ^β	6.78 ± 0.01 ^γ
pH	2.98 ± 0.00 ^α	2.97 ± 0.01 ^α	3.02 ± 0.01 ^β

(Las distintas letras griegas indican diferencias estadísticamente significativas)

Tabla 7. Propiedades espumantes para la zonificación en vino base.

PROPIEDADES ESPUMANTES	Subparcela A	Subparcela B	Subparcela C	Subparcela D
Hm/mm	165.00 ± 15.03 ^α	118.33 ± 0.95 ^β	126.67 ± 3.47 ^β	50.67 ± 19.45 ^γ
Hs/mm	46.67 ± 1.13 ^α	53.33 ± 0.88 ^α	58.33 ± 2.39 ^α	43.33 ± 2.14 ^β

(Las distintas letras griegas indican diferencias estadísticamente significativas)

Tabla 8. Propiedades espumantes para el rendimiento en vino base.

PROPIEDADES ESPUMANTES	PESO BAJO	PESO MEDIO	PESO ALTO
Hm/mm	106.67 ± 0.86 ^α	118.33 ± 4.99 ^α	87.67 ± 5.85 ^β
Hs/mm	45.67 ± 1.06 ^α	53.33 ± 1.65 ^β	47.00 ± 0.59 ^α

(Las distintas letras griegas indican diferencias estadísticamente significativas)

Tabla 11. Propiedades espumantes para la zonificación en vino espumoso.

PROPIEDADES ESPUMANTES	Subparcela A	Subparcela B	Subparcela C	Subparcela D
Hm/mm	62.33 ± 6.10 ^α	36.00 ± 1.18 ^β	37.00 ± 1.53 ^β	33.00 ± 2.73 ^β
Hs/mm	27.33 ± 0.57 ^α	29.33 ± 1.66 ^α	29.66 ± 1.28 ^α	15.33 ± 3.04 ^β

(Las distintas letras griegas indican diferencias estadísticamente significativas)

Tabla 12. Propiedades espumantes para el rendimiento en vino espumoso.

PROPIEDADES ESPUMANTES	PESO BAJO	PESO MEDIO	PESO ALTO
Hm/mm	60.00 ± 1.21 ^α	60.33 ± 1.33 ^α	49.33 ± 2.55 ^β
Hs/mm	24.33 ± 1.22 ^α	14.33 ± 2.32 ^β	24.00 ± 1.10 ^α

(Las distintas letras griegas indican diferencias estadísticamente significativas)