



EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA



EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

ÍNDEX

1.- INTRODUCCIÓ	4
2.- CONCEPTES GENERALS	6
2.1. Els Llevats	7
2.1.1. Característiques morfològiques.....	7
2.1.2. Nutrició	7
2.1.3. Creixement	8
2.1.4. Reproducció	9
2.1.5. Propietats fisiològiques	9
2.1.6. Classificació	9
2.2. Bacteris Làctics	10
2.2.1. Característiques morfològiques.....	10
2.2.2. Nutrició	10
2.2.3. Creixement	11
2.2.4. Reproducció	12
2.2.5. Propietats fisiològiques	12
2.2.6. Classificació	12
2.3. Bacteris Acètics.....	13
2.3.1. Característiques morfològiques.....	13
2.3.2. Nutrició	13
2.3.3. Creixement	13
2.3.4. Reproducció	13
2.3.5. Propietats fisiològiques	13
2.4. La Vinya.....	14
2.4.1. Morfologia	14
2.4.2. La Fil·loxera.....	14
2.4.3. Cicle de la vinya.....	14
2.4.4. Geografia.....	15
2.5. El Vi	16
2.5.1. El raïm.....	16
2.5.2. Vinificació.....	16
2.5.3. Factors determinants d'un vi.....	18
2.5.4. Tipus de vins	18
2.6. La Fermentació.....	19
2.6.1. Fermentació Malolàctica	20
2.6.1.1. Mecanisme bioquímic.....	20
2.6.1.2. Factors que influeixen en la fermentació malolàctica.....	20
2.6.1.3. Aplicacions	21
2.6.2. Fermentació Alcohòlica	22
2.6.2.1. Mecanisme bioquímic.....	22
2.6.2.2. Factors que influeixen en la fermentació alcohòlica.....	24
2.6.2.3. Aplicacions	25

EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

2.7. L'Acetificació	26
2.7.1. Mecanisme bioquímic.....	26
2.7.2. Aplicacions	26
2.7.2. Factors que influeixen en l'acetificació	26
3. PART EXPERIMENTAL.....	27
3.1. Fonament.....	28
3.2. Material	28
3.3. Procediment.....	29
3.4. Seguiment de la fermentació alcohòlica.....	33
3.5. Gràfics comparatius de la velocitat de la fermentació.....	34
3.5.1. Comparació intensitat fermentació segons temperatura.....	34
3.5.2. Comparació intensitat fermentació segons tipus de llevat	35
3.5.3. Comparació de la velocitat de la fermentació segons el tipus most.....	36
3.6. Comparació de la influència de les 3 variables d'estudi	37
3.6.1. Objectiu.....	37
3.6.2. Anàlisi gràfic.....	37
3.6.2.1. Fonament	37
3.6.2.2. Comparació de la influència entre temperatura i soca de llevat	37
3.6.2.3. Comparació de la influència entre temperatura i most	38
3.6.2.4. Comparació de la influència entre soca de llevat i most.....	38
3.6.3. Anàlisi numèric	39
3.6.3.1. Fonament	39
3.6.3.2. Procediment de l'anàlisi numèric	39
3.6.4. Resultats finals	40
3.7. Finalització de la fermentació alcohòlica.....	41
3.8. Determinació de les mostres mitjançant valoracions	42
3.8.1. Fonament.....	42
3.8.2. Material	42
3.8.3. Preparació de la dissolució 0,1M de NaOH	42
3.8.4. Procediment de la valoració d'àcid-base.....	43
3.9. Anàlisi de mostres de colònies de microorganismes.....	46
3.9.1. Objectiu	46
3.9.2. Preparació de les mostres.....	46
3.9.3. Observació de les mostres al microscopi.....	47
4. CONCLUSIONS	48
5. ANNEXOS.....	51
5.1. Taules de seguiment diari del pes de les 24 preparacions	52
6. BIBLIOGRAFIA.....	64

EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

1.- INTRODUCCIÓ

L'afirmació categòrica de Pasteur en el seu “Estudi del Vi” de 1876 sobre la influència determinant que el llevat té sobre les qualitats finals del vi, ha fomentat una creixent activitat investigadora de selecció de soques de llevat amb caràcter enològic específic definit.

En els últims 20 anys, l'ús estès de llevats seleccionats ha fet la fermentació més rendible i ha millorat la qualitat general dels vins.

Gràcies a la varietat de soques de llevat comercialment disponibles, l'enòleg té accés, avui dia, a una àmplia selecció d'eines per al control de la fermentació alcohòlica.

Però, tot i les innombrables solucions ofertes als professionals, s'utilitza generalment en celler, només el gènere *Saccharomyces*.

La fermentació alcohòlica és doncs, el procés catabòlic en el qual no intervé la cadena respiratòria i transforma l'àcid pirúvic en etanol i diòxid de carboni.

Aquest treball de recerca es basarà en el seguiment de la fermentació alcohòlica i de la influència de diferents variables en aquest procés.

Degut a la gran importància que tenen els llevats en el món de la enologia; molt apreciat actualment; s'ha decidit dur a terme una investigació sobre la influència d'aquests en la fermentació alcohòlica.

Aquest procés, però, també rep la influència de diversos factors com el substrat utilitzat o la temperatura de la reacció.

Es pretén observar com varia la velocitat de la fermentació alcohòlica segons les variables de la temperatura, el tipus de most emprat com a substrat, i la soca de llevat que realitzarà la fermentació.

Per realitzar el seguiment de la fermentació alcohòlica les variables a tenir en compte seran:

- Primer, s'utilitzaran dos tipus de mosts: un de raïm blanc (de varietat Moscatell) i l'altre de raïm negre (de varietat Red Globe).
- En segon lloc, també s'utilitzaran dues soques de llevats: una de comercial (marca Levital) i l'altre de laboratori.
- Finalment, es realitzaran les fermentacions a dues temperatures: una òptima (25°C) i l'altre més baixa (13°C).

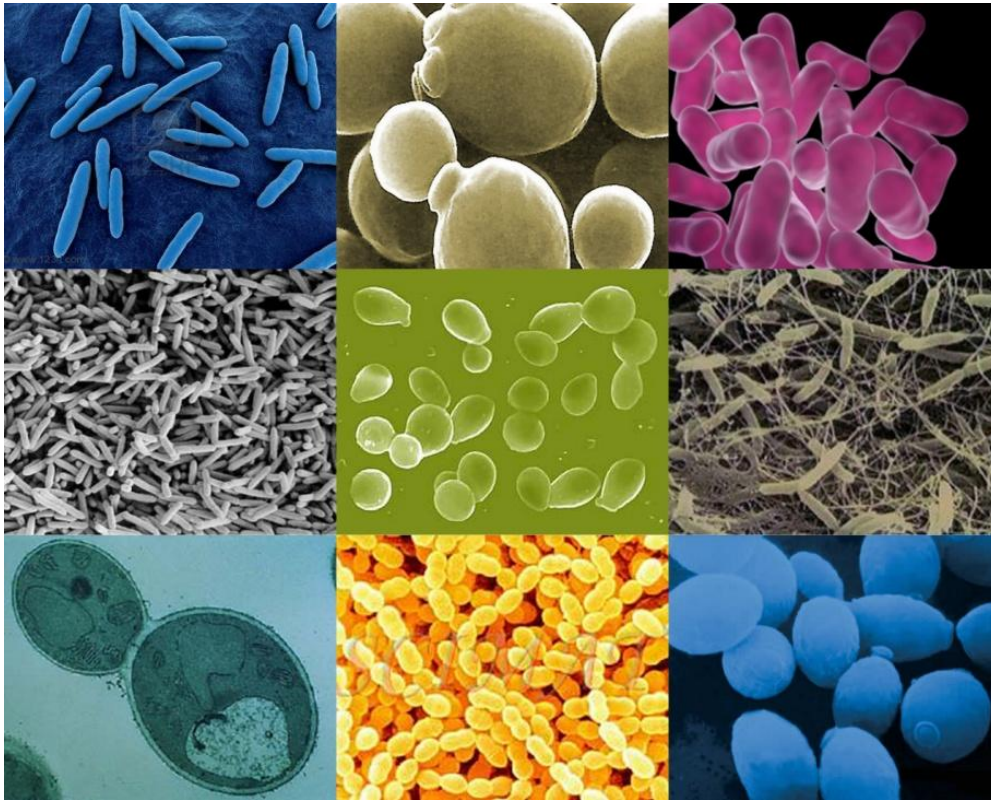
El seguiment de la velocitat de la fermentació alcohòlica es farà mesurant la pèrdua de pes de cadascuna de les mostres. Aquesta pèrdua ve donada per la transformació dels sucres del substrat en etanol i CO₂ que es desprèn.

Un cop obtinguts els resultats, es realitzaran gràfics de l'evolució de la fermentació en les mostres i es compararan.

EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

La finalitat d'aquest projecte és verificar o falsejar les següents hipòtesis sobre la variació de la velocitat de la fermentació alcohòlica segons les variables d'estudi:

1. Respecte a la influència de la varietat de soca de llevat utilitzada s'espera que:
 - Com que la soca comercial està preparada per ser utilitzada en la indústria aguantarà qualsevol estrès (una major concentració d'etanol, canvis de temperatura...).
 - I, en ser de gran interès industrial, haurà estat seleccionada perquè no produeixi parades de fermentació.
 - En canvi, la soca de laboratori, és més dèbil ja que ha estat seleccionada per poder estudiar amb facilitat les seves reaccions davant l'estrès. Per tant, li costarà aguantar l'estrès provocat per canvis de temperatura.
2. La fermentació alcohòlica es produirà a una major velocitat a més temperatura. Això succeirà ja que és més òptima per el llevat una temperatura de 25°C que una de 13°C. Tot i això, cal tenir en compte que un augment de la temperatura afavoreix les reaccions químiques dins d'un límit.
3. Respecte al tipus de most utilitzat s'espera que:
 - En el most que contingui una major quantitat de sucres; majoritàriament glucosa i fructosa; la fermentació serà més ràpida ja que hi haurà més substrat per reaccionar.
 - També, que aquest most que presentarà més sucre serà el que finalment aconsegueixi un major grau alcohòlic.



2.- CONCEPTES GENERALS

EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

2.1. ELS LLEVATS

Els llevats són fongs microscòpics, eucariotes i unicel·lulars. Són importants per la seva capacitat per realitzar la fermentació de sucres, produint CO₂, etanol, aroma, etc.



Llevat *Saccharomyces cerevisiae*

Els llevats són anaeròbics facultatius, això vol dir que si hi ha oxigen, respiraran, ja que obtindran més energia que fermentant¹. En canvi, si es troben en anaeròbisi, fermentaran.

Per les grans indústries seria molt difícil tenir una anaerobiosi total (que a més no es bona pels llevats ja que necessiten O₂ per sintetitzar tots els lípids de la membrana), per això es beneficien de “l’efecte Crabtree” del llevat.

Aquest efecte és una capacitat del llevat que; si es troba en un medi amb una elevada concentració de sucres, enlloc de respirar, fermentarà tot i que estigui en aerobiosi. Aquest mecanisme es basa en que tot i que fermentant s’obtingui menys energia que fent la respiració, com que hi ha tant de sucre no li cal fer un major esforç.

Cal destacar la importància del llevat *Saccharomyces cerevisiae*, el qual és apreciat en el món industrial degut al seu gran aguant en condicions adverses, cosa que comporta que hi hagi menys parades fermentatives.

A més, també és un model molt bo per treballar al laboratori perquè presenta una gran facilitat a l’hora de modificar el seu genoma i creix ràpid i fàcilment.

2.1.1. CARACTERÍSTIQUES MORFOLÒGIQUES

L’estructura cel·lular és de tipus eucariòtica. La seva estructura consta de: la membrana cel·lular, el citoplasma, els mitocondris, els vacúols, els glòbuls de grassa i els grànuls; els quals poden ser d’albúmina o de midó.

El tamany dels llevats pot variar enormement depenent de l’espècie i la soca, típicament mesuren uns 3 o 4 µm de diàmetre, encara que algunes poden arribar a més de 40µm.

2.1.2. NUTRICIÓ

Els llevats són generalment cultivats al laboratori en medis de creixement sòlids i líquids.

Són quimioorganòtrofs ja que utilitzen compostos orgànics com a font d’energia.

Els sucres són la font energètica més apropiada pels llevats.

El carboni es obtingut sobretot de glúcids hexoses com la glucosa i la fructosa i alguns disacàrids com la sacarosa i la maltosa.

¹ La respiració aeròbica aporta 38ATP, mentre que la fermentació tan sols aporta 2ATP.

EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

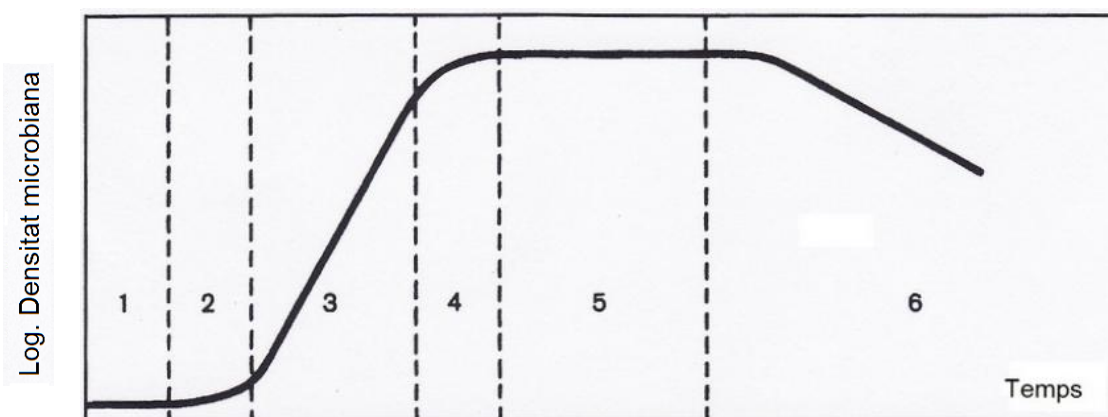
A diferència dels bacteris, no hi ha cap espècie de llevat que sigui completament anaerobi, ja que sempre continuen utilitzant mètodes aeròbics de producció d'energia.

2.1.3. CREIXEMENT

El cicle de creixement dels llevats es pot dividir en les següents sis fases de desenvolupament:

1. Fase de latència: La població dels llevats no augmenta ja que no es produeixen multiplicacions cel·lulars. És la fase d'adaptació al medi fermentatiu.
2. Fase d'acceleració: Els llevats comencen a multiplicar-se, trobant-se amb una població d'unes 10^5 cel./ml. Aquesta fase juntament amb l'anterior transcorre en unes 24 hores; depenent de la temperatura; i acaba quan el most es satura de CO_2 .
3. Fase de creixement exponencial: La població de llevats creix exponencialment.
4. Fase de ralentització del creixement: Correspon a quan, degut als factors limitants del medi fermentatiu, la població de llevats deixa de créixer. Pràcticament la totalitat de les cèl·lules són vives i, per tant, actives.
5. Fase estacionaria: Els llevats no es multipliquen, per tant, el seu creixement és nul. La població resta estacionada i activa durant cert temps.
6. Fase de mort cel·lular: Transcorre durant un temps 3 o 4 vegades més llarg que el de la fase de creixement. La població de llevats totals disminueix lleugerament, però és el nombre de llevats vius el que sofreix una important reducció, acabant així la fermentació.

En el següent gràfic es representa el cicle de creixement dels llevats:



- | | |
|-----------------------------------|---------------------------|
| 1. Fase de latència | 4. Fase de ralentització |
| 2. Fase d'acceleració | 5. Fase estacionaria |
| 3. Fase de creixement exponencial | 6. Fase de mort cel·lular |

EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

2.1.4. REPRODUCCIÓ

Els llevats es reproduïxen asexualment per gemmació o brotació i sexualment mitjançant ascòspores o basidiòspores.

Durant la reproducció asexual, una gemma sorgeix del llevat mare quan es donen les condicions adequades, després d'això la gemma se separa de la mare en arribar a la grandària necessària; d'uns 40µm aproximadament.

En condicions de manca de nutrients els llevats que són capaços de reproduir-se sexualment formaran ascòspores.

2.1.5. PROPIETATS FISIOLÒGIQUES

Les diferents espècies de llevats poden ser molt diferents en quant a la seva fisiologia.

Els llevats són cèl·lules sense aigua, de manera que necessiten d'humitat per créixer i desenvolupar-se, ja que sinó els seus enzims perdrien la seva funcionalitat per assecament. La temperatura òptima dels llevats està al voltant dels 25°C.

El pH òptim pels llevats és el neutre. Tot i això també poden resistir un pH més àcid o més bàsic.

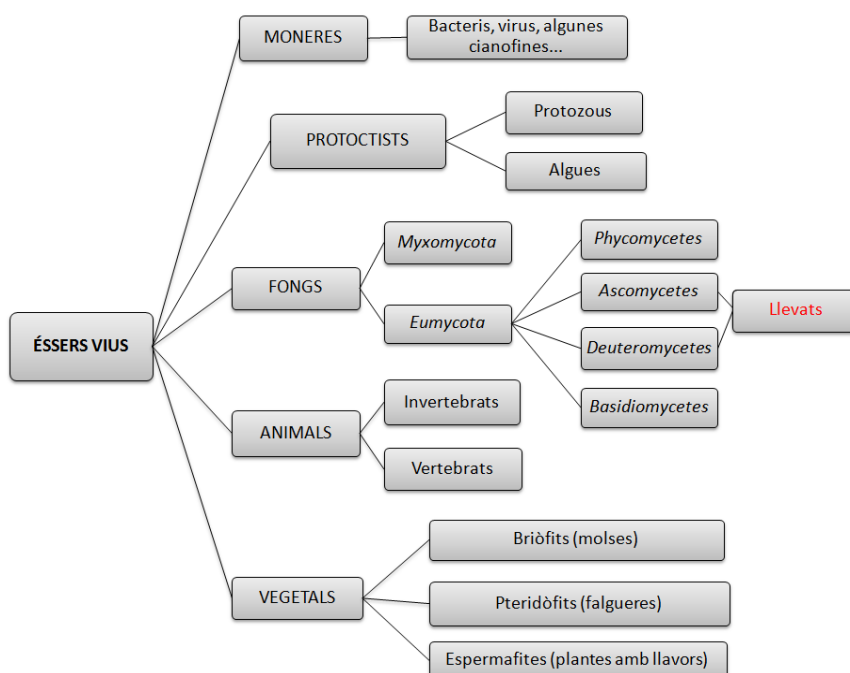
2.1.6. CLASSIFICACIÓ

La classificació dels llevats és complexa, no obstant el desenvolupament de noves tècniques basades en Biologia Molecular, ha permès separar o reagrupar espècies.

Els llevats pertanyen al Regne dels Fongs i dins d'aquest a la divisió *Eumicota* que agrupa als fongs vertaders.

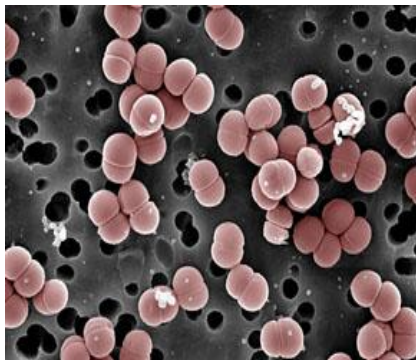
En aquesta divisió, els llevats s'inclueixen en dos de les cinc subdivisions dels *Eumicotas*, la *Ascomycotina*; representada pels llevats capaços de produir ascòspores; i la *Deuteromycotina*; representada pels llevats incapaços de formar espores no esporògenes.

A part, els llevats poden ser classificats per sota dels taxons de gènere i espècie en subespècies i varietat.



2.2. BACTERIS LÀCTICS

Els bacteris làctics (BL) són organismes unicel·lulars procariotes, és a dir, que no disposen de nucli cel·lular diferenciat, sinó que l'ADN es troba en el mateix citoplasma en forma de cromatina.



Bacteris làctics en forma de coc.

Aquests bacteris estan presents en un gran nombre de transformacions alimentaries, mitjançant fermentacions làctiques (iogurts, formatges, vi, olives, etc).

En el cas del vi produeixen la fermentació malolàctica que produeix una reducció de la acidesa del vi, la qual cosa millora la seva qualitat organolèptica reduint-ne l'astringència i obtenint així un gust més suau.

2.2.1. CARACTERÍSTIQUES MORFOLÒGIQUES

L'estructura cel·lular és de tipus procariota.

Són microorganismes cel·lulars Gram positiu², catalasa negatius i generalment immòbils. Presenten una gran tolerància a l'acidesa i, a més, no formen espores.

La seva estructura consta de: la paret cel·lular externa, la membrana plasmàtica, el citoplasma i l'ADN.

Formen petites colònies de 10^3 cel/ml i poden presentar-se en forma de cocs o bacils.

2.2.2. NUTRICIÓ

Els bacteris làctics són quimioorganòtrofs ja que obtenen l'energia necessària del metabolisme d'oxidació dels compostos químics, destacant entre ells els sucres i determinats àcids orgànics.

Tenen una capacitat força limitada a l'hora de sintetitzar els components nutritius que necessiten. Es per això que moltes de les seves necessitats han de ser subministrades per el seu medi de creixement.

Els bacteris làctics poden utilitzar dues vies catabòliques:

- Heterofermentativa: produeix àcid làctic, àcid acètic i CO_2 .
- Homofermentativa: produeix àcid làctic.

² Són aquells microorganismes que es tenyeixen de blau amb tinció de Gram.

EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

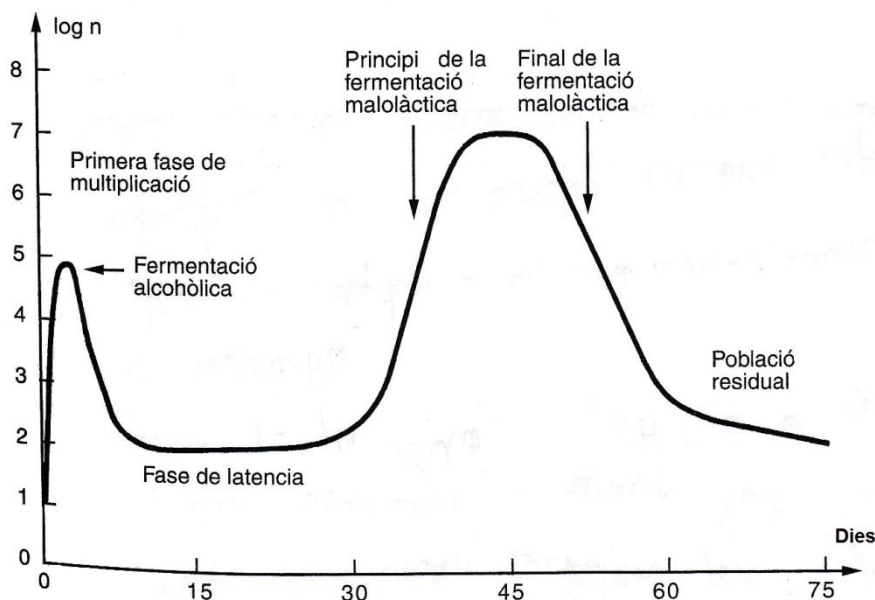
2.2.3. CREIXEMENT

Els bacteris làctics es troben presents en el raïm en colònies de 10^2 cel/gram.

El cicle de creixement dels bacteris làctics es pot dividir en les següents sis fases de desenvolupament:

1. Primera multiplicació: Quan el raïm es passat a most, els bacteris làctics es desenvolupen activament, mentre que els llevats encara es troben en la fase de latència.
2. Primera fase de mort cel·lular: Un cop s'inicia la fermentació alcohòlica i la població de llevats es troba en fase de creixement exponencial, els bacteris làctics es redueixen en nombre fins unes 10^2 cel/ml.
3. Fase de latència: En acabar la fermentació alcohòlica, la població de bacteris làctics roman estancada durant un període de 10 a 15 dies.
4. Segona multiplicació: Els bacteris làctics més ben adaptats a medis alcohòlics i àcids comencen a multiplicar-se exponencialment. En aquest punt s'inicia la fermentació malolàctica.
5. Segona fase de mort cel·lular: En acabar la fermentació malolàctica, la supervivència dels bacteris làctics dependrà de les condicions del medi.

En el següent gràfic es representa el cicle de creixement dels bacteris làctics en la producció del vi:



EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

2.2.4. REPRODUCCIÓ

Els bacteris làctics es reproduïxen per escissió, dividint-se en dos cèl·lules filles pràcticament del mateix tamany.

En el procés de reproducció es produeix una divisió amb duplicació del cromosoma. D'aquesta manera s'obtenen dos cromosomes, un per cada cèl·lula.

Al mateix temps, a la zona central de la cèl·lula es forma progressivament un tàbic o septe amb la mateixa constitució que la paret cel·lular externa, la qual acaba separant el bacteri en dues parts iguals.

2.2.5. PROPIETATS FISIOLÒGIQUES

Les diferents espècies de bacteris làctics poden ser molt diferents en quant a la seva fisiologia, sobretot respecte els efectes en la presència d'etanol.

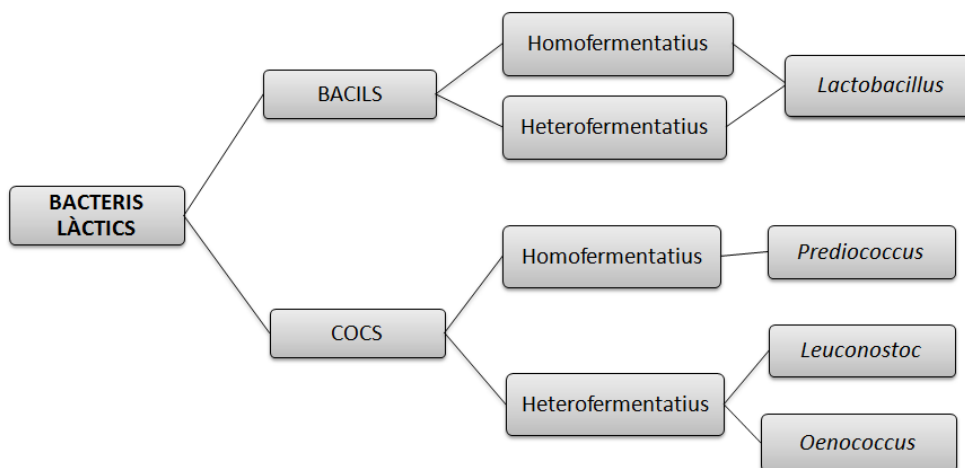
La majoria presenten un pH òptim de 4,5 i una temperatura òptima d'entre 20°C i 25°C.

2.2.6. CLASSIFICACIÓ

Els bacteris làctics pertanyen al regne de les Moneres i es classifiquen segons la seva forma en cocs o bacils.

A partir d'aquesta primera classificació es difereixen segons les seves vies catabòliques entre els Homofermentatius i els Heterofermentatius.

Cal destacar els gèneres *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus* i *Pediococcus*, els quals es poden trobar en la superfície del raïm i que per tant intervenen en el procés d'obtenció del vi.

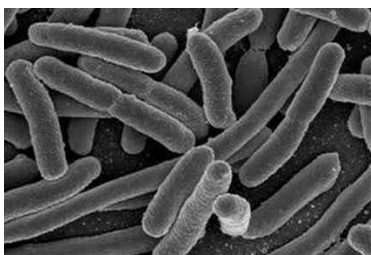


EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

2.3. BACTERIS ACÈTICS

Els bacteris acètics pertanyen a la família dels *Acetobacteraceae*, dins del qual existeixen dos gèneres:

1. *Acetobacter*: són capaços d'oxidar l'àcid làctic en etanal i àcid acètic.
2. *Gluconobacter*: no són capaços d'oxidar l'àcid làctic en etanal i àcid acètic.



Bacteri acètic *Acetobacter*

Els bacteris acètics tenen una gran importància en la indústria ja que s'utilitzen per a la fabricació de vinagre.

En l'àmbit de l'enologia, es pot produir una contaminació per part del gènere *Acetobacter*, fent malbé el vi. Es per això que tractarem especialment aquest gènere.

2.3.1. CARACTERÍSTIQUES MORFOLÒGIQUES DEL GÈNERE *ACETOBACTER*

Són microorganismes cel·lulars procariotes Gram negatiu, aeròbics, en forma de bacil i mòbils. Presenten una gran tolerància a l'acidesa.

2.3.2. NUTRICIÓ DEL GÈNERE *ACETOBACTER*

Es tracta de microorganismes quimioorganòtrofs ja que obtenen l'energia necessària del metabolisme d'oxidació de l'etanol cap àcid acètic i etanal.

2.3.3. CREIXEMENT DEL GÈNERE *ACETOBACTER*

Els bacteris acètics del gènere *Acetobacter* es troben en els grans de raïm en un nombre superior al dels bacteris làctics. ($>10^2$ cel/ml).

Quan es du a terme la fermentació alcohòlica del most d'aquest raïm, el nivell de la població de bacteris acètics disminueix fins a 10^2 o 10^3 cel/ml.

Un cop acabada la fermentació alcohòlica, si el vi es airejat o roman en contacte amb l'aire, els bacteris acètics es poden multiplicar produint una alteració coneguda com "picatge del vi". D'aquesta manera, es desenvolupa un vel a la superfície del vi per acumulació de bacteris, el qual es podria arribar a endinsar cap al fons del recipient formant un sediment anomenat "mare del vinagre".

2.3.4. REPRODUCCIÓ DEL GÈNERE *ACETOBACTER*

Es reproduïxen de la mateixa manera que els bacteris làctics, mitjançant l'escissió de les seves cèl·lules.

2.3.5. PROPIETATS FISIOLÒGIQUES DEL GÈNERE *ACETOBACTER*

Aquests bacteris es desenvolupen amb facilitat a temperatures altes (entre 20° i 26°C), baixes concentracions d'alcohol (menor al 10%), absència de diòxid de sofre i presència d'oxigen.

EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

2.4. LA VINYA

La vinya és una planta del gènere *Vitis vinífera* originària d'Àsia i actualment difosa per tots els països mediterranis.

La *Vitis vinífera* és una Angiosperma de gran importància econòmica degut a la seva producció de raïm, el qual és apreciat per ser la matèria primera del vi i per les seves propietats nutritives.

A més, tant el seu fruit com les seves fulles i saba posseeixen propietats medicinals.

2.4.1. MORFOLOGIA

És una planta arbustiva amb unes fulles simples lleugerament palmades, anomenades pàmpols.

El tronc es poda perquè no creixi excessivament, d'aquesta manera tot i haver-hi menys raïm, aquest presentarà un major contingut de sucre degut a la poca quantitat de fruits que hi ha per repartir.

És extremadament resistent; aguanta temperatures molt baixes a l'hivern, calors molt fortes a l'estiu; i necessita un mínim d'aigua i d'elements minerals per sobreviure.

El fruit; el raïm; està madur des de la darrerria d'agost fins al novembre. De raïm n'hi ha de blanc o de negre, segons la pigmentació de la pell, la qual determinarà el color del vi.

2.4.2 LA FIL·LOXERA

La fil·loxera és un petit insecte que s'alimenta de les arrels dels ceps de la vinya.

A causa de la terrible epidèmia que va entrar a Europa al segle XIX, els investigadors van descobrir que les arrels del cep americà, degut a que creix de manera salvatge, són més dures, reforçades i resistents a les mossegades d'aquest insecte.

És per això que des de llavors, per evitar que la fil·loxera ataquí el cep, a totes les vinyes d'Europa es fan empelts dels ceps autòctons amb el cep americà, el qual no altera les propietats dels ceps autòctons.

2.4.3. CICLE DE LA VINYA

A les zones vinícoles, el cicle de la vinya s'inicia amb el repòs de l'hivern que segueix a la collita. Amb l'arribada del fred es paralitza gairebé tota l'activitat de la vinya. A partir d'aquí serà convenient procedir a la poda dels ceps.

Convé escollir en cada cep les branques més fortes i joves i eliminar amb un tall de tisora podadora les branques velles que l'any anterior van suportar la formació dels fruits.

Procedint la poda dels ceps es llaura el terreny mitjançant tractors i arades especials. Es fa una llaurada fonda per esponjar³ i airejar la terra i s'aporta terra cap als troncs dels ceps amb la finalitat de protegir-los una mica del fred ambiental.

A continuació s'adoba la vinya per restablir un equilibri correcte entre els elements minerals i orgànics necessaris per a la fisiologia dels ceps.

³ Fer porós o més porós

EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

Finalment en els mesos finals de l'hivern té lloc la plantació de nous ceps. Prèviament s'haurà de realitzar les tasques de desinfecció per eliminar els cucs transportadors de virus, fer una llaurada fonda per remoure, esponjar i airejar el sòl, fer un adobat de fons, anivellar la terra i marcar l'emplaçament dels ceps

En aquesta època de l'any també es fan els empelts sobre els ceps joves plantats un o dos anys abans. L'empeltada del peu (arrels) amb un cep americà es fa per evitar que la fil·loxera perjudiqui el cep.

Amb l'arribada de les primeres calors primaverals es torna a posar en funcionament el cicle. És ara quan el cep comença la brotada.

Durant la primavera s'ensofra i s'ensulfata el cep per defensar-lo de l'atac dels paràsits, especialment dels fongs oïdium i míldiu.

Al maig comença la floració. Després de la floració es fa l'esporgada, que són les esporgues en verd. El procés consisteix a eliminar els brots que sobren, perquè els altres creixin millor, o algunes fulles, perquè les plantes estiguin més airejades i rebin millor la llum del sol.

Si l'estiu és sec i assolellat, els ceps i els fruits creixeran sense gaires contratemps.

Finalment, a la darrereria d'agost comença la verema, quan en el raïm existeix un equilibri acceptable entre sucres i àcids i, per tant, ja es pot recolectar.

2.4.4. GEOGRAFIA

Cal parlar de l'existència d'uns límits geogràfics molt definits per al conreu de la vinya al món. Com es pot observar en el mapa, les àrees de cultiu de la vinya es troben establertes principalment entre les latituds de 30° i 50°, en ambdós hemisferis.

La raó que determina aquests límits del cultiu de la vinya és la climatologia. Per exemple, en el nostre hemisferi, per damunt dels 50° de latitud el clima és massa fred; la vinya demana un grau heliotèrmic⁴ mínim que li és indispensable.

Però també existeix un màxim, i per sota dels 30° de latitud el clima és massa tòrrid i el conreu de la vinya hi és impossible.



⁴ És la suma de la quantitat de radiació solar que la vinya rep en un any.

2.5. EL VI

El vi és una beguda obtinguda del raïm (varietat *Vitis vinífera*) mitjançant la fermentació alcohòlica del most o suc de raïm.

No obstant, el vi és la suma d'un conjunt de factors ambientals: clima, latitud, alçada, hores de llum, etc.

2.5.1. EL RAÏM

El raïm és l'element essencial per l'elaboració del vi. El raïm a partir del qual es produeix el vi pertany a la família biològica coneguda com *Vitaceae*, que és una classificació de plantes amb tendència a enfilar-se per les superfícies fixes.

Aquesta família posseeix 11 gèneres diferents, però tan sols la *Vitis* és interessant com a fruita vitivinícola.

Ara bé, al llarg de la història del cultiu de l'espècie *Vitis vinífera*, l'home ha donat lloc a una gran quantitat de varietats amb l'objectiu d'obtenir aromes, gustos, etc.

D'aquesta manera, es tenen els vins elaborats amb raïm de diferents varietats dins de l'espècie *Vitis vinífera*, com poden ser per exemple: el verdejo, el merlot, el chardonnay, etc.

2.5.2. VINIFICACIÓ

El procés de vinificació es pot dividir en les següents 6 fases:

1. **Verema:** El raïm s'ha de collir quan s'ha aconseguit el grau de maduració que es necessari, el qual dependrà de la zona, tipus de raïm, climatologia, i del tipus de vi que es vulgui elaborar.
2. **Premsat:** Primerament se sol passar per un procés previ de neteja portant la vegetació i els raspons⁵.
A continuació es du a terme el premsat, en el que s'utilitzen premses pneumàtiques hermèticament tancades en les quals la delicadesa del premsat permet una menor extracció de substàncies desitjades i el màxim respecte per les qualitats intrínseques del raïm.
3. **Fermentació:** La fermentació alcohòlica és el procés de l'elaboració del vi. Aquest procés, té com principal efecte la conversió dels sucres del most en alcohol etílic i diòxid de carboni.
L'organisme capaç d'elaborar la fermentació són els llevats del gènere de les *Saccharomyces* i les espècies més abundants són la *S. cerevisiae* i la *S. bayanus*. La fermentació es fa en recipients (avui dia en cubes d'acer inoxidable) i passa per les quatre fases de creixement del llevat⁶.

⁵ Són les tiges dels grams de raïm.

⁶ Referència a l'apartat 2.1.3. Creixement dels llevats a la pàgina 8.

EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

Tot i això cal diferenciar entre la fermentació de most de raïm blanc i la fermentació de most de raïm negre:

- FERMENTACIÓ DE MOST DE RAÏM BLANC:

En aquest cas el most obtingut del premsat es deixa reposar o es centrifuga abans de la fermentació perquè es preclarifiqui; acte seguit es trasllada a la cuba de fermentació.

La fermentació principal requereix d'uns 15°C com a màxim perquè així el vi conservi els seus aromes, els quals són molt apreciats en el vi blanc.

Acabada aquesta, es produeix una refermentació de curs molt més lent i tranquil que motiva la completa fermentació del sucre residual.

- FERMENTACIÓ DE MOST DE RAÏM NEGRE:

En aquest cas, perquè el vi adquireixi el seu color característic la fermentació es realitza amb el pelatge del raïm, el qual conté un pigment roig, conjuntament amb el most d'aquest.

El most del vi negre es deixa fermentar a temperatures més altes (20-25°C) que el vi blanc. La fermentació és, per tant, més ràpida.

Finalment, tant aviat com el pes específic del most descendeixi notablement, es condimenta i es premsa altre cop. A continuació el vi jove es trasllada a un depòsit lleugerament aforat, on la fermentació conclueix.

4. **Criança:** Una vegada acabada la fermentació alcohòlica es pot produir una segona transformació denominada fermentació malolàctica, conduïda per bacteris làctics que transformen l'àcid màlic en àcid làctic, alhora que augmenten els polifenols i el glicerol. Tot això vol dir que el vi perd acidesa i astringència⁷, i guanya en suavitat i aroma.

Addicionalment es pot envellir el vi durant algun temps en bótes de fusta. L'intercanvi d'aromes entre el vi i la fusta li confereix a aquest uns trets més complexos; sobretot aromàtics.

Els períodes de cria en bóta poden anar des dels tres mesos a un parell d'anys, i rarament més temps, almenys en el cas dels vins negres. Els rosats estan habitualment un mes o fins a tres mesos com a molt.

5. **Embotellat:** Després de la cria en bótes el vi s'embotella i l'evolució del vi continua en la botella.
6. **Addicions:** Als vins de zones no temperades, com Alemanya o el nord de França, és habitual afegir sucre al procés de vinificació.

⁷ És una sensació de sequedat i rugositat experimentada, en major o menor grau, després de tastar la major part de vins negres.

EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

2.5.3. FACTORS DETERMINANTS D'UN VI

Des d'un punt de vista tècnic, hi ha quatre factors determinants de les característiques d'un vi:

1. La climatologia que, en general, ve determinada per la latitud o per la situació geogràfica de la zona de producció, l'altitud sobre el nivell del mar (a mesura que augmenta l'altitud les temperatures nocturnes són inferiors), i els vents.
2. El cep o vinya, que pot ser un cep noble que produeixi poca quantitat de raïm, però d'una gran qualitat, o bé una vinya ordinària que produeixi gran quantitat de most, però de més baixa qualitat.
3. El sòl, i més concretament, la composició del terreny on es planta la vinya. És curiós de constatar la gran diferència que hi ha a vegades en una mateixa vinya, entre una parcel·la i una altra. Els vins produïts en ambdues parcel·les són diferents i, tanmateix, estan exposats a la mateixa climatologia i són produïts pels mateixos ceps...
La diferència resideix en què, en pocs metres, el terreny pot variar de manera notable.
4. Finalment, les pràctiques culturals i enològiques que l'home, dins la mesura de les seves possibilitats, aplica als cultius de la vinya i, posteriorment, a l'elaboració i criança dels vins.

2.5.4. PRINCIPALS TIPUS DE VINS

- Vi negre: és l'elaborat a partir de raïm negre.
La fermentació s'ha de realitzar amb el most sense filtrar (amb pellofes), i només una vegada acabada la fermentació es procedeix al filtrat. El vi negre es pot envellir, i en funció del temps que passi en bótes i en botelles, se sol classificar en:
 - Vi jove: menys de sis mesos en bóta.
 - Criança: almenys sis mesos en bóta i un altre tant en botella.
 - Reserva: almenys un any en bóta i dos en botella.
 - Gran Reserva: més d'un any en bóta i més de dos en botella.
- Vi blanc: es pot elaborar amb raïm blanc o negre, en aquest segon cas separant el most de la pellofa immediatament, perquè no li doni color. En general la fermentació es realitza amb most filtrat (separat de pellofes, llavors, "raspons"⁸, etc.), i encara que no és freqüent envellir-ho, hi ha vins blancs amb criança.
- Vi rosat: són vins elaborats amb raïm negre en què es permet una certa maceració del raïm abans del premsat del most, d'aquesta manera el most pren una mica de color. Després es fermenta el most filtrat.
- Vermut: és la beguda en l'elaboració de la qual entra a formar part el vi, amb addició de sucre o most de raïm concentrat i extractes o aromes obtingudes de plantes aromàtiques.

⁸ Són les tiges dels grams de raïm.

EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

2.6. LA FERMENTACIÓ

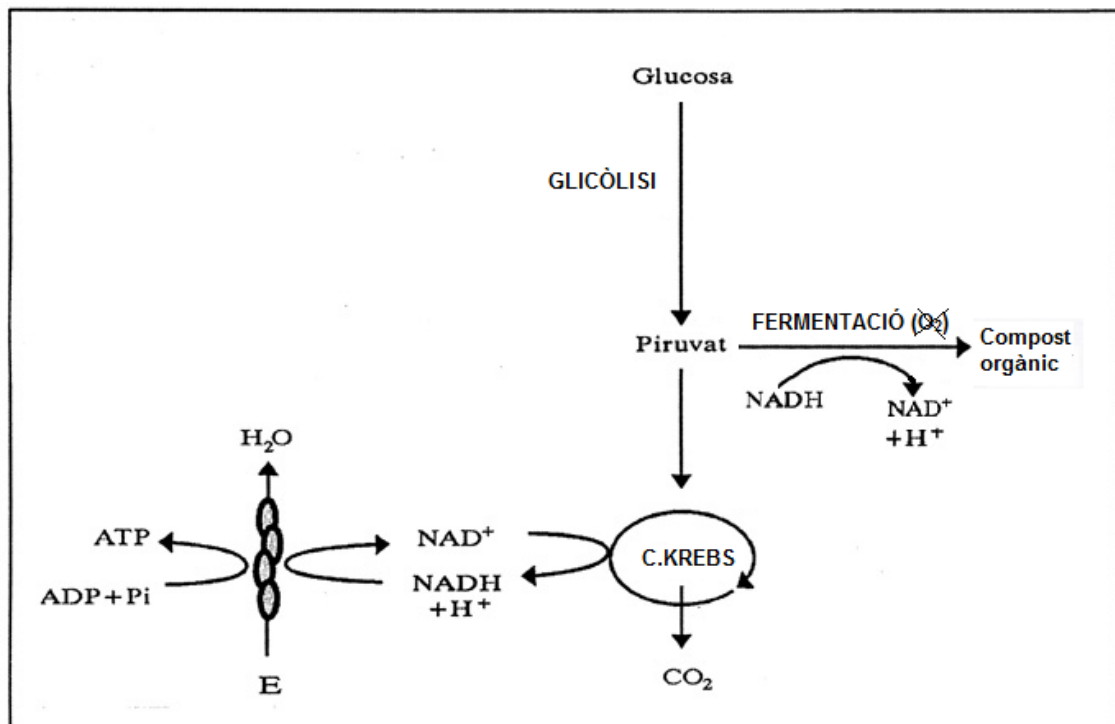
La fermentació és un procés catabòlic anaeròbic, sent el producte final un compost orgànic. Aquest producte final és el que caracteritza els diversos tipus de fermentacions. Les principals fermentacions són la làctica, l'alcohòlica, la pútrida i la butírica.

La fermentació va ser descoberta per Louis Pasteur, que la va descriure com la *vie sans l'air* (la vida sense l'aire).

El procés de fermentació és anaeròbic ja que es produeix en absència d'oxigen; això significa que l'acceptor final dels electrons del NADH produït en la glicòlisi no és l'oxigen, sinó un compost orgànic que es reduirà per a poder reoxidar el NADH a NAD^+ .

El compost orgànic que es redueix (acetaldehid, piruvat, ...) és un derivat del substrat que s'ha oxidat anteriorment.

Des del punt de vista energètic, les fermentacions són molt poc rendibles si es comparen amb la respiració aeròbica, ja que a partir d'una molècula de glucosa només s'obtenen 2 molècules d'ATP, mentre que en la respiració es produeixen 38 molècules d'ATP. Això es deu a l'oxidació del NADH, que en lloc de penetrar en la cadena respiratòria, cedeix els seus electrons a compostos orgànics amb poc poder oxidant.



EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

2.6.1. FERMENTACIÓ MALOLÀCTICA

La fermentació malolàctica és el procés pel qual l'àcid màlic es transforma en àcid làctic per mitjà de bacteris làctics. A part, es desprèn diòxid de carboni.

En el procés es requereix de nutrients específics, tals com la vitamina B i diversos aminoàcids.

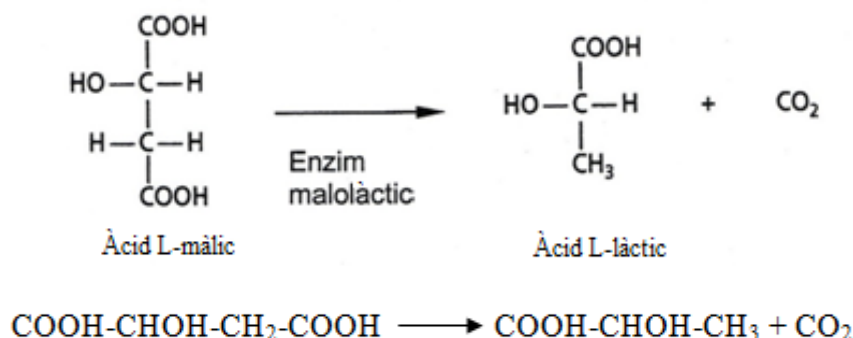
En l'àmbit de l'enologia serveix, principalment, per millorar les característiques organolèptiques del vi, com n'és un gust més suau i una reducció de la seva astringència.

2.6.1.1. MECANISME BIOQUÍMIC

El mecanisme bioquímic de transformació de l'àcid màlic per bacteris làctics és molt simple.

Gràcies a l'enzim malolàctic format pels bacteris làctics, es produeix una descarboxilació de l'àcid màlic desprenent una molècula d'anhídrid carbònic i una molècula d'àcid làctic.

A continuació n'és present un esquema :



2.6.1.2. FACTORS QUE INFLUEIXEN EN LA FERMENTACIÓ MALOLÀCTICA

En la fermentació malolàctica, com en totes les transformacions produïdes per éssers vius, hi influeixen una sèrie de factors de procedència externa o bé d'origen intern:

1. L'aire: Les condicions ideals per al desenvolupament de la fermentació malolàctica són d'anaeròbisis no estricta, és a dir, que es necessària una petita quantitat d'aire.
2. Temperatura: La temperatura és un dels factors de major importància en el desenvolupament de la fermentació malolàctica. La temperatura òptima es troba entre 20 i 25°C.
3. El pH: El valor de pH òptim per al desenvolupament de la fermentació malolàctica es de 3,2 a 3,5. Un pH superior o menor produeix una ralentització de la fermentació malolàctica.

4. El contingut d'alcohol etílic del substrat: Les petites quantitats d'alcohol etílic, fins una concentració del 30%, estimulen el desenvolupament dels bacteris làctics.

2.6.1.3. APLICACIONS

Les principals aplicacions de la fermentació malolàctica estan relacionades amb el món de l'enologia. Així, aquesta fermentació és apreciada pels efectes beneficiosos que té sobre el vi.

Sovint, els bacteris làctics són escollits expressament pels viticultors i s'afegeixen per inoculació al vi. Això es fa per evitar que cultius de bacteris no desitjats malmetin els aromes pretesos.

Els efectes que la fermentació malolàctica té en el vi són els següents:

- Important disminució de l'acidesa total del vi degut a la conversió de l'àcid màlic; el qual té dues funcions àcides; a àcid làctic; el qual només té una funció àcida.
- Increment de l'acidesa volàtil d'ordre 0,1 a 0,2 g/L en condicions normals.
- Disminució de la intensitat del color en els vins negres, explicada per una modificació en el pH del vi.
- Modificació de l'aroma del vi.
- Major estabilitat biològica del vi per empobriment de nutrients i factors de creixement.
- Degradació dels aminoàcids del vi per descarboxilació.

EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

2.6.2. FERMENTACIÓ ALCOHÒLICA

És la transformació de glucosa en etanol i diòxid de carboni. Es produeix quan determinats fongs unicel·lulars (llevats) que estan catabolitzant, per mitjà de la respiració, un líquid ric en sucres, esgoten l'oxigen disponible i continuen el catabolisme per mitjà de la fermentació.

La fermentació alcohòlica es du a terme gràcies als enzims continguts en llevats del gènere *Saccharomyces*, que són anaeròbics facultatius, és a dir, que fan la respiració quan hi ha oxigen i la fermentació quan no n'hi ha.

Segons la espècie de llevat es pot arribar a obtenir vi (*S.cerevisiae*), sidra (*S.apiculatus*), cervesa, whisky o rom(*S.cerevisiae*) i pa (una varietat purificada de *S.cerevisiae*).

2.6.2.1. MECANISME BIOQUÍMIC

En una primera etapa es du a terme la glicòlisi i es transforma la glucosa en àcid pirúvic, i en l'etapa següent es dona la transformació de l'àcid pirúvic en acetaldehid i diòxid de carboni, i, després, de l'acetaldehid a etanol.

En aquest procés hi tenen lloc 12 reaccions intermèdies:

ETAPA 1: En presència d'ions de magnesi, per l'acció de l'enzim hexoquinasa i amb la col·laboració del coenzim ATP, la glucosa es transforma en glucosa-6-fosfat.

La fructosa es fosforilitza en fructosa-6-fosfat seguint el mateix mecanisme de reacció.

ETAPA 2: L'enzima glucosa-fosfat-isomerasa transforma la glucosa-6-fosfat en fructosa-6-fosfat (isomerització).

ETAPA 3: La fructosa-6-fosfat, sota l'acció de l'enzim fosfofructoquinasa i d'una segona molècula d'ATP com a coenzim; en presència d'ions de magnesi; es fosforilitza en l'àtom C₁ per convertir-se en fructosa-1,6-difosfat.

ETAPA 4: La fructosa-1,6-difosfat es desdobla sota l'acció de l'enzim aldolasa i, sense la participació de ningun coenzim, en dos trifosfats: gliceraldehid-3-fosfat (GAP) i dihidroxiacetona-3-fosfat. Es forma GAP sol en un 4%.

ETAPA 5: Per l'acció de l'enzim trifosfat-isomerasa es genera a partir de la dihidroxiacetona-3-fosfat gliceraldehid-3-fosfat (GAP), fins que s'instaura un equilibri entre ambdós trifosfats. En aquesta etapa no participa ningun coenzim.

ETAPA 6: En presència de l'enzim NAD⁺ al GAP, aquest s'oxida fins àcid 1,3-difosfoglicèrid sota l'acció de l'enzim gliceraldehid-fosfat-deshidrogenasa i mitjançant captació de fòsfor inorgànic.

ETAPA 7: L'enzim àcid fosfoglicèrid-fosfoquinasa trasllada la resta fosfatada de l'àcid 1,3-difosfoglicèrid al coenzim ADP. S'origina àcid 3-fosfoglicèrid. Aquí es formen per mol d'hexosa 2 mol d'ATP i 2 mol d'àcid fosfoglicèrid. Es recuperen així les molècules d'ATP utilitzades en les etapes 1 i 3, i el balanç energètic es veu igualat.

ETAPA 8: Per l'acció de l'enzim àcid fosfoglicèrid-mutasa es transforma l'àcid 3-fosfoglicèrid en àcid 2-fosfoglicèrid.

EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

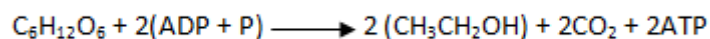
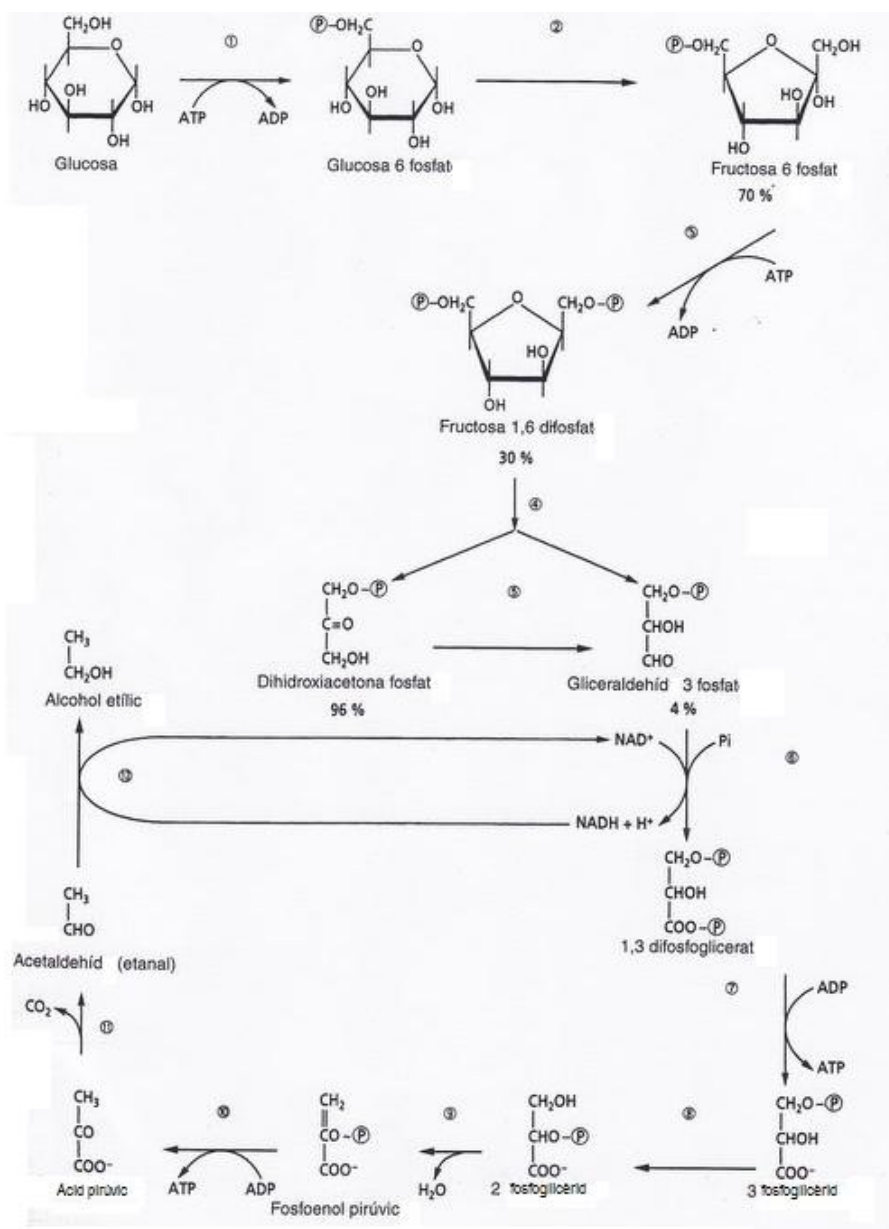
ETAPA 9: En presència d'ions de magnesi, l'enzim enolasa desprèn aigua de l'àcid 2-fosfoglicèrid. S'origina així l'enol de l'àcid fosfopirúvic.

Aquesta reacció es marcadament exotèrmica. Per cada mol de hexosa es desprenen 67,2 kJ. D'aquí, 29,4 kJ per mol es fixen en forma d'ATP.

ETAPA 10: Per efecte de l'enzim piruvat-quinasa es trasllada la resta de fosfat a l'ADP. L'energia alliberada resultant es aprofitada per la llevat per altres processos bioquímics. Com a producte del desdoblament es forma àcid pirúvic.

ETAPA 11: L'àcid pirúvic es desdobra en acetaldehid i diòxid de carboni per l'acció de l'enzim piruvat-descarboxilasa.

ETAPA12: L'enzim alcohol-deshidrogenasa ocasiona la reducció de l'acetaldehid a alcohol etílic. Com coenzim torna a actuar el NAD^+ . L'hidrogen transferit prové de l'etapa 6.



EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

2.6.2.2. FACTORS QUE INFLUEIXEN EN LA FERMENTACIÓ ALCOHÒLICA

En la fermentació alcohòlica, com en totes les transformacions produïdes per éssers vius, hi influeixen una sèrie de factors de procedència externa o bé d'origen intern:

1.- Contingut de sucre: Les cèl·lules dels llevats es veuen influïdes osmòticament per la concentració elevada de sucre, pel qual es produiria la plasmòlisi d'aquestes i s'anul·laria la fermentació. En cas de que no s'arribés a produir la plasmòlisi de les cèl·lules, la fermentació es produiria molt lentament, formant escasses quantitats d'alcohol.

En la taula posterior hi ha reflexada la dependència existent entre la formació d'alcohol i la concentració de sucre.

⁹

Contingut de sucre (g/l)	110	160	210	265	300	400	495	540	590
Contingut d'alcohol (g/l)	59	82	107	120	110	87	34	12	3

2.- Contingut d'alcohol: Entre les diverses espècies de llevats que fan fermentació alcohòlica, les més resistents a l'acció inhibidora de la fermentació produïda per l'alcohol, són els llevats vínics.

En condicions particularment bones, les soques de llevat de molta força fermentativa produeixen quantitats d'alcohol de 140-145 g/l (17,5-18,3 vol.%). A mesura que augmenta la temperatura de fermentació s'accentua l'acció tòxica de l'alcohol.

Segons l' investigació de H. Müller-Thurgau, en mostres de most amb 300g/l de sucre que van fermentar a diverses temperatures, la fermentació deixava de produir-se després de la formació de les següents quantitats d'alcohol:

Temperatura (°C)	9°	18°	27°
Tasa d'alcohol, g/l	139	122	98

3.- L'aire: Durant la fermentació s'ha de procurar que l'aire no estableixi contacte amb el líquid en procés. En cas contrari, existeix el perill que es produeixin oxidacions i que es desenvolupin microorganismes aeròbics com bacteris superficials.

Però si els llevats no es multipliquen amb la intensitat adequada i amb això la fermentació no es produeix a la velocitat desitjada, el líquid en fermentació s'haurà de "ventilar".

4.- Temperatura: Segons Jakob Vogt i Weiss Lemperte, la temperatura és el factor de major incidència en la cinètica fermentativa, duplicant-se la intensitat d'aquesta cada 10°C, fins al màxim de 30° a 35°C. S'estima que per cada grau de temperatura augmentat, el llevat es capaç de metabolitzar un 10% més de sucres.

⁹ Segons Jose Hidalgo Togores

EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

Partint d'aquestes dades, les temperatures compreses entre 10° i 35°C són possibles per l'inici i desenvolupament de la fermentació alcohòlica. Tot i això les temperatures òptimes per una correcta velocitat de fermentació, es troben entre 20° i 25°C, mentre que per damunt de 35°C es produeix la lisi de les cèl·lules degut a la desnaturalització de les seves proteïnes.

Per altra part, les baixes temperatures poden inhibir la fermentació alcohòlica, sense arribar a produir la mort dels llevats.

Finalment, s'ha de tenir en compte que temperatures massa elevades en la fase de multiplicació dels llevats, de 25 a 30°C, acceleren la velocitat de fermentació, però poden ser causa d'una parada posterior, generant casi sempre problemes de finalització de la mateixa. De la mateixa manera, els canvis bruscos de temperatura, poden produir una paralització fermentativa per sotmetre els rents a un "xoc tèrmic".

2.6.2.3. APLICACIONS

El benefici industrial primari de la fermentació és la conversió del most en vi, de civada en cervesa i carbohidrats en diòxid de carboni per a fer pa. D'acord amb Steinkraus (1995), la fermentació dels aliments serveix a 5 propòsits generals:

- Enriquiment de la dieta a través del desenvolupament d'una diversitat de sabors, aromes i textures en els substrats dels aliments.
- Preservació de quantitats substancials d'aliments a través d'àcid làctic, etanol, àcid acètic i fermentacions alcalines.
- Enriquiment de substrats alimentosos amb proteïna, aminoàcids, àcids grassos essencials i vitamines.
- Destoxificació durant el procés de fermentació alimentosa.
- Disminució dels temps de cuinat i dels requeriments de combustible.

EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

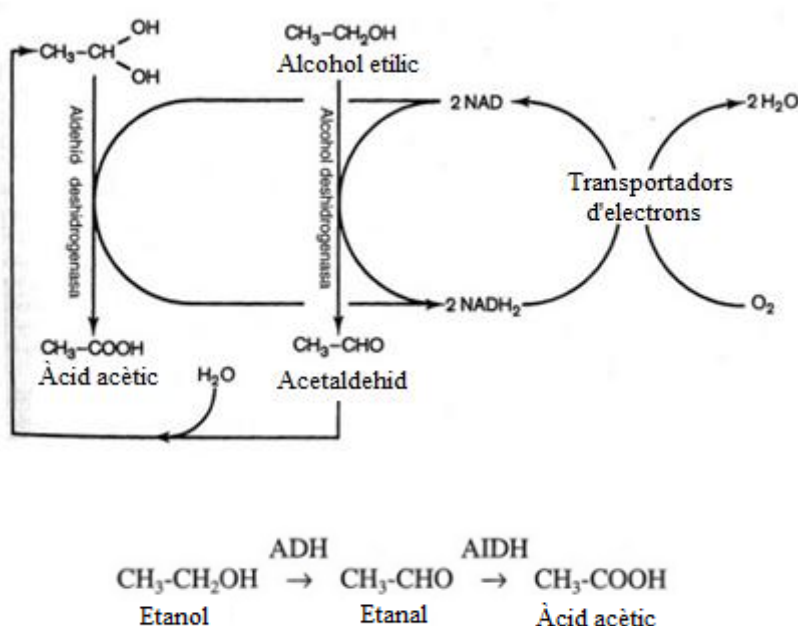
2.7. L'ACETIFICACIÓ

L'acetificació és el procés que realitzen els bacteris acètics per obtenir energia.

A més, és el principal mecanisme utilitzat per obtenir vinagre, però sovint és una reacció indesitjada que degrada el vi.

2.7.1. MECANISME BIOQUÍMIC

Els bacteris acètics poden oxidar l'alcohol etílic transformant-lo en primera instància en etanal gràcies a la intervenció de l'enzim alcohol deshidrogenasa (ADH) i, més tard, en àcid acètic per acció de l'enzim acetaldehid deshidrogenasa (AIDH). A continuació n'és present un esquema:



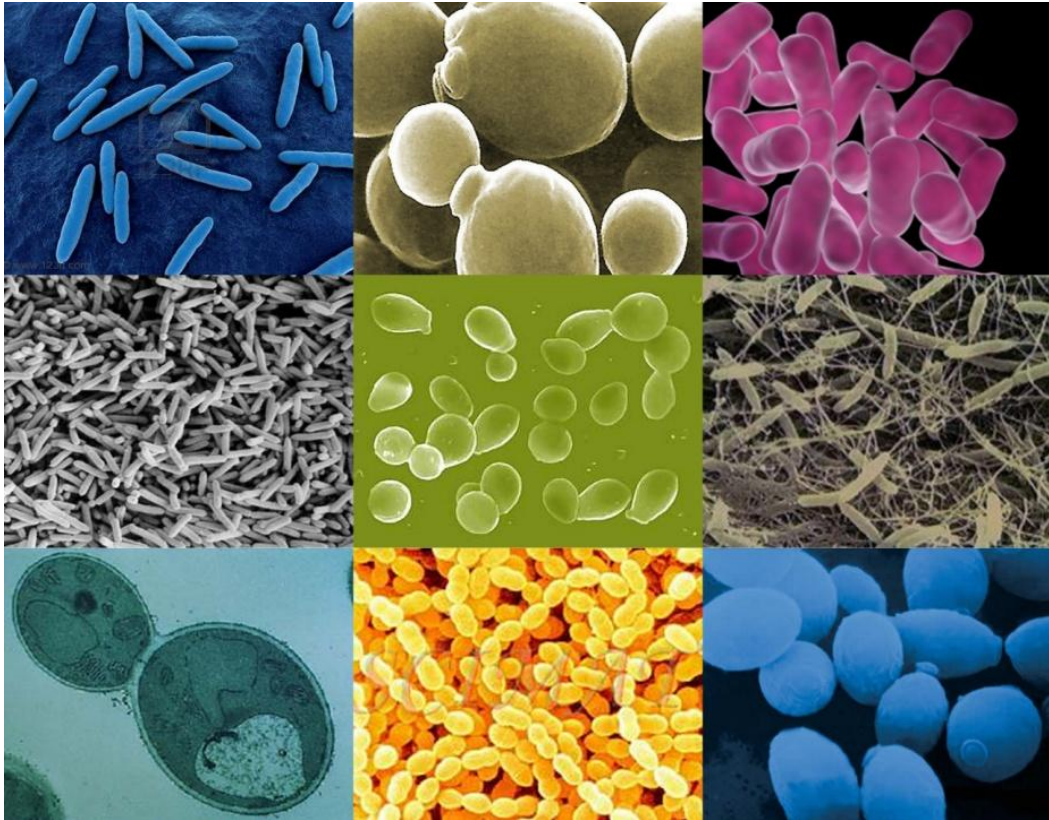
2.7.2. FACTORS QUE INFLUEIXEN EN L'ACETIFICACIÓ

L'acetificació es pot obtenir partint d'un líquid alcohòlic, generalment vi, que reuneixi unes condicions determinades:

- 1.-La temperatura: Ha d'estar compresa entre els 20 i els 30°C.
- 2.-El grau alcohòlic del substrat: No ha de ser major del 10%.
- 3.-Presència d'oxigen: És estrictament necessària ja que els bacteris acètics són aeròbics. Es per això que es convenient que en l'obtenció del vi el nivell d'oxigen sigui baix.

2.7.3. APLICACIONS

La principal aplicació de l'acetificació és la producció de vinagre comercial, el qual ha de tenir aproximadament un 5% d'acidesa.



3. PART EXPERIMENTAL

EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

3.1.FONAMENT

La part experimental d'aquest treball de recerca consisteix en fer un seguiment de l'evolució de la fermentació alcohòlica a partir del most del raïm depenent de les següents variables:

- 1.- Tipus de most (de raïm negre o raïm blanc);
- 2.- Temperatura (13°C o 25°C);
- 3.- Soca de llevat (soca comercial o soca de laboratori).

Per a dur a terme aquest projecte va ser necessària l'elaboració de vuit tipus de preparacions de les quals hi havia tres repeticions i tots els paràmetres eren igualats menys el que es volia estudiar.

3.2.MATERIAL

- 24 erlenmeyers
- 8 kg de raïm blanc (de varietat Moscatell)
- 8 kg de raïm negre (de varietat Red Globe)
- 5 grams d'una soca comercial (marca Levital)
- 5 grams de llevat *Saccharomyces* d'una soca de laboratori
- Càmera de Neubauer
- Refractòmetre
- Paper indicador universal de pH
- Pipeta i pera de succió
- Vas de precipitats de 100mL
- Balança de precisió



EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

3.3.PROCEDIMENT

1r.- Es desinfectaren els erlenmeyers amb aigua calenta, sabó i aigua destil·lada i seguidament es van deixar assecar a l'estufa i es van deixar refredar.

2n.- Es pesaren a la balança de precisió els 24 erlenmeyers anteriorment numerats, i s'apuntà el seu pes per descomptar aquest valor del pes diari de les mostres.

3r.- Es va tallar el raïm amb l'ajuda d'unes tisores. A continuació es va col·locar en un recipient per a netejar-lo amb aigua.



4t.- Més tard es va procedir al premsat del raïm manualment i amb els peus.

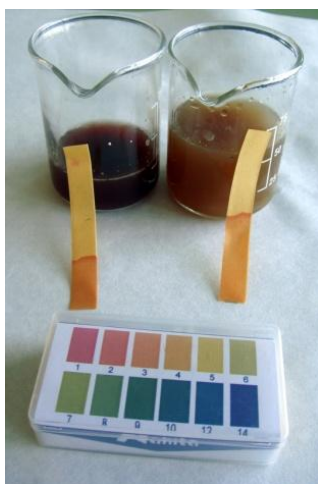


5è.- En acabar el premsat, per una part el raïm negre es deixà reposar durant 6 hores cobert per un drap perquè així els tanins de la pell del raïm proporcionessin al most el color vermell característic del vi negre, i per l'altra, el raïm blanc es va colar immediatament per a conservar-lo en la nevera perquè així preservés el seu aroma característic.

EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

6è.- Es van extreure unes mostres dels dos tipus de most per analitzar-ne el seu pH i el contingut de sucre.

- El pH es va determinar amb paper indicador universal de pH. El resultat obtingut va ser el mateix tant per al most de raïm negre com per al most de raïm blanc: un pH de 4 (àcid).



Determinació del pH de les mostres

- El contingut de sucre es calculà amb l'ajuda d'un refractòmetre PCE-Oe. Aquest compta d'una taula en la qual hi ha un isomorfisme entre el nombre obtingut en l'escala del refractòmetre i el contingut total de sucre del most.

A part, també s'indica el contingut de sucre en grams/L i el grau alcohòlic probable que s'obtindrà al final de la fermentació alcohòlica.

Els resultats es representen en la següent taula:



Refractòmetre PCE-Oe

	pH	nº del refractòmetre	GRAU BAUMÉ ¹¹	SUCRE (g/L)	ALCOHOL (%)
MOST DE VI NEGRE	4	12	6,7	106	6,3
MOST DE VI BLANC	4	18,2	10,2	172	10,1

Com podem observar, com més quantitat de sucre conté el most el grau alcohòlic final és major.

¹⁰ Escala que indica el valor constant d'alcohol potencial. Permet calcular amb exactitud la quantitat de sucre que conté un most.

EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

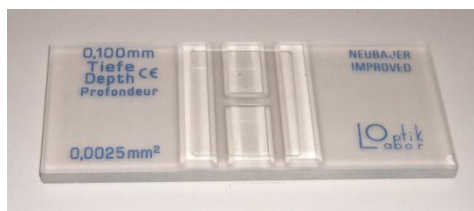
Segons els resultats, el most del raïm blanc conté una major quantitat de sucre. Podem comprovar que el grau alcohòlic final en el raïm de most negre no arribarà a 10%¹¹ ja que s'espera de 6,3%, la qual cosa el converteix força vulnerable davant una possible acetificació, sobretot la part de mostres que seran a l'estufa a 25°C.

En canvi, el most de raïm negre no serà tan propens a patir aquesta acetificació, però també la pot patir ja que el grau alcohòlic final serà pròxim a 10% ja que s'espera que sigui de 10,1%.

7è.- Es va sembrar la soca de laboratori d'un cultiu sòlid YPD¹² a un cultiu líquid YPD i es va deixar durant 24 hores en agitació.

A partir d'aquest, es va comptar el nombre de cel/ml amb càmera de Neubauer per saber quants ml s'havien de posar en cada erlenmeyer.

El resultat fou una preparació de 50ml que contenia 10^8 cel/ml.



Càmera Neubauer

8è.- Es va rehidratar la soca comercial, que estava en forma de “llevat sec actiu”, perquè reactivés el seu metabolisme. Per això primer de tot es va calcular el nombre de cèl·lules que hi ha en un gram de llevat (10^9 cel/gram).

Lavors es pesaren 2 gram de llevat i s'afegiren a 20 ml d'aigua destil·lada atemperada prèviament a 37°C. Finalment es deixà reposar la dissolució a l'estufa de cultiu a 37°C durant 30 min.

D'aquesta manera vam obtenir una preparació de 20mL que contenia 10^8 cel./ml.

9è.- Es prepararen taps de cotó pels 24 erlenmeyers per tal d'aconseguir una atmosfera semianòxia.

Aquesta, es volia aconseguir perquè l'O₂ és necessari pels llevats a l'hora de constituir els lípids de membrana. A més, tenint en compte l'efecte Crabtree del llevat *Saccharomyces cerevisiae*, la fermentació alcohòlica no hauria de ser afectada.

¹¹ Referència a l'apartat 2.7. Acetificació de la pàgina 26.

¹² YPD: És un extracte de llevat (10g/L), triptona (20g/L) i dextrosa (20g/L). En aquest cas l'extracte és del llevat *Saccharomyces cerevisiae*.

EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

10è.- Amb l'ajuda d'una pipeta i una pera de succió s'afegiren 200mL de most en cada erlenmeyer, i , a continuació 1mL de llevat rehidratat. Per aconseguir unes condicions més estèrils es va dur aquest procés al costat de la flama de bec Bunsen.

D'aquesta manera es van preparar 12 erlenmeyers amb llevat comercial i 12 amb llevat de laboratori.



Preparació de les mostres



Preparació de les mostres

11è.- Per acabar es dipositaren 12 dels erlenmeyers a l'estufa a 25°C i els altres 12 erlenmeyers a la nevera a 13°C. En la següent taula es representa la situació i el contingut dels erlenmeyers segons la seva numeració:

nº1	nº2	nº3
nº7	8	nº9

nº13	nº14	nº15
nº10	nº11	nº12

SOCA DE
LABORATORI

nº16	nº17	nº18
nº22	nº23	nº24

nº4	nº5	nº6
nº19	nº20	nº21

SOCA
COMERCIAL

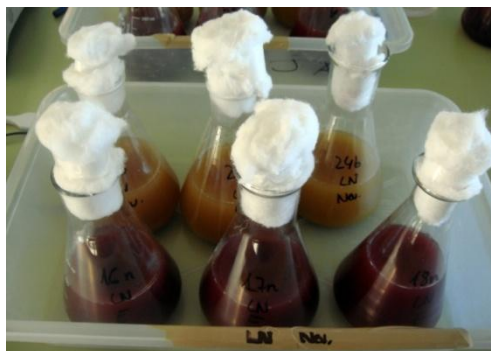
Most raïm negre
Most raïm blanc

ESTUFA

NEVERA



Preparacions de l'estufa



Preparacions de la nevera

3.4.SEGUIMENT DE LA FERMENTACIÓ ALCOHÒLICA

Per poder realitzar el seguiment de l'evolució de la fermentació alcohòlica, es pesà cadascuna de les mostres cada 24 hores amb una bàscula de precisió fins al final del procés.



Despreniment de CO₂

Al llarg dels dies les preparacions van disminuir de pes degut a la conversió del sucre en etanol i CO₂ que es perd.

El final del procés es va produir passat un mes i va ser detectat a causa d'un estacionament del pes de les mostres.

Les dades obtingudes es van processar en una sèrie de taules¹³. Al valor d'aquestes es van descomptar el pes dels erlenmeyers.

En haver-hi tres repeticions de cada tipus de mostra, es va dur a terme la mitjana dels resultats obtinguts de les tres.

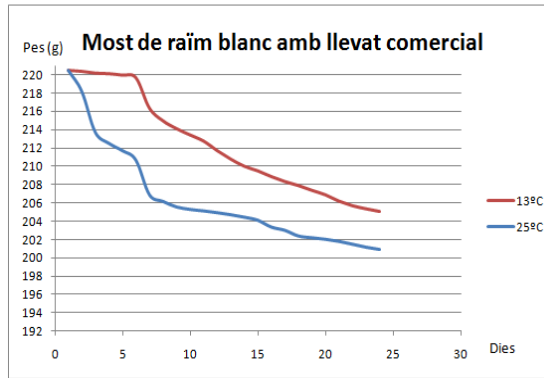
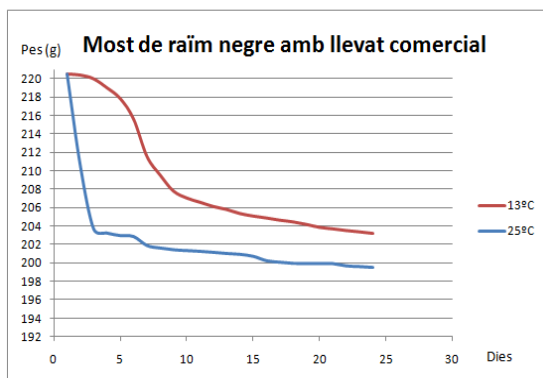
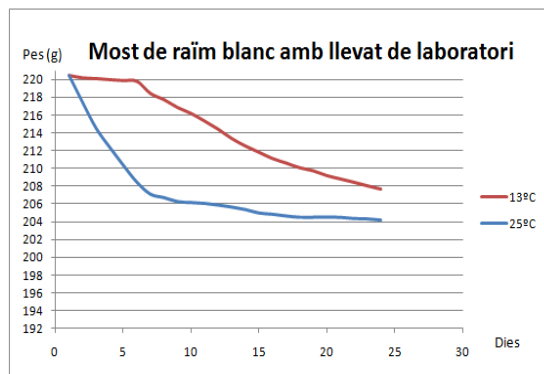
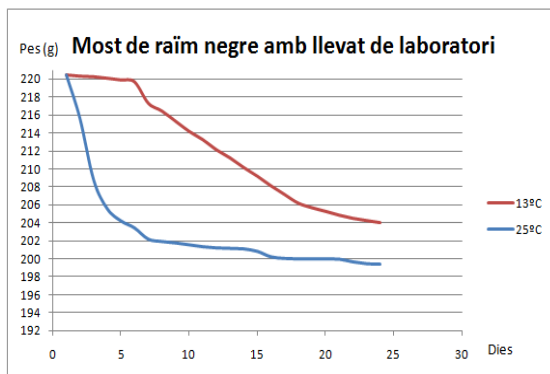
Finalment, a partir de les dades finals es van elaborar una sèrie de gràfics que representaven l'evolució de la fermentació de cada tipus de mostra segons el most i soca de llevat que contenien i la temperatura a la qual s'havien trobat exposades.

¹³ Referència al annexos del treball.

EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

3.5.GRÀFICS COMPARATIUS DE LA VELOCITAT DE LA FERMENTACIÓ

3.5.1. COMPARACIÓ DE LA VELOCITAT DE LA FERMENTACIÓ SEGONS LA TEMPERATURA



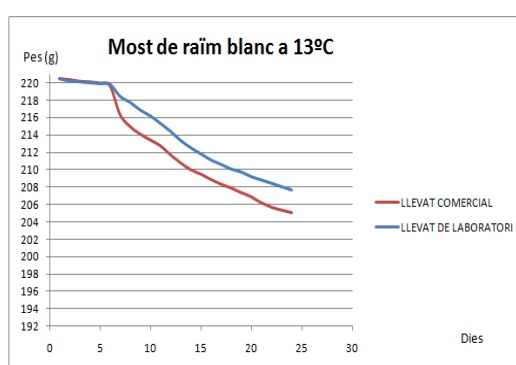
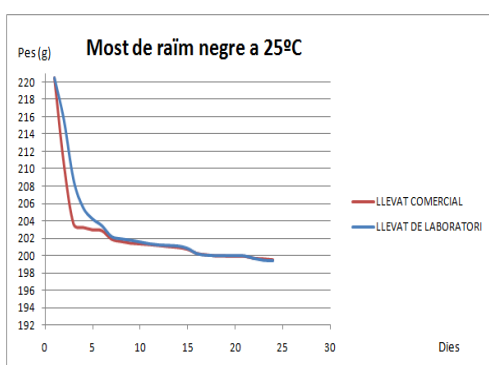
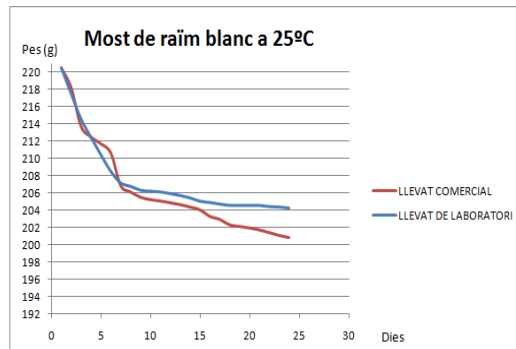
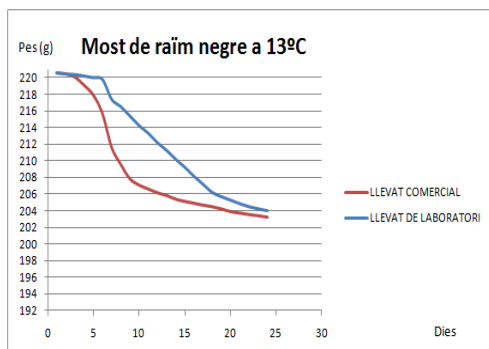
A partir dels resultats obtinguts deduïm que:

1. La fermentació alcohòlica s'inicia abans a la temperatura de 25°C. Això succeeix ja que a 25°C no hi ha fase de latència o aquesta és molt curta, mentre que a 13°C la fase de latència presenta un període de 5 dies.
2. La velocitat de fermentació dels llevats és més alta a 25°C que a 13°C.
3. A la temperatura de 25°C, generalment, es produeix una disminució important de la velocitat de la fermentació passats 3 dies; en cas de ser utilitzada la soca comercial; o 5 dies; en cas de ser utilitzada la soca de laboratori.
4. Finalment, podem deduir observant el pes final en acabar la fermentació alcohòlica de totes les preparacions, que s'obtindrà un major rendiment a 25°C que a 13°C.

A partir d'aquestes observacions es pot concloure que la temperatura òptima d'actuació dels llevats estudiats es troba al voltant dels 25°C.

EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

3.5.2. COMPARACIÓ DE LA VELOCITAT DE LA FERMENTACIÓ SEGONS LA SOCA EMPRADA



A partir dels resultats obtinguts arribem a la conclusió que:

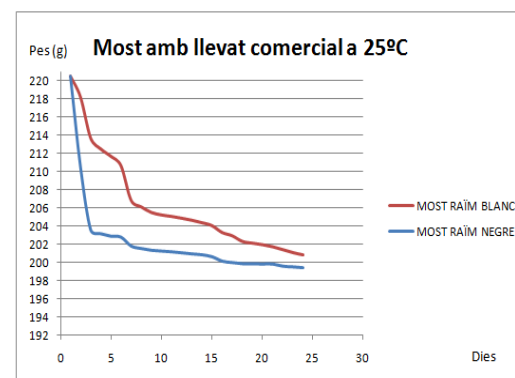
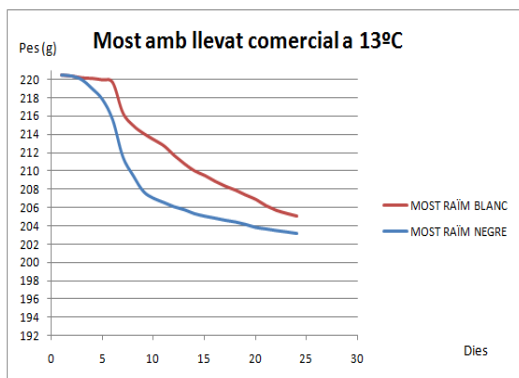
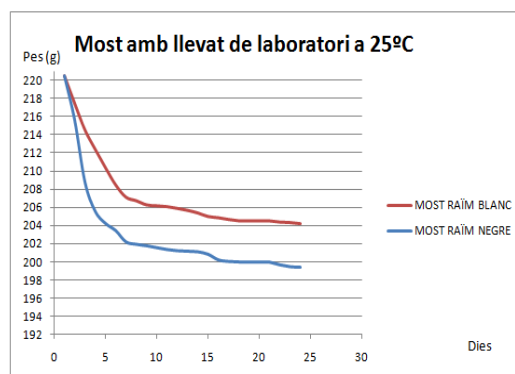
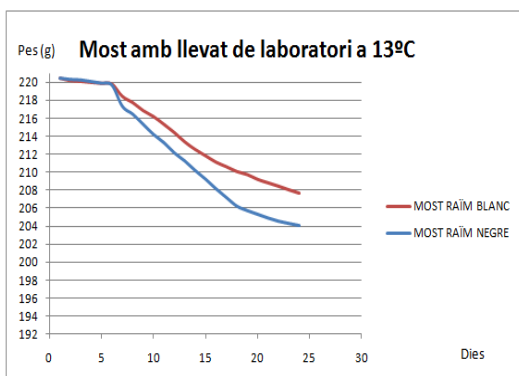
1. La soca de llevat comercial presenta una major eficàcia que la soca de llevat del laboratori davant situacions adverses.
2. En cas de condicions òptimes; com succeeix a 25°C; l'eficàcia de les soques serà la mateixa.
3. Es pot comprovar a partir del pes final de les preparacions en acabar la fermentació alcohòlica, que en el most de raïm blanc la soca de llevat comercial presenta un major rendiment.
Aquest resultat seria degut a la quantitat de sucres del substrat; el most de raïm blanc presenta una major quantitat de sucres en comparació al most de raïm negre.

La causa d'aquests resultats es troba en la resistència de les dues soques davant situacions adverses.

D'aquesta manera, la soca de llevat comercial; la qual és més robusta; presenta una major adaptació al medi davant situacions adverses; mentre que la soca de laboratori; que és més sensible; es presenta més vulnerable davant situacions adverses reduint el seu rendiment.

EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

3.5.3. COMPARACIÓ DE LA VELOCITAT DE LA FERMENTACIÓ SEGONS EL TIPUS MOST



A partir dels resultats obtinguts arribem a la conclusió que:

1. La intensitat a la que es produeixi la fermentació segons el tipus de most serà causa de la quantitat de sucre inicial que aquest contingui.
2. Una alta concentració de sucres en el substrat representa un estrès per les soques de llevat, reduint-ne així la seva eficàcia. Especialment en el cas de la soca de laboratori.

EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

3.6. COMPARACIÓ DE LA INFLUÈNCIA DE LES 3 VARIABLES D'ESTUDI

3.6.1. OBJECTIU

Amb l'objectiu de saber en quina mesura influeix cadascuna de les variables d'estudi respecte les altres dues en el procés fermentatiu, es pretén analitzar els resultats obtinguts en el seguiment de la fermentació alcohòlica.

3.6.2. FONAMENT

L'anàlisi numèric es fonamentarà en la influència de cada variable alhora de produir un canvi en la pendent de dues corbes de pèrdua de pes. En aquestes dues corbes, tan sols es produiria una alteració en la variable a estudiar (per exemple: la primera representaria la fermentació en un medi a 13°C mentre que la segona en un medi a 25°C).

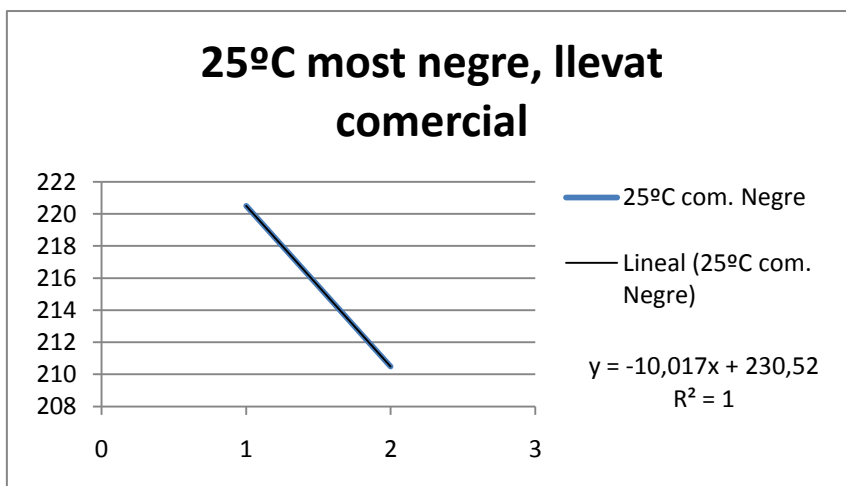
D'aquesta manera, la variable que produeixi un canvi de valor més gran en el pendent serà la que presenti una major influència en el procés de fermentació alcohòlica.

3.6.3. PROCEDIMENT

Per analitzar la influència de les 3 variables d'estudi es va seguir el següent procediment:

1r.- De totes les gràfiques s'aïllà aquell tros on el pendent de la corba fos màxim i se'n calculà l'equació de la recta en forma explícita ($y_0 = mx_0 + n$) a la vegada que el coeficient de determinació (R^2).

Aquest últim fou 1 en totes les gràfiques demostrant que el període a estudiar era aquell on la fermentació es trobava en el punt àlgid i, per tant, la pèrdua de pes era més acusada.



Exemple

DIA	PES
1r	220,5
2n	210,483

2n.- Tenint en compte que en l'equació de la recta el valor de "m" pertany al pendent de la recta de pèrdua de pes, s'obtingueren els valors del pendent de totes les gràfiques.

3r.- Es va fer un recompte de tots els valors de pendent segons la condició de la variable (13 o 25°C, most de raïm negre o de raïm blanc i soca de llevat comercial o de laboratori).

EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

4t.- Se'n va fer la mitjana dels quatre valors de pendent obtinguts de cada condició.

5è.- Es calculà la diferència de pendent en cada variable amb les dues mitjanes de les condicions estudiades.

6è.- Es van comparar els resultats obtinguts.

A continuació es mostra el procediment numèric descrit anteriorment:

TEMPERATURA	PENDENT	MITJANA	DIFERÈNCIA
13°C	-4,054	-2,775	-2,775 – (-5,83325)= 3,05825
	-3,31		
	-2,363		
	-1,373		
25°C	-5,855	-5,83325	
	-2,975		
	-10,017		
	-4,486		

SOCA DE LLEVAT	PENDENT	MITJANA	DIFERÈNCIA
DE LABORATORI	-5,855	-3,1415	-3,1415 – (-5,46675)= 2,32525
	-2,975		
	-2,363		
	-1,373		
COMERCIAL	-4,054	-5,46675	
	-3,31		
	-10,017		
	-4.486		

MOST	PENDENT	MITJANA	DIFERÈNCIA
DE RAÏM NEGRE	-5,855	-5,57225	-3,036 – (-5,57225)= 2,53625
	-4,054		
	-10,017		
	-2,363		
DE RAÏM BLANC	-2,975	-3,036	
	-3,31		
	-4,486		
	-1,373		

Així, obtenim que $3,05825 > 2,53625 > 2,32525$.

3.6.4. RESULTATS FINALS

A partir dels resultat anterior, deduïm que el factor que té una major influència en la fermentació és la temperatura degut a la gran influència que té en el rendiment dels enzims.

En segon lloc respecte influència en la fermentació alcohòlica, trobem el tipus de most emprat. Aquesta influència rau en la quantitat de sucres que el most conté, produint un major o menor rendiment dels llevats a l'hora de dur a terme la fermentació.

Finalment, el tipus de soca de llevat utilitzada; en aquest cas; és la variable que menys influència té respecte les altres dues.

Aquest resultat es degut a que entre les dues soques només es produeix una diferència de rendiments en condicions adverses, de manera que la seva influència és; de certa manera; parcial.

EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

3.7. FINALITZACIÓ DE LA FERMENTACIÓ ALCOHÒLICA

La finalització de la fermentació alcohòlica va venir donada per l'estancament del pes de les mostres, de manera que la major part dels llevats havien mort.

Un cop finalitzada la fermentació alcohòlica, es va dur a terme l'extracció del vi dels 12 erlenmeyers que havien fet la fermentació alcohòlica a una temperatura de 13°C.

El procés va ser el següent:

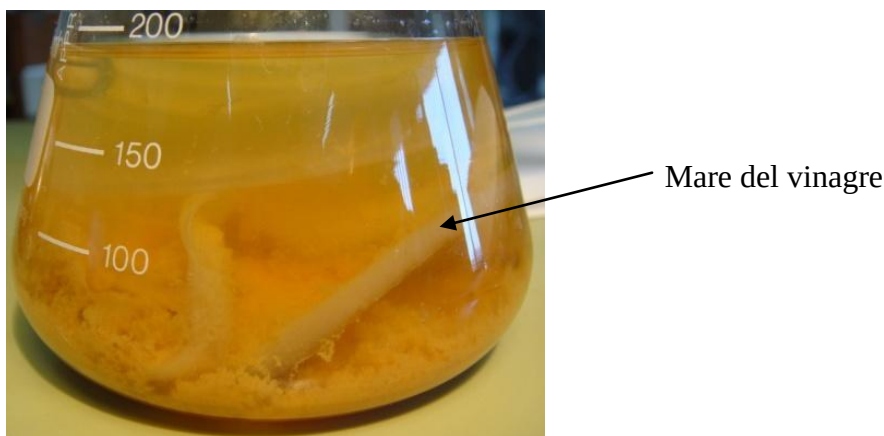
- 1r.- Filtració de les preparacions amb un colador.
- 2n.- Filtratge del vi per eliminar tot allò no desitjable.
- 3r.- Emmagatzemen del vi en la seva ampolla corresponent i congelació d'aquest.

Per l'altra banda, per tal d'observar els efectes dels bacteris acètics, es van deixar reposar durant 15 dies més els 12 erlenmeyers que es trobaven a l'estufa; de manera que es pogués dur a terme l'acetificació.

Perquè l'acetificació es pogués produir sense problemes es van tenir en compte les següents condicions:

- Una temperatura d'entre 20 i 25°C.
- Una concentració alcohòlica igual o menor al 10%.
- L'oxigenació del substrat.

Passats els 15 dies es van retirar els 12 erlenmeyers de l'estufa, els quals; efectivament; havien realitzat l'acetificació. Així s'havia obtingut vinagre, prova del qual n'era la presència de la "mare del vinagre", com s'observa en la següent fotografia:



Aquestes preparacions es van emmagatzemar de la mateixa manera que les altres 12, amb l'única diferència que se'n van extreure les "mares del vinagre" per poder observar les colònies de bacteris acètics i llevats que contenien.

EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

3.8. DETERMINACIÓ DE L'ÀCID ACÈTIC EN LES MOSTRES QUE HAN SOFERT ACETIFICACIÓ MITJANÇANT VOLUMETRIES ÀCID-BASE

Per comprovar la presència de vinagre en les mostres de l'estufa, es va dur a terme una valoració àcid-base de cadascuna de les 12 solucions finals.

3.8.1. FONAMENT

Una valoració àcid-base és el procés mitjançant el qual es determina la concentració d'àcid o de base que conté una dissolució determinada mitjançant la seva reacció amb una base o un àcid de concentració coneguda.

Per detectar quan s'acaba la reacció de neutralització entre l'àcid i la base s'usa un indicador, el qual canvia de color en finalitzar la reacció.

La tècnica emprada per dur a terme aquest procés s'anomena volumetria, i té el seu fonament en la reacció de neutralització.

Tenint en compte que un vinagre comercial presenta un 5% d'acidesa, calculant el grau d'acidesa de les mostres de l'estufa a partir de la volumetria podrem determinar fàcilment la presència de vinagre en aquestes.

3.8.2. MATERIAL

- Les 24 solucions finals de l'experiment.
- 250mL d'una dissolució 0,1M de NaOH.
- Dissolució de fenolftaleïna a l'1%.
- Aigua destil·lada.
- Pipeta i pera de succió.
- Bureta, suport i pinça.
- Erlenmeyer.

3.8.3. PREPARACIÓ DE LA DISSOLUCIÓ 0,1M DE NaOH

El material necessari fou el següent:

- Matràs aforat de 250mL
- Reactiu NaOH (Mm: 40g/mol)
- Aigua destil·lada
- Comptagotes
- Vas de precipitats

EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

Per la preparació de la dissolució 0,1M es seguí el següent procediment:

1r.- Es calculà la quantitat de NaOH necessari per preparar 250 mL de la dissolució 0,1M.

$$250\text{mL dissolució NaOH} \times \frac{1\text{L dis. NaOH}}{1000\text{mL dis. NaOH}} \times \frac{0,1\text{mols NaOH}}{1\text{L dis. NaOH}} \times \frac{40\text{g NaOH}}{1\text{mol NaOH}} = 1\text{g NaOH}$$

2n.- Es pesà a la balança de precisió dins d'un vas de precipitats 1g de NaOH.

3r.- A continuació es va anar fent petites addicions d'aigua destil·lada mentre es remenava amb una vareta de vidre per dissoldre la solució, i s'anava dipositant la dissolució en el matràs aforat de 250mL. Es va repetir l'operació fins que el NaOH es va dissoldre completament.

4t.- Finalment, es va afegir aigua destil·lada fins la marca d'aforament, recordant que les últimes gotes es pertinent posar-les amb comptagotes per evitar errors. Es va sacsejar la dissolució i s'aconseguí la base forta per la valoració.

3.8.4. PROCEDIMENT DE LA VALORACIÓ D'ÀCID-BASE

Per poder fer les valoracions pertinents fou necessari el muntatge d'un suport amb una pinça que sostingués una bureta de 10mL. A sota d'aquesta es situà un paper blanc per poder contemplar més bé el canvi de color, i un erlenmeyer que contindria la dissolució a valorar.

A l'hora de fer la valoració àcid-base es següen els passos següents:

1r.- Un cop preparat el muntatge i la dissolució de la base, amb una pipeta i pera de succió s'agafà 1mL de la solució problema, i amb un altre s'agafaren 10mL d'aigua destil·lada. Les dues quantitats s'afegiren en un erlenmeyer obtenint una dissolució diluïda 10 vegades perquè l'error fos menor.

2n.- S'afegiren dos gotes de l'indicador fenolftaleïna a la solució diluïda i es sacsejà suaument.

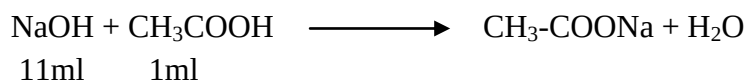
3r.- Finalment es situà sota la pipeta i es dugué a terme la valoració àcid-base. Amb una mà s'obrí la clau de la bureta deixant caure la base forta dins la solució, la qual era sostinguda amb l'altre mà que l'anava movent suaument per afavorir la reacció.

En produir-se el viratge s'apuntà la quantitat de dissolució de NaOH 0,1M necessària perquè es produís la reacció de neutralització per poder calcular el grau d'acidesa de les solucions finals obtingudes.

EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

El grau d'acidesa de cada preparació es calculà seguint l'exemple següent:

ERLENMEYER nº1:



$$11\text{mL dis. NaOH} \times \frac{1\text{L dis. NaOH}}{1000\text{mL dis. NaOH}} \times \frac{0,1\text{mol NaOH}}{1\text{L dis. NaOH}} \times \frac{1\text{mol CH}_3\text{COOH}}{1\text{mol NaOH}} = \frac{1,1 \times 10^{-3} \text{mols}}{\text{CH}_3\text{COOH}}$$

$$M = \frac{1,1 \times 10^{-3} \text{mols CH}_3\text{COOH}}{1 \times 10^{-3} \text{L dissolució}} = 1,1 \text{ M}$$

Grau d'acidesa: gCH₃COOH/100g vinagre

$$\frac{1,1\text{mol CH}_3\text{COOH}}{1\text{L vinagre}} \times \frac{60\text{g CH}_3\text{COOH}}{1\text{mol CH}_3\text{COOH}} \times \frac{1\text{L vinagre}}{1000\text{mL vinagre}} \times \frac{1\text{mL vinagre}}{1\text{g vinagre}} = 0,066 \frac{\text{g CH}_3\text{COOH}}{\text{g vinagre}}$$

$$100\text{g vinagre} \times \frac{0,066\text{g CH}_3\text{COOH}}{1\text{g vinagre}} = 6,6\%$$

Grau d'acidesa de l' erlenmeyer nº1 = 6,6 %

EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

Els resultats obtinguts es representen en la següent taula:

Erlenmeyer	mL dis. NaOH utilitzats	Molaritat	Grau d'acidesa (%)
1	11	1	6,6
2	9,3	0,845	5,58
3	10,8	0,98	6,48
7	9,3	0,845	5,58
8	9,3	0,845	5,58
9	9,7	0,88	5,82
16	9,5	0,86	5,7
17	10	0,91	6
18	10,8	0,98	6,48
10	12	1,09	7,2
11	11,4	1,036	6,84
12	13	1,18	7,8

Tal com queda reflectit en la taula anterior totes les mostres superen el grau d'acidesa que acostuma a presentar un vinagre comercial, per tant, queda demostrada la presència de vinagre en les 12 preparacions de l'estufa.

EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

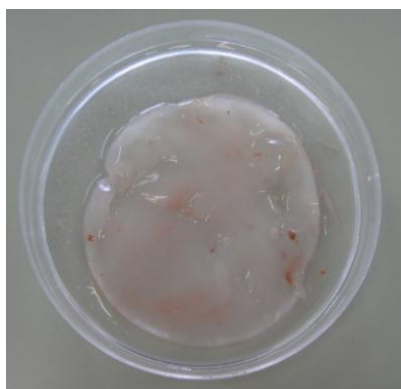
3.9. ANÀLISI DE MOSTRES DE COLÒNIES DE MICROORGANISMES

3.9.1. OBJECTIU

Identificar els diferents microorganismes que han intervingut en l'experiment fent fermentació o acetificació.

3.9.2. PREPARACIÓ DE LES MOSTRES

Es van extreure les “mares del vinagre” de dues mostres; una procedent de most de raïm blanc i l'altre de most de raïm negre. Aquestes, es van dipositar en plaques petris tal com mostra la següent fotografia:



Mare del vinagre d'un most de raïm blanc



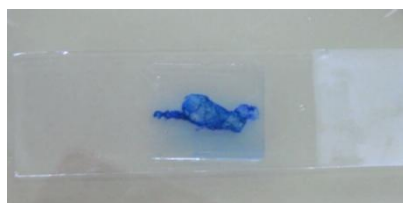
Mare del vinagre d'un most de raïm negre

Per poder dur a terme les preparacions de les mostres és necessita el material següent:

- Blau de Metilè
- Portaobjectes
- Aigua destil·lada

Per a preparar les mostres per al microscopi de les dues “mares del vinagre” es va seguir el procediment següent:

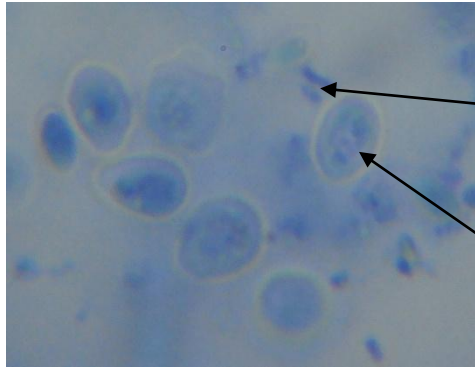
- 1.- Es van obtenir unes mostres molt fines i amb una nansa de sembra i pines es van col·locar en el seu respectiu portaobjectes.
- 2.- S'afegí unes gotes de blau de metilè a cadascuna de les mostres per tenyir-les. Es deixà reposar durant 5 minuts.
- 3.- Passats els 5 minuts, es van netejar les mostres amb aigua destil·lada i, posteriorment, es van cobrir amb un cobreobjectes.



EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

3.9.3. OSERVACIÓ DE LES MOSTRES AL MICROSCOPI

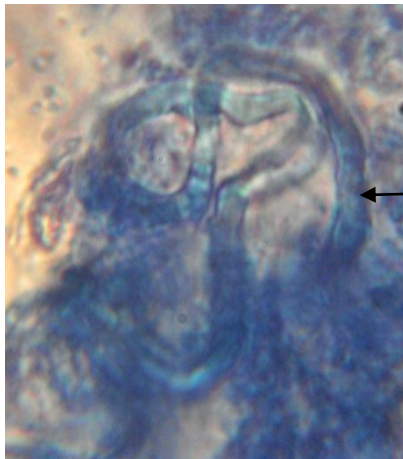
Preparades les dues mostres, es van observar al microscopi per poder-ne identificar els microorganismes continguts. A continuació es mostren un seguit de fotografies preses des del microscopi òptic on es poden identificar clarament aquests microorganismes.



AUGMENTS: 100X

Bacteri acètic (gènere *Acetobacter*)

Llevat *Saccharomyces cerevisiae*



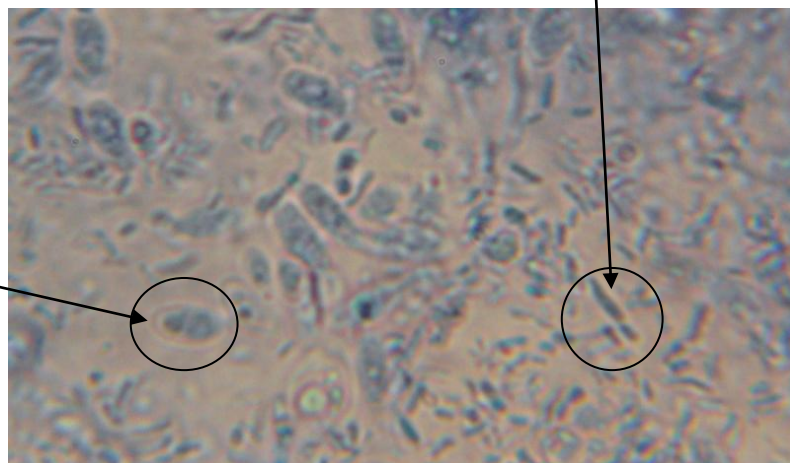
AUGMENTS: 75X

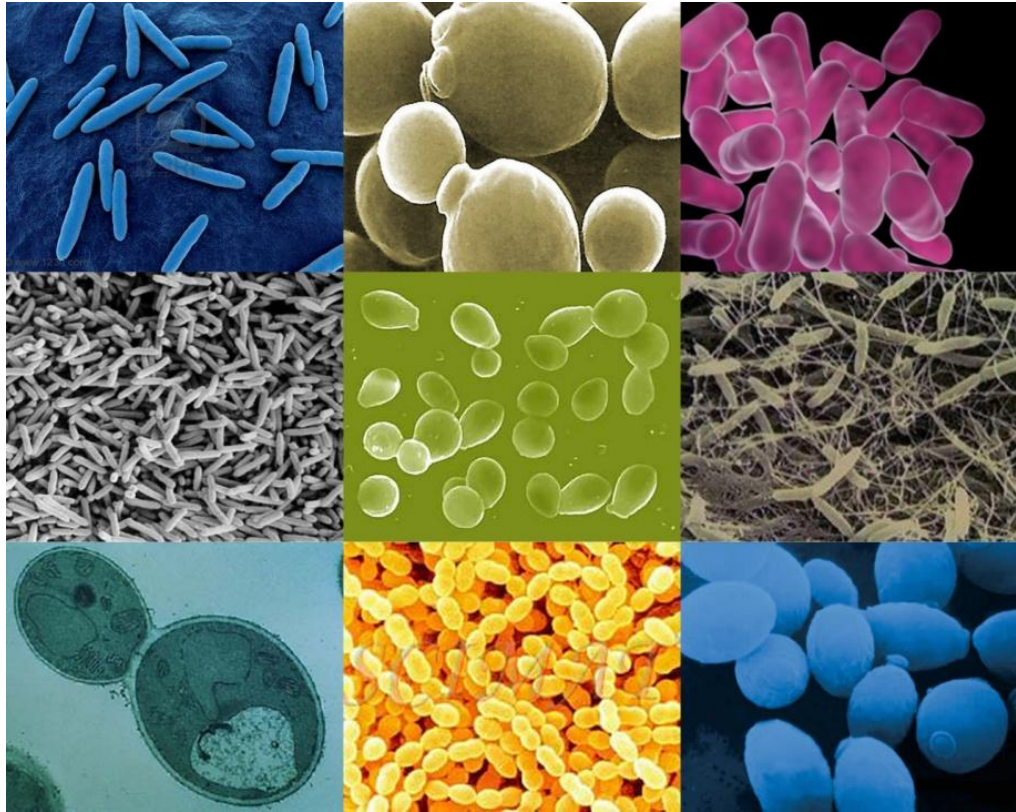
Segurament es tracta d'una hifa de fong degut a la contaminació de la mostra.

Bacteri acètic (gènere *Acetobacter*)

AUGMENTS:
50X

Llevat
Saccharomyces
cerevisiae





4.- CONCLUSIONS

EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

Les conclusions finals extretes de l'estudi són les següents:

1. Respecte a la varietat de soca emprada obtenim que:
 - La soca comercial és més robusta i s'adapta millor a la fermentació que la soca de laboratori.
 - Degut a això, davant situacions adverses; com és una disminució de temperatura; la soca comercial presentarà un major rendiment que la soca de laboratori.
2. Respecte la temperatura a la qual es realitza la fermentació s'ha obtingut que:
 - La temperatura de 25°C és més òptima pel llevat que la de 13°C.
 - Per aquest motiu, la fase de latència del llevat serà molt més curta o inexistent a 25°C, mentre que a 13°C serà més llarga degut a la necessitat del llevat per adaptar-se.
3. En el que respecta al most i la seva quantitat de sucre, s'ha arribat a les següents conclusions:
 - No sempre una concentració de sucres molt elevada comporta que la fermentació alcohòlica hagi d'anar més depressa (en l'experiment s'ha demostrat el contrari).
 - Una concentració elevada de sucres farà que s'arribi a un grau alcohòlic més elevat.
4. En comparar el grau en que les 3 variables d'estudi influeixen en la velocitat de la fermentació alcohòlica s'ha obtingut que:
 - La temperatura és el factor que presenta una major influència degut a la importància del seu efecte en els enzims que intervenen en les reaccions químiques.
 - El segon factor de més influència és el tipus de most emprat. La causa es troba en el contingut de sucres que aquest conté, el qual afecta de manera important el rendiment dels llevats en la fermentació alcohòlica arribant-ne a disminuir la velocitat si la concentració de sucres és prou alta.
 - El factor de menys influència és el tipus de soca utilitzat; en aquest cas. La causa d'aquesta menor influència es troba en que només es produeix un canvi de rendiment entre les dues soques de llevat en condicions adverses.
5. Finalment, degut als resultats de l'experiment realitzat, s'ha arribat a la conclusió que la higiene és molt important a l'hora de fer la fermentació alcohòlica, ja que tot i que es tingui cura, el substrat es pot contaminar fàcilment amb bacteris acètics i fongs ja que és un medi molt ric.

EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

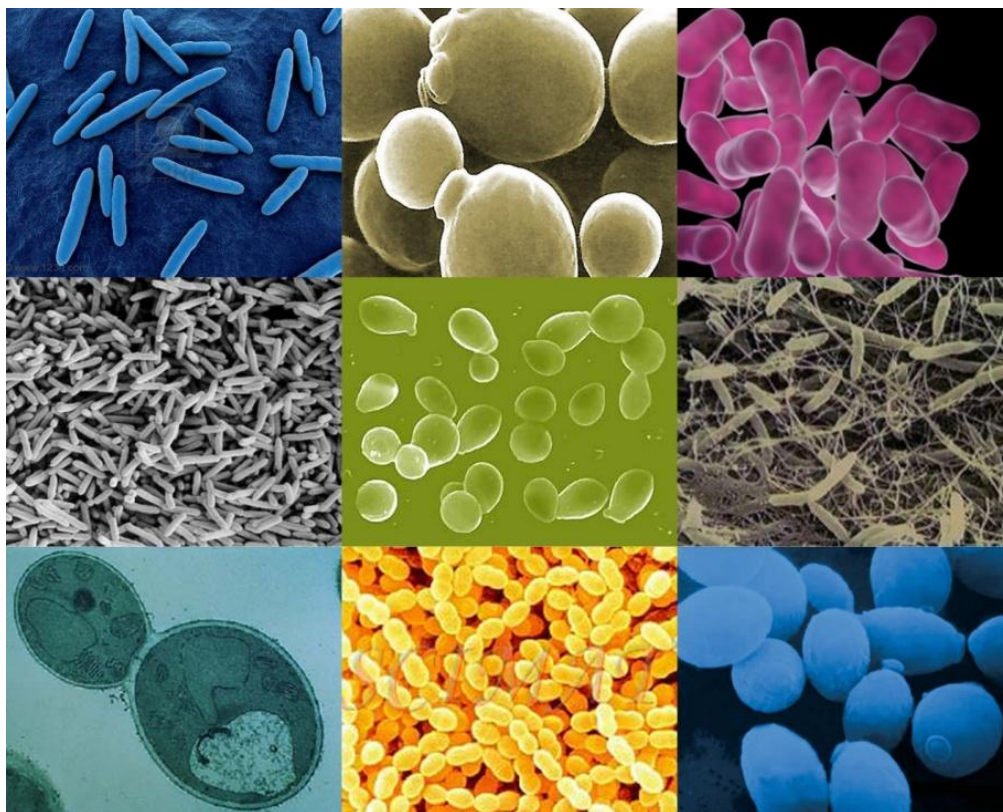
5. BIBLIOGRAFIA

LLIBRES CONSULTATS:

- A. TORRES, Miquel (1892): *La vinya i els vins*. Barcelona: Editorial Blume.
- BALLESTEROS, Manuel; JIMENO, Antonio (2009): *Biologia 2BATXILLERAT*. Barcelona: Grup Promotor Santillana, La Casa del Saber.
- BARBA, Lluís Manel; LIZARRITUNRRY, Miki (2000): *La elaboración del vino*. Madrid: Folico.
- FUERTES I MATEU, Màrius (2004). *El vi neix a la vinya*. Valls: Cosetània.
- HIDALGO TOGORES, José (2003): «Tomo 1» Dins: HIDALGO TOGORES, José *Tratado de Enología*. Madrid: Mundiprensa.
- IBAR, Leandro (1993). *Cómo se hace un buen vino*. Barcelona: Editorial de Vecchi.
- JIMENO, Antonio; UGEDO, Luis (2008): *Biologia 1BATXILLERAT*. Barcelona: Grup Promotor Santillana, La Casa del Saber.
- LEMPERTE, Weiss; VOGT, Jakob (1984): *El vino: Obtención, elaboración y análisis*. Saragosa: Editorial Acribua S.A.
- PUIG I VAYEDA, Eduard (2007). *La cultura del vi*. Barcelona: Vull Saber, UOC.
- PUIG I VAYEDA, Eduard (2009): *El vi*. Barcelona: Vull Saber, UOC.
- RULL, Xavier (1999): *Diccionari del vi*. Tarragona: El Calidoscopi.

PÀGINES WEB CONSULTADES:

- ANA ALINA PONCE ALVAREZ. *La Fermentacion Del Vino: La Quimica Entre Dos*. [21.08.2010]
<<http://www.articuloz.com/vino-articulos/la-fermentacion-del-vino-la-quimica-entre-dos-964223.html>>
- AWRI. *Yeast, bacteria and fermentation*. [25.08.2010]
<http://www.awri.com.au/research_and_development/grape_and_wine_production/yeast_bacteria_and_fermentation>
- BARCANORA. *Levadura*. [16.08.2010].
<<http://alezamora.galeon.com/aficiones1893538.html>>
- DICCIONARIO DEL VINO. *Fermentación*. [18.08.2010]
<<http://www.diccionariodelvino.com/index.php/fermentacion-alcoholica>>
- ENRIQUE MARCET GARCIA. *Las levaduras, la fermentación y las destilaciones*. [17.08.2010].
<<http://www.monografias.com/trabajos42/levaduras/levaduras.shtml>>
- GRUPO CONASI. *Levaduras* [12.08.2010].
<<http://www.conasi.eu/content/pdfs/articulos/levaduras.pdf>>
- JOSEP MARIA DE SAGARRA. *Vinya*. [21.08.2010].
<<http://ca.wikipedia.org/wiki/Vinya>>
- LEONOR CARRILLO. *Levaduras*. [18.08.2010].
<<http://www.unsa.edu.ar/matbib/hongos/09htextolevaduras.pdf>>



ANNEXOS

EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

TAULES DE SEGUIMENT DIARI DEL PES DE LES 24 PREPARACIONS ERLENMEYERS AMB LLEVAT DE LABORATORI A 25°C

nº erl.	2 DIES				4 DIES					
	1r	2n	3r	4t	5è	6è	7è	8è	9è	10è
1	332,94	326,17	320,6	319,29	319,03	318,87	318,45	318,18	317,7	317,58
2	309,46	302,55	297,21	295,99	295,7	295,47	294,61	294,32	293,61	293,37
3	329	322,18	317,01	315,81	315,57	315,4	314,74	314,49	313,84	313,67
7	316,16	311,14	308,07	305,83	305,47	305,22	304,36	304,07	303,49	303,29
8	314,16	309,26	306,23	303,77	303,33	302,95	302,08	301,78	301,21	301,01
9	329,55	324,7	321,64	319,31	318,95	318,62	318,11	317,86	317,42	317,26

nº erl.	2 DIES			4 DIES				2 DIES			
	11è	12è	13è	14è	15è	16è	17è	18è	19è	20è	21è
1	317,44	317,69	317,42	317,26	317,24	317,25	318,22	318,05	317,89	316,8	316,54
2	293,19	293,15	292,79	292,55	292,39	292,36	292,8	292,63	292,41	291,05	290,48
3	313,57	313,57	313,28	313,06	313,03	313	313,61	313,43	313,28	312,12	311,7
7	303,14	303,12	302,96	302,9	307,77	302,76	302,73	302,58	302,35	300,91	300,43
8	300,82	300,8	300,58	300,51	300,38	300,33	300,49	300,34	300,2	298,81	298,35
9	317,16	317,36	317,19	317,12	317,01	316,98	317,47	317,39	317,26	316,5	316,07

FERMENTACIÓ ACÈTICA

PREPARACIONS AMB LLEVAT DE LABORATORI A 25°C (RESTANT EL CORRESPONENT PES DE CADA RECIPIENT)

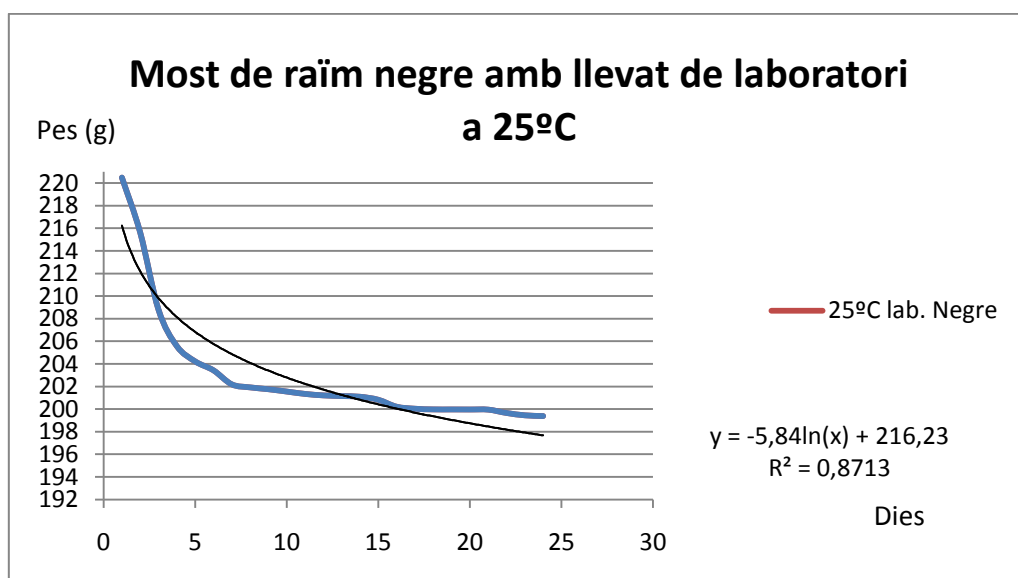
nº erlenmeyer	2 DIES				4 DIES			
	1r	2n	3r	4t	5è	6è	7è	8è
1 (113,23g)	219,71	212,94	207,37	206,06	205,8	205,64	205,22	204,95
2 (94,7g)	214,76	207,85	202,51	201,29	201	200,77	199,91	199,62
3 (116,6g)	212,4	205,58	200,41	199,21	198,97	198,8	198,14	197,89
7(99,17g)	216,99	211,97	208,9	206,66	206,3	206,05	205,19	204,9
8 (93,97g)	220,19	215,29	212,26	209,8	209,36	208,98	208,11	207,81
9 (114,31g)	215,24	210,39	207,33	205	204,64	204,31	203,8	203,55

nº erlenmeyer	2 DIES							
	9è	10è	11è	12è	13è	14è	15è	16è
1 (113,23g)	204,47	204,46	204,44	204,35	204,19	204,03	204,02	204,01
2 (94,7g)	198,91	198,67	198,49	198,45	198,09	197,85	197,69	197,66
3 (116,6g)	197,24	197,07	196,97	196,97	196,68	196,46	196,43	196,4
7(99,17g)	204,32	204,12	203,97	203,95	203,79	203,73	203,6	203,59
8 (93,97g)	207,24	207,04	206,85	206,83	206,61	206,54	206,41	206,36
9 (114,31g)	203,11	202,95	202,88	202,85	202,84	202,81	202,7	202,67

EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

MITJANES SEGONS TIPUS DE MOST I GRÀFIC CORRESPONENT
MOST DE RAÏM NEGRE AMB LLEVAT DE LABORATORI A 25°C (1, 2,3)

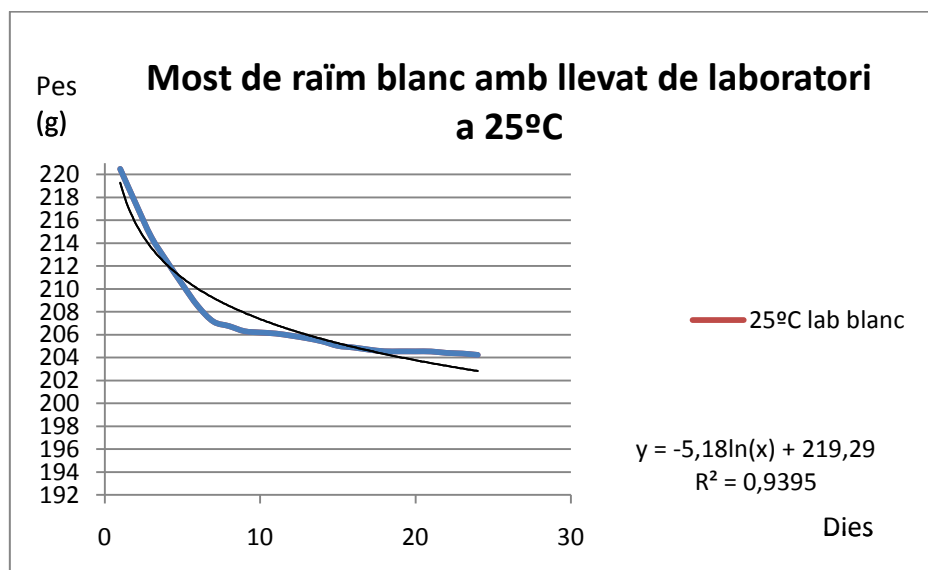
DIA	PES (g)
1r	220,5
2n	215,62
3r	208,79
4t	205,57
5è	204,22
6è	203,43
7è	202,186
8è	201,92
9è	201,756
10è	201,55
11è	201,34
12è	201,21
13è	201,15
14è	201,09
15è	200,82
16è	200,206
17è	200,03
18è	199,97
19è	199,965
20è	199,96
21è	199,95
22è	199,653
23è	199,446
24è	199,38
25è	199,356



EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

MOST DE RAÏM BLANC AMB LLEVAT DE LABORATORI A 25°C (7, 8,9)

DIA	PES (g)
1r	220,5
2n	217,47
3r	214,55
4t	212,42
5è	210,4
6è	208,496
7è	207,15
8è	206,76
9è	206,31
10è	206,2
11è	206,11
12è	205,92
13è	205,7
14è	205,42
15è	205,032
16è	204,89
17è	204,7
18è	204,556
19è	204,552
20è	204,549
21è	204,54
22è	204,413
23è	204,36
24è	204,236
25è	204,206



EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

ERLENMEYERS AMB LLEVAT NATURAL A 25°C

2 DIES					4 DIES					
n° erlenmeyer	1r	2n	3r	4t	5è	6è	7è	8è	9è	10è
16	302,72	294,42	295,14	294,05	293,73	293,54	293,09	292,85	292,36	294,16
17	327,47	320,94	319,6	318,63	318,33	318,08	317,52	317,31	316,77	316,62
18	312,26	306,6	304,8	303,94	303,74	303,61	303,13	302,9	302,51	302,39
10	331,68	327,16	324,1	320,12	319,3	318,65	317,43	317,08	316,32	315,99
11	331,38	326,86	323,84	320,15	319,5	318,93	318,25	317,96	317,29	316,93
12	314,15	309,73	306,71	302,96	302,27	301,65	300,2	299,84	299,02	298,64

2 DIES				4 DIES				2 DIES			
n° erl.	11è	12è	13è	14è	15è	16è	17è	18è	19è	20è	21è
16	292,03	292,09	291,82	291,75	291,66	291,6	291,65	291,49	291,15	290,18	289,97
17	316,45	316,4	316,16	316,07	315,98	315,93	316,31	316,15	315,87	315,27	315,09
18	302,27	302,26	302,02	301,93	301,83	301,8	301,96	301,68	301,53	301,46	301,02
10	315,7	315,08	314,79	314,48	314,24	313,97	313,7	313,47	314,68	311,88	311,21
11	316,37	315,92	315,58	315,33	315,1	314,94	315,21	315	313,21	313,57	312,98
12	298,3	297,77	297,41	297,05	296,78	296,53	296,39	296,13	295,8	294,62	294,04

FERMENTACIÓ ACÈTICA

PREPARACIONS AMB LLEVAT NATURAL A 25°C (RESTANT EL CORRESPONENT PES DE CADA RECIPIENT)

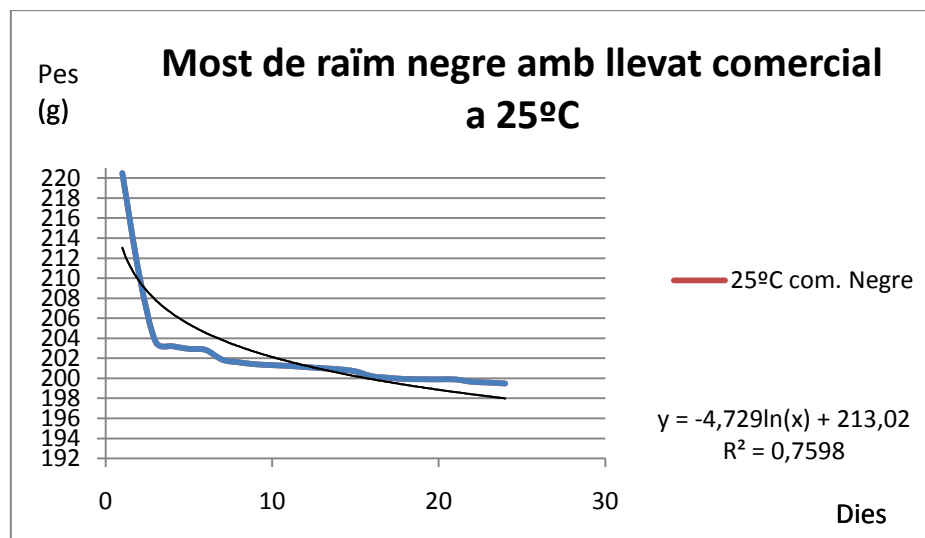
2 DIES					4 DIES			
n° erlenmeyer	1r	2n	3r	4t	5è	6è	7è	8è
16 (93,44g)	209,28	200,98	201,7	200,61	200,29	200,1	199,65	199,41
17 (116,47g)	211	204,47	203,13	202,16	201,86	201,61	201,05	200,84
18 (101,09g)	211,17	205,51	203,71	202,85	202,65	202,52	202,04	201,85
10 (114,2g)	217,48	212,96	209,9	205,92	205,1	204,45	203,23	202,88
11 (114,41g)	216,97	212,45	209,43	205,74	205,09	204,52	203,84	203,55
12 (94,04g)	220,11	215,69	212,67	208,92	208,23	207,61	206,16	205,8

2 DIES								
n° erlenmeyer	9è	10è	11è	12è	13è	14è	15è	16è
16 (93,44g)	198,92	198,72	198,65	198,59	198,38	198,31	198,22	198,16
17 (116,47g)	200,3	200,15	199,98	199,93	199,69	199,6	199,51	199,46
18 (101,09g)	201,42	201,3	201,18	201,17	200,93	200,84	200,74	200,71
10 (114,2g)	202,12	201,79	201,5	200,88	200,59	200,28	200,04	199,77
11 (114,41g)	202,88	201,52	201,29	200,67	200,38	200,07	199,83	199,56
12 (94,04g)	204,98	204,6	204,26	203,73	203,37	203,01	202,74	202,79

EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

MITJANES SEGONS TIPUS DE MOST I GRÀFIC CORRESPONENT
MOST DE RAÏM NEGRE AMB LLEVAT NATURAL A 25°C (16, 17,18)

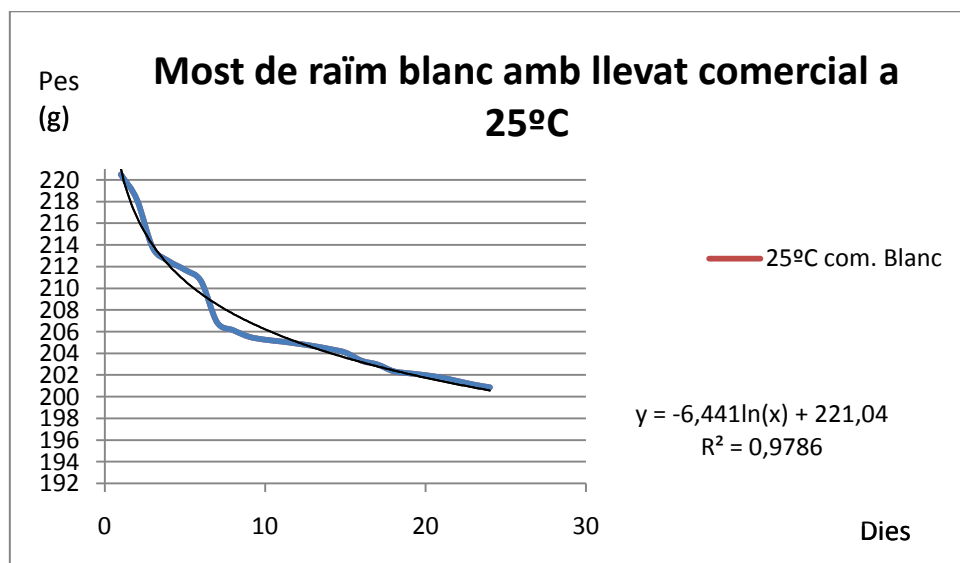
DIA	PES (g)
1r	220,5
2n	210,483
3r	203,653
4t	203,22
5è	202,95
6è	202,846
7è	201,873
8è	201,6
9è	201,41
10è	201,32
11è	201,24
12è	201,13
13è	201,012
14è	200,913
15è	200,7
16è	200,213
17è	200,056
18è	199,936
19è	199,917
20è	199,9
21è	199,896
22è	199,66
23è	199,583
24è	199,49
25è	199,443



EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

MOST DE RAÏM BLANC AMB LLEVAT NATURAL A 25°C (10, 11,12)

DIA	PES (g)
1r	220,5
2n	218,186
3r	213,7
4t	212,5
5è	211,7
6è	210,66
7è	206,86
8è	206,14
9è	205,53
10è	205,26
11è	205,097
12è	204,9
13è	204,68
14è	204,41
15è	204,076
16è	203,326
17è	202,97
18è	202,35
19è	202,16
20è	201,99
21è	201,76
22è	201,446
23è	201,12
24è	200,87
25è	200,706



EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

ERLENMEYERS AMB LLEVAT DE LABORATORI A 13°C

2 DIES

2 DIES

n° erl.	1r	2n	3r	4t	5è	6è	7è	8è
4	316,78	316,72	316,34	314,73	313,87	312,72	306,91	305,77
5	330,39	330,26	329,75	327,35	326,46	325,33	320,33	319,43
6	322,33	322,13	321,5	318,42	317,53	316,42	311,74	310,89
19	328,67	328,65	328,39	327,51	326,79	325,95	321,29	320,5
20	333,5	333,38	333,08	331,65	330,93	330,01	325,48	324,76
21	322,81	322,68	322,35	320,54	319,89	319	315,21	314,6

2 DIES

n° erl.	9è	10è	10è	11è	12è	13è	14è	15è	16è
4	304,85	303,98	303,98	303,13	301,54	301,19	300,93	300,66	300,39
5	318,38	317,47	317,47	316,53	315,26	314,97	314,74	314,52	314,28
6	309,65	308,51	308,51	307,43	306,08	305,86	305,61	305,39	305,17
19	319,93	319,49	319,49	319,03	317,82	317,36	316,84	316,39	315,18
20	324,07	323,57	323,57	323,04	321,86	321,51	321,18	320,84	320,47
21	313,74	313,16	313,16	312,54	311,14	310,83	310,47	310,14	309,76

PREPARACIONS AMB LLEVAT DE LABORATORI A 13°C (RESTANT EL CORRESPONENT PES DE CADA RECIPIENT)

2 DIES

4 DIES

n° erlenmeyer	1r	2n	3r	4t	5è	6è	7è	8è
4 (94,76g)	222,02	221,96	221,58	219,97	219,11	217,96	212,15	211,01
5 (117,73g)	212,66	212,53	212,02	209,62	208,73	207,6	202,6	201,7
6 (95,92g)	226,41	226,41	225,58	222,5	221,61	220,5	215,82	214,97
19 (114,83g)	213,84	213,82	213,56	212,68	211,96	211,12	206,46	205,67
20 (111,91g)	221,59	221,47	221,17	219,74	219,02	218,1	213,57	212,85
21 (97,54g)	225,27	225,14	224,81	223	222,35	221,46	217,67	217,06

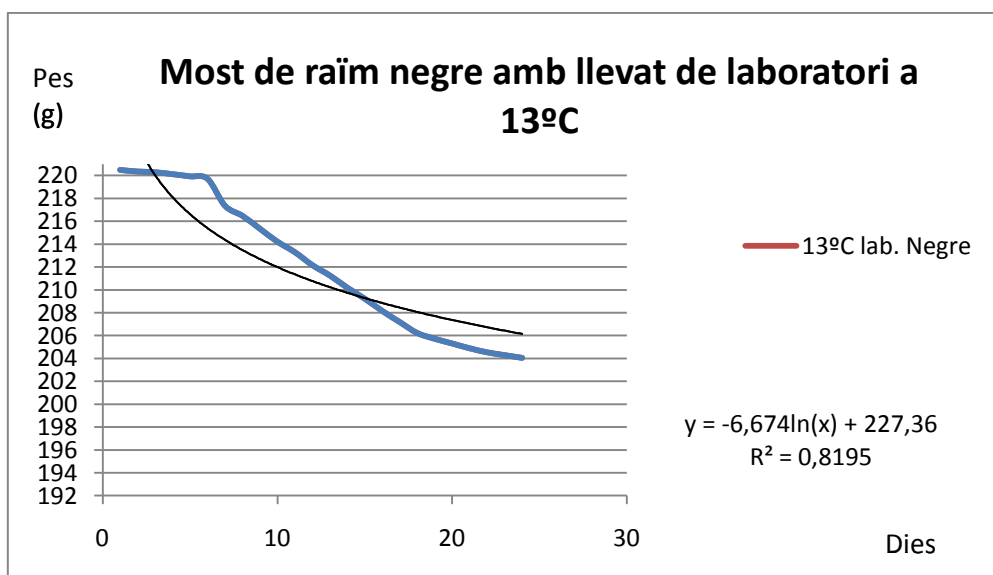
2 DIES

n° erlenmeyer	9è	10è	11è	12è	13è	14è	15è	16è
4 (94,76g)	210,09	209,22	208,37	206,78	206,43	206,17	205,9	205,63
5 (117,73g)	200,65	199,74	198,8	197,53	197,24	197,01	196,79	196,55
6 (95,92g)	213,73	212,59	211,51	210,16	209,94	209,69	209,47	209,25
19 (114,83g)	205,1	204,66	204,2	202,99	202,53	202,01	201,56	200,55
20 (111,91g)	212,16	211,66	211,13	209,95	209,6	209,27	208,93	208,56
21 (97,54g)	216,2	215,62	215	213,6	213,29	212,93	212,6	212,22

EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

MITJANES SEGONS TIPUS DE MOST I GRÀFIC CORRESPONENT
MOST DE RAÏM NEGRE AMB LLEVAT DE LABORATORI A 13°C (4, 5,6)

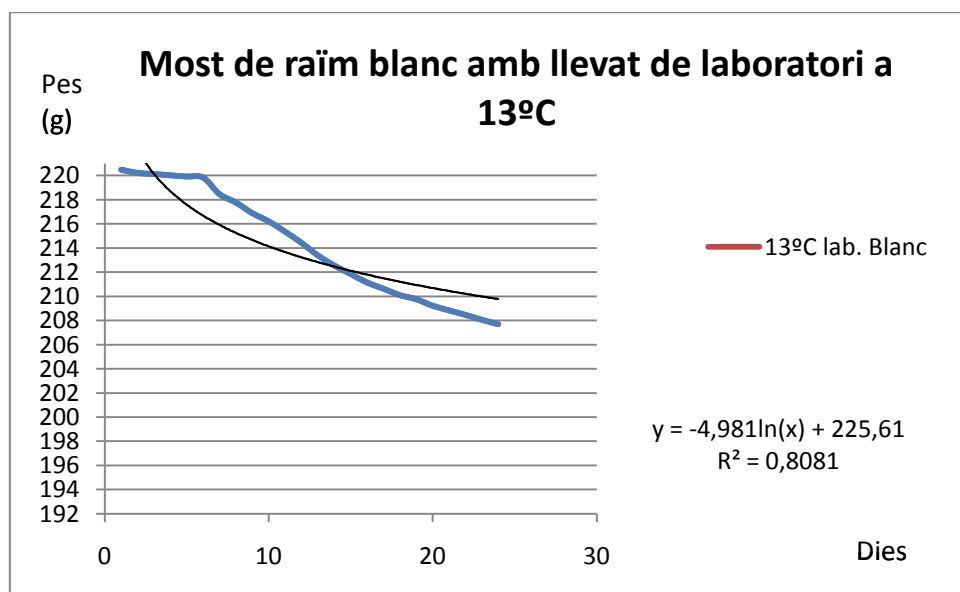
DIA	PES (g)
1r	220,5
2n	220,363
3r	220,3
4t	220,13
5è	219,94
6è	219,726
7è	217,363
8è	216,483
9è	215,353
10è	214,22
11è	213,3
12è	212,167
13è	211,26
14è	210,19
15è	209,226
16è	208,156
17è	207,183
18è	206,226
19è	205,72
20è	205,31
21è	204,89
22è	204,536
23è	204,29
24è	204,053
25è	203,81



EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

MOST DE RAÏM BLANC AMB LLEVAT DE LABORATORI A 13°C (19, 20,21)

DIA	PES (g)
1r	220,5
2n	220,23
3r	220,143
4t	220,03
5è	219,93
6è	219,846
7è	218,473
8è	217,776
9è	216,893
10è	216,22
11è	215,36
12è	214,44
13è	213,4
14è	212,56
15è	211,86
16è	211,153
17è	210,646
18è	210,11
19è	209,767
20è	209,23
21è	208,846
22è	208,473
23è	208,07
24è	207,696
25è	207,11



EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

ERLENMEYERS AMB LLEVAT NATURAL A 13°C

2 DIES					4 DIES			
nº erl.	1r	2n	3r	4t	5è	6è	7è	8è
13	313,25	312,94	311,94	306,75	304,48	301,89	298,37	298,1
14	314,68	314,22	312,59	304,94	302,93	301,46	299,49	299,22
15	315,68	315,2	313,72	305,4	303,54	302,39	300,56	300,3
22	335,07	334,84	334,37	331,79	330,78	329,72	326,08	325,51
23	330,99	331,79	330,28	327,06	325,83	324,79	320,74	320,25
24	332,93	333,78	332,22	328,09	325,78	325,72	321,15	320,67

2 DIES								
nº erl.	9è	10è	11è	12è	13è	14è	15è	16è
13	297,85	297,64	297,49	296,96	296,59	296,37	296,19	296,03
14	298,97	298,78	298,62	298,08	297,82	297,71	297,56	297,33
15	300,06	299,86	299,59	298,74	298,46	298,36	298,18	298,01
22	324,87	324,31	323,76	322,35	321,82	321,4	321,09	320,68
23	319,65	319,13	318,58	317,18	316,72	316,45	316,18	315,76
24	320,04	319,51	318,85	317,01	316,49	316,18	315,88	315,55

PREPARACIONS AMB LLEVAT NATURAL A 13°C (RESTANT EL CORRESPONENT PES DE CADA RECIPIENT)

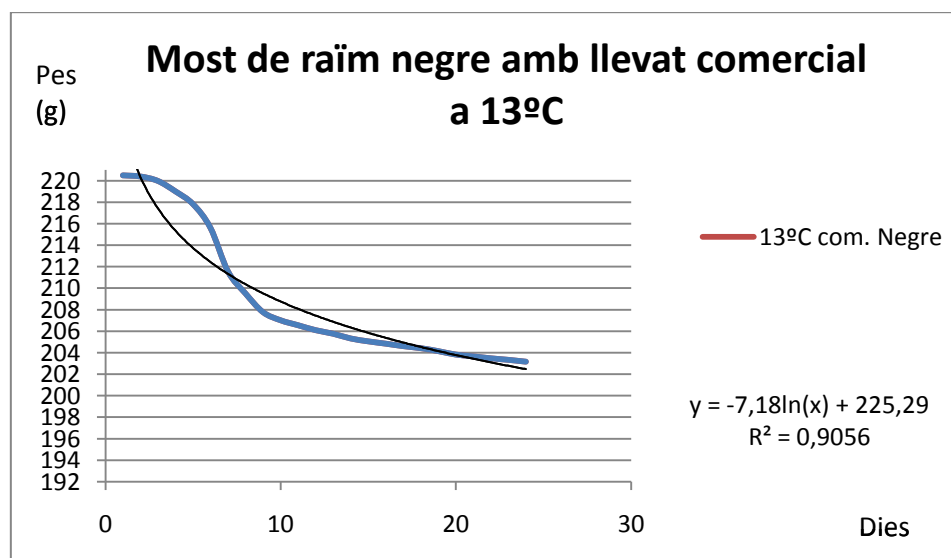
2 DIES					4 DIES			
nº erl.	1r	2n	3r	4t	5è	6è	7è	8è
13	219,87	219,56	218,56	213,37	211,1	208,51	204,99	204,72
14	220,97	220,51	218,88	211,23	209,22	207,75	205,78	205,49
15	220,35	219,87	218,39	210,07	208,21	207,06	205,23	204,97
22	222,39	222,16	221,69	219,11	218,51	217,04	213,4	212,83
23	218,46	218,26	217,75	214,53	213,3	212,26	208,21	207,72
24	220,34	220,19	219,63	215,5	213,19	213,13	208,56	208,08

2 DIES								
nº erl.	9è	10è	11è	12è	13è	14è	15è	16è
13	204,52	204,22	204,11	203,21	203,21	202,99	202,81	202,65
14	205,29	205,09	204,91	204,37	204,11	204	203,85	203,62
15	204,73	204,53	204,26	203,41	203,13	203,03	202,85	202,68
22	212,19	211,63	211,08	209,67	209,14	208,72	208,41	208
23	207,12	206,6	206,05	204,65	204,19	203,92	203,65	203,23
24	207,45	206,92	206,26	204,42	203,9	203,59	203,29	201,96

EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

MITJANES SEGONS TIPUS DE MOST I GRÀFIC CORRESPONENT
MOST DE RAÏM NEGRE AMB LLEVAT NATURAL A 13°C (13, 14,15)

DIA	PES (g)
1r	220,5
2n	220,396
3r	219,98
4t	219,01
5è	217,83
6è	215,61
7è	211,556
8è	209,51
9è	207,773
10è	207,02
11è	206,56
12è	206,1
13è	205,77
14è	205,33
15è	205,06
16è	204,846
17è	204,613
18è	204,426
19è	204,15
20è	203,83
21è	203,663
22è	203,483
23è	203,34
24è	203,17
25è	202,983



EL LLEVAT, UNA EINA PER L'ENOLOGIA

MOST DE RAÏM BLANC AMB LLEVAT NATURAL A 13°C (22, 23,24)

DIA	PES (g)
1r	220,5
2n	220,396
3r	220,203
4t	220,13
5è	219,98
6è	219,69
7è	216,38
8è	215
9è	214,143
10è	213,46
11è	212,79
12è	211,75
13è	210,83
14è	210,056
15è	209,543
16è	208,92
17è	208,383
18è	207,946
19è	207,42
20è	206,93
21è	206,246
22è	205,743
23è	205,41
24è	205,116
25è	204,73

