

Com s'ha comentat, el principal repte per a l'estudi de les 3-alkil-2-metoxipirazines (MPs) en mostos i vins és el nivell extremadament baix en què s'hi poden trobar, de l'ordre de ng/L. El seu estudi en aquest rang és de gran interès degut a que els seus llindars de percepció sensorial són del mateix ordre i també pel fet que el seu impacte en l'aroma del producte final en pot condicionar la qualitat. La determinació d'aquests compostos en mostos i vins és metodològicament difícil, ja que es troben en aquestes quantitats tan baixes dins una matriu molt complexa. Els treballs desenvolupats i presentats en aquesta memòria volen ser una petita contribució a aquest camp de recerca, ja que, amb aquests, s'ha avançat en la línia d'obtenció de mètodes de quantificació de les MPs en mostos i vins i també s'ha progressat en el coneixement de com diferents factors vitícoles i enològics poden determinar-ne els continguts finals al vi. La possibilitat de conèixer amb precisió els continguts de MPs en raïm, most i vi, i poder fer-ne un seguiment durant el procés de maduració del raïm i d'elaboració del vi és d'un gran interès per als productors. En efecte, aquesta informació els podria ajudar a optimitzar la qualitat del vi des de l'inici de la producció del raïm i durant tot el procés d'elaboració del vi. A continuació es presenten les principals conclusions derivades del treball que s'ha exposat.

## **DETERMINACIÓ ANALÍTICA**

1. La complexitat de la matriu vinosa i els continguts extremadament baixos a què es troben les MPs al raïm, most i vi exigeixen procediments analítics que proporcionin la màxima sensibilitat i selectivitat.

### **TRACTAMENT DE LA MOSTRA**

#### *Límits de detecció*

2. En condicions òptimes, els límits de detecció del detector de nitrògen-fòsfor (NPD) per injecció directa d'una solució de MPs són de 0,1-0,2 ng/mL.

3. Donat que els límits de detecció requerits per a l'anàlisi de les MPs en raïm, most i vi són inferiors a 1 ng/L, l'aplicació de la cromatografia de gasos amb detecció per NPD requereix un mètode amb factor de concentració de 10.000 o superior.

#### ***Extracció líquid líquid***

4. La determinació de nivells de l'ordre de 10 ng/L de MPs en vins negres es pot aconseguir mitjançant l'extracció líquid-líquid amb pentà seguida d'una extracció en fase sòlida de fase Sílice (Si), eluïnt amb èter etílic i concentrant per corrent de N<sub>2</sub>. Ara bé, al cromatograma hi pot aparèixer una interferència molt propera al pic de la 3-isobutil-2-metoxipirazina (IBMP).

#### ***Destil·lació***

5. La destil·lació en medi àcid seguida de l'extracció líquid-líquid del romanent proporciona recuperacions molt altes de les MPs en vins sintètics, però la neteja d'interferències que proporciona és insuficient per a la determinació de MPs en vins negres a nivell de ng/L.

#### **MICRO-EXTRACCIÓ EN FASE SÒLIDA DE L'ESPAI DE CAP**

#### ***Sensibilitat i selectivitat***

6. La tècnica de la microextracció en fase sòlida de l'espai de cap resulta especialment idònia per a l'anàlisi de les MPs en most i vi per GC-NPD, ja que proporciona una sensibilitat 10.000 vegades més gran que la injecció directa, així com una excel·lent neteja d'interferències.

#### ***Patró intern***

7. Per les seves característiques químiques i cromatogràfiques, així com la seva absència en mostres naturals, la 3-isopropil-2-etoxipirazina és un patró intern idoni per a la determinació de MPs en mostos i vins.

### ***Mètode per a mostos***

8. El procediment desenvolupat per a l'anàlisi de mostos, basat en la microextracció en fase sòlida de l'espai de cap, permet la determinació de les MPs en mostos a nivells de ng/L.

9. Aquest mètode proporciona uns percentatges de recuperació superiors al 94% per a la IPMP, la SBMP i la IBMP, i uns límits de detecció de 0,1 ng/L per a aquests tres compostos.

### ***Mètode per a vins***

10. El procediment desenvolupat per a l'anàlisi de vins, basat en la destil·lació en medi àcid i posterior microextracció en fase sòlida de l'espai de cap, permet la determinació de les MPs en vins a nivells de ng/L.

11. Aquest mètode proporciona uns percentatges de recuperació superiors al 80% per a la IPMP, la SBMP i la IBMP, i uns límits de detecció de 0,3 ng/L per a aquests tres compostos.

## **CONTINGUTS EN MOSTOS I VINS**

12. A tots els tipus de mostres estudiats s'hi ha identificat la IBMP, la 3-*sec*-butil-2-metoxipirazina (SBMP) i la 3-isopropil-2-metoxipirazina (IPMP). En general, els continguts de la primera són més alts que els de la segona, els quals són més alts que els de la darrera. La 3-etil-2-metoxipirazina s'ha identificat en algunes mostres, però els seus continguts són sota els límits de quantificació.

13. La IBMP és la metoxipirazina de major interès enològic ja que s'ha trobat en totes les mostres de raïms, mostos i vins en què s'han identificat metoxipirazines a concentracions més altes que les altres i probablement és la que té més impacte sensorial al vi.

**14.** Els continguts d'IBMP quantificats en raïm oscil·len entre 2,6 i 42,5, mentre que els nivells d'aquest compost en vi final són d'entre 4,6 i 15,5. Mentre que la variabilitat trobada entre mostres de raïm és deguda als diferents estadis de maduració del raïm, la del vi és deguda als diferents tractaments realitzats.

**15.** Els continguts de SBMP i d'IPMP quantificats en raïm oscil·len, respectivament, entre 2,8 i 18,2; i entre 2,6 i 15,0. Igual que en el cas de la IBMP, aquesta variabilitat és deguda a l'estadi de maduració del raïm.

## **FACTORS QUE PODEN AFECTAR ELS CONTINGUTS**

### *Estadi de maduració del raïm*

**16.** La concentració d'IBMP disminueix progressivament i ràpidament amb la maduresa del raïm. Aquesta disminució es produeix principalment als estadis inicials de maduració i arriba a les concentracions més baixes a la verema.

### *Exposició del raïm a la llum del sol*

**17.** Els continguts mitjans d'IBMP trobats als vins procedents de les vinyes emparrades són significativament més alts que els de les vinyes podades en vas. Aquests vins tenen més probabilitat de presentar l'aroma típica de la IBMP que els vins procedents de vinyes en vas.

**18.** La protecció 'artificial' de la llum del sol (aconseguida embolcallant el raïm amb una peça d'arpillera) pot resultar en un nivell significativament més baix d'IBMP als vins finals.

### *Irrigació*

**19.** Les vinyes regades poden produir raïms i vins amb un nivell d'IBMP significativament més elevat que les vinyes no regades.

### ***Densitat de plantació***

**20.** Les vinyes amb una densitat de plantació més elevada, de 4.000 plantes per hectàrea, poden donar lloc a vins amb continguts significativament més alts d'IBMP que les vinyes de 3.000 o 2.000 plantes per hectàrea.

### ***Maceració i fermentació***

**21.** La concentració d'IBMP en mostos incrementa molt després d'un dia de maceració, probablement degut a l'extracció d'aquest compost de les parts sòlides del raïm.

**22.** Els continguts d'aquesta pirazina incrementen al llarg de la fermentació alcohòlica, però no pas després del descubart.

**23.** Durant la fermentació malolàctica no s'han observat canvis significatius als nivells d'aquest compost.

## PERSPECTIVES DE FUTUR

Cal assenyalar que resten molts camps de recerca per desenvolupar, ja que el coneixement de la influència de les MPs en la qualitat del vi, així com els factors que poden determinar els seus continguts i evolució en raïm i vi, es troba encara en una fase molt preliminar de coneixement. Des de la perspectiva del present treball, els principals camps de coneixement que es poden assenyalar com a possibles futures línies de recerca són els següents:

- Aplicació del procediment de SPME a la determinació dels nivells de metoxipirazines en pell i rapa del raïm.
- Determinació dels llindars de percepció sensorial i les descripcions olfactives de les metoxipirazines estudiades en diferents tipus de vins, emprant mètodes comparables i donant detalls precisos respecte del pannell i els procediments emprats.
- Continguts i influència en l'aroma de les MPs en diferents varietats de *Vitis vinifera*.
- Estudi de la rotació de les metoxipirazines al raïm deguda a la seva dinàmica de síntesi i destrucció.
- Aprofundiment en l'anàlisi de la influència de les pràctiques vitícoles en els nivells de MPs: nutrició, disponibilitat d'aigua, vigor de la vinya, ombra de la canòpia, exposició a la llum del sol, maduració del raïm, anyada, regió i sòl.
- Estudi de com els diferents procediments d'elaboració del vi poden condicionar els nivells de metoxipirazines al producte final: moment de la verema, intensitat de premsada, freqüència de remuntats per dia i durada de la maceració.