

NOUVELLES ACQUISITIONS SUR L'HYDROLYSE des composés glycosidiques dans le vin



JUAN CACHO
LAAE – Université de Saragosse





L'arôme du vin

Détermine le caractère et qualité

Formation très complexe

Composés dérivés
du raisin et profiles



Caractéristiques aromatiques du
cépage

Arôme variétal

Libres
(odorants)

Précurseurs
spécifiques

Profile d'acides aminés,
acides gras, etc.

Précurseurs cystéinylés

Précurseurs glycosylés

Thiols variétaux

Terpènes, phénols, norisoprénoïdes..

INTRODUCTION

Précurseurs glycosylés

Réserve potentielle d'arômes



Libération d'arômes au cours de la vinification et vieillissement

Hydrolyse acide

Hydrolyse lente au pH du vin

Hydrolyse enzymatique

Hydrolyse par enzymes glycosidases:

- dans le raisin
- levures et bactéries
- d'origine fongique

Processus métaboliques



OBJECTIFS

- Hydrolyse des précurseurs par levures et bactéries au cours de la fermentation alcoolique et malolactique. Molécules formées? Effet sensoriel?
- Comparaison des stratégies d'hydrolyse des précurseurs. Mesure du potentiel aromatique du raisin.
- Libération et formation d'arômes au cours du vieillissement du vin (en présence et en absence de lies).

MÉTHODOLOGIE

Extraction de précurseurs glycosidiques

1.5 Kg raisins

Broyage et centrifugation

M.J. Ibarz, V. Ferreira, P. Hernández-Orte, N. Loscos, J. Cacho. *J. Chromatogr. A.* 2006, 1116, 217-229

Elution: 13% EtOH, 36h

Rinçage:

1) H₂O

2) pentane:DCM (2:1)

Elution AcEt:MeOH (9:1)

Élimination solvant

13% EtOH, 36h

Macéré

Extraction SPE (même façon jus)

Utilisation des mélanges de cépages

20 mL EtOH:H₂O (50%)

40 mL extract

Précurseurs dans l'extrait: glycosylés et polyhydroxylés

MÉTHODOLOGIE

Analyses des arômes

**Extraction
SPE**

15 mL vin

**Rinçage:
5 mL 40% MeOH**



**Lichrolut EN
(50mg)**

Elution: 600 µL DCM

Analyse
GC-MS

14 terpènes
10 norisoprénoïdes
11 phénols volatils
9 vanilles
8 benzènes
5 lactones
4 divers

Lopez et al. (2002) *J. Chromatogr. A* 966, 167-177
Loscos et al. (2007) *J. Agric. Food Chem.* 55, 6674-6684



MÉTHODOLOGIE

Analyse sensorielle des vins

Analyses descriptives



Intensité dans les vins





Release and formation of varietal aroma compounds during alcoholic fermentation from nonfloral grape odorless flavor precursor fractions

N. Loscos, P. Hernández-Orte, J. Cacho, V. Ferreira
J. Agric. Food Chem. 2007, 55, 6674-6684



Liberación del Aroma por Levaduras a Partir de Fracciones de Precursors

¿Papel de levaduras *Saccharomyces* en la hidrólisis de precursores?

Actividad β -glicosidasa en levaduras comerciales

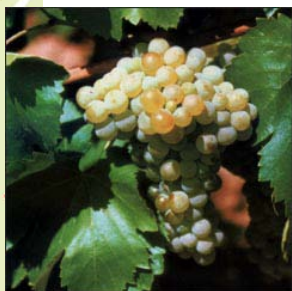


Estabilidad pobre en condiciones vinificación (Günata et al. 1986, Delcroix et al. 1994)

Incubación levaduras + hollejos → expresión notas varietales
Papel levadura en expresión del aroma varietal
(Delfini et al. 2001)

Fermentación mosto sintético + precursores (3 *Saccharomyces*)
→ liberación de aromas varietales
(Ugliano et al. 2006)

Liberación del Aroma por levaduras



+

Extracto de
precursores
glicosídicos
(30mL/L mosto)



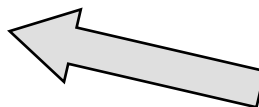
Fermentación alcohólica



3 levaduras *Saccharomyces*

Mosto var.
Macabeo

Extracción SPE



Mosto
no adicionado
(T)



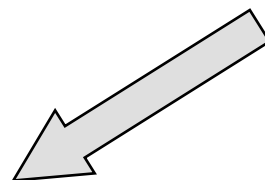
Mosto
adicionado
(A)



Vino
control
(CON)

(3 réplicas)

J. Agric. Food Chem. 2007, 55, 6674-6684



Liberación del Aroma por Levaduras

Efectos de la adición de la fracción de precursores

❑ Aumento de la concentración en vinos adicionados

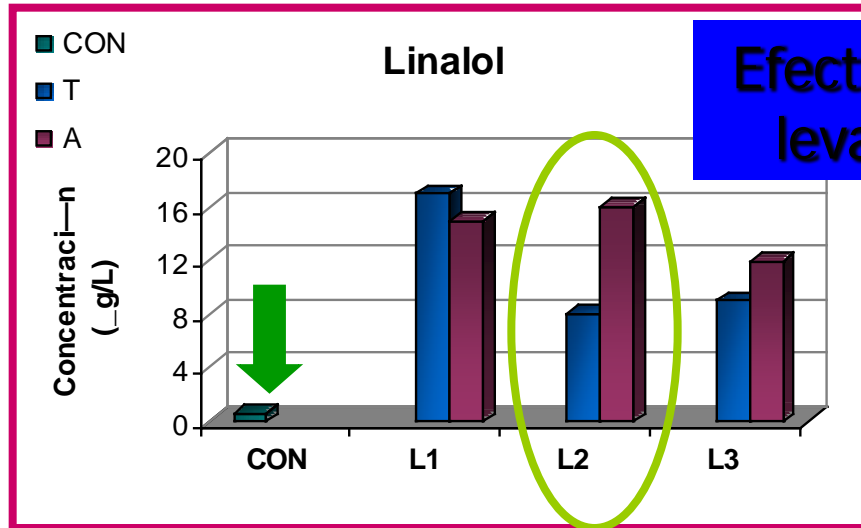
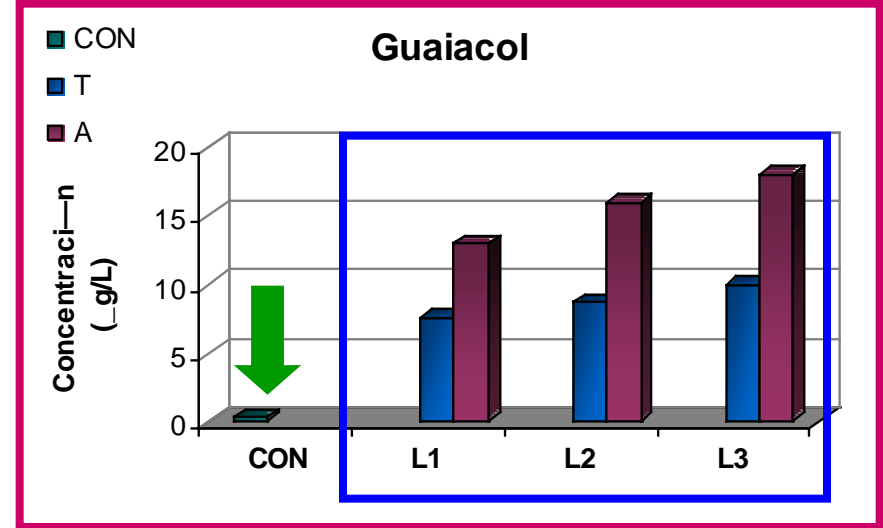
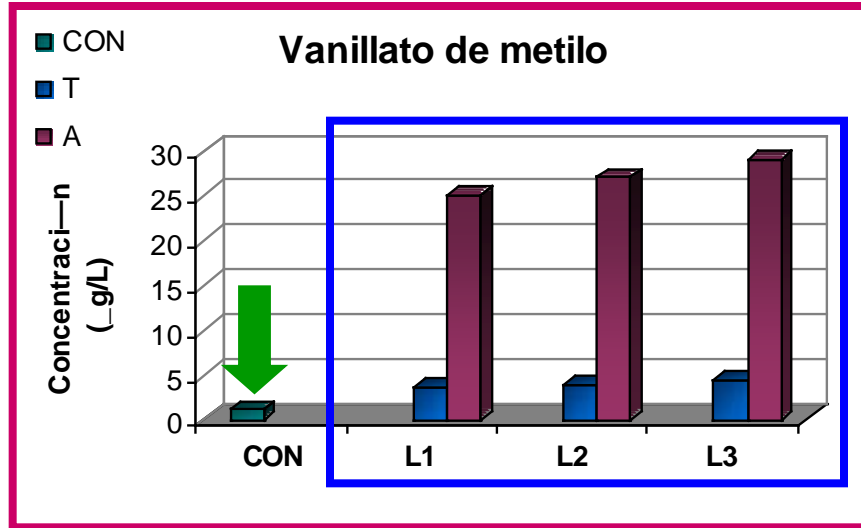
* Excepciones: ácidos 3-metil- y 2-metilbutírico, y Z-3-hexen-1-ol.

❑ Mayores incrementos:

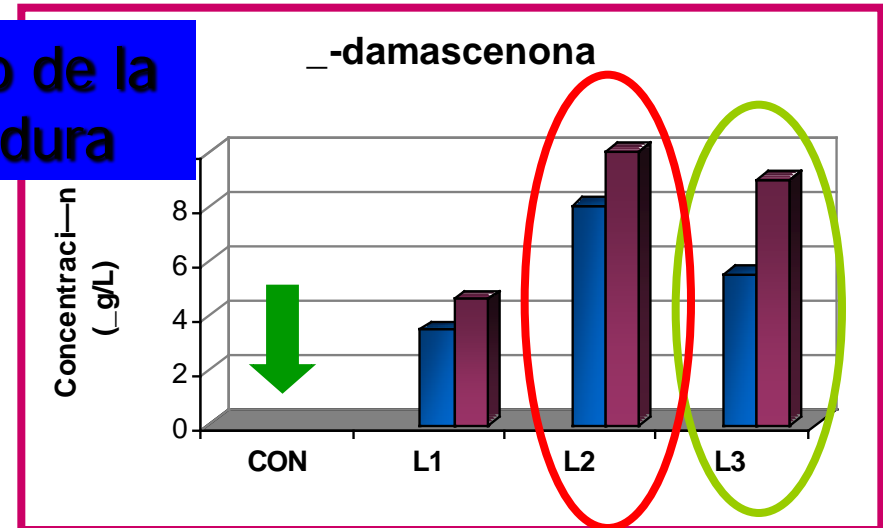
- **vainillas:** vanillato de metilo (x7), vanillato de etilo (x4), acetosiringona (x5).

- **cinamatos (x2), guaiacol (x2) y algunos norisoprenoides (actinidoles, 3-oxo- α -ionol) (x2)**

Liberación del aroma por Levaduras



Efecto de la levadura

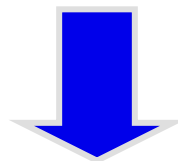


Invirtiendo en nuestro futuro
Investir dans notre avenir



Liberación del Aroma por Levaduras

Incrementos por debajo del umbral de olfacción
(excepciones: β -damascenona, β -ionona y vinilfenoles)



Cinamatos, lactonas, terpenos y vainillas
ejercen una acción concertada sobre el aroma



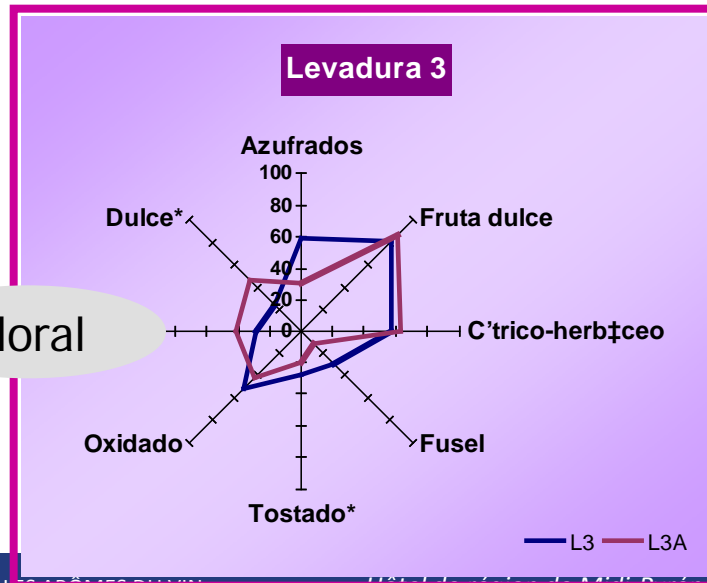
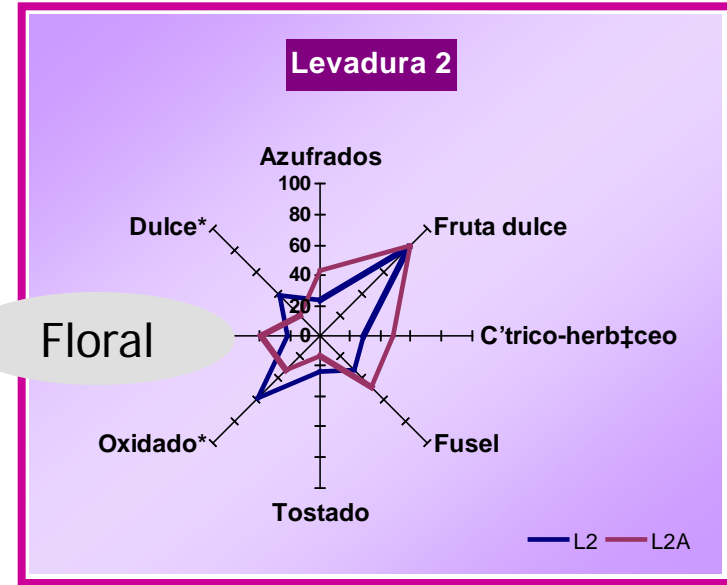
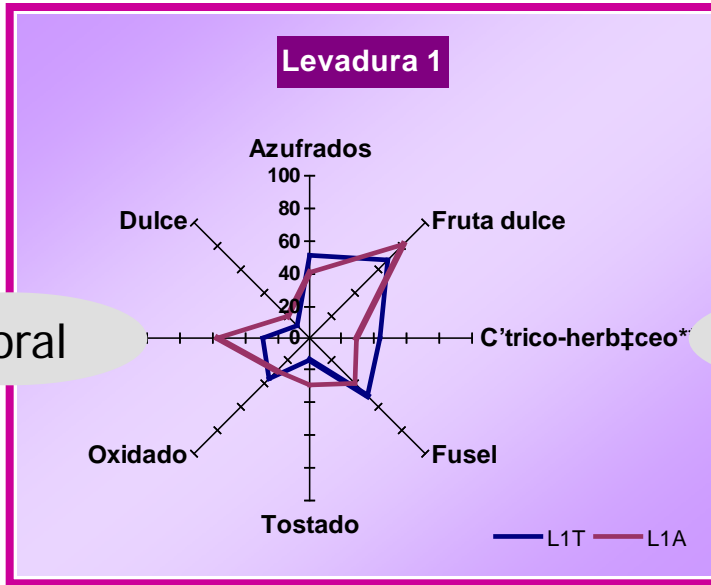
Contribución a
la nota floral



J. Agric. Food Chem. 2007, 55, 6674-6684



Liberación del Aroma por Levaduras



Aumento de la nota floral

Resto de descriptores: dependencia levadura



Invirtiendo en nuestro futuro
Investir dans notre avenir

COOPÉRATION COOPÉRATION
TERRITORIAL TERRITORIALE
2007-2013
UE FEDER



CONCLUSIONES

- ❑ Confirmación del papel de las levaduras *Saccharomyces* en la liberación de aromas varietales durante la fermentación alcohólica
- ❑ Aromas liberados en pequeñas concentraciones pero suficientes para causar efectos sensoriales significativos
- ❑ Disminución concentración isoácidos al adicionar la fracción de precursores glicosídicos.
- ❑ Diferencias entre levaduras a nivel químico y sensorial





The Development of Varietal Aroma from non-Floral Grapes by Yeasts of different Genera

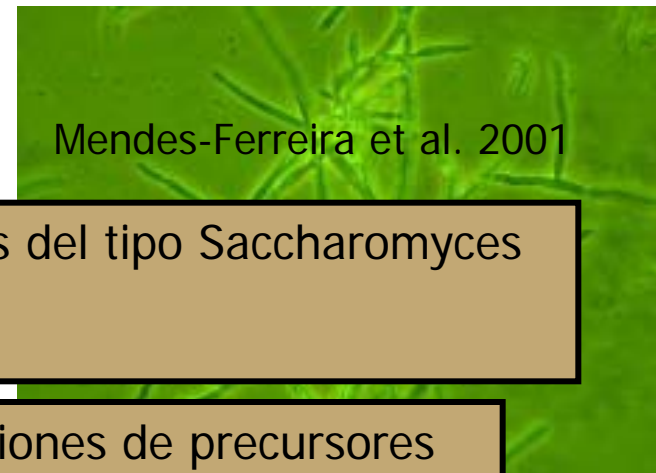
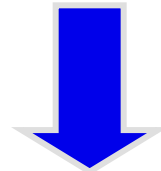
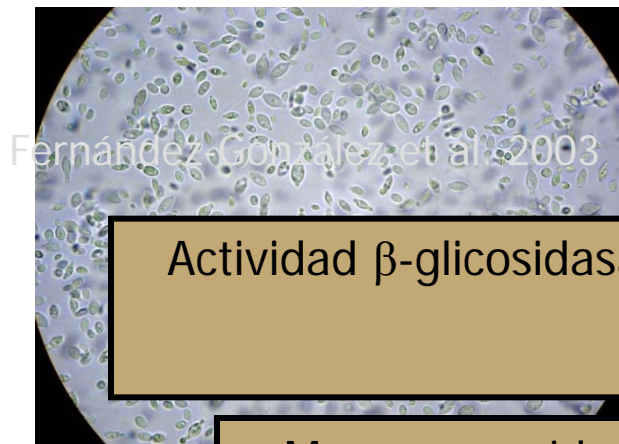
P. Hernández-Orte, M. Cersosimo, N. Loscos J. Cacho, E.

García-Moruno, V. Ferreira

Food Chem. 2008, 107, 1064-1077

Generación del Aroma Varietal por Levaduras

Estudios anteriores con levaduras no *Saccharomyces*



Actividad β -glicosidasa superior a levaduras del tipo *Saccharomyces*

Mayor capacidad para hidrolizar fracciones de precursores



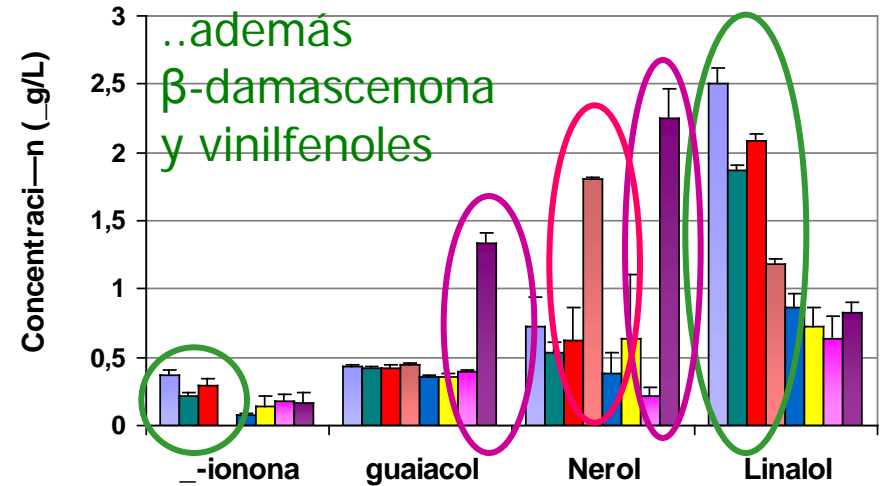
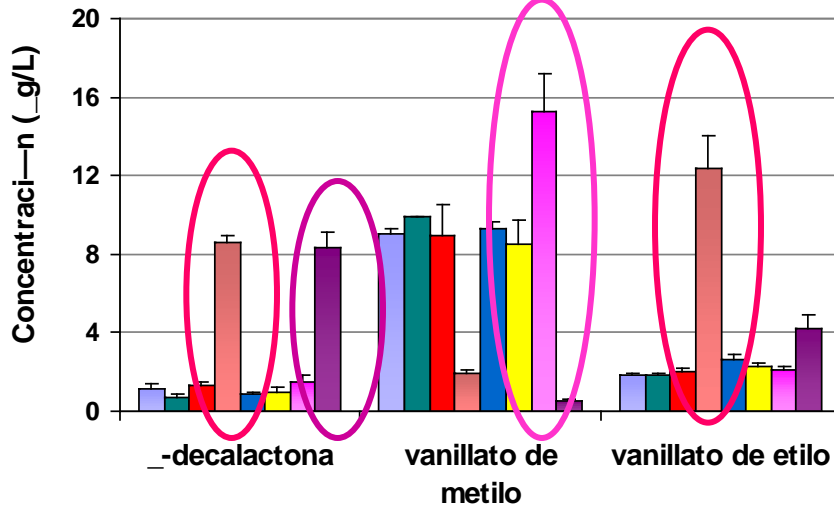
Incubación células + precursores en condiciones óptimas (pH 5, 30-40°C)

Food Chem. 2008, 107, 1064-1077



COMPOSÉS GLYCOSIDIQUES

Compuestos aromáticos formados a partir de precursores



..además
 β -damascenona
y vinilfenoles

Sc 40	Sc S6u
Sc 250	Tor 1448

Han 1456	Bre 372
Klo 308	Deb 30

Saccharomyces

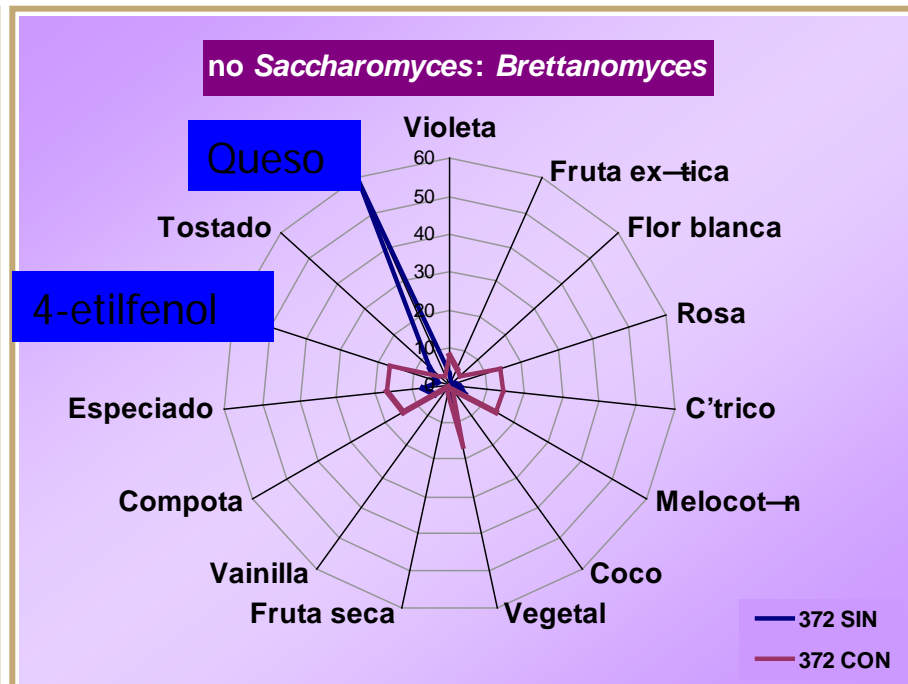
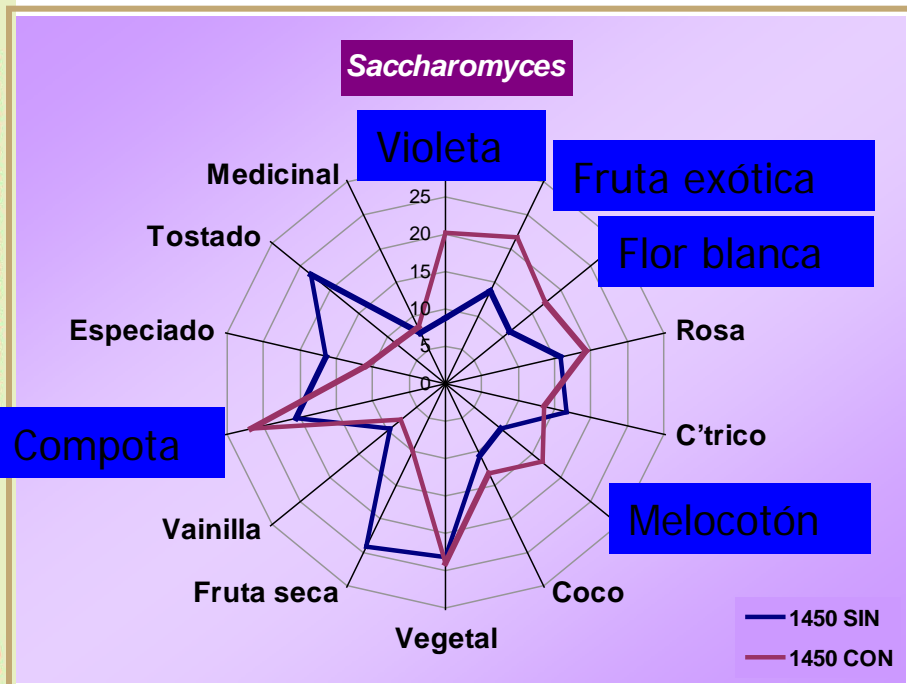
Torulospora más diferente

Debaryomyces fermentati

Brettanomyces mayores niveles isoácidos y etilfenoles

Efecto sensorial de la adición de precursores

Disminución 2-metil y 3-metilbutírico



Aumento linalol, β -damacenona, β -ionona, cinamatos y lactonas

Aumento 4-etilfenol y 4-etilguaiacol

Food Chem. 2008, 107, 1064-1077

Invirtiendo en nuestro futuro
Investir dans notre avenir

COOPÉRATION COOPÉRATION
TERRITORIAL TERRITORIALE
2007-2013
UE FEDER



CONCLUSIONES

- ❑ Influencia crítica del género de levadura en los niveles de gran parte de los aromas varietales
- ❑ Gran diversidad de actividades enzimáticas entre géneros. Diferencias menores para un mismo género
- ❑ Confirmación efecto disminución en la síntesis de isoácidos con la adición de la fracción de precursores.





Aroma Development from non-Floral Grape Precursors by Wine Lactic Acid Bacteria

P. Hernández-Orte, M. Cersosimo, N. Loscos J. Cacho, E. García-Moruno, V. Ferreira

Food Res. Int. 2009, 42, 773-781

Generación del Aroma a partir de Precursores de la uva por LAB

Estudios anteriores con bacterias lácticas

Boido et al. 2002



Ugliano et al. 2003
Ugliano et al. 2006

Oenococcus oeni

Capaces de transformar precursores glicosídicos
Liberación de aromas varietales durante la FML

Lactobacillus y Pediococcus

Información menor
Actividad β -glicosidasa \rightarrow capacidad para liberar aromas no estudiada

Food Res. Int. 2009, 42, 773-781

Grimaldi et al. 2005



Generación del Aroma a partir de Precursores de la Uva por LAB

Determinación actividad β -glucosidasa (respecto al p-NPG) de 20 cepas de bacterias lácticas:
10 *O. oeni*, 8 *Lactobacillus* y 2 *Pediococcus*

8 Cepas con mayor actividad



Vino sintético + precursores + bacterias

Vino sintético + bacterias

Control Bprec:
vino sintético + precursores

Fermentación
maloláctica

SPE
GC-MS

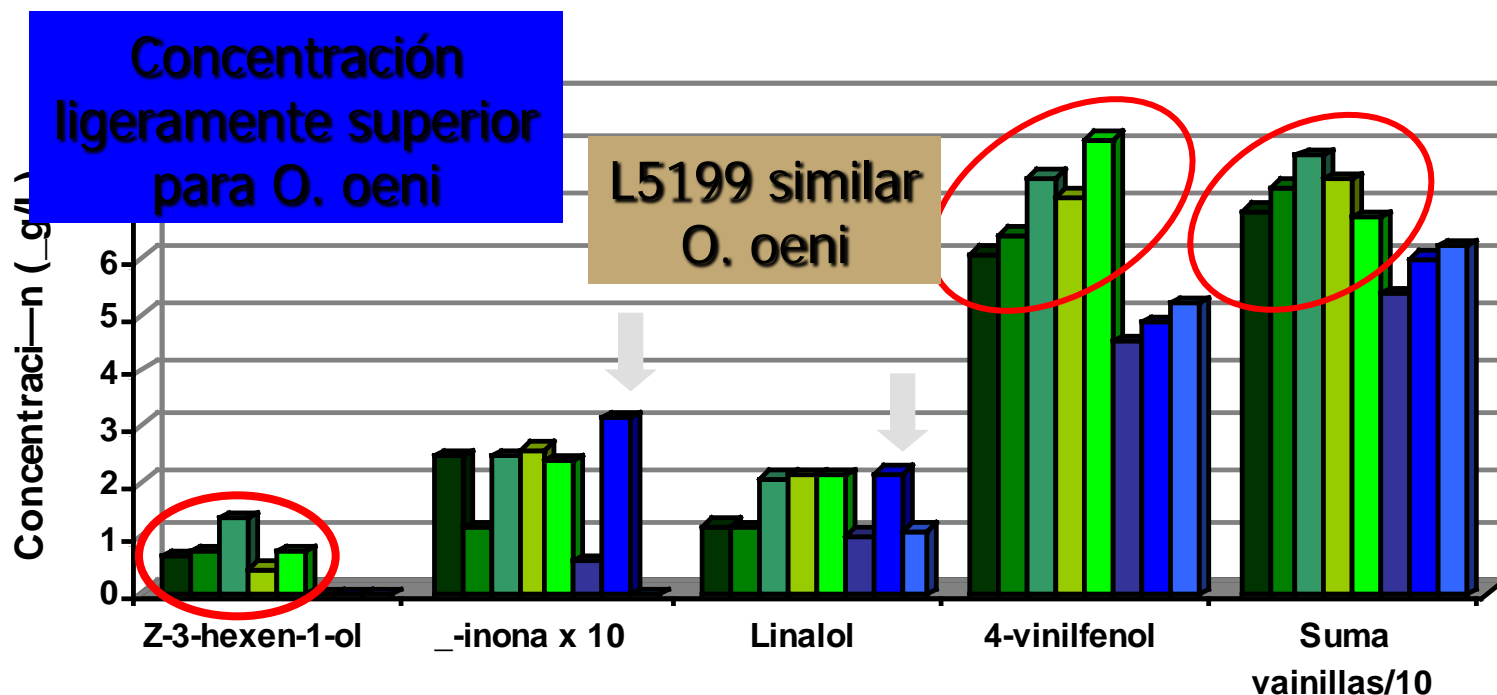
+



Food Res. Int. 2009, 42, 773-781

Generación del Aroma a partir de Precursores de la Uva por LAB

- ❑ **Pediococcus** : no actividad β -glucosidasa en cepas estudiadas
- ❑ **Lactobacillus** : no transformación del ácido málico
- ❑ **O. oeni** y **Lactobacillus** : capaces de liberar pequeñas cantidades de terpenos, norisoprenoides, fenoles volátiles y vainillas.



Generación del Aroma a partir de Precursores de la Uva por LAB

Efecto sensorial

Efecto hidrólisis ácida

Acción bacterias sobre precursores

Alcohol

Fenólico

Violeta

Flo

— 05106 SIN
— 05106 CON
— B prec

Oxidado

Especiado

Vegetal

Cítrico

Fruta de árbol

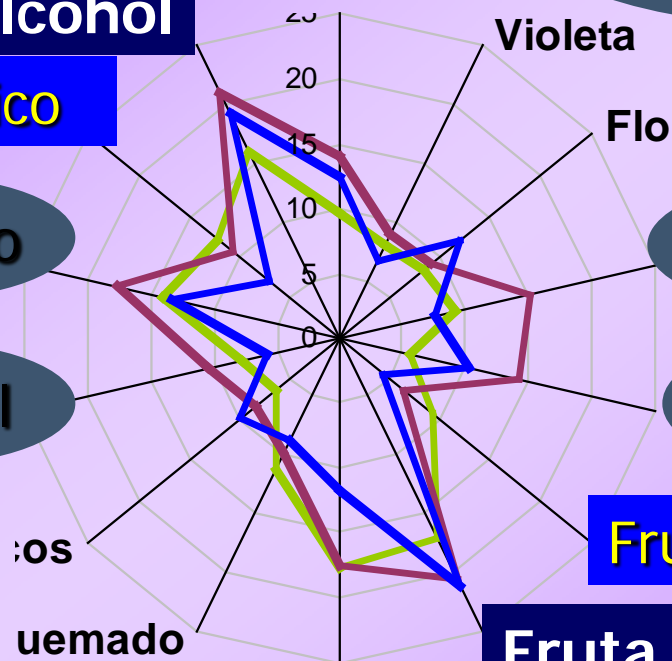
ros

Metabolismo bacterias

quemado

Fruta seca

Mantequilla



Food Res. Int. 2009, 42, 773-781



CONCLUSIONES

- Confirmación presencia actividad β -glucosidasa en bacterias del tipo *O. oeni* y *Lactobacillus*
- Capaces de liberar pequeñas cantidades de aromas varietales durante la fermentación maloláctica, incluso cuando no hay transformación del ácido málico.
- Efecto sensorial no dominante de los aromas liberados por bacterias a partir de precursores.





Evolution of the Aroma Composition of Wines supplemented with Grape Flavor Precursors from different Varietals during accelerated Wine Aging

N. Loscos, P. Hernández-Orte, J. Cacho, V. Ferreira
Food Chem. (FOODCHEM-D-09-01533)



Evolución de Aromas Varietales durante el Envejecimiento

Envejecimiento acelerado

Temperatura del
vino entre 40-
50°C



Simulación de las reacciones
hidrolíticas en el curso del
envejecimiento en botella

**Hidrólisis de
précurseurs**

**Reorganización
de las aglicones**

**Terpenos y
norisoprenoides
(bien estudiadas)**

**Vainillas, fenoles
volátiles y lactonas
(menos estudiadas)**

Food Chem. (FOODCHEM-D-09-01533)

Evolución de Aromas Varietales durante el envejecimiento del Vino



Uvas

Tempranillo
(T)

Chardonnay
(CH)

Garnacha
(G)

Verdejo
(V)

Merlot
(ME)

Syrah
(S)

Moscatel
(MU)

Cabernet
Sauvignon
(CA)

Extracción de precursores y adición a un mosto modelo

Fermentación alcohólica

8 vinos varietales

Análisis de aromas

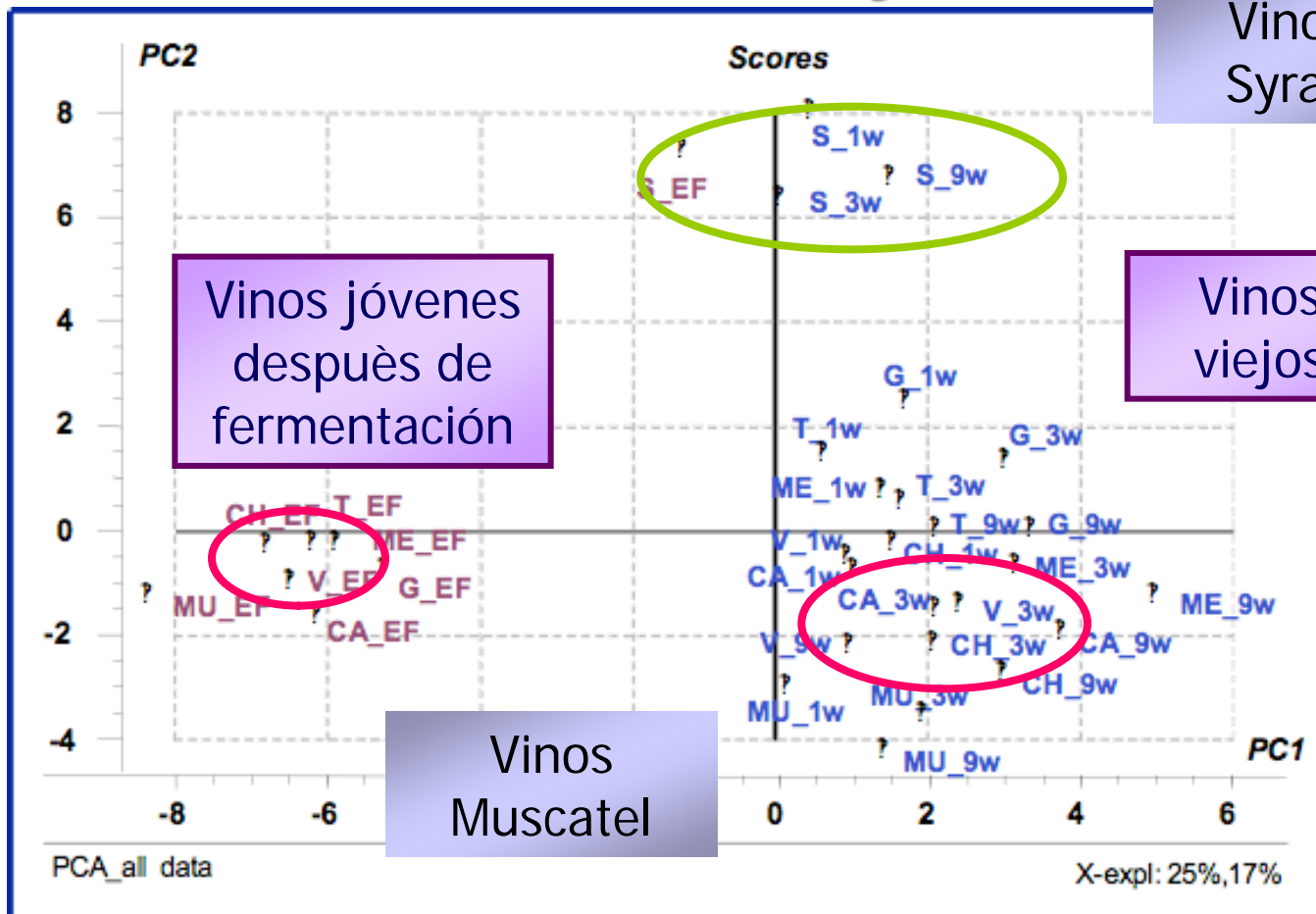
Envejecimiento
acelerado

(50°C, 9 semanas)

Análisis de aromas
1, 3, 9 semaines

Food Chem. (FOODCHEM-D-09-01533)

Evolución de Aromas Varietales durante el Envejecimiento



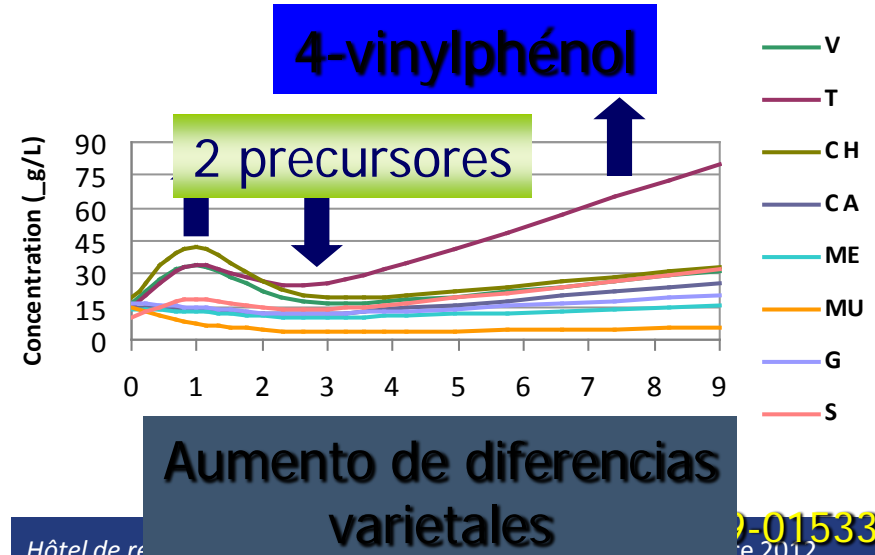
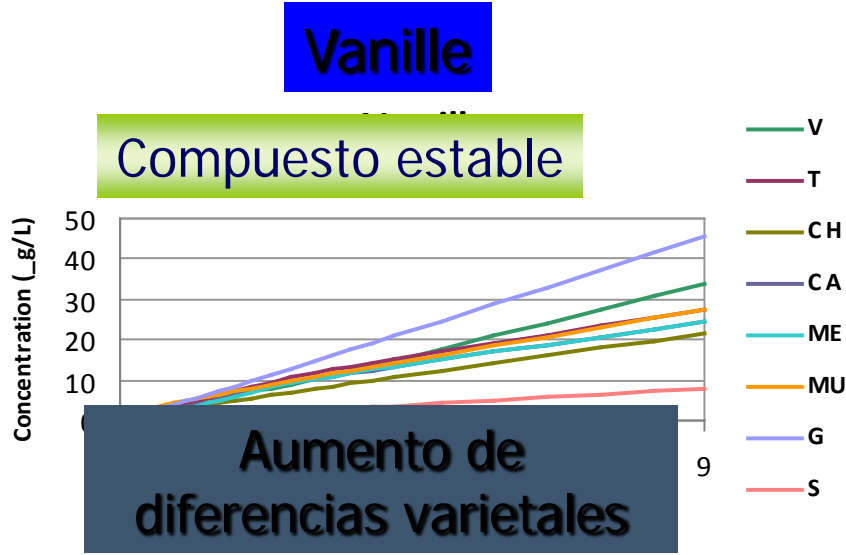
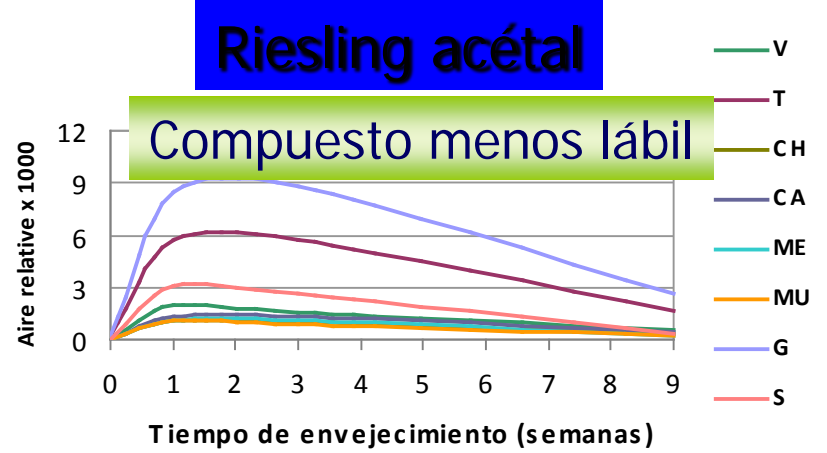
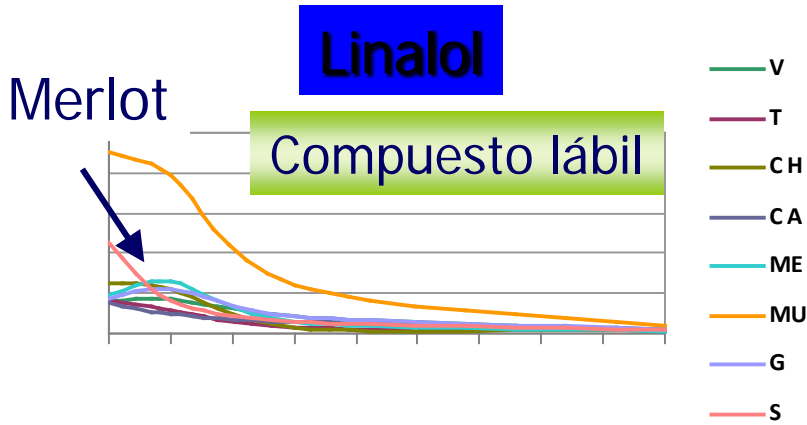
Food Chem. (FOODCHEM-D-09-01533)

Invirtiendo en nuestro futuro
 Investir dans notre avenir

COOPÉRATION TERRITORIALE
 TERRITORIALE
 2007-2013
 UE FEDER

Evolución de Aromas Varietales durante el Envejecimiento

Evolución de compuestos del aroma



Invirtiendo en nuestro futuro
 Investir dans notre avenir

COOPÉRATION COOPÉRATIVE
 TERRITORIAL TERRITORIALE
 2007-2013
 UE FEDER

PRO

Hôtel de re

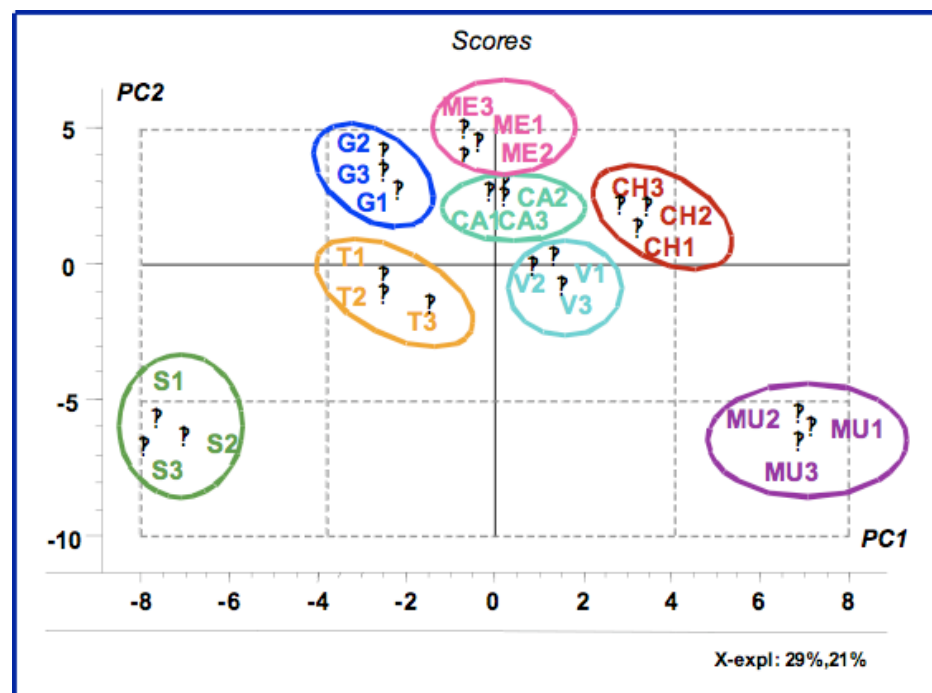
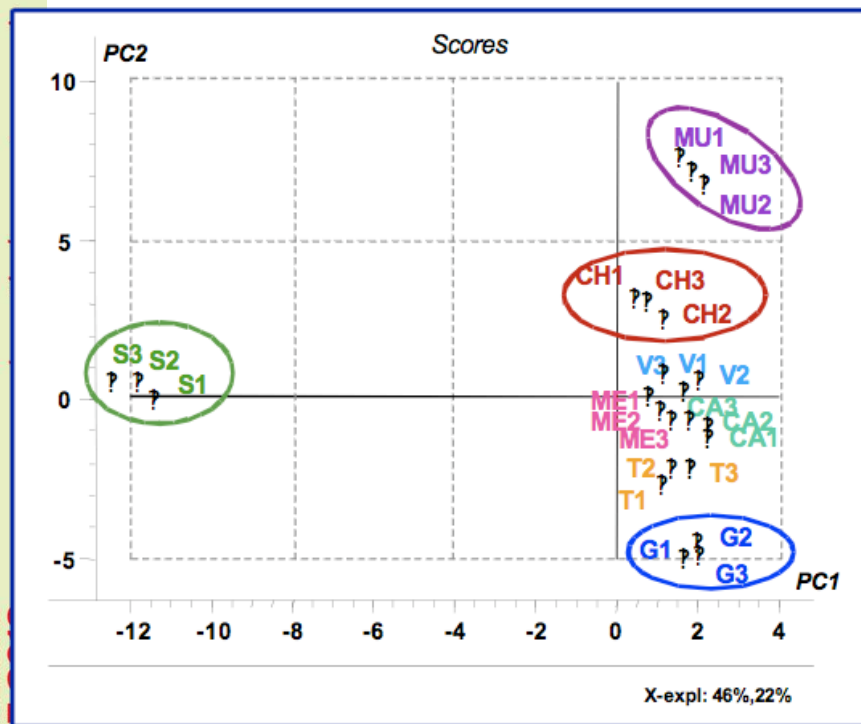
(-01533)
e 2012

Evolución de Aromas Varietales durante el Envejecimiento Wine

Diferencias entre variedades

Tras la fermentación alcohólica

Fin del envejecimiento



Aumento de las diferencias entre variedades

Food Chem. (FOODCHEM-D-09-01533)



CONCLUSIONES

- Aumento de la concentración de aromas varietales en el curso del envejecimiento por efecto de la hidrólisis y transformación de precursores
- La inestabilidad de ciertos compuestos hace que los tiempos de envejecimiento prolongados no sean muy convenientes
- Aumento de las diferencias varietales en el curso del envejecimiento





COMPOSÉS GLYCOSIDIQUES

JUAN CACHO
LAAE



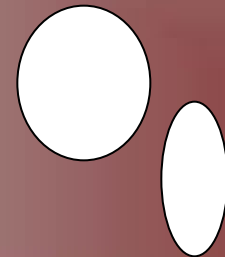
Invirtiendo en nuestro futuro
Investir dans notre avenir

COOPERACIÓN TERRITORIAL TERRITORIALE
2007-2013
UE FEDER





Muchas gracias
por su atención



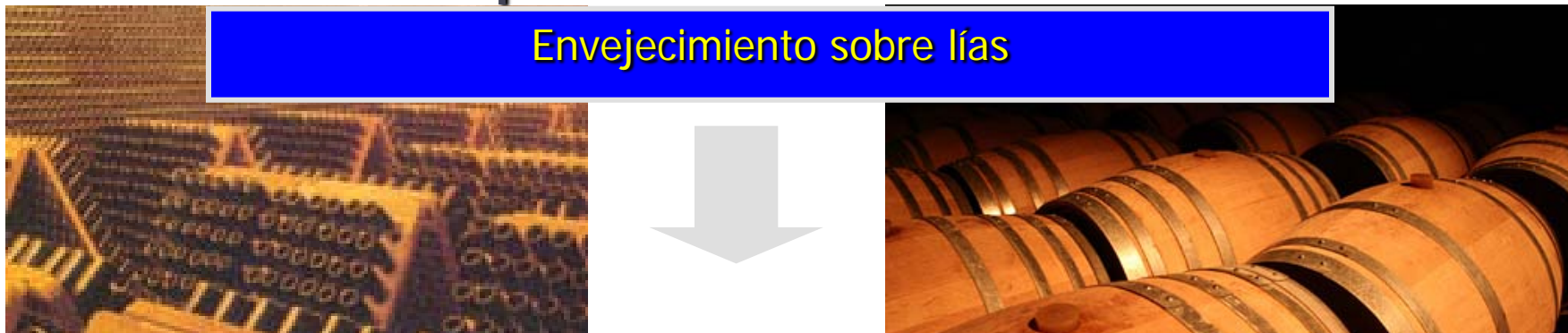


Fate of grape flavor precursors during storage on yeast lees

N. Loscos, P. Hernández-Orte, J. Cacho, V. Ferreira
J. Agric. Food Chem. 2009, 57, 5468-5479

Aromas liberados de Precursores en presencia de Lías

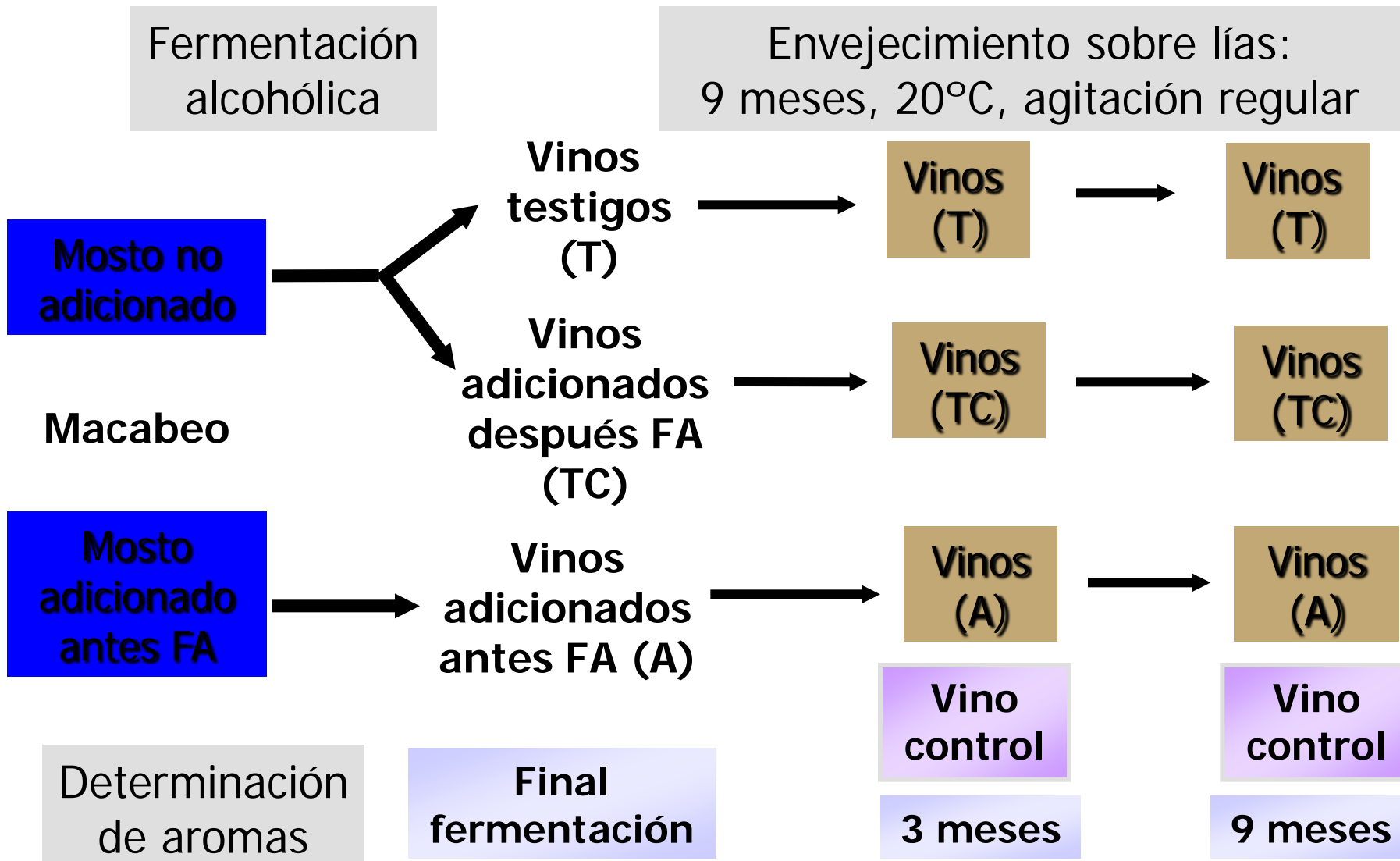
Envejecimiento sobre lías



Hidrólisis enzimática de precursores por enzimas hidrolíticos liberados por autólisis de las levaduras

- ❑ Disminución del contenido total de precursores (Zoecklein et al. 1997, 1998)
- ❑ No información acerca de los aromas liberados y papel de las lías

Aromas liberados de Precursores en presencia de Lias

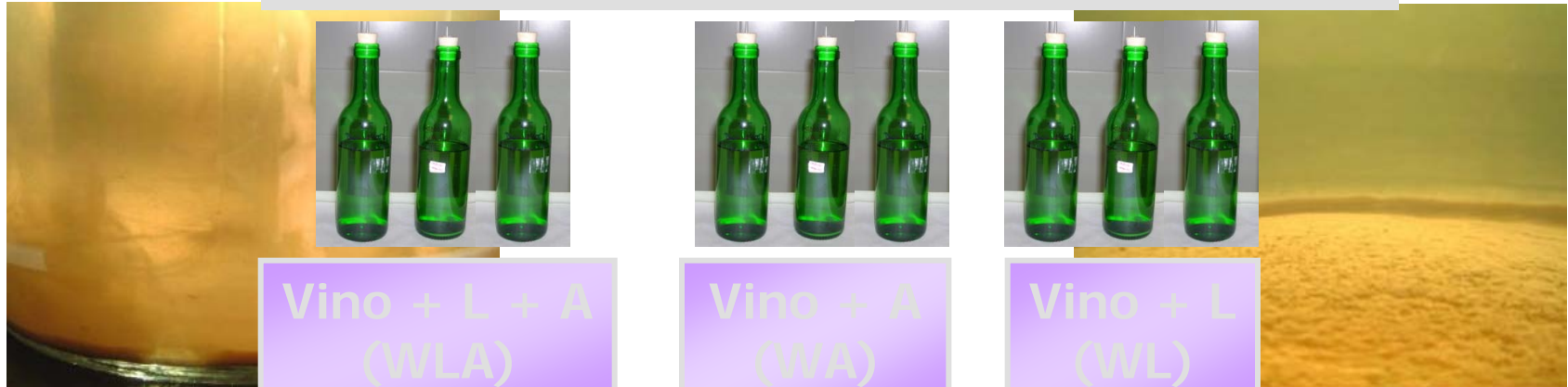


Invirtiendo en nuestro futuro
Investir dans notre avenir

COOPÉRATION COOPÉRATION TERRITORIALE TERRITORIALE
2007-2013
UE FEDER

Aromas liberados de Precursores en presencia de Lías

Estudio adsorción lías: 17 semanas, 20°C

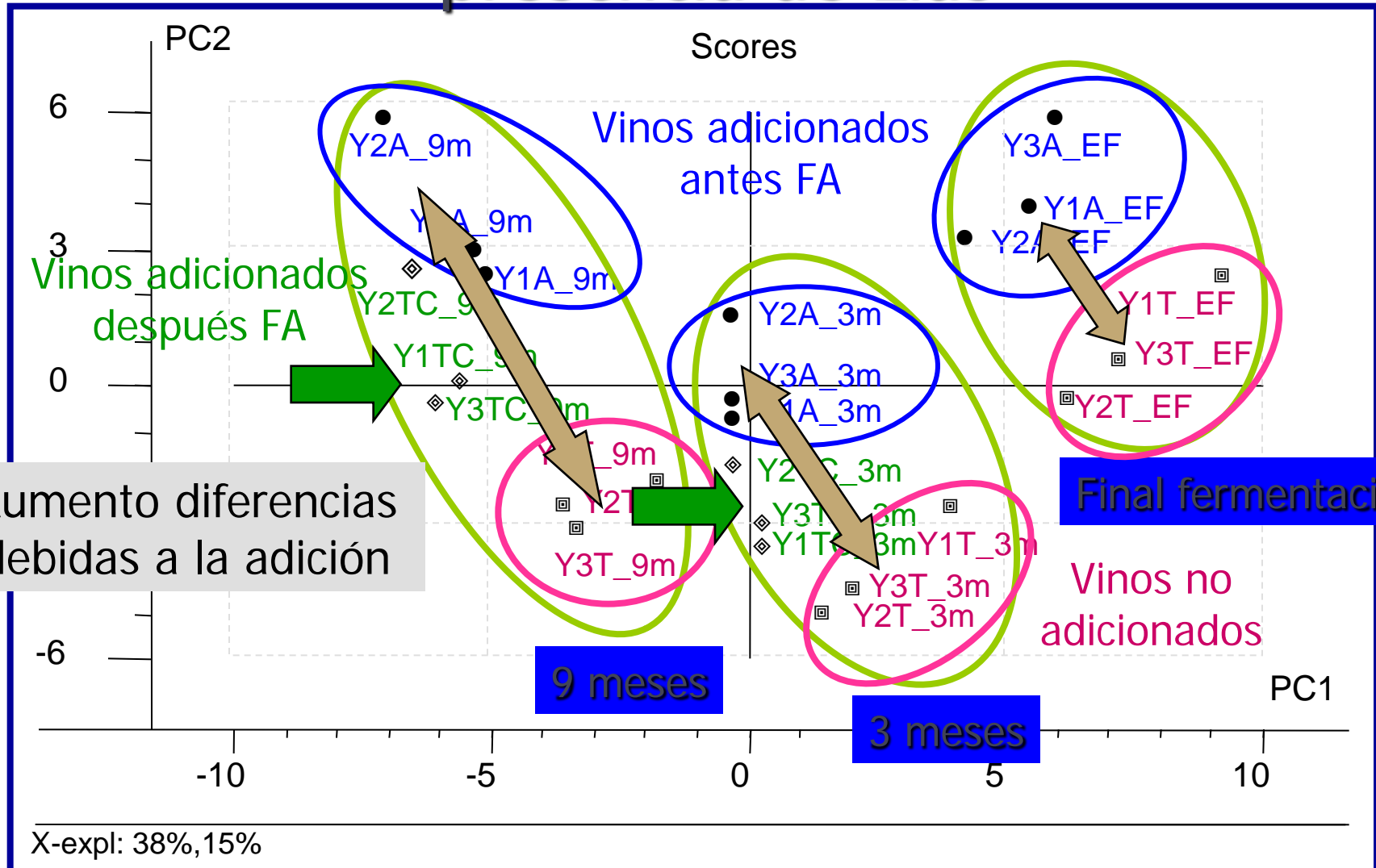


Determinación de aromas: inicio, 2, 6 y 17 semanas

- Vino sintético**
- Lías (L)** procedentes fermentación medio sintético
- Aromas (A)**: mayoritarios y minoritarios (hidrólisis ácida extracto de precursores)



Aromas liberados de Precursores en presencia de Lias



Investir dans notre avenir

COOPÉRATION TERRITORIALE FEDER 2007-2013

Aromas liberados de Precursores en presencia de Lias

Hipótesis inicial



Aumento concentración aromas por hidrólisis de precursores durante el envejecimiento

Aumento:

- 3 terpenos (linalol, α -terpineol y ácido nérico)
- Norisoprenoides (excepto β -damascenona y β -ionona)
- 4-alil-2,6-dimetoxifenol, vanillato de etilo, siringaldehido y cinamato de etilo.

Disminución o estabilidad: el resto de compuestos

¿Aumento debido a las lías o a la hidrólisis ácida?

Mayor liberación de aromas en vinos en comparación con el control
Excepciones: linalol, α -terpineol y siringaldehido



COMPOSÉS GLYCOSIDIQUES

Aromas liberados de Precursores en presencia de Lías

¿Disminución debido a las lías o a degradación natural?

Datos evolución en medio sintético con y sin lías



Estimación vidas medias

Tabla 2. Vidas medias (semanas) en vino sintético con y sin lías

	Sin lías	Con lías
β -citronelol	4.0	1.0
Nerol	11	9.0
β -damascenona	8.0	1.0
β -ionona	>100	0.90
Guaiacol	30	1.0
4-vinilguaiacol	2.5	2.8
4-vinilfenol	1.7	2.0
Fenilacetaldehido	>50	17
γ -nonalactona	>50	17
Ácido 3-metilbutírico	>50	0.90
Ácido 2-metilbutírico	>50	1.0

Valores inferiores en presencia de lías

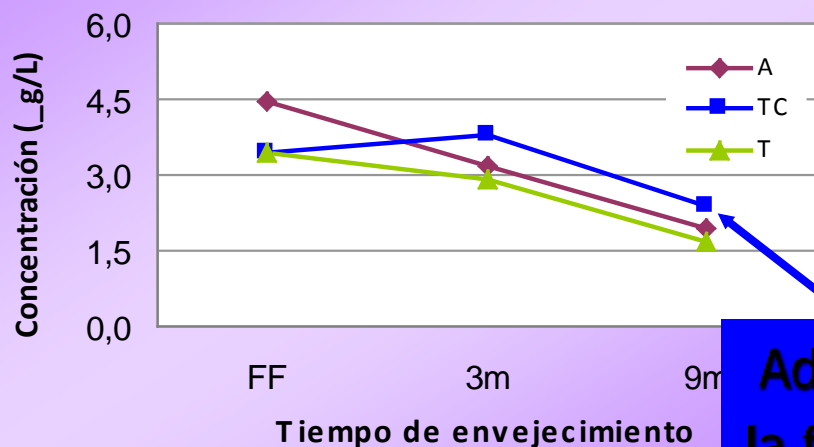
Degradación natural

Aromas liberados de Precursores en presencia de Lias

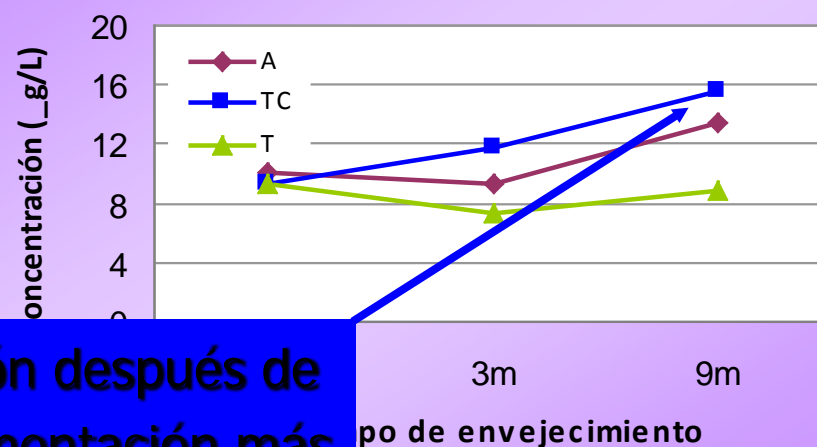
Efecto de la adición precursores antes o después de la fermentación

- No importante en la mayoría de casos
- Excepciones: β -damascenona, vainilla y siringaldehido

β -damascenona



Siringaldehido



Adición después de la fermentación más efectiva



CONCLUSIONES

- El envejecimiento sobre lías provoca cambios importantes en el perfil aromático de vinos.
- Pocos compuestos aumentaron su concentración.
- Las lías participan activamente en la formación y degradación-adsorción de los compuestos.
- Envejecimiento sobre lías se puede considerar como un tipo de envejecimiento acelerado

