

# Impact on Tannat wines aroma produced by different yeast using three vinification systems

K. Medina<sup>1</sup>, E. Boido<sup>1</sup>, L. Fariña<sup>1</sup>, G. Ares<sup>2</sup>, E. Dellacassa<sup>1</sup>, y F. Carrau<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidad de la República, Facultad de Química, Área Enología y Biotecnología de Fermentaciones, Montevideo, Uruguay

<sup>2</sup> Universidad de la República, Facultad de Química, Instituto Polo Tecnológico de Pando, Sensometría y Ciencias del Consumidor, Montevideo, Uruguay

**Abstract.** Vinifications were conducted using pure cultures of *Saccharomyces cerevisiae*, and mixed cultures by sequential inoculation of a *Hanseniaspora vineae* (T02/05F) and *Hanseniaspora clermontiae* (A10/82F), with a *Saccharomyces cerevisiae* conventional strain. The vinification systems applied to Tannat grapes were defined: semipilot, pilot and industrial scale. Fifty-one volatile compounds were identified in all the vinifications, sixteen of them were above the aroma threshold values and potentially contributed to the final sensory profiles. A sensory characterization of aroma was carried out using the projective mapping technique, with forty-eight consumers who made evaluation of the three vinifications. Multiple factorial analysis was used to compare the chemical and sensory data to find correlations. The results obtained from both methodologies were coincident, confirming the aromatic tendencies found in the different vinifications. Both studies demonstrated that wines obtained by semipilot scale was characterized by descriptors associated with “chemical” and “floral”; those from pilot vinification by the “spicy” descriptor; while industrial vinification produced wines described as “fruit” and “wood”.

## 1. Introducción

El umbral de percepción de los compuestos volátiles presentes en el vino es muy variado, y esto determina que el impacto de los distintos compuestos volátiles en el aroma dependa de las unidades de aroma, que se definen como la relación entre la concentración de una sustancia y el umbral de percepción de la misma. Por esta razón, compuestos presentes en un vino en concentraciones del orden de ng/L pueden tener un impacto notable en el aroma, mientras que otros con concentraciones de varios cientos de mg/L pueden prácticamente no influir en las características sensoriales de la muestra, dependiendo de sus respectivos umbrales de percepción [1]. En muchos casos existe dificultad de obtener los valores de umbral de percepción para un importante número de compuestos volátiles, y por otro lado, el tema se complejiza aún más, ya que el impacto de los compuestos en forma individual no es el percibido sensorialmente debido a las interacciones que aparecen en mezclas complejas como son las bebidas y en especial el vino [2].

Por otro lado, hay que considerar que los diferentes sistemas de vinificación impactan en los aromas y la percepción de los mismos, debido a factores tales como temperatura, humedad relativa, cantidad de oxígeno disponible, velocidad de sedimentación de las células, etc, [3]. Esto, sumado a que el estudio de las levaduras no-*Saccharomyces*, ya sea en cultivo puro como mixto, ha sido estudiado fundamentalmente a escala de laboratorio y dado que los resultados efectivamente no son los mismos de lo que se puede esperar de vinificaciones industriales [4], surge la necesidad de abordar el tema contemplando diferentes sistemas de vinificación.

En este trabajo, se estudió la posible contribución de los distintos compuestos volátiles, en el perfil sensorial de los vinos obtenidos en tres sistemas diferentes de vinificación, a escala semipiloto, piloto e industrial, y su impacto en las unidades de aroma.

## 2. Materiales y métodos

**Cepas de levadura.** Las levaduras utilizadas para las diferentes vinificaciones fueron las levaduras nativas *Hanseniaspora vineae* Hv T02/05F, *Hanseniaspora clermontiae* Hc A10/82F, *Saccharomyces cerevisiae* Sc 882 y levaduras comerciales de laboratorio Lallemand ALG 804, ALG 811 y *Torulaspora delbrueckii*. Todos los ensayos se realizaron con uvas Tannat, con un tamaño de inóculo de  $1 \times 10^6$  cel/mL [5]. Los cultivos mixtos se realizaron con inoculación secuencial a las 72 horas.

**Vinificaciones realizadas.** Las modalidades de vinificación fueron las siguientes:

- I) Escala semipiloto en tarrinas de 20 litros, con tres tratamientos: cultivo mixto Hv T02/05F + Sc 882 (Hv + Sc M); cultivo mixto Hc A10/82F + Sc 882 (Hc + Sc M) y cultivo puro Sc 882 (Sc M)
- II) Escala piloto en bins de 500 litros, con 2 tratamientos: cultivo mixto Hv T02/05F + Sc ALG 804 (Hv + Sc C) y cultivo puro con Sc ALG 804 (Sc C)
- III) Escala industrial en tinas de roble de 5.000 litros, con 3 tratamientos: cultivo mixto Hv T02/05F + Sc ALG 111 (Hv + Sc B), cultivo mixto *Torulaspora delbrueckii* (comercial) + Sc ALG 111 (Torul + Sc B) y cultivo puro Sc ALG 111 (Sc B)

**Análisis de aromas.** Para cada una de las vinificaciones se realizó la extracción de compuestos aromáticos mediante SPE (ISOLUTE<sup>®</sup> ENV+) según Carlin (1998) [6], y puesto a punto para vinos Tannat por Boido et al. [7]. La identificación se realizó mediante GC-MS Shimadzu GC-17 acoplado con un detector de espectrofotometría de masa Shimadzu QP 5050, y la cuantificación por medio de HRGC, en un cromatógrafo GC-14B, equipado con detector de ionización de llama (FID) y software de procesamiento de datos Shimadzu EZ Chrom, versión 3.2 [8].

**Caracterización aromática sensorial.** Para todas las vinificaciones se realizó una caracterización sensorial por Mapeo Proyectivo o Napping<sup>®</sup> [9], que permitió cuantificar las percepciones de similitud y diferencia globales entre las muestras, obteniéndose una aproximación al perfil sensorial y sin necesidad de contar con una descripción muy detallada de las características sensoriales [10]. El mapeo proyectivo se ha aplicado a una amplia gama de alimentos y bebidas, incluyendo vinos [11,12]. En cada uno de los estudios se presentó un set conteniendo las 8 muestras de forma simultánea en orden aleatorio. Se solicitó a los 48 consumidores participantes del estudio, que olieran las muestras y que las ubicaran en una hoja de papel de 40 × 30 cm, de acuerdo al grado de diferencia o similitud entre ellas y se les solicitó que indicaran las palabras que consideraban adecuadas para describir cada una de las muestras. Para cada mapa proyectivo, se determinaron las coordenadas X e Y de cada muestra, considerando como origen del sistema de coordenadas el extremo inferior izquierdo de la hoja. Las evaluaciones se realizaron en una sala de evaluación normalizada según norma ISO 8589 [13].

**Análisis estadístico.** Se realizó análisis de varianza de los datos de concentración de aromas, considerando cepa como factor de variación y nivel de significación 5%. Cuando las diferencias fueron significativas se aplicó el test de Tukey para determinación de diferencias entre tratamientos. Se realizó además un análisis de componentes principales (PCA). Estos análisis se realizaron utilizando el software Statistica 7.0 (Stat Soft, Inc., Tulsa, USA). Los datos de análisis sensorial obtenidos por Napping, fueron analizados utilizando Análisis Factorial Múltiple (MFA), según Pagès (2005) [11], y realizados en el software R (R Core Team, 2013) utilizando el paquete FactoMineR [14].

### 3. Resultados y discusión

En la Tabla 1, se presentan los compuestos aromáticos encontrados en los vinos, para los que la unidad de aroma fue igual o mayor a 1 en algunos de los tratamientos, y su correspondiente descriptor y umbral de percepción.

De un total de 51 compuestos volátiles cuantificados para el total de las vinificaciones, se encontraron 16 compuestos con unidades de aromas mayores a la unidad, y por lo tanto con potencial contribución en el perfil sensorial. Dentro de estos compuestos, no se encontró ninguno del grupo de los ácidos, isoácidos ni norisoprenoides. Dentro del grupo de los alcoholes, se destacaron el alcohol isoamílico y el alcohol

$\beta$ -feniletílico. Para ambos compuestos, los tratamientos con *S. cerevisiae* presentaron valores mayores de UA que los respectivos tratamientos con *H. vineae* y *H. clermontiae*. La contribución sensorial del 1-hexanol solo estuvo presente en los tratamientos de la vinificación semipiloto. Para los ésteres etílicos, el hexanoato de etilo es el compuesto que se destacó por los valores elevados de UA en todos los tratamientos. En la vinificación semipiloto, se destacó el valor elevado de las UA de la cepa Sc 882. Esta tendencia de mayores UA por parte de *S. cerevisiae* sobre *H. vineae* se observó para la vinificación semipiloto e industrial. Para esta última, el mayor valor de UA correspondió al tratamiento con la cepa *Torulaspora*. Entre los acetatos, el acetato de isoamilo y el acetato de  $\beta$ -feniletilo, fueron los compuestos con mayores UA en todos los tratamientos. Para el acetato de etilo, se observó por parte de los cultivos mixtos con las levaduras no-*Saccharomyces*, un mayor aporte sensorial, destacándose el tratamiento con las levaduras *H. clermontiae* + Sc. Para las lactonas, el único aporte sensorial estuvo dado por la  $\gamma$ -butirolactona, la que a su vez solo estuvo presente en el tratamiento puro con *S. cerevisiae* de la vinificación piloto. Dentro de los fenoles volátiles, el guaiacol fue el que presentó los valores mayores de UA para todos los tratamientos.

Si a partir de los datos obtenidos en la Tabla 1, se realiza una agrupación general de los compuestos en función de los descriptores (sin tomar en cuenta a que grupo químico pertenecen), se observa que el descriptor primario “frutal” y “químico” reunieron el mayor grupo de compuestos respectivamente. Bajo el descriptor primario “frutal”, se encontró el acetato de isobutilo, acetato de isoamilo, acetato de  $\beta$ -feniletilo, butirato de etilo y hexanoato de etilo. Para el descriptor primario “químico”, se encontró el acetaldehído, alcohol isoamílico, alcohol isobutílico, acetato de etilo y metionol. Contrariamente, los descriptores primarios “vegetal”, “floral” y “especiado”, estuvieron representados de manera general en el total de las vinificaciones realizadas por un solo compuesto respectivamente, 1-hexanol para “vegetal”, alcohol  $\beta$ -feniletílico para “floral”, y 4-vinil-guaiacol para “especiado”.

En cuanto a la caracterización aromática mediante la técnica de mapeo proyectivo, se encontró que existió concordancia entre ambos estudios lo que confirma las diferentes tendencias aromáticas encontradas en las diferentes vinificaciones. En ambos estudios se observó que las vinificaciones semipiloto estuvieron caracterizadas por los descriptores “químico” y “floral”; las vinificaciones piloto por el descriptor “especiado”; y las vinificaciones industriales por “frutado” y “madera”.

Esta comparación demostró la existencia de correlación entre el estudio químico de las UA realizado a partir de los umbrales de percepción de los diferentes compuestos y la evaluación sensorial realizada con consumidores.

### 4. Conclusiones

La aplicación de las diferentes cepas produjo cambios en la composición química de los compuestos volátiles de los vinos obtenidos. Esto se demostró a nivel cromatográfico por las diferencias encontradas en la composición

**Tabla 1.** Cálculo de las unidades de aroma (UA), para los distintos compuestos volátiles presentes en las tres vinificaciones realizadas. (\*) Medio en el que se determina el umbral de percepción: a, agua; sv, simil vino; [2]. (ref): [15].

Compuesto	Descriptor	Umbral (µg/L)*	Hc + Sc M UA	Hv + Sc M UA	Sc M UA	Hv + Sc C UA	Sc C UA	Hv + Sc B UA	Sc B UA	Torul + Sc B UA
1-hexanol	pasto recién cortado	2500 sv	1	1	1	<1	<1	<1	<1	<1
alcohol isoamílico	alcoholico en bajas concentraciones frutado y vinoso	30000 sv	7	10	15	12	8	9	8	9
alcohol isobutílico	aceite de fusel, químico	94000 sv	1	<1	1	1	<1	<1	<1	<1
alcohol beta-feniletílico	floral, rosa, miel	5000 sv	7	8	12	7	8	4	4	4
hexanoato de etilo	dulce, vinoso, frutado	5 sv	26	34	47	35	32	39	48	63
butirato de etilo	manzana	20 sv	<1	2	3	4	4	8	8	7
acetato de etilo	en altas concentraciones, esmalte de uñas	10000 sv (ref)	15	5	2	3	3	5	3	3
acetato de isobutilo	frutado, banana, manzana, frambues, pera	73 a	1	<1	<1	<1	<1	<1	1	<1
acetato de isoamilo	banana	30 sv	22	19	28	26	18	68	76	39
acetato de beta-feniletílico	frutado, anana, manzana, pera, banana	250 sv	<1	4	<1	<1	<1	1	<1	<1
γ-butirolactona	caramelo, tostado, quemado	1000 sv	<1	<1	<1	<1	1	<1	<1	<1
guaiaacol	hospital, ahumado, especiado	9,5 sv	<1	3	20	10	12	23	9	15
4-vinil-guaiaacol	clavo de olor, curry	40 sv	<1	<1	2	3	5	3	2	1
2,6-dimetoxi-fenol	ahumado, nuez	570 sv	<1	<1	1	<1	1	1	<1	1
acetaldehído	pungente, eter	7500 sv (ref)	1	1	<1	<1	<1	1	<1	<1
metionol	repollo fermentado	500 sv	<1	2	2	2	2	<1	<1	1

de la fracción volátil y posteriormente por las diferencias encontradas en el perfil sensorial que reflejo la contribución sensorial de las diferentes cepas al aroma de los vinos Tannat elaborados.

A su vez, el efecto del tipo de manejo en la vinificación, también produjo importantes cambios en la composición aromática. Se pudo demostrar que existió correlación entre el estudio químico de suma de unidades de aromas con igual descriptor y el estudio sensorial realizado con consumidores.

## Referencias

- [1] P. Ribereau-Gayon, Y. Glories, A. Maujean, D. Dubourdieu, *Traité d'oenologia. 2 – Chimie du vin. Stabilisation et traitements* (Dunod, Paris, 1998)
- [2] E. Boido, *Modificaciones producidas por la fermentación maloláctica en la fracción aromática de los vinos Tannat*. PhD Thesis, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay (2002)
- [3] P. Henschke, *7th Australian Wine Industry Technical Conference*, edited by P.J. William, D.M.m Davidson, T.H. Lee (Australia, 1997), p. 157
- [4] N.P. Jolly, C. Varela, I.S. Pretorius, *FEMS Yeast Res.* **14**, 215 (2014)
- [5] F. Carrau, K. Medina, L. Fariña, E. Boido, E. Dellacassa, *Int. J. Food Microbiol.* **143**, 81 (2010)
- [6] S. Carlin, *Metodi di arricchimento di composti dell' aroma per una possibilite tipicizzazione di vini Traminer*, Facoltà de Agraria, Udine, Università degli Studi di Udine:98 (1998)
- [7] E. Boido, A. Lloret, K. Medina, L. Fariña, F. Carrau, G. Versini, E. Dellacassa, *J. Agric. Food Chem.* **51**, 5408 (2003)
- [8] K. Medina, *Biodiversidad de levaduras no-Saccharomyces: Efecto del metabolismo secundario en el color y aroma de vinos de calidad*. PhD Thesis, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay (2014)
- [9] E. Risvik, J.A. McEwan, S. Colwill, R. Rogersa, D.H. Lyonb, *Food Qual. Prefer.* **5**, 269 (1994)
- [10] P. Varela, G. Ares, *Food Res. Int.* **48**, 893 (2012)
- [11] J. Pagès, *Food Qual. Prefer.* **16**, 642 (2005)
- [12] L. Perrin, R. Symoneaux, I. Maître, C. Asselin, F. Jourjon, J. Pagès, *Food Qual. Prefer.* **19**, 1 (2008)
- [13] ISO Sensory analysis: General guidance for the design of test rooms, ISO 8589 (1988)
- [14] S. Lê, J. Josse, F. Husson, *J. Stat. Softw.* **25**, 1 (2008)
- [15] J.A. Moreno, L. Zea, L. Moyano, M. Medina, *Food Control* **16**, 333 (2005)