

EFECTO DE ALGUNOS PARÁMETROS VITÍCOLAS SOBRE EL CONTENIDO DE PRECURSORES DE FENOLES VOLÁTILES Y SOBRE LA PRODUCCIÓN DE FENOLES VOLÁTILES POR *BRETTANOMYCES*

1 – INTRODUCCIÓN

El objetivo de este estudio era:

- Estimar la riqueza en ácidos ferúlicos y p-cumárico de las uvas y de los vinos de cinco variedades cultivadas en Midi-Pyrénées
- Evaluar la incidencia de algunas operaciones en verde (deshoje, aclareo) sobre el contenido de ácidos ferúlico y p-cumárico
- Estudiar el nivel de producción de fenoles volátiles por *Brettanomyces* en un vino dado

2 – PROTOCOLO EXPERIMENTAL

2.1 – Riqueza en ácidos fenólicos de las variedades de Midi-Pyrénées

La experimentación fue llevada a cabo considerando cinco variedades locales, a razón de seis sitios por variedad, cuando esto fue posible (tabla 1). Las vinificaciones fueron realizadas en pequeños volúmenes según condiciones estándar.

Variedades de vid	Appellations	Códigos Muestras	Parcelas	Lugar de vinificación
TANNAT	Madiran	T1	Paradis	GAILLAC
		T2	Lafont	
		T3	ITV Moulié	
		T4	Mouréou	
		T5	Laougé	
		T6	Perron	
DURAS	Gaillac	D1	Duras 1**	GAILLAC
		D2	ITV Duras 2**	
		D3	ITV Duras 3*	
		D4	Duras 4*	
		D5	Frausseille	
NEGRETTE	Fronton	N1	Boujac	CA 31
		N2	Montauriol graves	
		N3	Zulian	
		N4	Montauriol boubène	
		N5	Baudare**	
		N6	Le Roc**	
COT	Cahors	C1	T1*	FERME EXPERIMENTALE ANGLARS
		C2	T2*	
		C3	T3*	
		C4	T4*	
		C5	T5*	
		C6	T6*	

FER SERVADOU	Marcillac	F1	P_anglade	ITV GAILLAC
		F2	T_anglade	
		F3	Tauré_cal	
		F4	Tauré_rou	
		F5	Matha	
	Gaillac	F6 Mercier	Temoine	ITV Gaillac

*el análisis de los ácidos p-cumárico y ferúlico no fue realizado en la uva

** el análisis de los ácidos p-cumárico y ferúlico no fue realizado en el vino

Tabla 1 : origen de las uvas utilizadas para la experimentación

Los ácidos p-cumárico y ferúlico fueron determinados en el mosto de uva obtenido por el método ITV Standard, y en los vinos después de la fermentación alcohólica y maloláctica. Los análisis fueron realizados por el laboratorio "pharmacophores rédox, phytochimie et radiobiologie" de la Universidad Paul Sabatier de Tolosa.

NB : no se pudo efectuar la determinación de los ácidos p-cumárico y ferúlico en los vinos de Cot

2.2 – Efecto de las operaciones en verde sobre la concentración de ácidos cinámicos (precursores de los etilfenoles en los vinos)

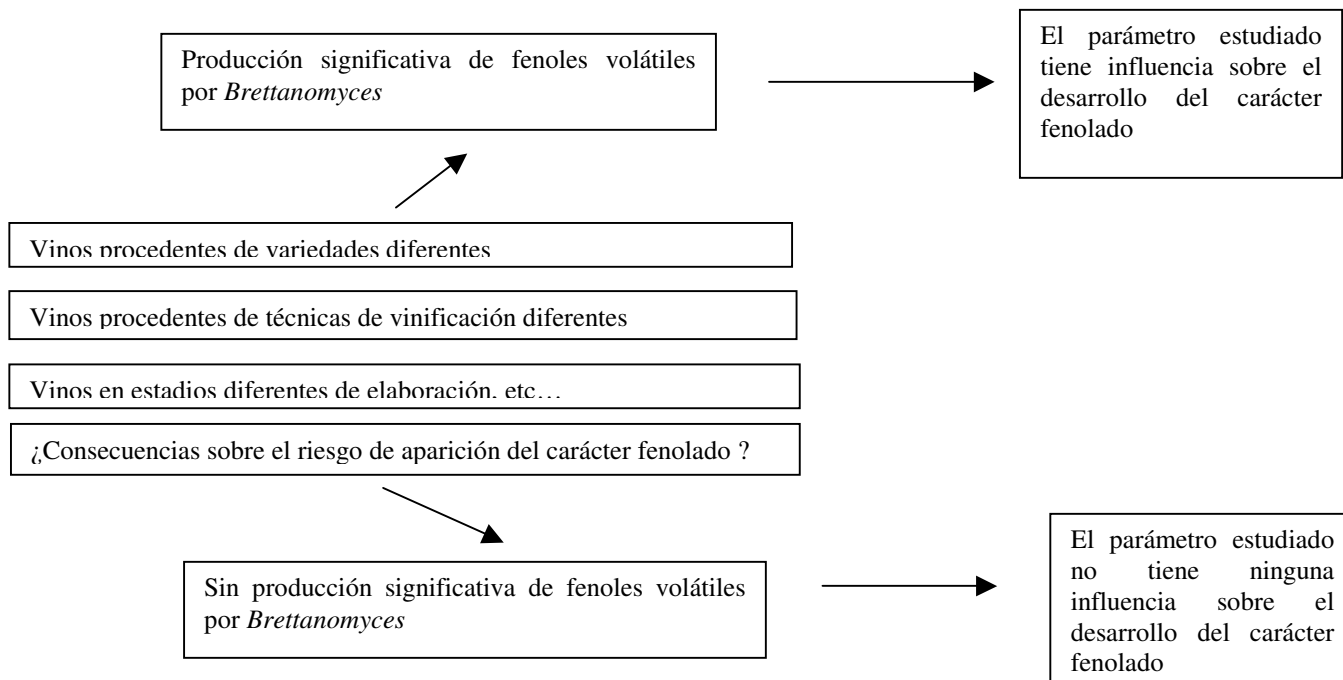
Se utilizó la parcela de prueba situada en Gaillac, en el marco del proyecto sobre la Fer Servadou. Las modalidades fueron las siguientes:

- testigo (TEMOIN)
- deshoje simple hacia la brotación (NSF)
- deshoje simple hacia el envero (VSF)
- deshoje doble hacia el envero (VDF)
- aclareo manual hacia el envero (ECL)

Las uvas fueron vinificadas en pequeños volúmenes por el ITV Gaillac. Los ácidos p-cumárico y ferúlico fueron determinados en los vinos después de la FA y la FML por el laboratorio "pharmacophores rédox, phytochimie et radiobiologie" de la Universidad Paul Sabatier de Tolosa.

2.3 – Test de producción de fenoles volátiles por *Brettanomyces* en un vino dado (colaboración con el ITV de Beaune)

Los vinos utilizados provenían de las dos experimentaciones precedentes– riqueza de las variedades y operaciones en verde. Fueron objeto de una implantación, en condiciones controladas, de una cepa de *Brettanomyces*. Las variaciones en la producción de fenoles volátiles permitieron evaluar a continuación los riesgos en función de los parámetros estudiados (esquema de abajo). Las muestras fueron entregadas al ITV de Beaune para la realización del test. Los precursores ya habían sido determinados en los puntos 1 y 2.



3 – RESULTADOS - COMENTARIOS

3.1 – Revisión bibliográfica: riqueza en ésteres hidroxicinamil-tartáricos de algunas variedades de Midi-Pyrénées

En su trabajo de tesis sobre el uso con un objetivo taxonómico de los ésteres hidroxicinamil-tartáricos, Boursicot⁽¹⁾ estudió precisamente la composición de ácidos cafeiltartárico, paracumariltartárico (aPCT) y feruliltartárico (aFT) de numerosas variedades de *Vitis vinifera*. Nuestra atención se ha dirigido hacia los dos últimos compuestos, ya que estos representan una forma precursora de los ácidos hidroxicinámicos metabolizados por *Brettanomyces*. Los resultados presentados a continuación han sido extraídos integralmente de este trabajo.

⁽¹⁾ Boursicot JM. : Contribución al estudio de los ésteres hidroxicinamiltartáricos en el género *Vitis*. Investigación de aplicación taxonómica. Tesis doctoral – ENSAM 1987

Variedades	A. paracumariltartárico*	A. feruliltartárico*
Cot	233.2	2.96
Fer Servadou	309	7.7
Négrette	152.40	8.9
Tannat	313.80	24.9
Syrah	208.10	2.96
Gamay	166.10	19.83
Cabernet Sauvignon	45.3	5.3
Merlot	24.3	3.84

Tabla 2 : contenidos de ácidos paracumariltartárico y feruliltartárico en los hollejos de las bayas de 6 variedades presentes en Midi-Pyrénées en comparación con Merlot y Cabernet Sauvignon (*expresado en µg/g de materia fresca)

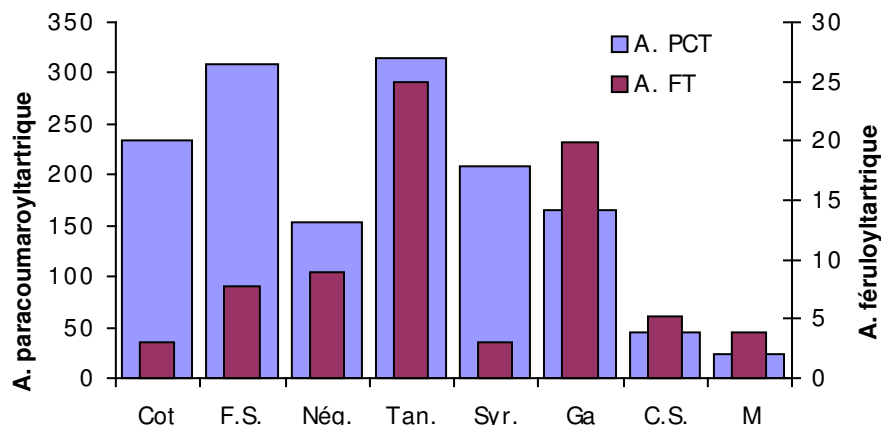


Figura 1 : comparación de los contenidos de ésteres hidroxicinamiltartráticos en hollejos de 8 variedades de *Vitis vinifera*

En la figura 1 se observa claramente que las concentraciones de aPCT encontradas en las variedades de Midi-Pyrénées son muy superiores a las determinadas en Merlot y Cabernet Sauvignon. En el caso del aFT, se observa la misma tendencia sólo en 4 variedades (Tannat y Gamay, Fer Servadou y Négrette en menor medida). La Tannat y la Fer Servadou se muestran particularmente ricas en estos compuestos.

Las variedades normalmente empleadas para la elaboración de los vinos de Midi-Pyrénées poseen por tanto un fuerte potencial en ésteres hidroxicinamiltartráticos, precursores de los ácidos p-cumárico y ferúlico. Se puede por tanto suponer que los vinos elaborados a partir de estas variedades son susceptibles de desarrollar, a lo largo del ciclo de producción o durante la conservación, unos marcados olores fenolados, en presencia de *Brettanomyces intermedius*.

3.2 – Riqueza en ácidos fenólicos de las uvas y los vinos de 5 variedades Midi-Pyrénéens

Variedades	Parcelas	Ácido p-cumárico		Ácido Ferúlico	
		(mg/mL)	Intervalo de confianza	(mg/mL)	Intervalo de confianza
Négrette	N1	-	-	-	-
	N2	145.0	1.0	159.0	1.0
	N3	35.0	1.0	79.0	1.0
	N4	67.	1.0	136.0	1.0
	N5	34.0	1.0	34.0	1.0
	N6	-	-	-	1.0
	Media	70.3	-	102.0	-
	Desviación estándar	52.1	-	56.40	-
	C.V.	0.7	-	0.60	-
Fer Servadou	F1	42.0	1.0	0.0	1.0
	F2	23.0	1.0	0.0	1.0
	F3	28.0	1.0	0.0	1.0
	F4	31.0	1.0	0.0	1.0
	F5	44.0	1.0	0.0	1.0
	F6	27.0	1.0	0.0	1.0

	Media	32.5	1.0	0.0	-
	Desviación Estándar	8.5	1.0	0.0	-
	C.V.	0.3	1.0	0.0	-
Tannat	T1	0.0	1.0	187.0	1.0
	T2	0.0	1.0	177.0	1.0
	T3	0.0	1.0	146.0	1.0
	T4	0.0	1.0	247.0	1.0
	T5	0.0	1.0	149.0	1.0
	T6	0.0	1.0	170.0	1.0
	Media	0.0	-	179.3	-
	Desviación Estándar	0.0	-	36.8	-
	C.V.	-	-	0.2	-
Duras	D1	-	-	-	-
	D2	-	-	-	-
	D3	31.0	1.0	0.0	1.0
	D4	31.0	1.0	0.0	1.0
	D5	67.0	1.0	0.0	1.0
	D6	-	-	-	-
	Media	43.0	-	0.0	-
	Desviación Estándar	20.8	-	0.0	-
	C.V.	0.5	-	-	-
Cot	C1	28.0	1.0	89.0	1.0
	C2	28.0	1.0	67.0	1.0
	C3	30.0	1.0	65.0	1.0
	C4	44.0	1.0	71.0	1.0
	C5	33.0	1.0	0.0	1.0
	C6	21.0	1.0	70.0	1.0
	Media	30.7	-	59.8	-
	Desviación Estándar	7.6	-	30.2	-
	C.V.	0.2	-	0.5	-

Tabla 3 : Contenidos de ácidos cinámicos en las uvas de cinco variedades de Midi-Pyrénéens

Se observa que las uvas de las diferentes variedades estudiadas contienen unas concentraciones bajas de ácidos cinámicos, mientras que en precedencia se ha visto que están bien provistas de ésteres cinamiltartáricos. En algunas variedades, se evidencia la ausencia total (no son detectadas por los métodos de extracción y de detección empleados) de estos compuestos (tabla 3). La diferencias de composición entre variedades no es clara, y más aun si se tiene en cuenta que las variaciones dentro de una misma variedad en relación a la proveniencia de las uvas son en muchos casos importantes (C.V. comprendidos entre el 20 y el 70 % para el ácido p-cumárico) (figura 2-A).

Variedades	Parcelas	Ácido cumárico		Acido ferúlico	
		(mg/mL)	Intervalo de confianza	(mg/mL)	Intervalo de confianza
Négrette	N1	13781	1646	340	15
	N2	7147	16	373	18
	N3	9230	1047	1542	25
	N4	5432	16	398	8
	N5	8925	1520	596	8
	N6	11236	1540	484	5
	Media	9292	-	622	-
	Desviación Estándar	2952	-	460	-
	C.V.	0	-	1	-
Fer Servadou	F1	2326	1	1121	25
	F2	103	0	879	22
	F3	2182	6	561	8
	F4	999	99	469	6
	F5	699	1	948	25
	F6	1493	99	476	8
	Media	1300	-	742	-
	Desviación Estándar	866	-	277	-
	C.V.	1	-	0	-
Tannat	T1	1554	99	1429	22
	T2	1143	95	2139	12
	T3	1336	96	793	8
	T4	1521	97	1211	25
	T5	1142	98	1397	20
	T6	993	89	1151	19
	Media	1282	-	1353	-
	Desviación Estándar	226	-	447	-
	C.V.	0	-	0	-
Duras	D1	649	1	2066	12
	D2	1056	99	2149	11
	D3	-	-	-	-
	D4	-	-	-	-
	D5	1628	100	1769	22
	D6	-	-	-	-
	Media	1111	-	1995	-
	Desviación Estándar	492	-	200	-
	C.V.	0	-	0	-

Tabla 4 : contenidos de ácidos cinámicos de los vinos provenientes de cuatro variedades Midi-Pyrénéens

Se evidencia una notable diferencia entre las concentraciones de ácidos cinámicos de las uvas y de los vinos obtenidos con ellas. En todos los casos, los contenidos de ácidos cinámicos aumentan de forma espectacular. En la Négrette, se nota un aumento importante de ácido p-cumárico (multiplicado por un factor 130). En las variedades Tannat, Fer y Duras, se observa en los vinos la aparición de

ácidos cinámicos (en concentración importante), que no se encontraban presentes en las uvas (tabla 4 y figura 2).

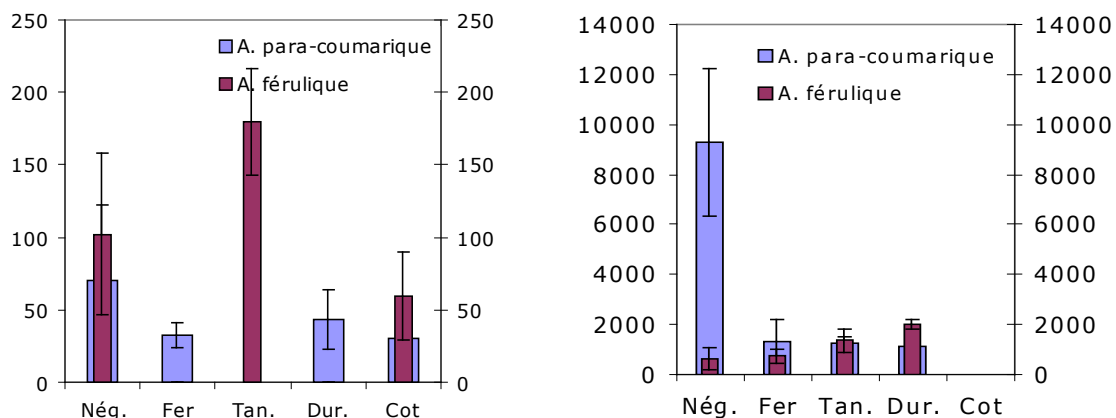


Figura 2 : contenidos de ácidos cinámicos en las uvas (A) y en los vinos (B)

3.3 – Influencia de la exposición de las uvas a las radiaciones solares sobre la concentración de precursores en los vinos

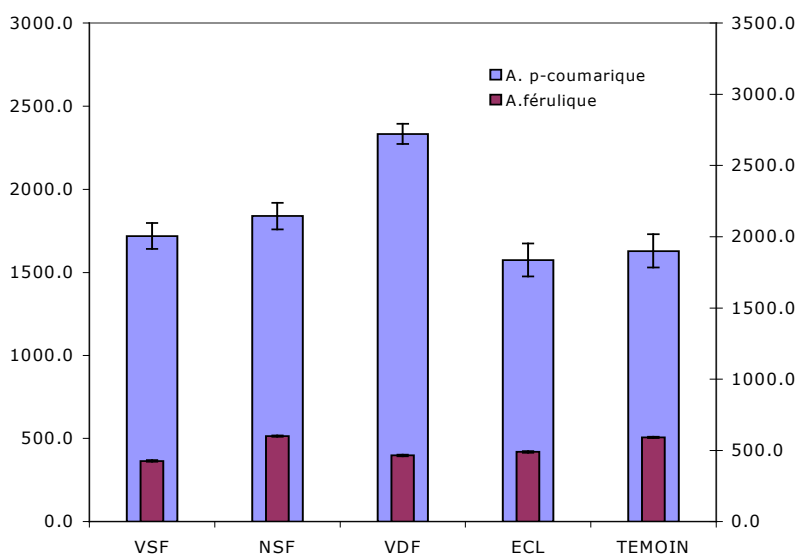


Figura 3 : contenido de ácidos p-cumárico y ferúlico en los vinos provenientes de las modalidades « operaciones en verde »

Así como la composición de los vinos con respecto al ácido ferúlico no sufre significativas modificaciones a causa de las operaciones en verde (figure 3), no ocurre lo mismo sin embargo con el ácido p-cumárico. Se observa un efecto del deshoje, particularmente sensible cuando es practicado de forma que los racimos sean sometidos a una exposición prolongada y amplia a las radiaciones solares (modalidad de deshoje durante la brotación en un solo lado de la fila – NSF – o durante el envero en

los dos lados de la fila – VDF). La modalidad VDF dio un vino en el que el contenido de ácido p-cumárico fue un 45% superior al del vino proveniente de la modalidad testigo.

3.4 – Test de producción de fenoles volátiles por *Brettanomyces* en un vino dado

Los test de producción de fenoles volátiles después de la siembra de *Brettanomyces* en varios vinos de Midi-Pyrénées, fueron realizados por el ITV de Beaune.

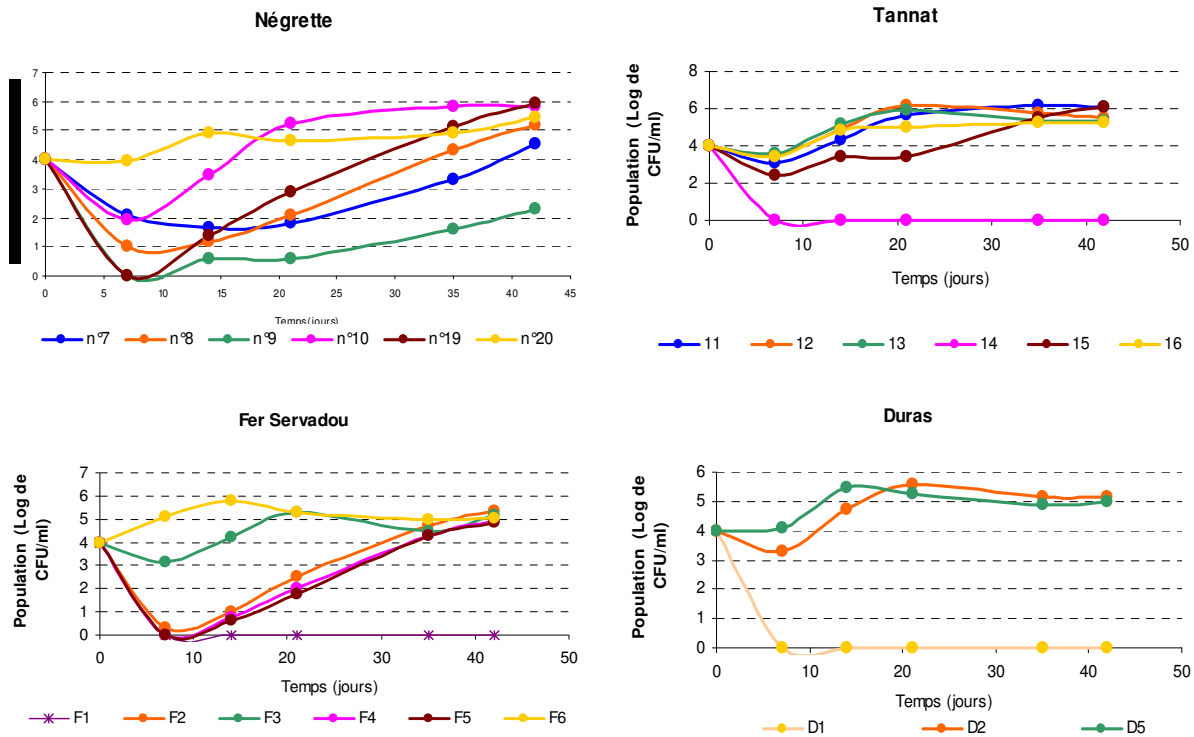


Figura 4 : implantación y crecimiento de *Brettanomyces* en función de las 4 variedades estudiadas

De los 21 vinos estudiados, 3 no permitieron ningún tipo de desarrollo de *Brettanomyces* (Tannat 14, Duras D1 y Fer Servadou F1), y un vino Négrette (n°9) permitió sólo un desarrollo limitado. La ausencia de desarrollo de *Brettanomyces* en los vinos estudiados, correspondió también a una ausencia de producción de fenoles volátiles en los vinos. Esto confirma el rol del desarrollo de *Brettanomyces* en los vinos con respecto a la producción de los fenoles volátiles.

Sin embargo, lo contrario no se cumplió. El desarrollo de *Brettanomyces* no estuvo sistemáticamente acompañado por una producción de fenoles volátiles, y esto independientemente de las concentraciones de los ácidos ferúlico y cumárico presentes en los vinos.

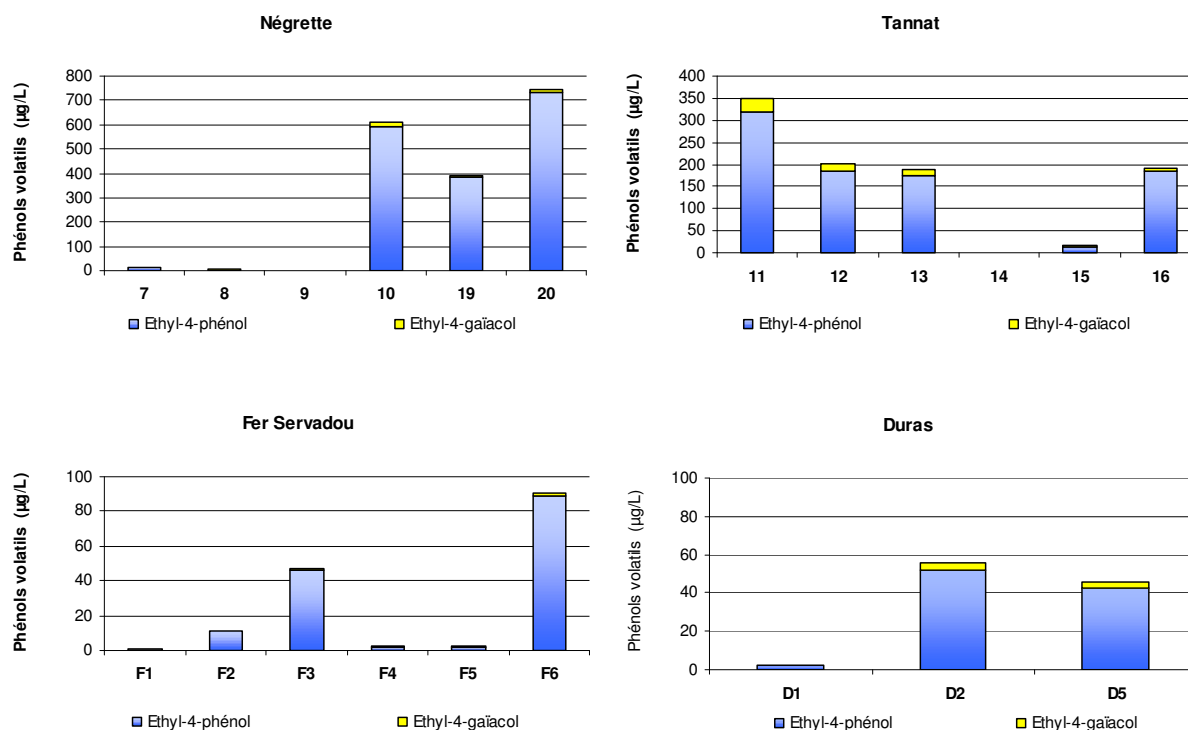


Figura 5 : contenido de fenoles volátiles después de la implantación e incubación de *Brettanomyces* en función de las 4 variedades estudiadas

Cuando hay producción de ácidos fenólicos, las concentraciones determinadas en los vinos parecen estar relacionadas con la variedad estudiada. Durante estos ensayos, la Négrette fue la variedad que produjo más ácidos fenólicos, luego la Tannat en menor proporción (dividido por dos). La Fer Servadou y la Duras mostraron ser bajas productoras de ácidos fenólicos. La Négrette, gran productora de fenoles volátiles, fue la variedad que presentó las concentraciones más elevadas de precursores en los vinos estudiados

Los diferentes resultados obtenidos con estas variedades tienen que ser confirmados, especialmente la relación variedad/producción de fenoles volátiles.

4 – CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

Las variedades de Midi-Pyrénées, particularmente la Tannat y la Fer Servadou son ricas en ésteres cinamiltartáricos. En cambio, los ácidos cinámicos provenientes de la hidrólisis de los ésteres no se encuentran presentes o están presentes en pequeñas cantidades en las uvas maduras.

Se ha podido observar una fuerte heterogeneidad de las concentraciones de ácidos cinámicos de los vinos provenientes de la misma variedad. Las condiciones de elaboración de los vinos fueron idénticas, por tanto es probable que existan otros factores que intervienen sobre la acumulación de los ésteres cinamiltartáricos en las uvas (material vegetal, vigor, sistema de conducción, tipo de suelo, fecha de cosecha, etc...). El estudio de esta vía podría ofrecer resultados interesantes

Una primera respuesta relativa a los roles de algunos factores agronómicos y vitícolas ha podido ser aportada a través de esta experimentación sobre las operaciones en verde. Se ha observado que las modalidades « deshoje » que favorecen la fuerte exposición de las uvas al sol, inducen un aumento de los contenidos de ácidos cinámicos en los vinos. Se puede suponer que el efecto del deshoje se sitúa a nivel de los ésteres cinamiltartáricos. Esto debe ser demostrado todavía a través de la determinación de estos compuestos en las uvas.