

Modulación del perfil aromático mediante el uso de una enzima específica para potenciar los aromas de frutas rojas en vinos tintos

David Moreno Grávalos¹, Jesús Ángel Velado Quintero¹, Antonio Palacios García², Galdric Nogues¹

¹ *Lamothe-Abiet, Canéjan, France*

² *Laboratorios Excell Ibérica SL*

Introducción

Hoy más que nunca se sienten los cambios a nivel general en esta sociedad. Cambia la manera de relacionarnos con las nuevas tecnologías, cambian las políticas, cambia la inteligencia, cambia el clima, cambian los gustos, cambian las dietas, es algo inherente al ser humano y al mundo en el que vivimos, otra cosa es que estemos dirigiendo bien esta evolución tan exageradamente rápida, no experimentada en ninguna época anterior.

Estudios recientes sobre la percepción sensorial de los vinos han demostrado que los consumidores prefieren los vinos significativamente más frescos, tanto desde el punto de vista analítico (acidez) como aromático (Espinoza et al., 2016). Estos resultados subrayan la importancia de que el sector vinícola adapte sus perfiles incorporando modernidad e innovación.

Sin duda, la mejor forma de potenciar la frescura aromática de los vinos es explotar el potencial aromático de los tioles. Estos son precursores volátiles producidos por la viña y presentes en las uvas. Durante la fermentación alcohólica, con la acción de las levaduras, estos precursores son transformados y cortados y se convierten en moléculas volátiles aromáticas (Dubourdieu et al., 2001). En los vinos blancos esto es bien sabido y estudiado. Variedades como el *sauvignon blanc* y el verdejo tienen un elevado contenido en precursores tiólicos. Luego este potencial, en mayor o menor medida, se va expresado en el vino final como componentes odoríferos asociados a notas de cítricos, frutas exóticas y fruta de la pasión.

El aroma en los vinos es debido a la expresión de la combinación de diferentes compuestos volátiles originados por varios caminos, empezando en el desarrollo de los aromas varietales en la uva, pasando por el proceso de la elaboración completa, con una importancia mayor en la fermentación alcohólica, aromas fermentativos, y terminado por su tiempo en depósito, bodega y/o botella. Aromas de crianza, (David W. Jeffery, 2016)

Los niveles de tioles en el vino pueden representarse de dos maneras. En primer lugar, por la suma de las concentraciones (en ng/L) o por el umbral de percepción, que corresponde a una concentración mínima para la que un tiol puede ser detectado por la nariz humana. Cada tiol tiene su propio umbral de percepción, establecido para los vinos blancos y rosados. Los umbrales de percepción de los vinos tintos son

poco conocidos a nivel bibliográfico. En este estudio nos centraremos en expresar los tioles en concentraciones totales y haremos un paralelismo utilizando los umbrales de percepción de los vinos blancos y rosados, que están más estudiados por la comunidad científica.

Contexto y motivación para el proyecto

Más recientemente, existen estudios demostrando que los tioles también están presentes en los vinos tintos en concentraciones suficientes para influir en la degustación en el momento de su consumo (SIEBERT et al., 2019). Ciertas variedades como *pinot noir*, *shiraz*, pero también variedades españolas como tempranillo o garnacha se encuentran entre las que tienen altos niveles de tioles (figura 1). Esto concierne principalmente al 3MH y A-3MH, que se asocian a notas de fruta roja fresca en los vinos tintos. En concentraciones elevadas, los aromas se modifican, con la aparición de intensas notas de Grosella y Casis, aportando así mayor concentración de fruta en la fracción aromática. Por lo tanto, también se pueden obtener vinos con aromas más frescos y afrutados, siempre que trabajemos y mejoremos este potencial tiólico.

Intrigado y motivado por este trabajo, Lamothe-Abiet quiso trabajar en la potenciación aromática de los tioles en los vinos tintos. Este trabajo ha conducido al desarrollo de una nueva enzima comercial específica, CEnozym® Red Expression, para mejorar las propiedades organolépticas de los vinos tintos. Esta enzima se compone de actividades pectolíticas procedentes del *Aspergillus Niger* no transgénico, ricas en actividades secundarias como las arabanasas, celulasas y hemicelulasas. Este hongo es el microorganismo que permite tener muy buenas actividades pectolíticas, que son ya utilizadas a nivel industrial en la enología de manera histórica. El objetivo de estas actividades es aumentar el nivel de extracción de los compuestos de interés en la piel, como pueda ser la materia colorante y fenólica, y la pulpa de la uva durante la fermentación alcohólica.

También se ha añadido en el producto comercial una actividad enzimática específica, la β -Liasa. Esta enzima permite, en el caso de la levadura, liberar una molécula volátil, cortando el precursor tiólico combinado con moléculas de glutatión o cisteína. El mecanismo de libe-

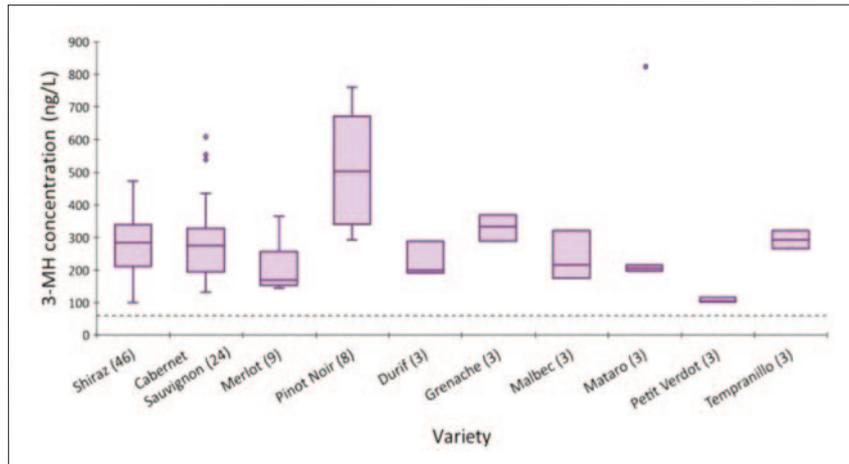


Figura 1. Concentraciones de 3MH en vinos monovarietales comerciales. Ensayo realizado en el marco del estudio de SIEBERT *et al.*, 2019.

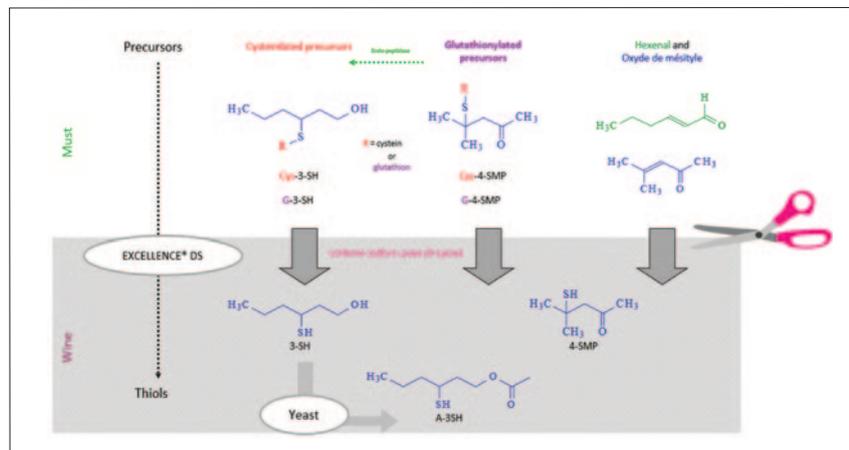


Figura 2. Mecanismo de liberación de tioles volátiles (3MH y 4MMP) y acetilación del 3MH en A-3MH por la levadura (Swiegers *et al.*, 2007).

ración de los tioles se muestra en la [figura 2](#).

El objetivo de este artículo es enriquecer a nivel cultural y científico la presencia de tioles y su aportación sensorial, presentando los resultados de pruebas de vinificación realizadas con el uso de la enzima. Se utilizó en vinos de distintas zonas geográficas a través de las cosechas 2020, 2022 y 2023. También será ilustrado su impacto en la revelación aromática y valorización de los perfiles organolépticos de los vinos tintos, con un enfoque muy centrado en el análisis sensorial de los vinos obtenidos.

Materiales y métodos de los ensayos

Todas las pruebas se realizaron siguiendo un protocolo idéntico, con el fin de demostrar el impacto de la enzima en diferentes matrices. En cada caso, se adoptó un método de vinificación tradicional, es decir, utilizando uvas maduras y vendimia entera a nivel de racimos.

Protocolo de vinificación

Después de la cosecha, las uvas se distribuyeron unifor-

memente entre las distintas cubas de control y de ensayo. Cada depósito se inocula con una levadura seleccionada. Cuando se observa el inicio de la fermentación alcohólica, se añade $\text{C}\text{Enozym}^{\text{®}}$ Red Expression. Se recomienda en la forma de uso añadir la enzima una vez iniciada la fermentación, para que la cobertura de CO_2 (producido por las levaduras en su fermentación alcohólica) pueda proteger los tioles recién liberados. Así, la adición de $\text{C}\text{Enozym}^{\text{®}}$ Red Expression en el inicio de la fermentación alcohólica es la única diferencia entre las modalidades "Control" y "Ensayo", está última con la adición de la enzima, a una dosis de 5mL/hL añadida directamente al tanque después de una dilución en 10 veces su peso en agua. Luego, se realizó un remontaje de homogeneización para repartir la enzima de forma precisa.

Después de la fermentación alcohólica, se toman muestras de los vinos para analizar los compuestos aromáticos. Cada botella se estabiliza con la adición de SO_2 (5 g/hL), para proporcionar protección antioxidante y asegurar que los tioles estén bien conservados. En cada ensayo, los resultados analíticos se completaron con un

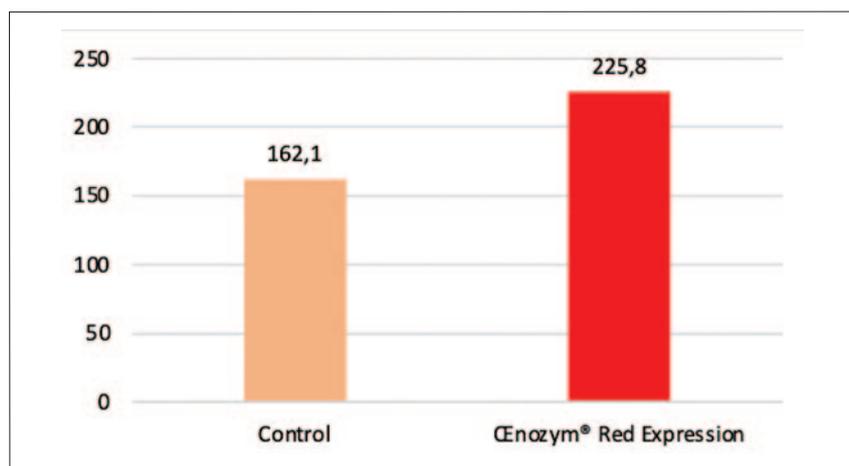


Gráfico 1. Concentraciones en 3MH (ng/L) en los vinos en fin de fermentación - Ensayo 1, Italia, 2020.

	Control	CEnozym® Red Expression
TAV (%Vol.)	15,05	15,37
Ácido tartárico (g/L)	1,84	1,59
Ácido málico (g/L)	0,38	0,4
Azúcares residuales (g/L)	0,37	0,34
Antocianinas totales (mg/L)	184	213
Flavonoides totales (mg/L)	2485	2678

Tabla 1. Composición general de los vinos en fin de vinificación – Ensayo 1, Asti, Italia.

análisis sensorial de cata a ciegas. Durante estas catas, los dos paneles de jueces empleados estaban compuestos por 10 a 22 catadores expertos cada uno de ellos.

Regiones vitivinícolas y variedades

Los ensayos presentados corresponden a los diferentes lugares de ensayo durante las campañas de vinificación:

- Ensayo 1: Cosecha 2020 - *pinot noir* en la zona de Asti, Italia (Petrozziello et al., 2021).
- Ensayo 2: Cosecha 2022 - *tempranillo*, Ribera de Duero, España.
- Ensayo 3: Cosecha 2023 - *tempranillo*, Rioja, España.

Análisis de tioles volátiles

La determinación de las concentraciones en tioles volátiles se ha realizado mediante extracción con Quechers modificado usando una mezcla de acetato de etilo/acetoneitrilo (1:1) sin la etapa de Clean-up. Una alícuota de este extracto se analizó por cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas (LC/MS/MS). El equipo empleado fue un Cromatógrafo Agilent 1290 acoplado a un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo también de Agilent modelo 6460. La fuente de ionización fue por electrospray (ESI) con una temperatura del gas de 300°C a un flujo de 5L/min. La separación se llevó a cabo en una columna de C18 de Phenomenex con

las siguientes dimensiones (100 x 3 mm, 250 Å, 2.6 µm) a una temperatura de 25°C y un volumen de inyección de 5 µL. Las fases móviles fueron las siguientes: (A) ácido fórmico 0.1% en agua y (B) acetoneitrilo a un flujo de 0.5 mL/min. La detección se realizó en modo MRM para cada uno de los tioles.

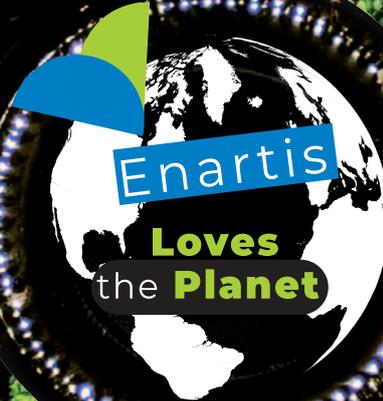
Resultados de las pruebas

Ensayo 1: en la zona de Asti el ensayo se realizó con uvas vendimiadas a mano con o sin adición de CEnozym® Red Expression. Al final de las fermentaciones, se midieron los niveles de 3MH que se presentan en el [gráfico 1](#). Se observa aquí un aumento a nivel de 3MH en favor de la modalidad enzimática. La concentración evoluciona de 162 ng/L a 225,8 ng/L lo que corresponde a una diferencia de casi 40%. Si lo traducimos en umbral de percepción por el 3MH en vinos blancos y rosados, esta diferencia corresponde a un aumento de 1,07 unidades aromáticas respecto al umbral de percepción utilizado (60 ng/L por el 3MH).

La [tabla 1](#) presenta las analíticas de los vinos terminados después de la fermentación maloláctica. Es importante ver que la enzima también mejora las concentraciones en polifenoles y antocianos del vino, gracias a sus actividades de extracción descritas previamente a nivel de piel y pulpa.

enartis

Inspiring innovation.



ZENITH

¡La gama de estabilizantes que previene la formación de cristales de bitartrato de potasio y la pérdida de color sin comprometer la calidad del vino!



ESTABILIDAD EN EL TIEMPO
INCLUSO EN CONDICIONES
DE ALMACENAMIENTO
POCO ADECUADAS



IMPACTO
INSIGNIFICANTE
EN EL INDICE
DE FILTRABILIDAD



OPTIMIZA
LOS PROCESOS
Y REDUCE
COSTES



UTILIZADO
EN TODO EL MUNDO
PARA TODO
TIPO DE VINOS

Con ZENITH, reduces tu huella de carbono durante la estabilización: limita el consumo de energía y agua potable y contribuye a una reducción significativa de las emisiones de CO₂.

SIEMPRE
UN PASO ADELANTE



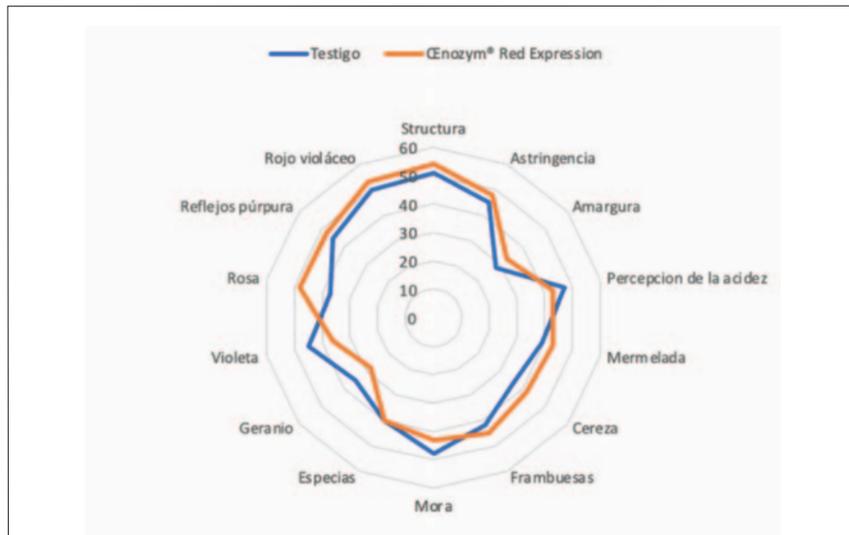


Figura 3. Diagrama de cata de los vinos de Italia, añadido con la enzima (reconstruido a partir de Petrozziello *et al.*, 2021).

Análisis de los tioles (ng/L)	TESTIGO	ORE	Δ con ORE	%
4-MERCAPTO-4METIL-2PENTANONA (4MMP)	ND	ND	-	-
3-MERCAPTOHEXANOL (3MH)	865,7	1753,2	+887	102
ACETATO DE 3-MERCAPTOHEXANOL (A3MH)	14,6	16,5	+1,9	13
BENCENOMETANOTIOL (BMT)	ND	ND	-	-

Tabla 2. Resultados de análisis de los tioles volátiles - Ensayo 2, Ribera del Duero 2022 (las valores en verde corresponden a una diferencia significativa).

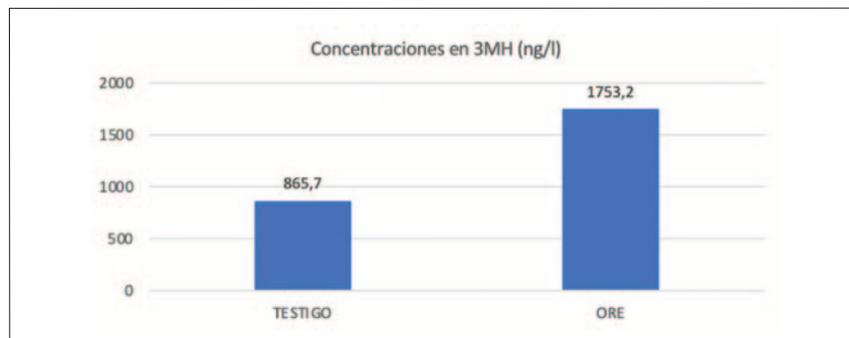


Gráfico 2. Concentraciones del tiol volátil 3MH por las modalidades del ensayo 2, Ribera del Duero 2022. Los valores se expresan en ng/l.

La **figura 3** muestra los resultados de la cata realizada. La modalidad CEnozym® Red Expression tiende hacia un perfil con más notas de frambuesas, cerezas y de rosa fresca, cuando las notas de mora y de violeta eran menos pronunciadas en la variedad control. En boca, también se observó una mejor estructura, aunque con una percepción más pronunciada del amargor y de la astringencia en la modalidad con la enzima, propiedades sensoriales a matizar durante el periodo de maduración del vino antes de su comercialización. Por lo tanto, las notas de geranio parecen disminuidas en la modalidad CEnozym® Red Expression, o sea, que es una percepción que

será de menos intensidad a nivel de notas vegetales. Estos resultados parecen corresponder a la tendencia macada por los análisis obtenidos. Respecto al color, se nota también una intensidad más fuerte en los reflejos purpuras y violáceos, justo en la modalidad del vino con la adición de la enzima.

Ensayo 2:

Este ensayo (T.R. 2022) se realizó en una bodega de la Denominación de Origen Ribera de Duero en la provincia de Burgos. Fue en el año 2022 con la variedad tempranillo, o tinta del país. Los resultados de análisis de los tioles volátiles

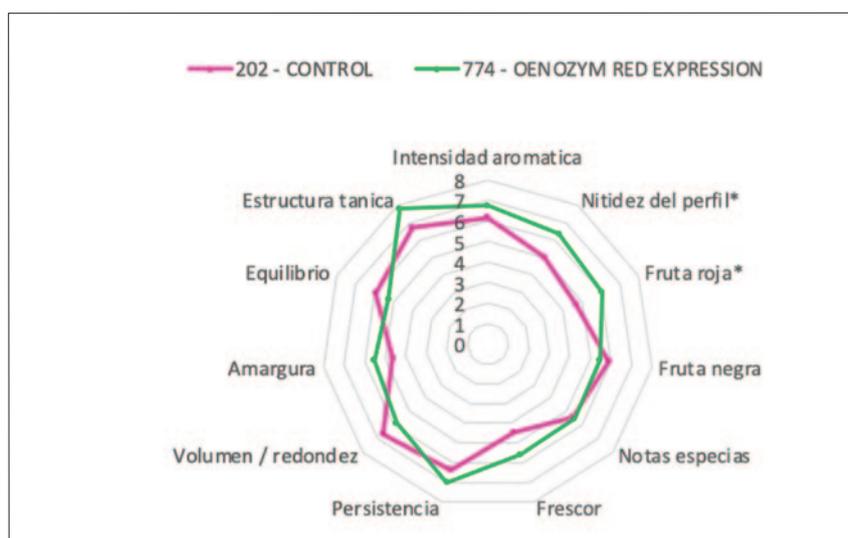


Figura 4. Diagrama de cata del ensayo en la Ribera del Duero, 2022. Cata a ciegas realizada en marzo 2023 con un panel de 19 expertos catadores y el empleo del software TASTEL WEB®. (Un valor del descriptor con * significa que la diferencia es significativa al 5% según el Test de Student).

Análisis de los tioles (ng/L)	TESTIGO	ORE	Δ con ORE	%
4-MERCAPTO-4METIL-2PENTANONA (4MMP)	ND	0,8	0,8	
3-MERCAPTOHEXANOL (3MH)	146,6	173,1	26,5	18
ACETATO DE 3-MERCAPTOHEXANOL (A3MH)	1,1	2,4	1,3	118
BENCENOMETANOTIOL (BMT)	0,8	1,7	0,9	112

Tabla 3. Resultados de los análisis de los tioles volátiles - Ensayo 3, Rioja 2023 (las valores en verde muestran diferencias significativas).

están presentados en la [tabla 2](#) y en el [gráfico 2](#). La primera observación que podemos hacer es que el marcador 4MMP, que da aromas de boj o herbáceo como la mata de tomate, no está detectado a nivel analítico. Es importante notar que este compuesto está generalmente observado en los vinos blancos en concentraciones muy pequeñas, aportando los aromas mencionados.

En el caso del 3MH, responsable de la fruta roja en el caso de los vinos tintos, podemos ver un significativo aumento en el vino que tiene la enzima *Ĉnozym*® Red Expression, con una diferencia de 887 ng/l, correspondiendo a prácticamente al doble de 3MH respecto al testigo sin la adición de la enzima. Traducido en términos de umbral de percepción, esto representa un aumento de casi 15 unidades, lo que es altamente significativo. Respecto al tiol A-3MH, vemos un aumento de 1,9 ng/l que no es significativo, aunque corresponde a un 13% más respecto al testigo sin enzima. El marcador BMT, con aromas minerales de piedra de fusil, no fueron detectados.

En la ficha de cata ([figura 4](#)) podemos ver en este caso que hay un aumento de la intensidad aromática debido a la mayor concentración de aromas, donde hay que sumar a los propios de la variedad, los nuevos aromas tiólicos producidos en la fermentación. También es relevante la nitidez del perfil mayor conseguida con el vino

con la enzima. El punto clave en esta cata es la fruta roja, donde se pone de manifiesto la efectividad de la enzima con su mayor aporte de 3SH al vino. Toda esta fruta roja se puede conectar con fruta fresca, por eso también se puede degustar con un mayor frescor y persistencia el vino con *Ĉnozym*® Red Expression. También se puede advertir que los catadores han valorado el vino testigo con un poco más de equilibrio y redondez.

Ensayo 3:

Este ensayo se realizó en una bodega de la DOC Rioja en el año 2023 en depósitos de 20.000 litros con la variedad tempranillo. A la diferencia de los otros resultados, podemos ver una ausencia del marcador de 4MMP en el vino testigo, y una concentración baja de 0,8 ng/L, pero presente de dicho compuesto, en la modalidad con adición de *Ĉnozym*® Red Expression ([tabla 3](#)). Este tiol es muy particular porque tiene un umbral de percepción muy bajo de 0,8 ng/l, por lo tanto, las concentraciones encontradas en este ensayo son suficientes para tener un impacto en el perfil aromático de los vinos. También, se encuentra la presencia de BMT en el vino testigo y en el vino con la adición de enzima, con la que la concentración de este tiol aumenta y permite llegar a una diferencia de 3 veces respecto al umbral de percepción del BMT, que está descrito en vinos blancos y rosados en 0,3

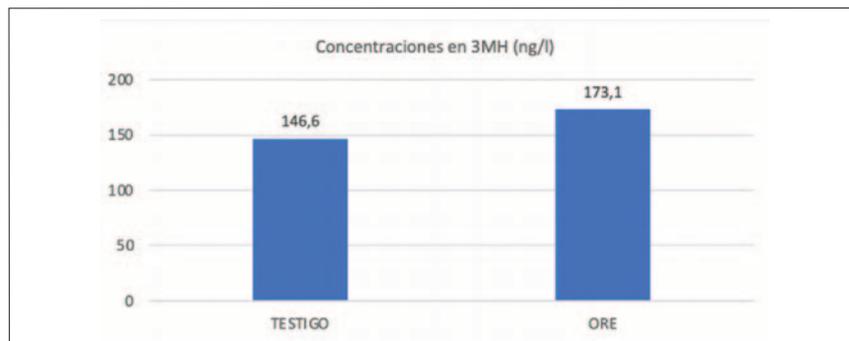


Gráfico 3. Concentraciones en ng/l de 3MH en las modalidades del ensayo 3, Rioja, 2023.

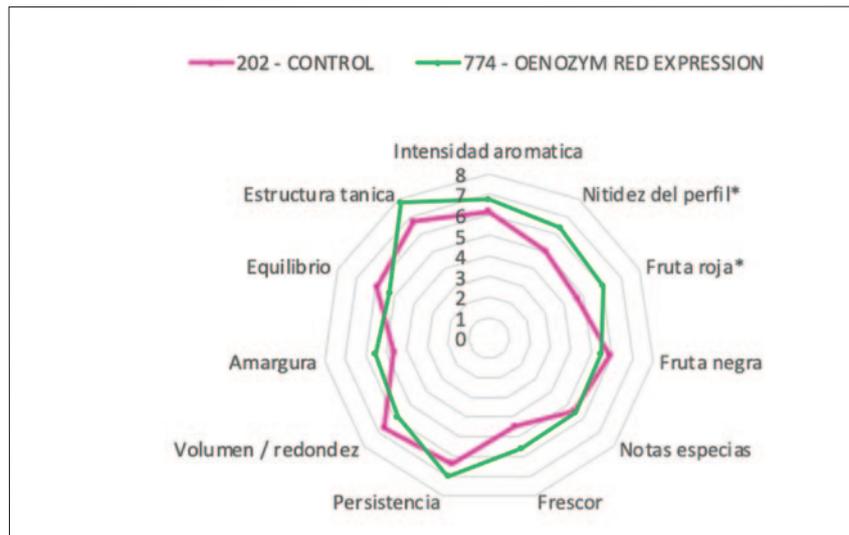


Figura 5. Diagrama de cata ensayo en La Rioja, 2023. Cata a ciegas realizada en marzo 2024 con los alumnos de Enología de la Universidad de la Rioja. Gráfico elaborado con el software TASTEL WEB®. (los valores de los descriptores con * presentan diferencias significativas al 5% según Test de Student).

ng/L. En definitiva, que cuando este tiol está presente, se puede potenciar mucho el perfil aromático elegante y varietal del vino, aportando notas de piedra a nivel de perfil mineral y una sensación de frescura/acidez, lo que puede aportar comentarios de cata como sensaciones de tensión en boca y mineralidad olfativa. Las concentraciones de 3MH y de A-3MH están también respectivamente por encima de los 26,5 ng/L y 1,3 ng/L, pero estas diferencias no son significativas (ver gráfico 3).

Después de algunos meses de crianza, los vinos se probaron a ciegas con la ayuda de los alumnos del grado de Enología de la Universidad de La Rioja (UR), considerados como catadores entrenados. La cata se realizó en la sala de catas del centro científico tecnológico (CCT) de la UR. El panel estaba compuesto por 14 personas.

Como se puede observar en los resultados, las diferencias más significativas están en la nitidez de perfil sensorial, donde el vino con la adición de la enzima CEnozym® Red Expression está por encima en el aroma a fruta, sobre todo a nivel de los aromas de fruta roja. Uno de los principales objetivos del presente estudio se puede dar por conseguido, donde se quería ver si el marcador 3-SH se veía reflejado en la cata mediante la expresión aromática de fruta negra o

roja, poniendo de manifiesto que son los aromas de fruta roja más claramente detectados por los catadores, puntuando más la fruta roja en el vino con aportación de CEnozym® Red Expression comparado con el vino testigo. Los catadores han puntuado un poco más la fruta negra y las especias en el testigo, viendo en este caso que la enzima realza solamente la fruta roja y nunca los aromas especiados. También los catadores percibieron un poco más de frescor en boca, por lo que se podría relacionar con aromas de fruta roja fresca, o por lo menos, menos madura, y también se encuentra un poquito menos de amargor comparado con el vino con la enzima. Hay parámetros como el volumen en boca, la persistencia, el equilibrio, la estructura tánica y la intensidad aromática que no han sido diferenciados en la cata, obteniéndose valores muy similares en ambos casos.

Conclusiones

El perfil aromático de los vinos tintos sigue siendo objeto de un gran debate y cuenta con numerosos proyectos de I+D. Las interacciones entre los compuestos aromáticos con los polifenoles y otros coloides son aún poco conocidas, pero la industria es unánime en el hecho de que la mejora del potencial tiológico puede modular el perfil hacia

notas aromáticas más frescas, aportando complejidad y aromas afrutados varietales. Estos ensayos del estudio realizados en diferentes zonas geográficas de España con la misma variedad tempranillo han demostrado un efecto común en los vinos adicionados con la enzima comercial **Enzym® Red Expression**, aportando específicamente aromas de fruta roja y fresca al aumentar las concentraciones de tioles, en particular del 3-SH, en los vinos tintos elaborados durante los ensayos.

Este impacto positivo fue confirmado de forma significativa por la cata de los vinos provenientes de los ensayos. En particular, los catadores observaron una intensidad de fruta fresca más pronunciada en los vinos con la enzima añadida. También observaron una tendencia a que los vinos tuvieran más estructura en boca y una mayor percepción del amargor debido al aumento de los taninos. Esto es positivo, ya que también permite trabajar el perfil en la boca de los vinos tratados. También, gracias a la mayor riqueza en polifenoles de interés general, se confiere a los vinos tratados una aptitud adicional para el envejecimiento, haciéndolos más aptos para la crianza al aumentar su longevidad, al tiempo que conservan sus características aromáticas frescas y agradables.

El uso de esta enzima comercial forma parte, por tanto, de una estrategia más amplia para producir vinos con aromas

tiológicos más frescos, tal y como demandan los consumidores actuales. Los recientes avances de la biotecnología enológica permiten responder a las expectativas de los viticultores y enólogos, que deben estar en sintonía con las de los consumidores, que son quienes juzgan en última instancia la aceptación del perfil organoléptico propuesto y quienes invierten con su compra en la cadena de valor.

Referencias bibliográficas

- Fuentes Espinoza, A., 2016. Vin, réchauffement climatique et stratégies des entreprises : comment anticiper la réaction des consommateurs? (phdthesis). Université de Bordeaux.
- Siebert *et al.*, 2018. Do varietal thiols matter in red wine? *AWRI Technical Review* N°243, December 2019. 6pp.
- Jeffery D., 2016. Spotlight on varietal thiols and precursors in grapes and wines. *Journal of Chemistry*, August 2016, 1323 – 1330. 8pp
- Swiegers *et al.*, 2007. Engineering volatile thiol release in *Saccharomyces cerevisiae* for improved wine aroma.
- Dubourdieu *et al.*, 2001. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* yeast strains on the liberations of volatile thiols in Sauvignon Blanc wine. *Am. J. Enol. Vitic* 52:2, 4pp.
- Petrozziello *et al.*, 2021. La valorizzazione aromatica di uve rosse mediante l'impiego di enzimi pectolitici e lieviti inattivati. *VVQ numero quattro*, Giugno 2021, 4pp.



Llevamos la **enología** a otro nivel

Descubre la **nueva aplicación** enológica de Grupo Agrovin:

- Calculadora enológica
- Mapa de Sensaciones
- Productos de afinado



YA DISPONIBLE EN




✉ comercial@agrovin.com | ☎ +34 926 550 200

agrovin.com