



Generalitat de Catalunya
**Departament d'Agricultura,
Ramaderia, Pesca i Alimentació**

IRTA



INCAVI

Institut Català de la Vinya i el Vi

LLEVATS AUTÒCTONS EN ENOLOGIA ECOLÒGICA

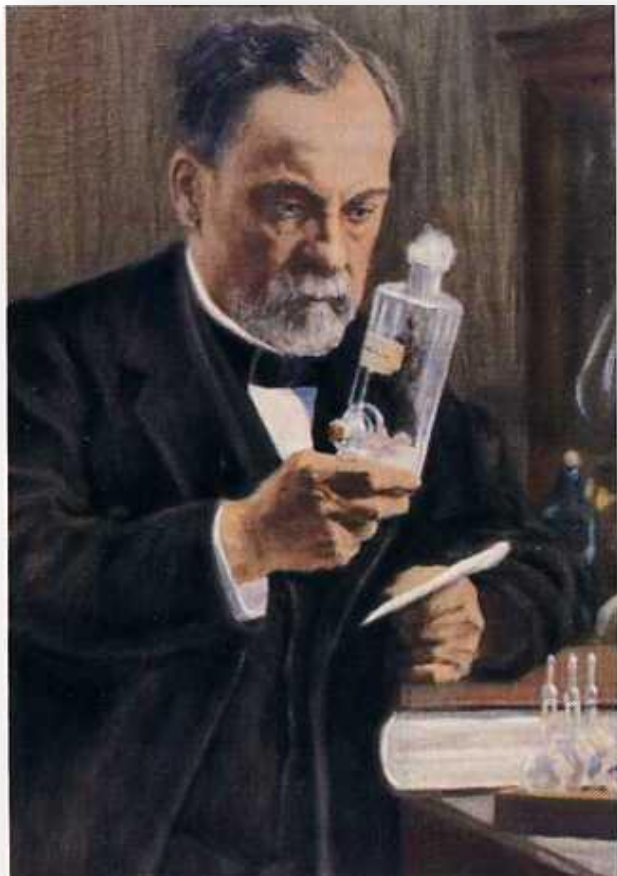
Anna Puig i Fina Capdevila



**3r Simposi de Producció Agrària Ecològica
Viticultura i Enologia
ecològica**

VILAFRANCA DEL PENEDES
25 i 26 de novembre de 2015

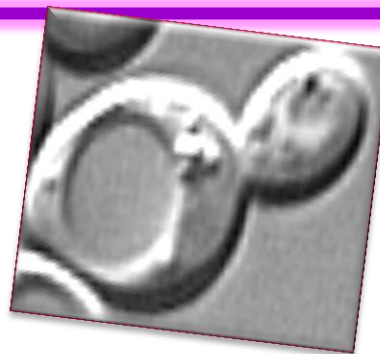
Louis Pasteur



1822-1895

Fermentació alcohòlica

Sucres



Etanol

Saccharomyces cerevisiae

“El gust i la qualitat del vi depenen en gran part de la naturalesa específica dels llevats que es desenvolupen durant la fermentació”.

(França, 1876)

En els raïms:

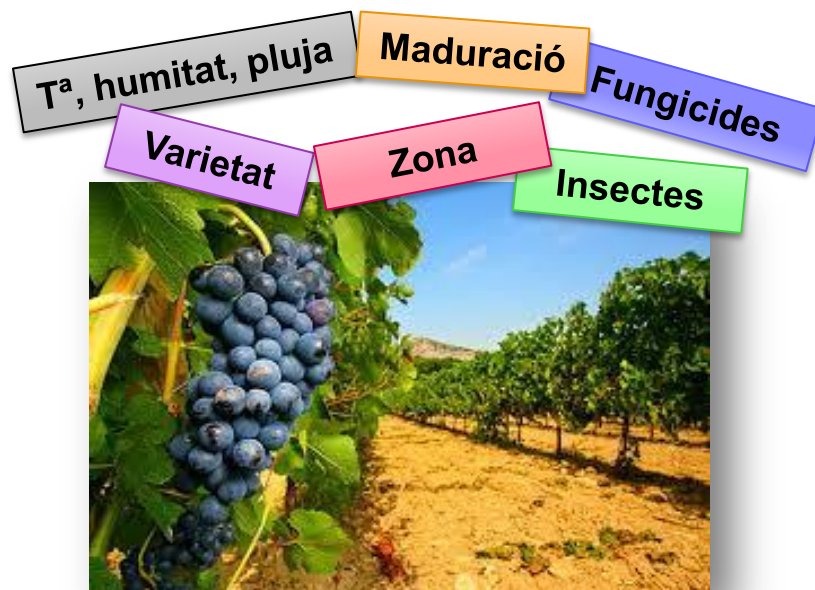
Una població:

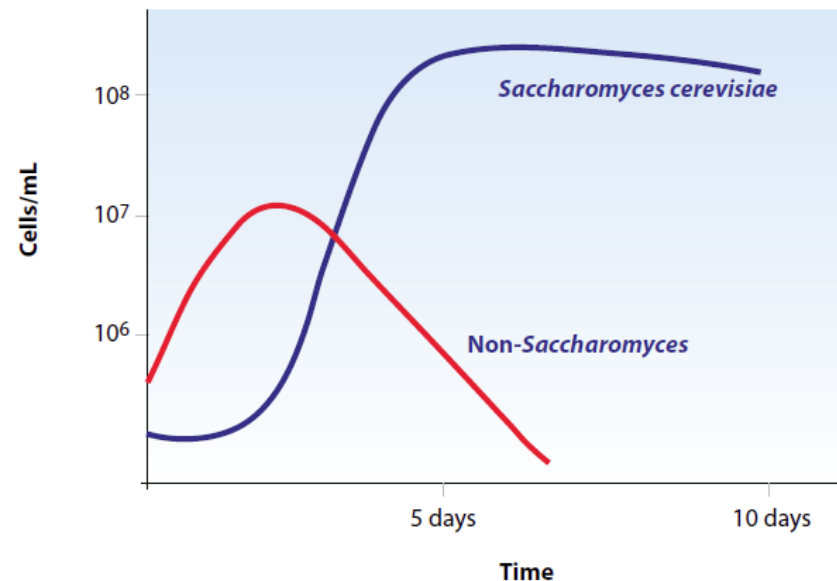
- normalment baixa
- molt heterogènia:
 - ✓ fongs
 - ✓ llevats (sp no Sc, Sc quasi inexistentes)
 - ✓ bacteries

En el celler/vi:

Una població:

- molt elevada (varis milions /mL)
- composta d'unes poques espècies (Sc)





- ✓ Inici FA: lent
- ✓ Temps fermentació: llarg
- ✓ Qualitat vi final: variable
- ✓ Producció: “artesanal”
- ✓ Economia: estalvi en productes (LSA)





- ✓ Inici FA: ràpid
- ✓ Temps fermentació: curt
- ✓ Qualitat vi final: homogeni i repetitiu
- ✓ Producció: "industrial"



**FERMENTACIÓ
CONTROLADA**



**S'eviten desviacions
organolèptiques**



**Assegurament de la
qualitat del producte final**

Soques de llevats comercials per assegurar la reproducibilitat del producte

Molts cellers utilitzen les mateixes soques

El seu origen es troba fora de la zona vitivinícola (D.O.) on es produeix el vi



Aroma i gust homogeni?

Falta de singularitat?



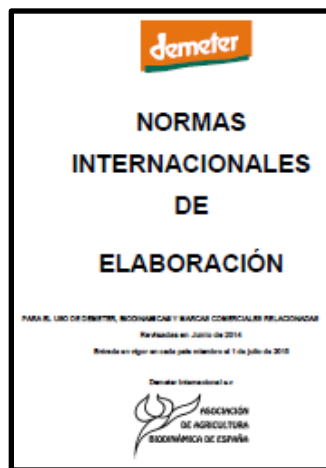
REGLAMENTO DE EJECUCIÓN (UE) N° 203/2012 DE LA COMISIÓN

de 8 de marzo de 2012

que modifica el Reglamento (CE) n° 889/2008, por el que se establecen disposiciones de aplicación del Reglamento (CE) n° 834/2007 del Consejo, en lo que respecta a las disposiciones de aplicación referidas al vino ecológico



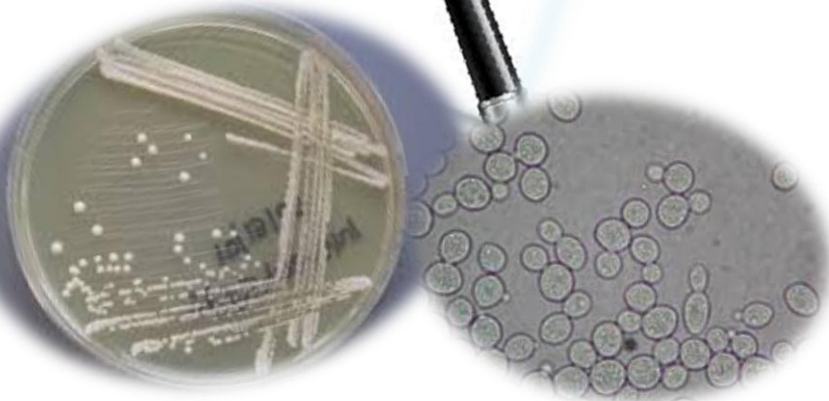
- Fermentació espontània amb llevats indígenes
- Ús de llevats secs actius (LSA)
 - no OGM
 - si és possible, d'origen ecològic



XII Normativa para vino Demeter/Biodinamico® 84

- **SOLS LLEVATS LOCALS** (llevats locals, peus de cuba: Demeter o ecològiques)
- **Ús de llevats comercials (lliures d'OGM) sols en:**
 - Parada de fermentació
 - Fermentació de vins espumosos

Llevats autòctons lligats al "terroir"



FA espontània



Soques de *S. cerevisiae* es poden trobar com a predominants en diferents anys consecutius

Augment de la demanda dels productors de vi per la selecció de llevats amb característiques especials, representatives d'una determinada regió vitivinícola

LLEVATS
AUTÒCTONS
PER PRODUIR
VINS I CAVES



Primers aïllaments: vinyes biodinàmiques

Macabeu (A)



Cabernet sauvignon (B)



2008, 2009, 2010

FA espontània



Meitat FA:
1040-1050



Fi FA:
≈ 1000

Cabernet franc (C1)



Chenin (C2)

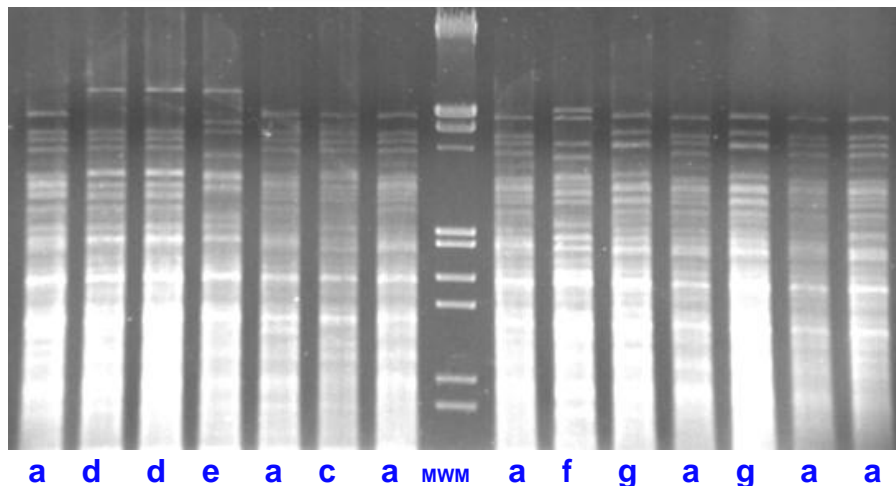


75 colònies aïllades a
l'atzar en cada punt
de mostreig

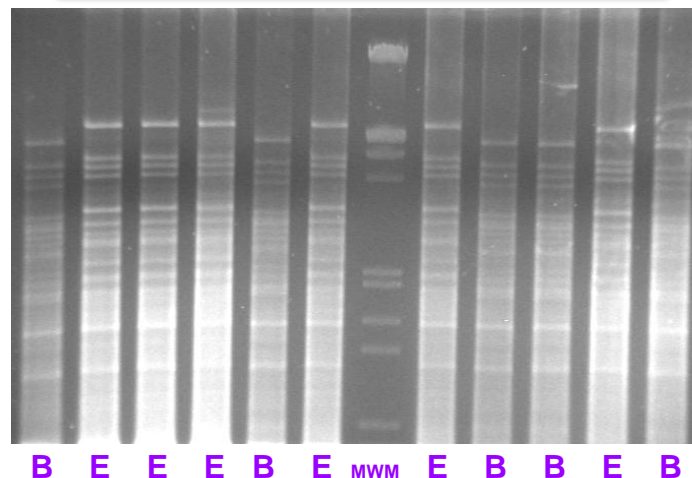
150 aïllats en
cada FA
espontània

1^{er} screening: RFLP-mtDNA (Patrons de restricció de l'ADN mitocondrial)

Macabeu 2008 (meitat FA)



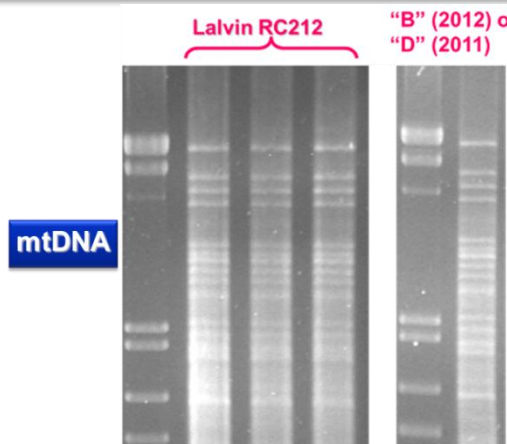
Xarel·lo 2013 (fi FA)



2^{on} screening: Anàlisi dels Elements Delta

Soques que tenen el mateix patró de mtDNA

Per assegurar-se de que les soques autòctones aïllades no són cap soca comercial resident al celler

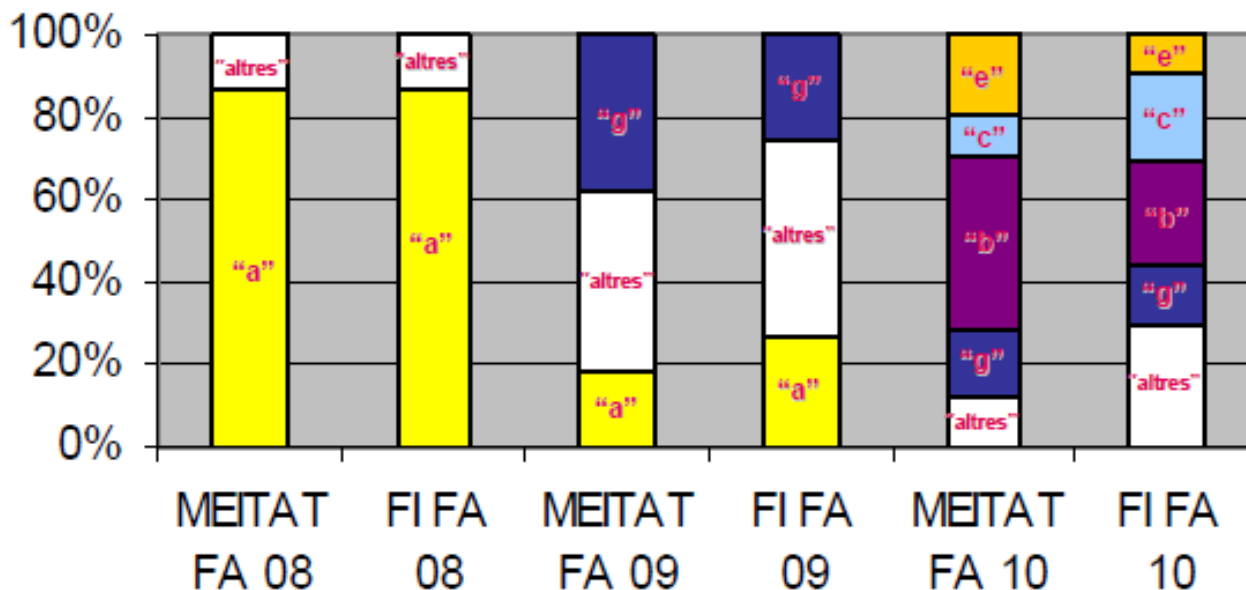


δ Elements

NO ÉS LA MATEIXA SOCA



CABERNET SAUVIGNON 2008 - 2009 - 2010



414 llevats

5 soques:
 "a", "g", "b", "c", "e"



Seleccionats com a llevats autòctons

	MEITAT FA 08	FI FA 08	MEITAT FA 09	FI FA 09	MEITAT FA 10	FI FA 10
a	87	87	18	27		
altres	13	13	44	48	12	29
g			38	25	16	15
b					42	25
c					11	21
e					19	9

n = 54 (4)

n = 69 (6)

n = 71 (12)

n = 71 (9)

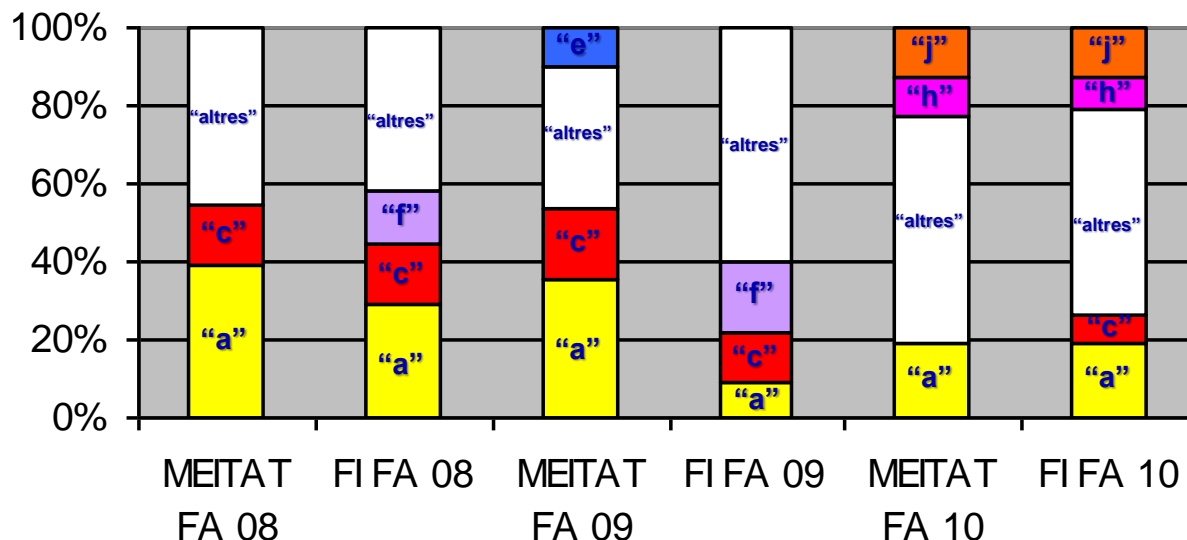
n = 74 (11)

n = 75 (19)

n (nº soques totals analitzades)

() (nº perfils diferents trobats)

CHENIN 2008 - 2009 - 2010



423 llevats

6 soques:
"a", "c", "f", "j", "h", "e"



Seleccionats com a
llevats autòctons

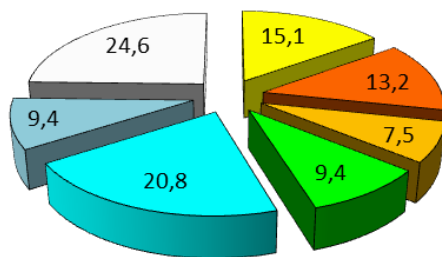
	MEITAT FA 08	FI FA 08	MEITAT FA 09	FI FA 09	MEITAT FA 10	FI FA 10
a	39	29	28	9	19	19
c	16	16	14	13		7
f		13		18		
altres	45	42	28	60	58	52
e			8			
h					10	8
j					13	13

n = 69 (18) n = 69 (20) n = 71 (20) n = 70 (25) n = 72 (32) n = 72 (32)

n (nº soques totals analitzades) () (nº perfils diferents trobats)

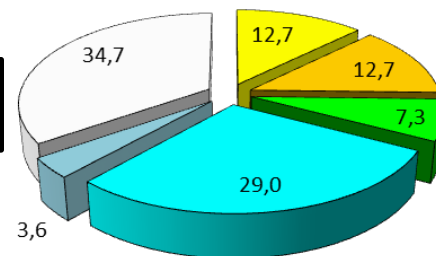
Aïllaments 2014

MALVASIA 2014 MITAT FA (%)



n = 53
 11 ≠ per mtDNA

MALVASIA 2014 FI FA (%)



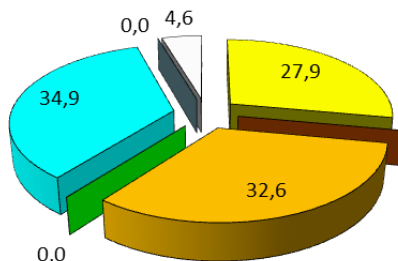
n = 55
 18 ≠ per mtDNA

■ A1 ■ B ■ C1 ■ D ■ E1 ■ E2 ■ ALTRES

■ A1 ■ C1 ■ D ■ E1 ■ E2 ■ ALTRES

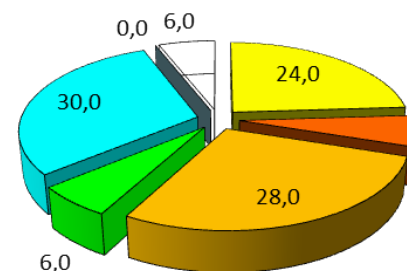
Aïllaments 2015

MALVASIA 2015 MEITAT FA (%)



n = 43
 5 ≠ per mtDNA

MALVASIA 2015 FI FA (%)



n = 50
 8 ≠ per mtDNA

■ A1 ■ B ■ C1 ■ D ■ E1 ■ E2 ■ ALTRES

■ A1 ■ B ■ C1 ■ D ■ E1 ■ E2 ■ ALTRES



**3 soques: "A", "C" i "E"
 es repeteixen majoritàriament en els 2 primers anys d'estudi**

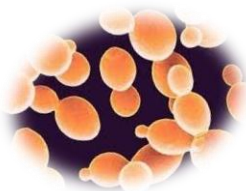
Brugarol

FINCA
 BELL-LLOC

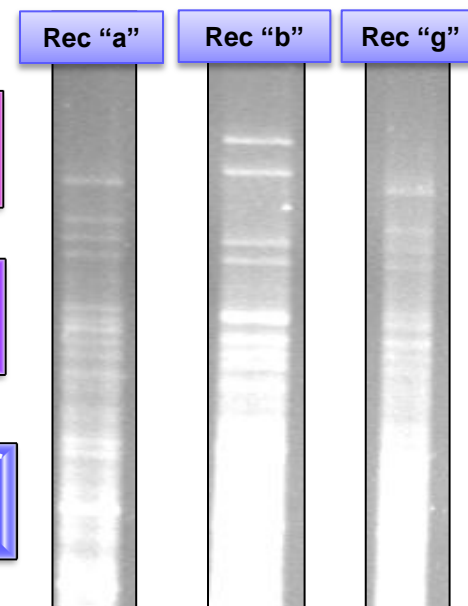
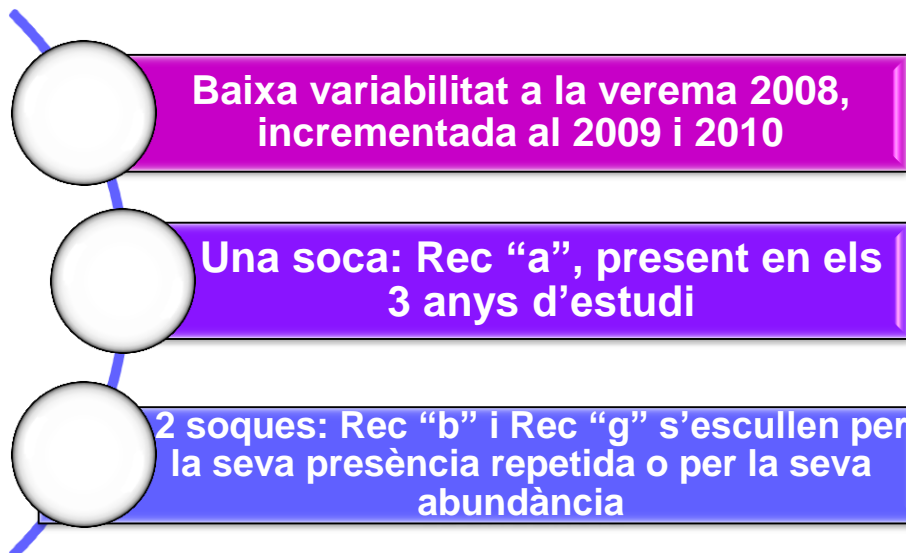


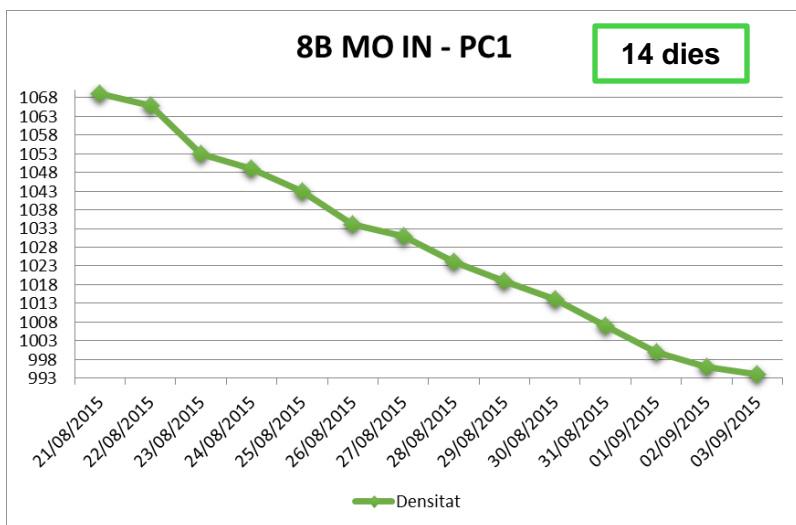
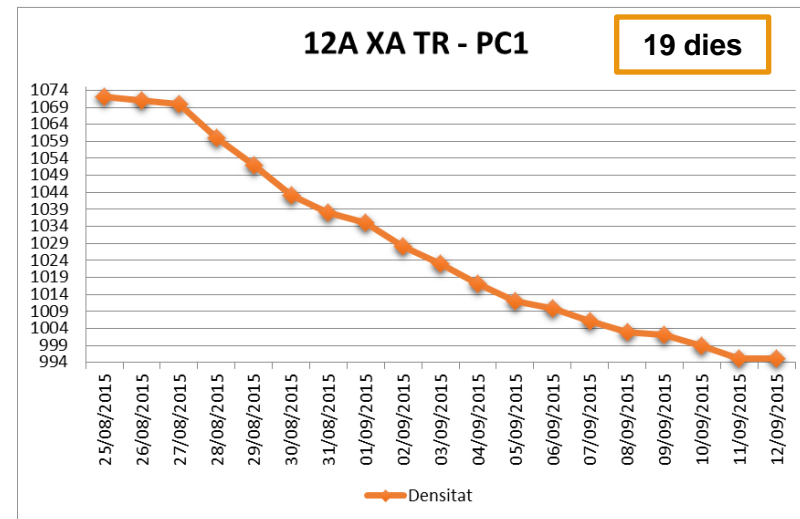
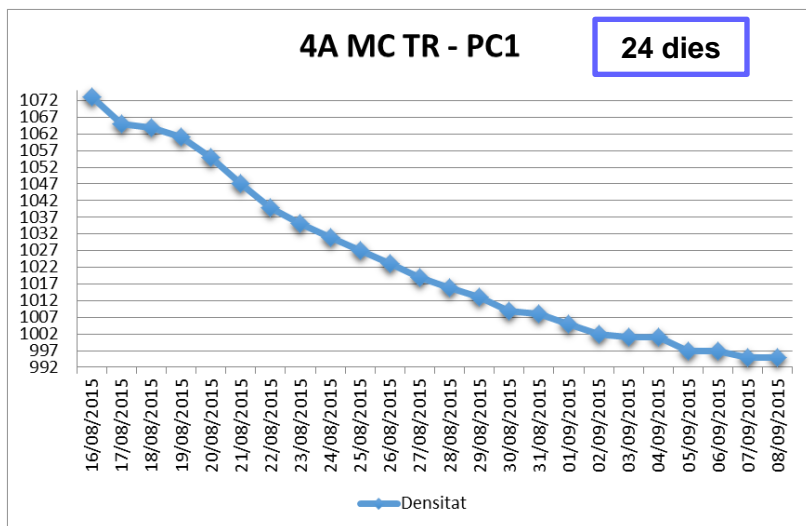
Macabeu	Verema 2008		Verema 2009		Verema 2010	
	Meitat FA	Fi FA	Meitat FA	Fi FA	Meitat FA	Fi FA
Nº total d'aïllats	70	69	72	72	73	74
Nº de perfils diferents	12	12	24	35	39	35
Rec "a" (%)	53	39	40	10	14	7
Rec "b" (%)	9	15	11			
Rec "c" (%)	11	16				
Rec "d" (%)	13	16				
Rec "f" (%)				15		
Rec "g" (%)					19	27
Rec "m" (%)						11
Altres ⁽¹⁾ (%)	14	14	49	75	67	55

(1) Suma del % de grups minoritaris



TOTAL:
430
llevats





Dip	Sucres	GA	AT	AV	pH	SO ₂ LL	SO ₂ T	Màlic
8B MO	0,3	10,1	6,9	0,20	3,23	10,0	60	2,1
4A MC	<0,3	10,0	6,9	0,16	3,13	6,0	30	1,8
12A XA	<0,3	10,9	7,5	0,22	3,17	7,0	56	-
1A MC	0,8	10,2	7,7	0,16	3,10	9,0	57	2,1
5A MCMOXA	<0,3	9,9	7,5	0,22	3,13	7,0	49	-

Tots els llevats autòctons van acabar correctament la FA i no van produir cap desviació de paràmetres enològics ni sensorials.

Xarel·lo	Verema 2011		Verema 2012		Verema 2013	
	Meitat FA	Fi FA	Meitat FA	Fi FA	Meitat FA	Fi FA
Nº total d'aïllats	74	74	74	74	73	74
Nº de perfils diferents	9	6	3	5	6	7
Gra "Aa" (%)	28,4	18,9				
Gra "Ab"⁽²⁾ (%)			59,4	48,6		
Gra "Ac" (%)					17,8	9,5
Gra "B" (%)			37,8	44,6	49,3	62,2
Gra "C" (%)	8,1	13,5				
Gra "D" (%)	12,2	18,9				
Gra "Ea" (%)	36,5	37,8				
Gra "Eb" (%)					20,5	20,3
Altres⁽¹⁾ (%)	14,8	10,9	2,8	6,8	12,4	8

(1) Suma del % de grups minoritaris.

(2) Soca "Ab" es va detectar con una contaminació creuada d'una comercial.

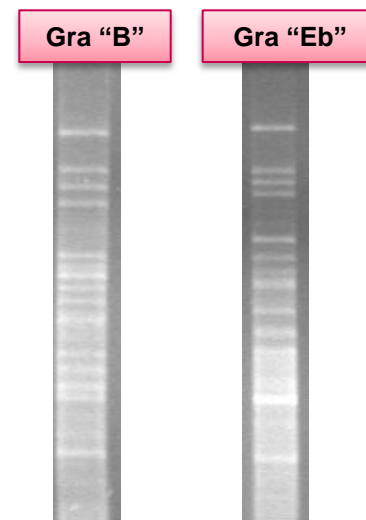


**TOTAL: 443
aïllats**

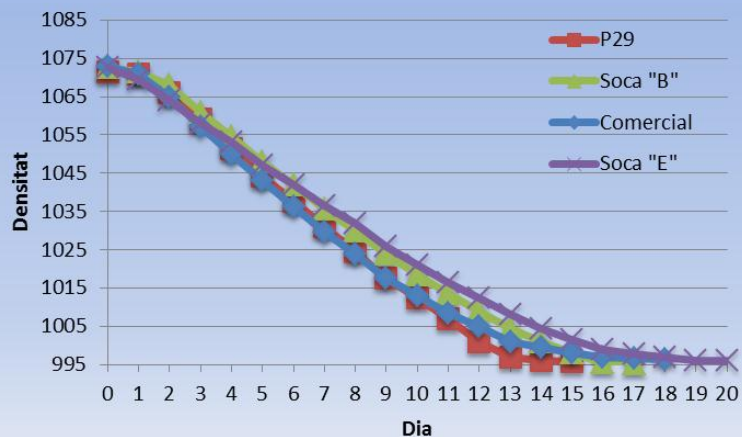
**Baixa biodiversitat durant els 3
anys d'estudi (màx 9 soques)**

**Gra "B" es va trobar durant 2
anys consecutius com la més
abundant**

**Gra "Eb" aïllada al 2013 també es va
trobar en una altra vinya de Xarel·lo
del mateix celler**



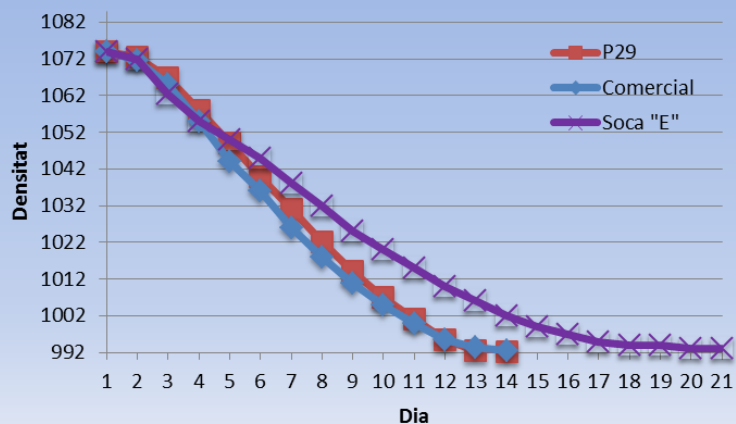
Xarel·lo SOQUES AUTÒCTONES. VEREMA 2014



Verema 2014

SOCA	Sucres	% vol	AT	AV	pH	SO ₂ LL	SO ₂ T
P29 <i>(dip101)</i>	1,1	10,3	8,26	0,42	3,01	5	31
B <i>(dip102)</i>	1,5	10,2	8,42	0,28	3,02	5,5	34
E <i>(dip103)</i>	2,3	10,2	8,49	0,15	3,01	4,5	17,5
Comercial <i>(dip212/211)</i>	1,8	10,1	8,49	0,17	3,01	2,5	24

Xarel·lo SOQUES AUTÒCTONES. VEREMA 2015



Verema 2015

SOCA	Sucres	% vol	AT	AV	pH	SO ₂ LL	SO ₂ T
P29 <i>(dip50)</i>	1,7	10,85	7,42	0,47	3,12	7	37
E <i>(dip101)</i>	2,0	10,6	7,42	0,13	3,15	6	25
Comercial <i>(dip51)</i>	1,9	10,75	7,35	0,10	3,15	6	38,5

11 catadors



Test triangular

Test de preferència

Verema 2014

	Test TRIANGULAR	Test de PREFERÈNCIA
Comercial vs P29	Diferències estadísticament significatives ($p < 0,05\%$)	Comercial: 12 % P29: 88 %
Comercial vs Gra "B"	No diferències	Comercial: 33 % Gra "B": 67 %
Comercial vs Gra "Eb"	No diferències	Comercial: 33 % Gra "Eb": 67 %
P29 vs Gra "Eb"	Diferències estadísticament significatives ($p < 0,05\%$)	P29: 67 % Gra "Eb": 33 %
P29 vs Gra "B"	Diferències estadísticament significatives ($p < 0,05\%$)	P29: 78 % Gra "B": 22 %
Gra "Eb" vs Gra "B"	No diferències	Gra "Eb": 83 % Gra "B": 17 %

P29 > E > B > Comercial

TIRATGE

Cultiu estàrter
("Peu de cuba")



Lots de 100 ampolles / soca



Vi base (seleccionat per cada celler)

+

22-24 g/L sucre

+

Bentonita (aclarit)

+

Llevats: 1,5 - 2 milions/ml



Soca comercial

Soques autòctones

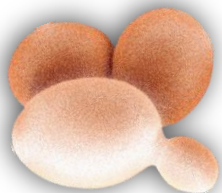
Fermentació i criança a 14-15°C

Llarg període de criança (mínim 30 mesos):
"Gran reserva"



PRINCIPALS VARIABLES AL FINAL DE LA 2^a FA

Any del tiratge	Soca	Presió (bars)	AV (g/L)	Sucre residual (g/L)
2012	Rec "a"	5,7	0,42	1,8
	Rec "b"	5,2	0,41	1,8
	Rec "g"	5,6	0,34	0,5
	Comercial	5,2	0,27	1,1
2013	Rec "a"	5,4	0,44	0,3
	Rec "b"	5,6	0,42	0,6
	Rec "g"	5,0	0,46	0,3
	Comercial	5,8	0,23	1,3
2014	Rec "a"	6,2	0,40	0,3
	Rec "b"	6,0	0,40	0,3
	Rec "g"	6,3	0,41	0,3
	Comercial	6,2	0,22	0,3



Totes les soques autòctones van esgotar els sucres fermentables

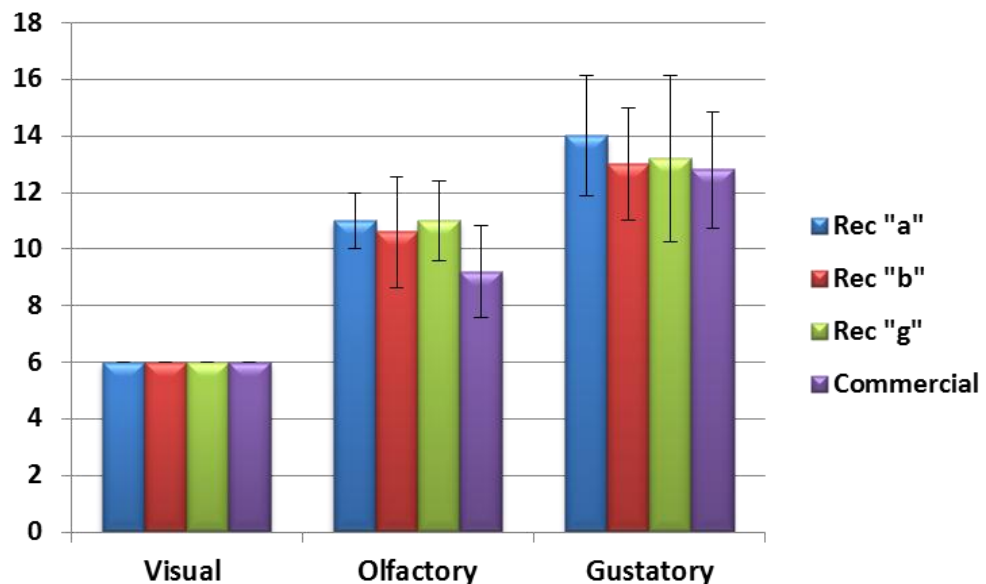
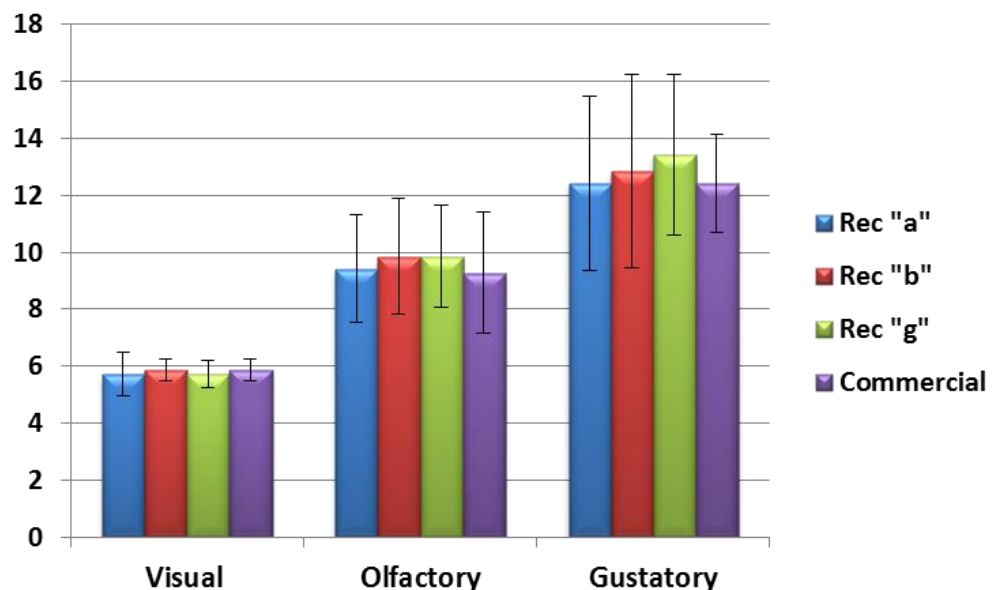
Lleuger increment de l'AV en les soques autòctones, però no detectable a nivell sensorial

Tiratge 2012 14 mesos de criança

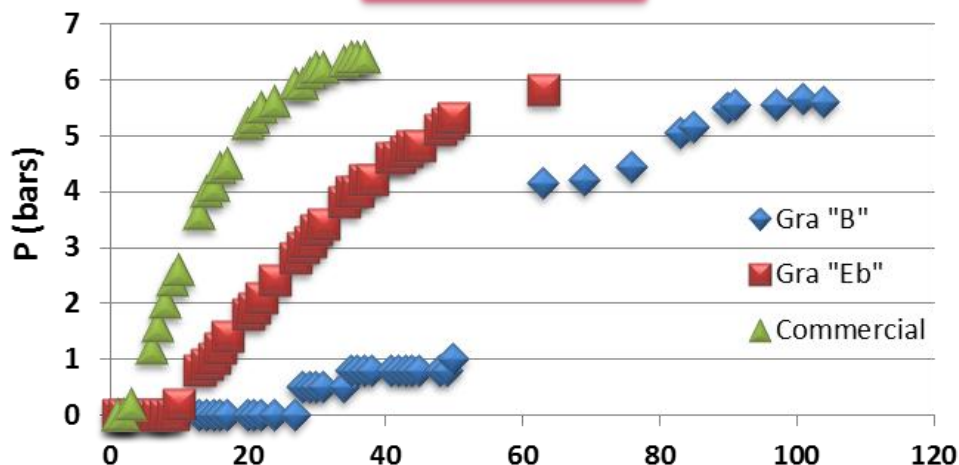
- ✓ Tots els lots van presentar una bona qualitat
- ✓ No hi ha diferències estadístiques entre els caves ($p < 0.05$)
- ✓ La puntuació mitjana d'alguns caves elaborats amb soques autòctones van ser més elevats que el cava fermentat amb la soca comercial.

Tiratge 2012 38 mesos de criança

- ✓ En la descripció olfactiva, els caves amb llevats autòctons van ser els millors puntuats
- ✓ La soca Rec "a" va ser la millor en boca
- ✓ L'expressió de les propietats sensorials dels caves fermentats amb llevats autòctons semblen millorar al llarg de la criança



Tiratge 2014



Temps per arribar a P ctant:

- Gra "B": 104 dies
- Gra "Eb": 63 dies
- Comercial: 37 dies

✓ Els llevats autòctons van tenir una fase de latència més llarga que la soca comercial.

✓ Totes les soques seleccionades van arribar a la màxima pressió en menys de 4 mesos. La soca comercial va esgotar els sucres fermentables en 1,5 mesos.

Una presa d'escuma lenta (i la subsegüent criança) pot aportar propietats sensorials (integració del CO₂, propietats aromàtiques i gustatives) més adequades que les fermentacions amb dinàmiques ràpides.

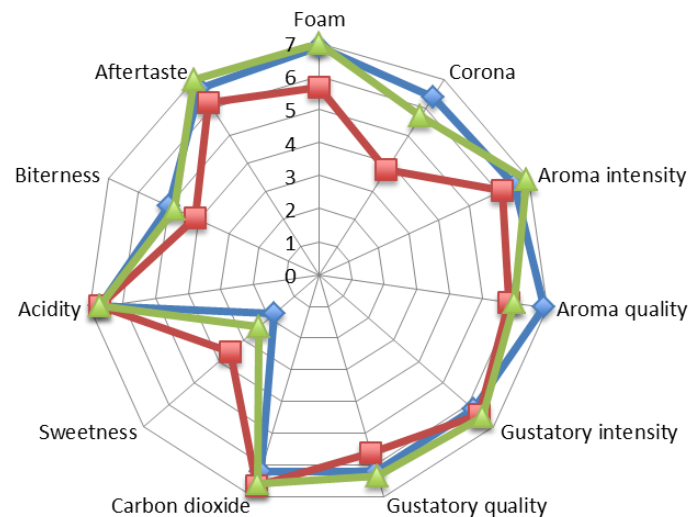
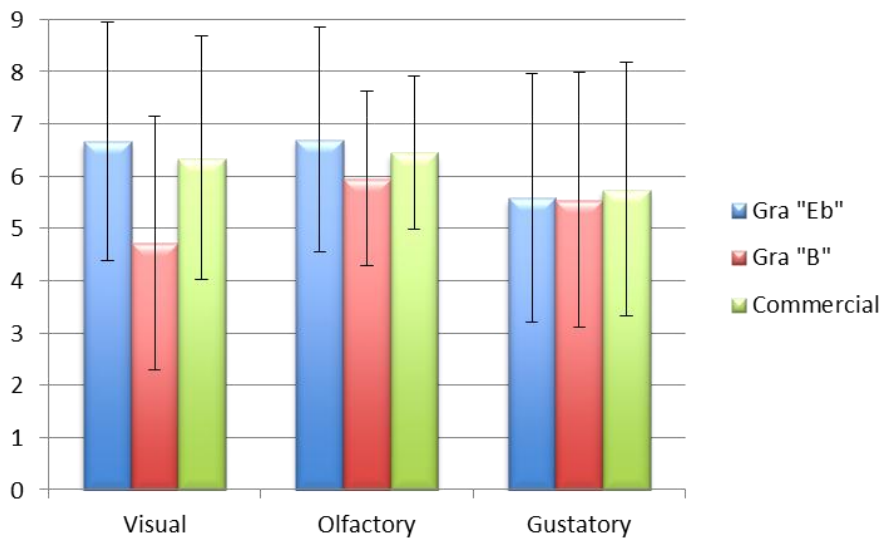
PRINCIPALS VARIABLES AL FINAL DE LA SEGONA FA

Any de tiratge	Soca	Presió (bars)	Sucre residual (g/L)	GA (% vol)	AT (g/L acid tartàric)	AV (g/L)	pH
2014	Gra "B"	5,8	6,8	11,75	6,1	0,24	3,04
	Gra "Eb"	6,7	2,56	12,25	6,2	0,25	3,00
	Comercial	6,4	0,64	12,3	6,1	0,18	3,08

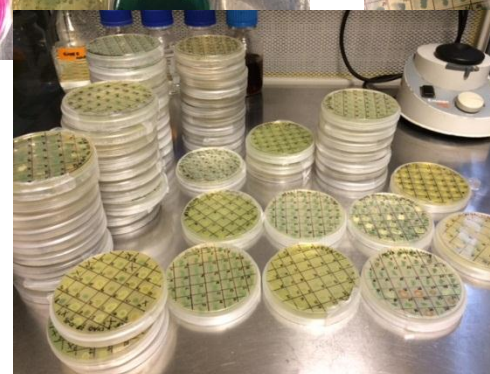
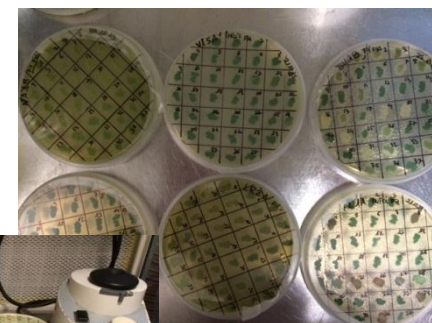
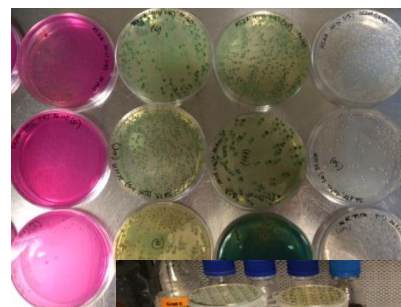
TIRATGE 2014.
14 mesos de cria

- ✓ En el test de preferència, els caves elaborats amb soques autòctones van ser els millors puntuats
- ✓ La soca Gra "Eb" va ser la millor valorada en els descriptors visuals i aromàtics
- ✓ En boca, no hi va haver diferències notables entre soques.

	Test TRIANGULAR	Test de PREFERÈNCIA
Com vs Gra "B"	No diferències	Com: 30 % Gra "B": 70 %
Com vs Gra "Eb"	Diferències significatives	Com: 20 % Gra "Eb": 80 %
Gra "B" vs Gra "E"	No diferències	Gra "B": 25 % Gra "Eb": 75 %



PROJECTE AÏLLAMENT DE LLEVATS DE *Vitis vinífera sp sylvestris* per afrontar les conseqüències del CANVI CLIMÀTIC (INIA-RTA2014-00016-C03-03)



La biodiversitat poblacional de microorganismes existent en vinyes ecològiques o biodinàmiques permet realitzar una bona selecció de soques de llevat per poder-les utilitzar com a cultius iniciadors.

Totes les soques de llevat autòctones aïllades de diferents indrets presenten propietats enològiques i tecnològiques aptes per produir vins i caves ecològics i/o biodinàmics de qualitat.

En moltes de les propietats sensorials, els vins i caves elaborats amb els llevats autòctons han obtingut millors resultats que els fermentats amb soques comercials.

Aquest treball es pot considerar com una estratègia per incrementar la complexitat organolèptica de les varietats autòctones i lligar-les a la tipicitat i història de cada celler i àrea de producció.



**Agraïr al personal tècnic dels cellers
que han col·laborat en aquest estudi
per haver-nos proporcionat les
mostres i dades analítiques**

**GRÀCIES PER LA
VOSTRA ATENCIÓ!**

**apuigpujol@gencat.cat
anna.puig@irta.cat**

