

Associació Catalana
d'Enòlegs

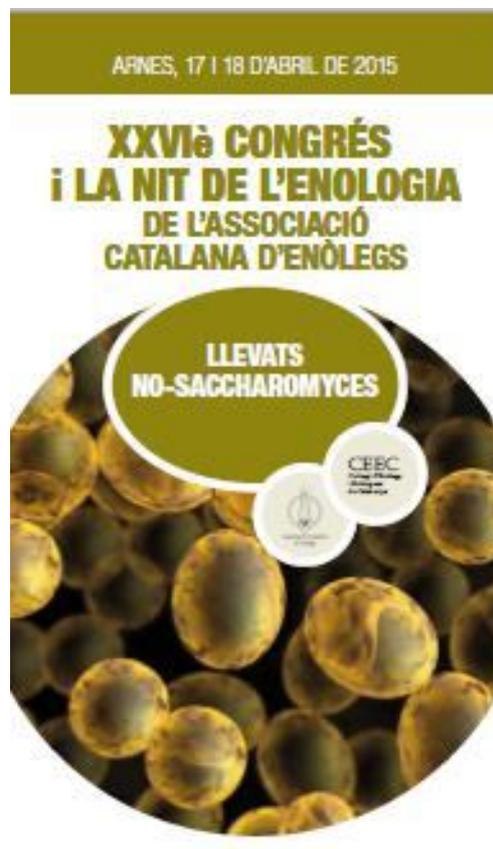
CEEC

Col·legi d'Enòlegs i Enòlogues
de Catalunya

XXVIè CONGRÉS

LLEVATS NO-SACCHAROMYCES

Tarragona, 17 i 18 d'abril de 2015



PRESENTACIÓ

LLEVATS NO-SACCHAROMYCES

Molt benvinguts un altre any al nostre Congrés. Us vull agrair companys/es i congressistes la vostra assistència, com sempre hem buscat un tema actual i d'interès per a tots nosaltres. Un equip de companys de la Junta hi ha dedicat moltes hores de feina per tal de poder gaudir d'un interessant programa d'activitats, esperem que estiguin a l'alçada de les vostres inquietuds.

Un any més, l'Associació Catalana d'Enòlegs fa tot l'esforç per satisfer les necessitats de formació en temes rellevants que pugui tenir l'enòleg i us convoca al XXVIè Congrés anual.

Aquest any hem triat per tema ELS LLEVATS NO-SACCHAROMYCES, una temàtica important per desenvolupar la nostra tasca. D'uns anys cap aquí, els enòlegs disposem d'una nova eina per elaborar els nostres vins. Alguns llevats no-saccharomyces, presents en les fermentacions espontànies, i que poden aportar aspectes interessants al vi, estan ara disponibles per tal de poder-los utilitzar de manera controlada. Millorar els vins aromàticament, augmentar el volum en boca són només algunes de les noves possibilitats que ofereix treballar amb aquestes espècies.

Des de la doble perspectiva de la recerca acadèmica i l'aplicació al celler, volem oferir una panoràmica d'aquest camp punter en la investigació enològica actual. Ens hi ajudarà la participació del destacat investigador sud-africà afincat a Austràlia Isaak Pretòrius, antic responsable de recerca del AWRI i actual vicedegà per la recerca de la Universitat Macquarie de Sidney, així com la d'en Ramón González García, investigador del CSI, actualment investigador en genòmica funcional aplicada a la recerca enològica del ICVV (La Rioja).

Gaudim doncs d'aquesta jornada !

Antoni Cantos Llopart
President

ORGANITZACIÓ

COMITÈ D'HONOR

Hble. Sr. Josep Maria Pelegrí i Aixut
Conseller d'Agricultura, Ramaderia, Pesca, Alimentació i Medi Natural de la Generalitat de Catalunya

Sr. Jordi Bort i Ferrando
Director General de l'Institut Català de la Vinya i el Vi

Sr. Antoni Cantos Llopart
President de l'Associació Catalana d'Enòlegs

COMISSIÓ ORGANITZADORA

Sra. Xènia Bonet i Batet
Sra. Carme Domingo i Gustems
Sr. Jaume Àrboles i Sebastià
Sr. Antoni Cantos i Llopart
Sr. Joan M^a Rovira i Grau
Sr. Ramon Farré i Martí
Sr. Joan Miquel Canals i Bosch
Sra. Anna Sardà i Fernández
Sr. Carles Muray i Domingo
Sr. Agustí Torelló i Roca
Sr. Josep M^a Martí i Cardús

PROGRAMA **T**ÈCNIC

JORNADA TÈCNICA DEL XXVIè CONGRÉS DE L'ACE

Divendres 17 d'abril de 2015 - HOTEL VILAR RURAL D'ARNES

LLEVATS NO SACCHAROMYCES

9:30 h Obertura i presentació del XXVIè Congrés

Cicle conferències:

9:45 h Rol del llevats no-Saccharomyces en la producció de vi, a càrrec del Professor Isak S. Pretorius Deputy Vice-Chancellor Research Macquarie University Sidney (Australia).

10:30 h Llevats no-Saccharomyces com a eines per a controlar el grau alcohòlic dels vins: Importància de l'oxigen i la respiració, a càrrec del Sr. Ramon González García, Professor d'investigació del CSIC, Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino (CSIC, Universidad de La Rioja, Gobierno de La Rioja).

11:15 h a 11:35 h Pausa-cafè.

11:40 h Llevats no-Saccharomyces: Noves aplicacions enològiques, a càrrec de Arnaud Delaherche, Director en microbiologia, Cap de producte de fermentació AEB Iberica SA.

12:05 h L'efecte *ALPHA: 5 anys d'innovació avançada en el control microbiològic amb Torulaspora Delbruecki, a càrrec del Sr. Víctor Puente (Director Tècnic Laffort).

12:25 h Llevats no-Saccharomyces com a font d'enzims d'interès enològic, a càrrec del Sr. Ignacio Belda Departamento de Microbiología III. Universidad Complutense de Madrid i Sra. Eva Navascués de Agrovín S.A.

12:45 h Bioprotect your wine with non sacch yeast & culture solutions, a càrrec del Sr. Laurent Hubert Marketing Director - Cultures & Enzymes Division Chr Hansen.

13:05 h Experiències d'elaboració de Garnatxa Blanca de la Terra Alta amb espècies de llevat no-Saccharomyces, a càrrec d'Incavi. Lallemand.

13:30 h Signatura conveni de Col·laboració Col·legi d'Enòlegs i Enòlogues de Catalunya - Col·legi Oficial d'Enginyers Tècnics Agrícoles i Perits Agrícoles de Catalunya.

13:40 h Dinar de treball.

15:30 h TAULA RODONA: Amb la participació dels conferenciants. Moderador: Dr. Joan Miquel Canals, Degà de la Facultat d'Enologia, URV.

16:30 h TAST: Tipificació i descriptors de la garnatxa a la DO Terra Alta, a càrrec del secretari DO Terra Alta.

17:30 h Cloenda de la Jornada Tècnica.

PROGRAMA **S**OCIAL

PROGRAMA SOCIAL DEL XXVIè CONGRÈS DE L'ACE

Divendres 17 d'abril de 2015 - HOTEL VILAR RURAL D'ARNES

**20:00 h Arribada dels assistents a La Nit de l'Enologia.
Visita guiada a la Coop. de El Pinell de Brai.**

20:30 h Recepció dels assistents a La Nit de l'Enologia

**21:30 h Benvinguda a l'acte i entrega de premis al reconeixement i a la tasca de promoció
De l'enologia i el món del vi, dirigit pel Sr. Josep M^a Martí.**

22:00 h Sopar de La Nit de l'Enologia.

24:00 h Cloenda de La Nit de l'Enologia.

Dissabte, dia 18 d'abril de 2015

11:00h Visita guiada a un lloc emblemàtic de la zona.

14:00h Dinar de cloenda a l'Hotel Restaurant Fonda Miralles de Horta de Sant Joan.

16:00h Cloenda dels actes del congrés

RESUMS DE LES CONFERÈNCIES

ROL DEL LLEVATS NO-SACCHAROMYCES EM LA PRODUCCIÓ DE VI

Isak S. Pretorius, Deputy Vice-Chancellor Research Macquaire University Sidney (Australia)

Saccharomyces cerevisiae and grape juice are 'natural companions' and make a happy wine marriage. However, this relationship can be enriched by allowing 'wild' non-*Saccharomyces* yeast to participate in a sequential manner in the early phases of grape must fermentation. However, such a triangular relationship is complex and can only be taken to 'the next level' if there are no spoilage yeast present and if the 'wine yeast' – *S. cerevisiae* – is able to exert its dominance in time to successfully complete the alcoholic fermentation. Winemakers apply various 'matchmaking' strategies (e.g. cellar hygiene, pH, SO₂, temperature and nutrient management) to keep 'spoilors' (e.g. *Dekkera bruxellensis*) at bay, and allow 'compatible' wild yeast (e.g. *Torulaspota delbrueckii*, *Pichia kluyveri*, *Lachancea thermotolerans* and *Candida/Metschnikowia pulcherrima*) to harmonize with potent *S. cerevisiae* wine yeast and bring the best out in wine. Mismatching can lead to a 'two is company, three is a crowd' scenario.

More than 40 of the 1500 known yeast species have been isolated from grape must. In this article, we review the specific flavour-active characteristics of those non-*Saccharomyces* species that might play a positive role in both spontaneous and inoculated wine ferments. We seek to present 'single-species' and 'multi-species' ferments in a new light and a new context, and we raise important questions about the direction of mixed-fermentation research to address market trends regarding so-called 'natural' wines. This review also highlights that, despite the fact that most frontier research and technological developments are often focussed primarily on *S. cerevisiae*, non-*Saccharomyces* research can benefit from the techniques and knowledge developed by research on the former.

Levaduras no-*Saccharomyces* como herramientas para controlar el grado alcohólico de los vinos: Importancia del oxígeno y la respiración

Pilar Morales, Manuel Quirós; María Virginia Rojas, Alda Rodrigues, Typhaine Raimbourg, Jordi Tronchoni, José Antonio Curiel, Ramón González

Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino (CSIC-Universidad de La Rioja-Gobierno de La Rioja).

rgonzalez@icvv.es; www.icvv.es/microwine

El aumento creciente del grado alcohólico probable en el momento de la vendimia es uno de los mayores retos derivados del cambio climático a los que se enfrenta la producción de vinos de calidad. El problema se agrava cuando consideramos la demanda creciente de vinos estructurados, con buena madurez fenólica, que en ocasiones lleva a las bodegas a vendimias sobremaduras, que dan lugar a vinos con alto grado alcohólico. Nuestro grupo está desarrollando soluciones, basadas en la biodiversidad metabólica de las levaduras, para contrarrestar este incremento. En concreto proponemos que mediante la utilización de las levaduras adecuadas, y con un mínimo aporte de oxígeno, éstas podrían respirar una parte relevante de los azúcares reductores del mosto. La fracción del azúcar que se consuma por esta ruta metabólica permitirá la reducción del grado alcohólico final en la misma proporción. Nuestro trabajo aborda las dos limitaciones fundamentales que podría encontrar la aplicación práctica de esta idea; por un lado la clara preferencia de *Saccharomyces cerevisiae* por el metabolismo fermentativo, y por otro lado el potencial impacto negativo del contacto excesivo del mosto con el oxígeno. En primer lugar llevamos a cabo una caracterización de varias especies de levaduras no-*Saccharomyces*, identificando algunas con propiedades fisiológicas interesantes para el objetivo propuesto. Casi todas las levaduras pueden respirar una fracción significativa del azúcar del mosto cuando se proporciona suficiente oxígeno. Sin embargo la producción de acidez volátil, que incrementa generalmente como consecuencia de la oxigenación, puede ser muy diferente, así como la demanda de oxígeno. Contraste de estas cepas caracterizamos el impacto sobre los metabolitos principales de fermentación de variaciones en el aporte de oxígeno, el nitrógeno disponible, o la temperatura de fermentación. Curiosamente no es siempre el oxígeno el factor con más impacto (dentro de los márgenes ensayados, que no incluyen anaerobiosis). Estos resultados sirven de guía para la optimización del proceso, buscando un equilibrio entre el consumo de azúcar relativamente rápido, la alta tasa de respiración (baja producción de etanol), bajo oxígeno disuelto, y baja acidez volátil.

Utilizando una combinació de dos cepas, una de la especie *S. cerevisiae*, y una de *Metschnikowia pulcherrima*, inoculadas simultáneamente en la proporción adecuada, y con oxigenación controlada durante las primeras 48 horas, optimizamos un proceso de fermentación con rendimiento alcohólico reducido. Esto ha permitido reducciones de unos dos grados alcohólicos respecto al procedimiento convencional, y muy poco incremento en la acidez volátil. Además, conseguimos mantener la concentración de oxígeno disuelto en valores nulos o prácticamente nulos durante casi todo el tiempo de fermentación, minimizando potenciales oxidaciones de los componentes del mosto. Actualmente seguimos trabajando sobre la fisiología de estas levaduras en mosto en condiciones de oxigenación, la selección de levaduras óptimas para diferentes tipos de vino, y el escalado del proceso.

Levaduras no-*Saccharomyces*, nuevas aplicaciones enológicas : la Bio-protección

Arnaud DELAHERCHE-AEB Group

La enología actual controla el mosto con el uso del sulfitado y de levaduras comerciales.

La acción del SO₂ sobre la vendimia supone la desaparición de la mayoría de las cepas indígenas de levaduras no-*saccharomyces* y eso conlleva una fermentación mono-flora.

Con la aplicación de la asociación sulfitado/levaduras comerciales, la fase pre-fermentativa, muy rica en precursores, es inhibida parcialmente.

Así nació el concepto de la Bio-protección con el fin de controlar el desarrollo de los microorganismos indígenas limitando al mismo tiempo la utilización de la SO₂ durante la vendimia. Desde hace varios años, la Bio-protección de la vendimia resulta posible gracias a la selección de nuevas cepas competentes de levaduras no-*saccharomyces*.

La bio-protección se articula en torno a tres principales ejes:

- La colonización masiva de la uva por las levaduras no-*saccharomyces* seleccionadas. Esto tiene por objetivo limitar el desarrollo de cepas indígenas.

- Una caracterización genética y fisiológica de las cepas seleccionadas de acuerdo con la protección buscada. Por ejemplo, una cepa de *Metschnikowiapulcherrima* mostro una acción específica en contra del desarrollo de *Brettanomycesbruxellensis* consumiendo un oligoelemento esencial de su desarrollo.

- Una implantación muy precoz en la uva o del mosto aprovechando una relación poblacional de entre 10 y 100 veces más, comparado con los microorganismos indígenas presentes habitualmente.

La Bio-protección y el no sulfitado de la vendimia se usan de manera sinérgica en el protocolo de vinificación permitiendo la expresión de unos vinos muy personales, posibilitando una tipicidad local así como la creación de un vino de alta complejidad.

L'efecte "ALPHA: 5 anys d'innovació avançada en el control microbiològic amb *Torulaspóra delbruecki*"

Victor Puente, Director Tècnic LAFFORT

Zymaflore ALPHA. Experiències tras cinco años en el mercado

Es conocido que en el desarrollo de una fermentación alcohólica *espontánea* no está implicada una única especie, y ni mucho menos, una única cepa de levadura. Aunque hoy en día, dada su capacidad de adaptación y resistencia, *Saccharomyces cerevisiae* es la especie mayoritariamente presente durante el proceso fermentativo de los vinos, no siempre es la dominante en todas las fases del proceso.

Dado que industrialmente, estos procesos espontáneos son inviables a nivel productivo debido a la heterogeneidad de los vinos resultantes y a la falta de control del proceso, la búsqueda de nuevos agentes fermentativos, que encajen dentro del terroir y en la variedad, y que generen una seguridad fermentativa se presenta como una herramienta de futuro en la enología actual.

En esta línea innovadora, LAFFORT seleccionó una nueva cepa de *Saccharomyces*, Zymaflore ALPHA, con el objeto de incrementar la diversidad fermentativa y con ello, influenciar positivamente a nivel organoléptico los vinos fermentados. Las experiencias de estos últimos cinco años, su influencia en el control del nicho ecológico, su compatibilidad fermentativa o su interacción sobre los compuestos fermentativos secundarios serán presentadas.

Levaduras No-Saccharomyces como fuente de enzimas de interés enológico.

Ignacio Belda. Antonio Santos. Departamento de Microbiología III. Universidad Complutense de Madrid.

Eva Navascués. Agrovin SA

El estudio de la influencia de diferentes cepas de levadura en la liberación de compuestos de interés enológico hace posible identificar los determinantes metabólicos que definen la incidencia de distintas cepas y especies de levadura en la calidad final del vino. Al contrario que en el caso de *Saccharomyces cerevisiae*, la regulación genética, las propiedades enzimáticas y la fisiología de muchas especies no-*Saccharomyces* de interés enológico no están del todo caracterizadas, razón por la cual su presencia en la industria es todavía escasa.

El desarrollo de metodologías novedosas para la realización de estudios enzimáticos y metabólicos de alto rendimiento permite ampliar el foco de estudio en los procesos de selección de nuevas cepas de levadura y optimizar su uso en bodega.

Siguiendo esta tendencia, en este estudio se han aislado, identificado y caracterizado más de 700 cepas de levaduras con diferentes características metabólicas y evaluado las propiedades metabólicas de algunas de ellas. El presente trabajo se divide en 5 bloques: A) Aislamiento de un elevado número de levaduras de distintos orígenes; B) Identificación molecular de las levaduras aisladas; C) Caracterización sus propiedades enzimáticas (glicosidasas, β -liasa, pectinasas, proteasa, etc); D) Estudio a escala de laboratorio (microvinificaciones) de las propiedades enológicas de las cepas de levadura seleccionadas; E) Desarrollo de fermentaciones a escala industrial con las levaduras con resultados exitosos a escala de laboratorio para la comprobación de su aplicabilidad industrial.

Así, se han estudiado las propiedades enológicas de varias cepas de levaduras pertenecientes a especies distintas de no-*Saccharomyces* (*Torulaspora delbrueckii*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Wickerhamomyces anomalus*, *Rhodosporidium toruloides* y *Kluyveromyces thermotolerans*) mediante el análisis de su fisiología en fermentaciones vnicas en combinación secuencial con *S. cerevisiae*. Tras la caracterización fisiológica de las distintas especies, pudieron destacarse dos cepas con resultados exitosos que fueron probadas posteriormente a escala industrial. Una de ellas, *T. delbrueckii* es ya una cepa comercial disponible para su uso en bodega (Viniferm NS-TD, Agrovin S.A) y la otra, *M. pulcherrima*, ha superado con éxito diversos ensayos piloto.

En lo concerniente a la cepa Viniferm NS-TD (*T. delbrueckii*), cabe destacar su repercusión en la calidad final del vino a través de su incidencia en el contenido en etanol, que logra reducir ligeramente, la liberación de cantidades moderadas de alcoholes superiores o el incremento en la liberación de glicerol y ácido pirúvico. Debe resaltarse el impacto de *T. delbrueckii* en la

estructura en boca de los vinos que ha podido ser atribuida a la notable liberación de manoproteínas al medio.

En el caso de *M. pulcherrima* se ha observado una elevada incidencia en diferentes propiedades sensoriales y tecnológicas de vinos tintos, como la intensidad de color, el contenido en polifenoles y antocianos o la turbidez y la filtrabilidad de los vinos, todos ellos relacionados con actividades pectinolíticas.

**Bio-protect your musts with Viniflora® range
of Non-Saccharomyces yeast and preserve wines personality**

Laurent Hubert, marketing Director – Cultures & Enzymes Division CHR Hansen

For decades non-Saccharomyces yeasts have been considered as just spoilage organisms while the reality is more balanced with spoilage species, neutral species and positive species among the different yeasts present in musts. The launch of Chr. Hansen blends in the early 2000s like MELODY™ and thereafter the launch of pure strains of yeasts selected among the positive pool of non-Saccharomyces yeasts species are two very important steps for winemakers interested in managing their fermentations to get more natural wines containing less sulfites for instance and thereby benefit from the microorganisms bio-protective effects and capabilities.

The first pure *Torulasporadelbrueckii* for the wine industry was launched by Chr. Hansen in August 2009. Today Chr. Hansen offers the broadest range of pure non-Saccharomyces strains and a global expertise about their application in winemaking, answering the key questions for our customers around the world: when to use a non-Sacch. yeast? Which strain to select? What Saccharomyces product to choose as a secondary yeast to complete alcoholic fermentation?

Main interest of non-Saccharomyces yeasts in winemaking: bio-protection through mutual exclusion and production of selected metabolites.

Non-Saccharomyces wine yeasts are mainly used today to kick-start the alcoholic fermentation with species of microorganisms that can overcome molds, lactic acid bacteria or wild yeasts through competitive exclusion. This bio-protective effect helps reduce the use of preservatives (sulfites for instance), allows for more flavor precursors conversion (thanks to a pool of enzymes that is different from Saccharomyces spp.) and reduces the stress markers such as acetic acid, sulfites or medium chain fatty acids produced by Saccharomyces spp. at the beginning of alcoholic fermentation. These strains generally help facilitating the alcoholic fermentation with Saccharomyces and we discovered that they also favor the malolactic fermentation. These different benefits help preserve the original value that lied in the grapes (flavor precursors for instance) and represent one of the most interesting natural tools to keep wine personality.

Chr. Hansen has selected 3 strains of non-Saccharomyces based on a thorough analysis of non-Saccharomyces yeasts potentialities. Paired with existing Saccharomyces yeasts, they represent

the best possible options to mimic 'wild ferment' without the risks and are now considered all around the world as fantastic new tools for advanced winemakers to preserve wines personality and avoid what really standardize and downgrade wines in most cases: contaminations that happened during winemaking or maturation.

To know more about the Innovation Award 2014 Chr. Hansen received from Frost & Sullivan in 2014:

<http://ww2.frost.com/news/press-releases/frost-sullivan-awards-chr-hansen-its-innovation-leadership-microbial-solutions-wine-industry/>

Chr. Hansen A/S -10-12 BøgeAllé – DK-2970 Hørsholm, Denmark - Phone: +45 45 74

74 74 - Fax: +45 45 74 88 88

www.chr-hansen.com/wine

Experiències d'elaboració de Garnatxa Blanca de la Terra Alta amb espècies de llevat *no-Saccharomyces*

M. Carme Masque¹, Clautre Grau¹, Anna Puig¹, Jose María Heras².

Pese a que durante mucho tiempo se han considerado las levaduras *no-Saccharomyces* nocivas para la fermentación alcohólica, estudios recientes asocian algunas de estas cepas a un potencial real para diferenciar los vinos. Su impacto en la composición final del vino es muy interesante, ya que pueden realzar la complejidad del perfil aromático de los vinos. Por ello, el interés en estas levaduras ha crecido durante los últimos años. Las levaduras *no-Saccharomyces* se destacan con respecto a las levaduras *Saccharomyces cerevisiae* por su capacidad metabólica y su actividad enzimática particular. La *Metschnikowia*, por ejemplo, muestra una importante actividad α -arabinofuranosidasa. Esta actividad enzimática específica juega un papel importante en la liberación de varios aromas varietales, como los terpenos y los tioles volátiles. En mostos con altos contenidos de azúcar (vino de hielo, vendimia tardía y mostos de uvas botritizados, etc.) la *Torulaspora delbrueckii* tiene un efecto sensorial muy específico y reduce considerablemente la producción de acidez volátil.

Otras especies producen aromas fermentativos en cantidades y proporciones diferentes a las que resultan del metabolismo de la *Saccharomyces cerevisiae*. Algunas poseen propiedades interesantes, como el consumo del ácido málico, la reducción de la producción de acidez volátil, la producción de importantes cantidades de glicerol y la capacidad de acidificar el vino. Existen también levaduras *no-Saccharomyces* con capacidad fructofílica.

Durante más de 10 años, Lallemand ha dedicado una parte de su investigación al estudio y al desarrollo de nuevas especies *no-Saccharomyces*. Se estudia la diversidad de las distintas especies, así como sus interacciones con la *Saccharomyces*. Este factor es de hecho muy importante, especialmente en vistas al desarrollo práctico de estas «herramientas» biológicas. Las interacciones y los metabolismos varían mucho de una especie a otra y su comprensión es esencial para la gestión eficaz de la fermentación. Se realizaron algunos estudios internos sobre la eficacia de la inoculación secuencial con levaduras *Saccharomyces* y *no-Saccharomyces* para acentuar la complejidad de los perfiles aromáticos de los vinos al mismo tiempo que se asegura el buen desarrollo del proceso de fermentación. Esta investigación nos ha permitido caracterizar y comprender mejor el comportamiento de estos microorganismos en distintas condiciones de vinificación.

Una de estas experiencias se llevó a cabo en la variedad Garnacha Blanca de la D.O. Terra Alta con el objetivo de optimizar la eficacia y la simplicidad del uso de los protocolos de inoculación

de no-*Saccharomyces/Saccharomyces* y estudiar la influencia de dos de estas levaduras en el perfil sensorial de esta variedad. Estas levaduras están disponibles para las bodegas desde hace varios años, la *Torulaspota delbrueckii* TD291 (Biodiva™), *Metschnikowia pulcherrima* MP346 (Flavia™). La utilización en inoculación secuencial de una de estas dos cepas junto a una *S. cerevisiae* complementaria, repercutió en un impacto notable sobre la intensidad y complejidad aromática, así como mejor volumen en boca de los vinos de Garnacha blanca obtenidos, en comparación con los vinos elaborados con inóculos convencionales con *S. cerevisiae*.

¹Estación de Viticultura y Enología de Reus, Institut Català de la Vinya i el Vi (INCAVI), Passeig Sunyer, 4-6, 43202 Reus; emasque@gencat.cat.

²Lallemand Península Ibérica. C/ Galileu 303. 1ª planta. 08028 Barcelona.

Patrocinador de La Nit de l'Enologia



Col·laboracions del Congrés



Improving food & health



LAFFORT
l'œnologie par nature



Amb el suport

