

4

ESTUDO PRELIMINAR DOS LÉVEDOS ASOCIADOS COA PRODUCCIÓN DO VIÑO TOSTADO





Autores artigo orixinal: David Castrillo e Pilar Blanco

En: *Frontiers in Bioscience*. <https://doi.org/10.31083/j.fbe1601010>. 2024

O viño “Tostado” é un viño doce natural producido principalmente na DO Ribeiro, que se elabora en Galicia de forma tradicional dende hai séculos. A súa elaboración require que a uva recollida sexa previamente secada nun lugar cuberto durante un mínimo de tres meses, de xeito que o mosto poida acadar un contido mínimo de azucre de 300 g/litro. Unha vez elaborado, o viño debe madurar en barricas de madeira durante un mínimo de seis meses, para logo afinarse na botella un mínimo de tres meses antes de saír ao mercado. O grao alcohólico mínimo debe ser de 13 % (v/v) e o contido de azucre mínimo de 120 g/litro. En conxunto, 100 kg de uva inicial só poden producir 40 litros deste viño tan apreciado, de aí o seu elevado prezo. O Tostado é comparable ao *Vin de Paille* de Francia, ao *Strohwein* de Austria ou ao *Vin Santo* de Italia. O obxectivo deste traballo foi coñecer o tipo de lévedos presentes na elaboración espontánea do Tostado (sen lévedos comerciais engadidos).

Cinética das fermentacións

Os autores determinaron o tipo de lévedo presente mediante dilucións decimais e o cultivo en placas Petri co medio sólido WL, seguido da observación da morfoloxía das colonias na placa e das células baixo microscopio óptico. Ademais, as colonias resultantes foron cultivadas de novo nun medio con lisina para poder diferenciar os lévedos do xénero *Saccharomyces* dos non-*Saccharomyces*, xa que *Saccharomyces* é incapaz de metabolizar a lisina e, polo tanto, de crecer nun medio onde este aminoácido é a única fonte de nitróxeno.

Cando os autores compararon a cantidade de colonias (Unidades Formadoras de Colonias, UFC) nas diferentes fases da elaboración —uva,

mosto, pasta (mosto espeso en fermentación) ou viño—, atoparon máis número de colonias na pasta e menos no viño. Isto ten sentido, pois a fase tumultuosa vai asociada cun aumento do número de células viables, que diminúen cara ao final da fermentación.

O volume do recipiente empregado para a fermentación influíu na súa cinética. Así, canto maior era o volume das fermentacións comparadas (10, 50 ou 100 litros), máis rápida era a fermentación. Por outra banda, o Tostado tinto, que tiña unha concentración inicial de azucre moi elevada (44 °Brix) e unha baixa concentración inicial de lévedos (6,5 UFC/ml), mostrou unha fermentación moi lenta (apenas 2 °Brix de redución despois de dúas semanas). Segundo os autores, os mostos de Tostado poden presentar concentracións moi altas de compostos (azucre, ácidos polifenois, ións metálicos e outros subprodutos) que os poderían facer propensos a unha detención da fermentación, polo que podería ser recomendable inocular con lévedo comercial ou con outro cultivo seleccionado pola adega.

Diversidade dos lévedos atopados

Os investigadores identificaron a que **especie** pertencían os lévedos illados mediante PCR do xen 5.8S rARN e os espaciadores ribosómicos ITS1 e ITS4, seguida da identificación dos fragmentos resultantes da dixestión encimática do produto da PCR. Para aqueles lévedos da especie *Saccharomyces cerevisiae*, a identificación continuou a nivel de **cepa** mediante a análise dos fragmentos de restrición do ADN mitocondrial.

Os autores puideron identificar a presenza de **16 especies de lévedos** durante a produción



Morfoloxía das colonias de distintas especies de lévedos presentes no Tostado en placas con medio WL Nutrient Agar

do Tostado, incluída *Sacharomyces cerevisiae*. Ademais, dentro de *Sacharomyces cerevisiae*, identificáronse **29 cepas** diferentes.

Algúns dos parámetros que axudan a describir a biodiversidade dunha poboación, neste caso de lévedos, inclúen a **riqueza** (número de especies presentes), a **frecuencia** (proporción de cada especie dentro do total) e a **equitabilidade** (grao no que as diferentes especies son similares en canto á súa abundancia ou frecuencia). Ademais, existen unha serie de índices que combinan estes parámetros (o índice de *Shannon-Wiener* e o índice de *Simpson*). Os autores calcularon estes índices para cada unha das fases de elaboración (uva, mosto, pasta e viño), co obxectivo de poder comprender como ían variando as poboacións de lévedos ao longo da fermentación do Tostado.

O máis destacable foi a **alta diversidade atopada tanto de cepas de *Saccharomyces* como de lévedos non-*Saccharomyces* nas etapas iniciais —no mosto (etapa prefermentativa) e na pasta (inicio da fermentación)—**, que son momentos clave para a formación de aromas no viño. Isto supón unha gran diferenza en comparación co que ocorre coas fermentacións de viños estándar. A análise do ADN mitocondrial puxo de manifesto que as especies de lévedos presentes nestas etapas tiñan importancia enolóxica e eran, en orde de máis a menos abundantes: *Lanchancea termotolerans*, *Saccharomyces ce-*

revisiae, *Starmerella bacillaris*, *Candida apicola*, *Metschnikowia spp.* e *Torulaspora delbrueckii*.

Os autores realizaron tamén **estudos filoxenéticos** entre as cepas de *Saccharomyces* identificadas, o que lles permitiu comprender a relación entre elas. Estas análises incluíron a análise da porcentaxe de similitude (SIMPER), a análise de compoñentes principais (PCA), o mapeo das bandas atopadas (200-610 pb de lonxitude), a árbore filoxenética e a representación das interrelacións (network plot). As gráficas resultantes poden consultarse no artigo orixinal (ligazón ao principio deste resumo).

Tipos de lévedos non-*Saccharomyces*

Como vimos, os lévedos non-*Saccharomyces* están presentes dende as primeiras fases da elaboración do Tostado (secado e prensado da uva) ata o final do proceso, o cal favorece a produción de compostos aromáticos que engaden complexidade ao viño. Pouco a pouco, coñecemos máis sobre o papel que poderían xogar estes lévedos no viño final. Así, por exemplo, lévedos como *Starmerella bacillaris*, *Metschnikowia spp.* e *Lanchancea termotolerans* foron propostos como inóculos mixtos ou secuenciais co obxectivo de contribuír precursores aromáticos aos mostos. De xeito similar, *Debaryomyces hansenii* foi proposto para ser asociado con *Saccharomyces* en inócu-

los comerciais para potenciar a composición aromática. Pola súa banda, *Metschnikowia* spp., *Lachancea thermotolerans*, *Starmerella bacillaris* e *Torulaspora delbrueckii* parecen achegar tamén compostos aromáticos desexables (ésteres, ácidos, terpenos, alcohois superiores, acetatos, fenois, tiois e lactonas), ademais de limitar os efectos indesexables do cambio climático (baixa acidez e alto grao alcohólico). O xénero *Zygosaccharomyces* spp. recomendouse para mellorar a estabilidade dos viños artesanais sen filtración. Por último, *Starmerella bacillaris* e *Zygosaccharomyces bailii* poden beneficiar as elaboracións de viños doces con alto grao alcohólico e baixa acidez.

Esta complexa microbioloxía do Tostado é responsable das características únicas deste viño. Segundo os autores, se as fermentacións teñen lugar empregando controis adecuados (como densidade, temperatura, e dióxido de xofre), ademais das aireacións e as boas prácticas hixiénicas que impidan a proliferación de lévedos causantes de deterioración, toda esta microbioloxía contribuirá a unha maior complexidade e diferenciación do viño Tostado.



Prensado do Tostado (Foto Antonio Míguez Amil)

Análise química do viño Tostado

Os viños tostados analizados neste traballo presentaron un alcohol dentro dos límites permitidos pola DO Ribeiro (entre 13 % e 20,6 % v/v). Tamén tiñan unha acidez volátil inferior ao máximo autorizado (2,1 g/L). Non obstante, o azucre estaba comprendido entre 59 e 96 g/L, é dicir, era inferior ao mínimo de 120 g/L establecido polo regulamento. Polo tanto, **os tostados analizados cumprían todos os parámetros analíticos necesarios, agás o azucre**. Cabe destacar que existe unha regulación previa á actual na que o nivel de azucre requirido nos viños tostados “debía ser superior a 70 g/L”.

Conclusións

Os autores analizaron os lévedos presentes nas mostras de viños tostados tomadas durante as diferentes fases da súa elaboración na Evega e nunha adega da DO Ribeiro, entre 2011 e 2018. Detectaron unha gran diversidade de lévedos, tanto *Saccharomyces* como non-*Saccharomyces*, e destacou a gran riqueza destas poboacións durante as fases prefermentativas. Algúns destes lévedos permaneceron activos durante todo o proceso fermentativo, o que supón unha reserva natural de lévedos con posible potencial enolóxico. Non obstante, dadas as características tan peculiares do viño Tostado e a limitada información sobre o potencial e/ou os riscos enolóxicos dalgúns destes lévedos, os autores destacan a necesidade de continuar investigando nesta dirección.