

CÓMO REALIZAR CON ÉXITO LA FERMENTACIÓN MALOLÁCTICA EN VINO

Meter Sommer & Annicka Bunte

La fermentación maloláctica se define como la transformación de ácido L- málico en ácido L-láctico y CO₂. *Oenococcus oeni* es el microorganismo escogido para llevar a cabo esta importante reacción en vino, haciéndolo microbiológicamente estable, menos ácido, con un pH ligeramente más elevado y una sensación en boca más agradable.

Se han encontrado tres parámetros importantes e interrelacionados que tienen un papel vital para la iniciación y rapidez de la fermentación maloláctica. Los parámetros físico-químicos del vino (SO₂, temperatura, pH y concentración de etanol), el número correcto de células de *O.oeni*, y el grado de adaptación que éstas tienen.

Antes de que pueda empezar la fermentación maloláctica. *O. oeni* tiene que estar adaptada al SO₂, la temperatura, el pH y la concentración de etanol. Estos cuatro factores se deben tener en cuenta para que no influyan en las limitaciones fisiológicas de *O. oeni*.

La tasa de crecimiento de *O. oeni* viene regulada por la temperatura. Para obtener un rango óptimo de crecimiento, la temperatura del vino tiene que estar entre 18 y 22 ° C. A temperaturas inferiores la tasa de crecimiento disminuye gradualmente (figura 1), finalmente, a temperaturas inferiores a 10 ° C las bacterias entran en estado de latencia. Las bajas temperaturas no son perjudiciales para *O. oeni* (figura 1), a diferencia de lo que sucede a temperaturas superiores a 25°C (no se muestra).

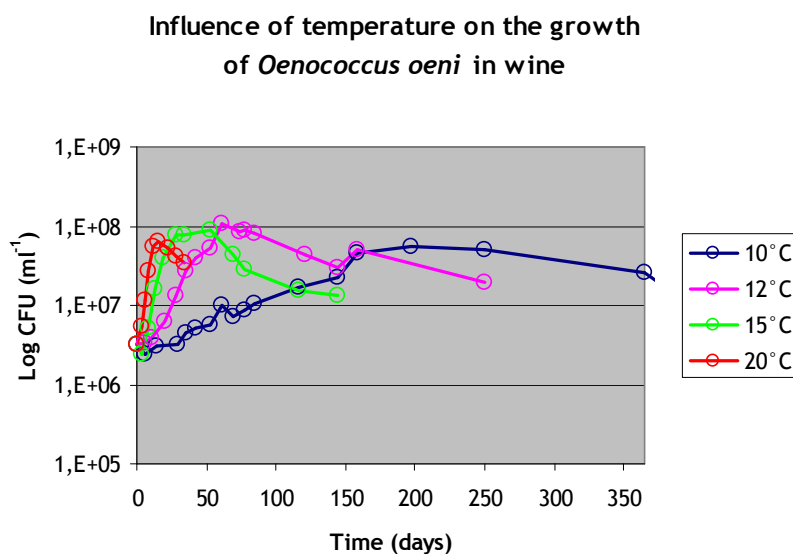


Figura 1. Efecto de la temperatura en la tasa de crecimiento de *O. oeni*.

El SO₂ es un agente antimicrobiano también tóxico para *O. oeni*, y la adición en el estrujado se debería reducir al mínimo. Para vinos blancos, la adición máxima total de SO₂ en el prensado debería estar entre 40-50 ppm (dependiendo de la cepa de bacterias) y para vinos tintos, 70 ppm. También deben tener en cuenta los niveles de SO₂ producidos por las levaduras en la fermentación alcohólica. Algunas cepas de levaduras producen grandes cantidades de SO₂, especialmente en los vinos blancos debido a los bajos niveles de nutrientes como resultado de la ausencia de hollejos durante la fermentación alcohólica, **lo cual inhibe la actividad bacteriana**. Al escoger una levadura compatible con la bacteria, es decir, que no produzca SO₂ o lo haga en bajas cantidades, la duración de la fermentación maloláctica se puede reducir considerablemente (Larsen *et al.*).

O. oeni crece a pH entre 3.0–5.5 (Salema *et al* 1994), pero es la especie dominante a valores de pH por debajo de 3,5 (Henick-Kling 1992). Es complicado el desarrollo de la fermentación maloláctica por debajo de un pH 3,2. Así, la elección de una cepa apropiada cobra una mayor importancia. A bajo pH la toxicidad del SO₂ aumenta, por tanto es necesario poner especial atención para minimizar niveles de SO₂.

La mayoría de *O. oeni* puede crecer a un nivel de etanol superior al 2.5 vol% (Guerzoni *et al* 1995). El límite máximo para el crecimiento de *O. oeni* parece estar alrededor de 16 vol%. Como con el pH, es importante escoger una cepa para la cual se tenga evidencia que pueda funcionar a altas concentraciones de etanol.

Con frecuencia se observa, aunque todavía no se sabe por qué, que una fermentación maloláctica (FML) requiere como mínimo una densidad celular aproximadamente de 10⁶ CFU/ml (Gockowiak and Henschke, 2003; Reguant *et al.* 2005). También se ha observado que la conversión de ácido málico es proporcional a la densidad celular, esto es a concentraciones superiores 10⁶ CFU/ml la producción de ácido málico es proporcional a la densidad celular.

La inoculación en vino de una cepa de *O.oeni* no adaptada resulta de inmediato en una pérdida de densidad celular por debajo de 1 x 10⁶ CFU/ml, y consecuentemente la fermentación maloláctica no se inicia (figura 2). Sin embargo, cuando el mismo vino es inoculado 13 días después con una nueva cepa adaptada de *O. oeni*, no se observa pérdida de densidad celular. El incremento en la densidad celular por encima de 1 x 10⁶ CFU/ml inicia la fermentación maloláctica.

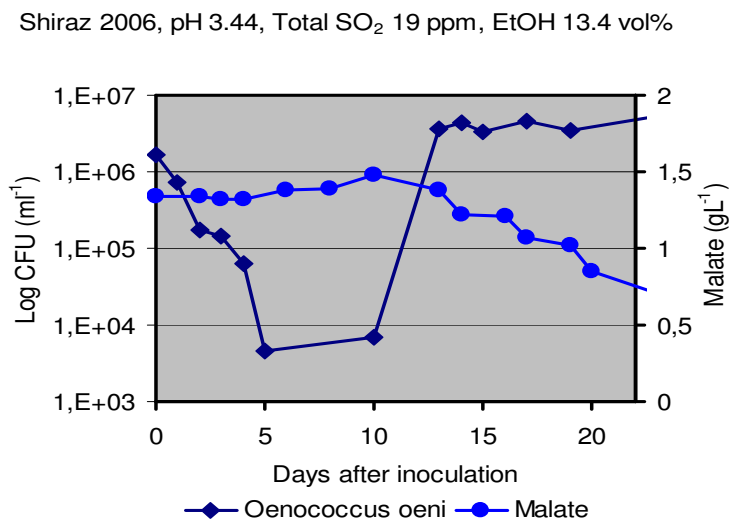


Figura 2. Población adaptada y no adaptada de *O. oeni*.

Cuando se inocula un tanque con una población adaptada de *O. oeni*, como se ilustra en la figura 3, las bacterias sobreviven a la inoculación directa y se mantiene una población superior a 4 x 10⁶ CFU/ml, en consecuencia se inicia inmediatamente la fermentación maloláctica, dicha fermentación se desarrolla en 24 días.

Shiraz 2006, pH 3.41, Total SO₂ 21 ppm, EtOH 14.5 vol%

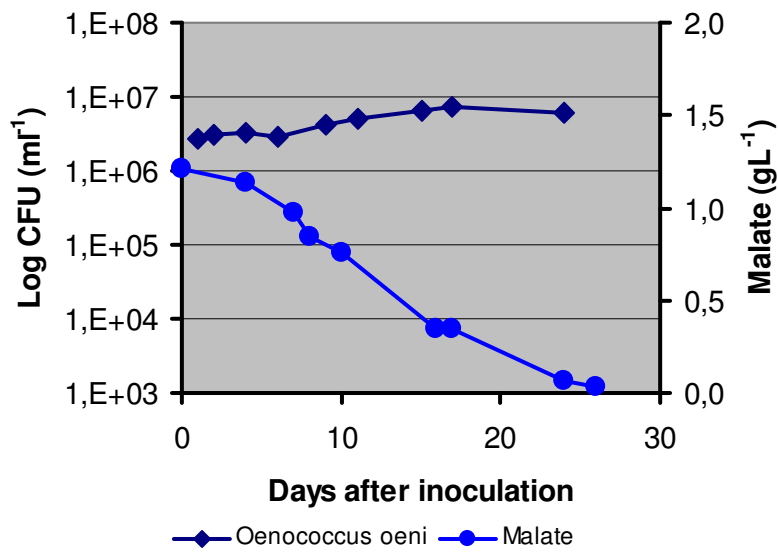


Figure 3. Inoculación directa en vino de *O.oeni*.

Cross Seeded VFO
 Shiraz 2006, pH 3.4, Total SO₂ 18 ppm, 14.5 vol%

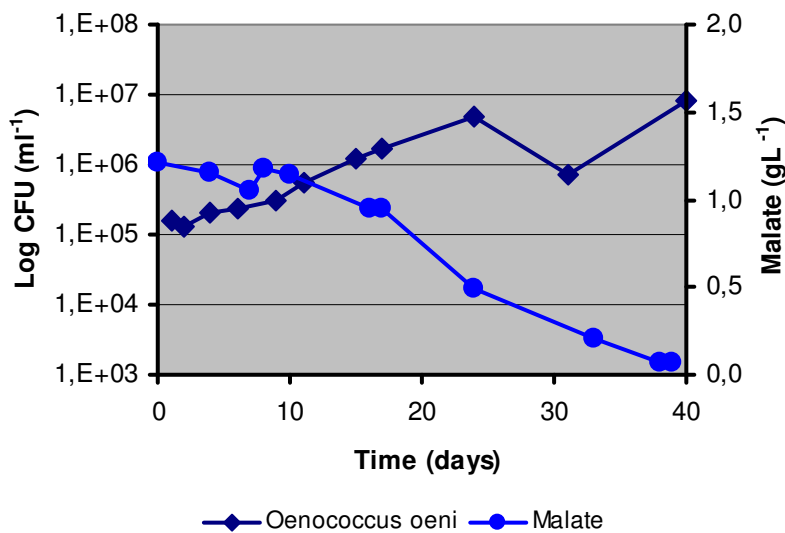


Figura 4. El efecto de inoculación cruzada en la fermentación maloláctica.

El retraso en el inicio de la fermentación maloláctica viene determinado por el tiempo que tarda *O. oeni* en alcanzar un millón de células, como se ilustra en la figura 4. Después de 14 días se alcanza una densidad celular de 1×10^6 CFU/ml por encima de la cual empieza la fermentación maloláctica. La fermentación maloláctica se completa en 38 días.

Al final de la fermentación maloláctica la máxima densidad celular de *O. oeni* en vino alcanza valores aproximados de $1-3 \times 10^7$ CFU/ml. Esto tiene un impacto importante en la duración de la fermentación maloláctica cuando se hace inoculación cruzada en los tanques. La inoculación cruzada se utiliza mucho en la industria del vino y se muestra en la figura 4, a diferencia de la inoculación directa de *O. oeni* en la figura 3.

Este método como solución, por un lado para evitar confiar en una fermentación maloláctica espontánea, que puede durar varios meses, y por otro para evitar gastar dinero en inoculaciones directas en todos los tanques con starters de cultivos comerciales. Este método se realiza con frecuencia bombeando entre un 1-5% de un tanque en el que se ha desarrollado la FML a otros tanques con vino nuevo.

Bombeando un 1% de vino donde se ha acabado la FML, dará lugar a una dilución de 1:100 la población de *O. oeni* del tanque madre, como se muestra en la figura 4. Esta dilución da como máximo 1×10^5 CFU/ml de concentración celular en el nuevo tanque, y a consecuencia se retrasa la FML.

En la figura 5 podemos ver como en una inoculación directa la FML acaba en 22 días, a diferencia de una siembra cruzada que acaba en 34.

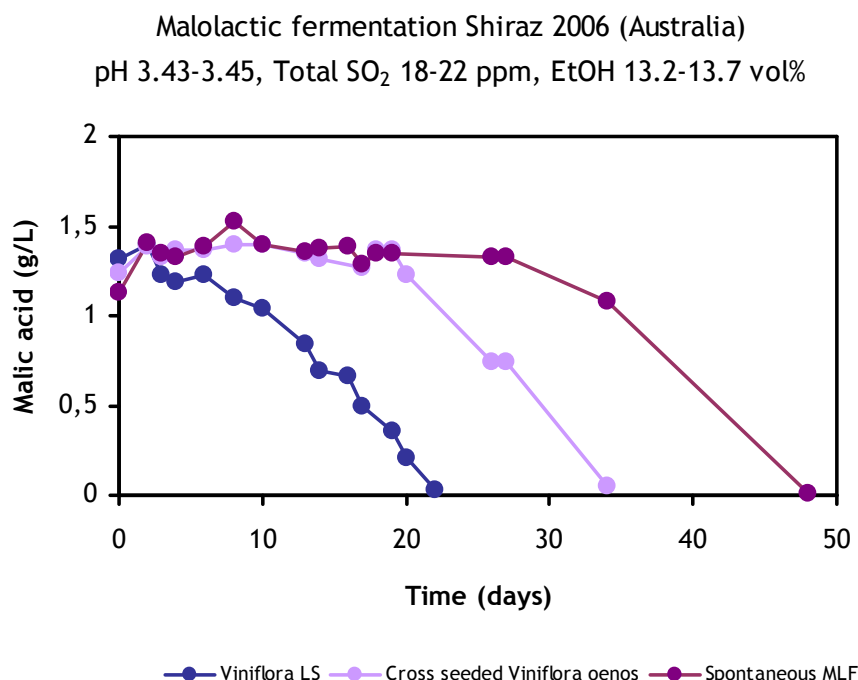


Figura 5. Fermentación maloláctica en inoculación directa y en inoculación cruzada de *O. oeni*.

BIBLIOGRAPHIA

Gockowiak and Henschke (2003). *Aus. J. Grape and Wine Research* 9:200-203

Guerzoni, M.E, Sinigaglia, M, Gardine, F, Ferruzzi, M, and Torriani, S (1995) *Am. J. Enol. Vitic.* 46, 368

Henick-Kling, T. (1992) pp 290-326 in *Wine Microbiology and Biotechnology* (GH Fleet, ed)

Maicas et al (1999). *Biotechnology letters* 21: 349-353

Reguant *et al* (2005). *Int. J. Food Sci. Tech.* 40:451-459

Salema, M, Poolman, B, Lolkema, JS, Dias, MCL, and Konings, WN (1994) *Eur, J. Biochem.* 225, 289