

NOVEDADES

- ❖ Cuando se estudiaron las levaduras en relación a su capacidad para utilizar fructosa, se constató que la levadura **Uvaferm 43**® – seleccionada inicialmente para ayudar las fermentaciones lentas o paradas cuando los niveles de alcohol alcanzan valores altos – es también particularmente eficaz en la utilización tanto de fructosa como de glucosa. Dentro de un grupo de más de 50 levaduras seleccionadas del mercado, **Uvaferm 43** fue claramente más eficaz que todas las demás, especialmente en condiciones de concentraciones limitadas de nitrógeno.
- ❖ Con el proceso **YSEO**®, las levaduras presentan una mayor resistencia al alcohol y se adaptan mejor a las condiciones de fermentación difíciles, como niveles de alcohol elevados, nutrientes específicos escasos o temperaturas inferiores a la temperatura ideal. El proceso **YSEO** estimula la activación de la membrana y de las enzimas de la levadura, dando lugar a una fase de latencia más corta al inicio de la fermentación y a una fermentación más segura, incluso con niveles de alcohol elevados. Para 2008, ya están disponibles nuevas levaduras – como **Cross-Evolution**® – que han sido sometidas al proceso **YSEO**.

LALLEMAND

WINEMAKING UPDATE

WINEMAKING UPDATE (actualización en la elaboración de vinos) es una publicación de Lallemand Inc. Su finalidad es informar a enólogos y al staff responsable de la elaboración de vinos, acerca de las novedades y sugerencias resultantes de las investigaciones. Para solicitar publicaciones anteriores o enviar sus preguntas o comentarios, contáctenos en :
Lallemand España-Portugal
fb.espana@lallemand.com
TF: 902 884 212
FAX: 902 884 213

La información técnica de **WINEMAKING UPDATE** es fiel y precisa; debido a la gran diversidad de situaciones operativas, todos los consejos y advertencias son presentados sin ninguna garantía ni compromiso formal. Los productos Lallemand se encuentran disponibles gracias a una amplia red de distribución. Para encontrar su distribuidor local, contáctenos a la siguiente dirección.

www.lallemandwine.com

Condiciones bien conocidas y menos conocidas que afectan a la FML:

Estrategias para el éxito de la Fermentación Maloláctica

Cuando la fermentación maloláctica (FML) tarda en empezar, o cuando una vez empezada se ralentiza o detiene, el enólogo puede obtener un vino de calidad inferior. Se sabe que el pH tiene una influencia importante en el proceso de FML. Los pH bajos inhiben el crecimiento de *Oenococcus oeni*, bacteria láctica (BL) considerada la más interesante para la FML. Sin embargo, cuando el pH es demasiado alto, el efecto más frecuente es que las bacterias competidoras (por ejemplo *Lactobacillus* y *Pediococcus*) transformen y alteren las características sensoriales del vino. A pesar de que la fiabilidad y eficacia de los cultivos iniciadores seleccionados han mejorado considerablemente durante estos últimos diez años, existen muchos otros factores implicados en el éxito de la FML. Un mayor conocimiento de estos factores contribuirá a mejorar nuestro control sobre la vinificación y el estilo de vino obtenido. Este número especial de *Winemaking Update* presenta los resultados de las investigaciones más recientes sobre este tema.

I- Condiciones bien conocidas que influyen la FML

En la mayoría de los estudios científicos sobre este aspecto, los factores que demuestran afectar la supervivencia y crecimiento de las BL en el vino se dividen en las siguientes tres categorías generales.

• La composición físico-química del vino

– El pH es uno de los parámetros que más influyen el comportamiento de las BL. El pH determina las especies de BL con más probabilidades de desarrollarse, e influye sobre su viabilidad y velocidad de crecimiento. También actúa sobre la velocidad de degradación del ácido málico y sobre el comportamiento metabólico de las especies bacterianas. Un pH bajo (inferior a 2,9) impide que la bacteria se desarrolle mientras que un pH de 3,4 es ideal. Unos niveles de pH por debajo de este umbral complican el arranque de la FML, pero la microbiología del vino es más fácil de manejar, ya que los pH bajos ayudan a prevenir el crecimiento de la mayor parte de los microorganismos

contaminantes, al mismo tiempo que fomentan el desarrollo de BL seleccionadas que son más resistentes y tienen mayores probabilidades de llevar a cabo la FML. Por otro lado, un pH más elevado incrementa el riesgo de crecimiento de organismos contaminantes, como *Brettanomyces*, que pueden ralentizar la FML. En este caso, la inoculación temprana del mosto con cultivos iniciadores seleccionados permite a los enólogos retrasar o incluso inhibir el desarrollo de organismos contaminantes.

– El SO₂ tiene un potente efecto inhibitorio sobre el crecimiento de las BL, especialmente cuando el pH es bajo.

– El nivel de alcohol es perjudicial para el crecimiento de las BL y para la correcta evolución de la FML una vez alcanzado el 6%/vol. Por encima del umbral crítico del 14%/vol., la tolerancia al etanol de la mayor parte de las bacterias es cero, a pesar de que la resistencia al alcohol varía de una cepa a otra.

– La falta de nutrientes, especialmente la falta de ácido málico o una deficiencia de nitrógeno α-amínico (a veces relacionada con la cepa de levadura), ralentiza el proceso de la FML.

– La temperatura tiene un efecto bien conocido sobre la FML. Las BL son mesofílicas, esto quiere decir que su temperatura de crecimiento óptima se encuentra entre 15 y 30°C. A bajas temperaturas, el crecimiento bacteriano y la velocidad de la FML disminuyen significativamente.

• Los factores asociados a la vinificación

Una excesiva clarificación puede reducir significativamente la población natural de BL y eliminar algunos nutrientes necesarios para las bacterias, así como las partículas en suspensión que estimulan el crecimiento bacteriano. Se ha observado también que los vinos elaborados mediante termovinificación son menos aptos para la FML.

Otros factores implicados en la creación de un ambiente apropiado para las BL incluyen el tipo de recipiente (barricas, depósitos de acero inoxidable, forma del tanque, etc.),

Tabla 1. Compatibilidad de levaduras y bacterias para la fermentación maloláctica

CEPA DE LEVADURA — PROPIEDADES Y COMATIBILIDAD CON LA FML					
Levadura con bajas necesidades nutricionales, sin compuestos inhibidores ++++ FML	Levadura con necesidades nutricionales medias +++ FML	Levadura con necesidades nutricionales de bajas, potencial para producir SO ₂ ++ FML	Levadura con elevadas necesidades nutricionales, buena autólisis + FML	Levadura con elevadas necesidades nutricionales + FML	Levadura inhibidora de la FML + / - FML
Momento de la FML	Momento de la FML	Momento de la FML	Momento de la FML	Momento de la FML	Momento de la FML
<i>Inoculación simultánea posible</i> Asegurar un buen aporte de nutrientes para levaduras	<i>Inoculación simultánea posible</i> Asegurar un buen aporte de nutrientes para levaduras, y para bacterias al final de la FA	<i>Inoculación simultánea posible</i> Asegurar un buen aporte de nutrientes para levaduras; si la inoculación es tras la FA controlar SO ₂	<i>Inoculación al final de la FA o más tarde</i> Asegurar un buen aporte de nutrientes para levaduras y bacterias	<i>Inoculación tras la FA</i> Asegurar un buen aporte de nutrientes para levaduras y bacterias	<i>Usar una mayor proporción de bacterias en la inoculación para activar la FML</i> <i>Inoculación tras la FA</i> Asegurar un buen aporte de nutrientes para levaduras y bacterias
Aporte de nutrientes	Aporte de nutrientes	Aporte de nutrientes	Aporte de nutrientes	Aporte de nutrientes	Aporte de nutrientes
Fermaid (25 g/hL) tras 1/3 de la FA	Fermaid (25 g/hL) tras 1/3 de la FA y Opti'Malo Plus™ (20 g/hL) o Acti-ML™ para ayudar la FML	Goferm® durante la rehidratación de la levadura y (en función del nivel de nitrógeno) Fermaid (25 g/hL) tras 1/3 de la FA	Goferm® durante la rehidratación de la levadura y (en función del nivel de nitrógeno) Fermaid (30 g/hL) tras 1/3 de la FA y Opti'Malo Plus™ (20 g/hL) o Acti-ML™ para ayudar la FML	Goferm® durante la rehidratación de la levadura y (en función del nivel de nitrógeno) Fermaid (30 g/hL) tras 1/3 de la FA y Opti'Malo Plus™ (20 g/hL) o Acti-ML™ para ayudar la FML	Fermaid (30 g/hL) tras 1/3 de la FA y Opti'Malo Plus™ (20 g/hL) o Acti-ML™ para ayudar la FML

la concentración de taninos extraídos de las uvas, la adición de taninos enológicos, la oxigenación y los niveles de oxígeno disuelto en el vino, la adición de nutrientes, la compactación de las lías, etc. Todas estas condiciones son menos conocidas.

• **Las interacciones microbianas entre BL y otros microorganismos del vino**

Las interacciones con otras bacterias (cuyo desarrollo puede verse favorecido por el pH del vino) pueden obstaculizar la implantación de la cepa inoculada en el vino. Algunas BL son capaces de producir bacteriocinas (péptidos o proteínas que son tóxicos para las BL), que reducen las posibilidades de finalización de la FML (Bauer et al., 2003). Las levaduras pueden tener también un efecto antagonista, a causa de la competición por los nutrientes (Nannelli et al., 2004), y por producción de inhibidores del crecimiento bacteriano, como SO₂, ácidos grasos de cadena media y péptidos de levadura (entre 5 y 10 KDa) (Nehme, 2008). Estos efectos dependerán de la naturaleza y del nivel de ácidos grasos en el vino, y pueden verse acentuados por los pH bajos. Como han demostrado estudios efectuados por Lallemand y por otros equipos de investigación, algunas levaduras pueden producir uno o más compuestos antimicrobianos, la elección de la combinación cepa de levadura/cepa de bacteria desempeña un rol importante en el éxito de la FML. En 1998, nuestros trabajos de investigación demostraron que algunas levaduras eran menos favorables a la FML respecto a otras, y que esto está relacionado con la composición de nutrientes del mosto. Cuanto mayores sean las necesidades nutricionales de la levadura, más reducirá ésta los nutrientes del medio, lo que complicará la implantación de las BL. En la Tabla 1 se comparan las propiedades de las levaduras con la compatibilidad de las BL para formar combinaciones levadura/bacteria

durante la fermentación, cuando el proceso fermentativo se lleva a cabo en unas condiciones precisas y bien controladas.

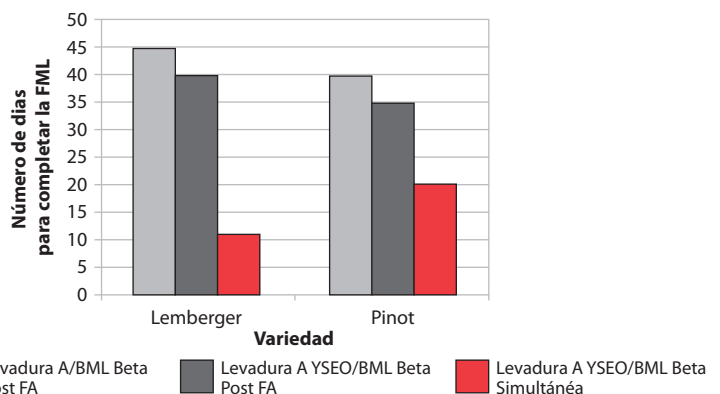
Recientes trabajos de I & D han proporcionado considerables mejoras en las combinaciones levadura/bacteria. Por ejemplo, el producto Duo-Riesling, está constituido por levaduras seleccionadas especialmente adecuadas para los Riesling de elevada acidez y por BL seleccionadas que son muy eficaces en términos de fermentación y contribución al perfil sensorial de esta variedad. Varios años de investigación y ensayos en diferentes países con Duo-Riesling han demostrado sus buenos resultados en las fermentaciones alcohólicas y malolácticas simultáneas, al crear un ambiente reductor que preserva las características varietales y el afrutado de variedades blancas aromáticas.

Recientemente se ha demostrado, a través de varios ensayos de campo, que las levaduras producidas mediante el proceso YSEO facilitan el desarrollo de cultivos malolácticos seleccionados. Es probable que las levaduras

YSEO, que son más propensas a completar la fermentación en condiciones difíciles, son menos exigentes en términos de nutrición y liberan menos compuestos inhibidores, como compuestos azufrados. Resultados preliminares han mostrado también que las ventajas de las levaduras YSEO son más importantes durante la coinoculación, porque el tiempo para completar la fermentación se reduce aun más. La Figura 1 muestra los resultados obtenidos durante la fermentación de vinos Lemberger y Pinot Noir alemanes con levaduras YSEO y no-YSEO con los starter Beta, tanto en fermentaciones secuenciales como simultáneas.

Por otro lado, el contacto con las lías de levadura tiene un verdadero efecto estimulador de la FML. El proceso de autólisis libera aminoácidos y vitaminas, y el mosto se enriquece en nutrientes para las BL. Algunos autores creen que existe también un efecto detoxificante gracias a los polisacáridos de las levaduras, que podrían absorber o complejar compuestos inhibidores.

Figura 1. Tiempo para completar la FML en vinos Lemberger y Pinot Noir alemanes fermentados con Levadura A o Levadura A-YSEO. La bacteria maloláctica Beta fue inoculada en el mosto durante la fermentación alcohólica (FA simultánea) o una vez completada la fermentación alcohólica (post FA).



II- Condiciones menos conocidas que influyen la FML

La contribución de otros factores menos conocidos en relación a la activación de la FML han sido objeto recientemente de numerosos estudios.

• Niveles de polifenoles en el vino

Algunos compuestos fenólicos son capaces de inhibir la FML (Ribereau-Gayon et al., 1975; Stead, 1993) y otros estimulan la FML llevada a cabo por *Oenococcus oeni* (Vivas et al., 1994, 1995, 1997). Knoll (2004), en colaboración con la Facultad de Enología de Burdeos y con el Instituto Geisenheim, evaluó los efectos de tres ácidos fenólicos (cafeico, cumárico y ferúlico) sobre el crecimiento, actividad y viabilidad de diferentes cepas de BL en un medio modelo (pH 3,8; etanol 12%/vol.). El ácido cafeico, en las concentraciones del ensayo (50 mg/L y 100 mg/L), tiene un efecto positivo sobre el crecimiento y sobre la degradación del ácido málico. En función de la cepa utilizada, el ácido ferúlico puede tener un efecto negativo sobre el crecimiento y sobre el consumo de ácido málico por las bacterias. El ácido fenólico con el mayor efecto inhibitor es el ácido p-cumárico y su efecto negativo aumenta con la concentración. Existen varios mecanismos relacionados con los efectos inhibitorios o estimuladores de los ácidos fenólicos sobre *O. oeni*. Investigaciones actualmente en curso serán capaces de enseñarnos más sobre este aspecto.

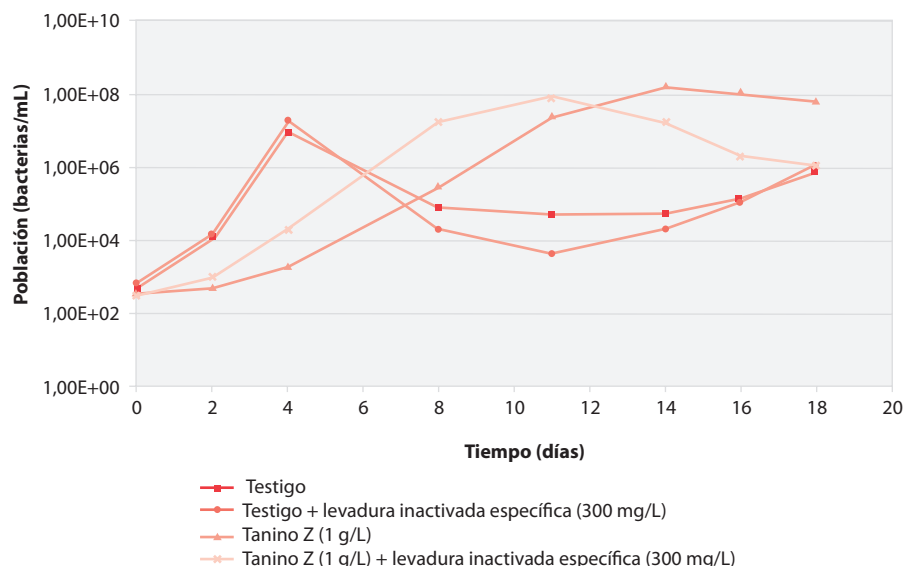
Knoll también estudió el efecto sobre las BL de compuestos fenólicos extraídos de vinos Merlot, Cabernet Sauvignon y Cabernet Franc, pero no observó diferencias estadísticamente significativas en el crecimiento y actividad de BL entre las diferentes variedades.

Otro ensayo en un medio modelo (pH 3,5; etanol 13,3%/vol.) mostró que los antocianos (250 mg/L) estimulaban el crecimiento de tres cepas de BL (Tabla 2). Por el contrario, los taninos tenían la tendencia a retrasar el crecimiento de bacterias, especialmente los procedentes de pepita, (adicionadas en una proporción de 1 g/L).

Tabla 2. Resumen del efecto de los compuestos fenólicos sobre el crecimiento de bacterias.

Compuestos fenólicos	Concentración	Efecto
Antocianos	250 mg/L	Aceleración del crecimiento
Extracto de vino	1,25 g/L	Efecto mínimo
	2,75 g/L	Retraso del crecimiento
Tanino S de pepita	1 g/L	Retraso del crecimiento
Tanino X de hollejos	1 g/L	Ningún efecto
Tanino Y de pepita	1 g/L	Retraso del crecimiento
Tanino Z	1 g/L	Importante retraso del crecimiento

Figura 2. Efecto de taninos y de la adición de levaduras inactivadas específicas sobre la población bacteriana



La Figura 2 muestra que los taninos pueden influenciar el desarrollo de la población de BL. Cuando se adiciona el tanino Z, se produce un retraso en el crecimiento de la población, con respecto al testigo, pero la adición de levaduras inactivadas específicas (SIY) atenúa los efectos inhibitorios.

• Compactación de las lías

Bajo el efecto de la presión hidrostática, especialmente en grandes tanques, las lías del fondo del tanque pueden compactarse hasta el punto de obstaculizar el movimiento y, por consiguiente, la eficacia de los intercambios entre las levaduras, las bacterias y sus nutrientes. Esto explicaría por qué en los grandes depósitos la FML tarda más tiempo en arrancar. No obstante, la demora en el arranque de la FML en los grandes tanques puede ser evitada mediante la agitación de las lías durante varias horas antes de la inoculación.

• Residuos de pesticidas

Numerosos pesticidas y residuos de pesticidas pueden provocar retrasos o paradas de la FML, o incluso impedir completamente el arranque de la misma. Durante dos ensayos llevados a cabo por el equipo de B. Schildberger en la Universidad y en el "Federal Institute for Viticulture and Pomology" de Klosterneuburg, Austria, se estudió la posible relación entre botriticidas (aplicados en el momento indicado por el fabricante o 14 días antes de la vendimia) y la calidad de la FML. En 2006, uvas de Grüner Veltliner fueron tratadas con diferentes pesticidas siguiendo las indicaciones del fabricante. En un caso, el pesticida fue aplicado en el momento recomendado por el fabricante, y en otro caso 14 días antes de la vendimia. La producción testigo no fue tratada con pesticidas para la podredumbre gris. El ensayo fue repetido en 2007.

Los resultados de ambos ensayos indican que los residuos o moléculas derivadas de los compuestos activos de algunos pesticidas tienen un significativo efecto negativo sobre la FML.

III- Estrategias para la activación de la FML

Para activar la FML, el enólogo debe crear condiciones favorables para el crecimiento de las BL a través de diversos métodos, incluyendo los siguientes:

- Adicionar SO₂ en cantidad adecuada, en función de las condiciones de la uva, temperatura, pH (el efecto inhibitor del SO₂ aumenta cuando el pH es bajo).

- Mantener una adecuada temperatura (generalmente entre 18° y 22°C), evitar cualquier enfriamiento repentino, así como un exceso de calor (26°C o más), especialmente si el vino tienen un elevado nivel de SO₂ (SO₂ total > 40 mg/L).

- Remover las lías periódicamente (una vez a la semana) para asegurar que las bacterias y los nutrientes permanezcan en suspensión.

- Esperar hasta el final de la fermentación alcohólica (FA) antes de efectuar el trasiego, de forma que el vino pueda beneficiarse del óptimo contacto con los compuestos de la levadura presentes en las lías que, dependiendo de la calidad de las lías, estimulan el arranque de la FML.

- Adicionar nutrientes: *O. oeni* (Henick-Kling, 1988) tiene unas necesidades nutricionales bien precisas de carbono (azúcares), nitrógeno (aminoácidos libres y péptidos), vitaminas (ácido nicotínico, tiamina, biotina y ácido pantoténico), iones minerales (manganeso, magnesio, potasio y sodio), y derivados de la purina (guanina y adenina, etc.). De acuerdo con un reciente estudio (Rauhut et al., 2004), la adición tras la FA de cisteína y glutatión contribuye a estimular el crecimiento de las BL. Se sabe también que la adición durante la FA de nutrientes complejos que incluyen aminoácidos ralentiza la asimilación del nitrógeno por las levaduras, lo que impide el consumo excesivo de aminoácidos del medio que son vitales para las bacterias.

- Elegir la cepa de BL seleccionada más adecuada: Inoculación con un cultivo específico seleccionado del medio natural para reducir el

riesgo de deterioro de los vinos por otros tipos de BL. La adición de un starter enológico asegura el arranque rápido de la FML y un mejor control de los compuestos del aroma y del gusto (Bauer and Dicks, 2004). Aunque pueden ser utilizados varios tipos de BL, O. oeni ha demostrado a los enólogos su eficacia, por lo que se ha convertido en la opción preferida. En condiciones de elevado grado alcohólico, elija las bacterias en función de su resistencia a los niveles de alcohol del vino, y combínela con una levadura compatible. Nuevas investigaciones sobre las interacciones entre microorganismos con el fin de determinar las combinaciones levadura-bacteria más adecuadas en condiciones difíciles están logrando importantes y rápidos progresos, lo que proporcionará grandes beneficios a los enólogos.

• Precauciones con respecto a determinados cultivos

Las bacterias seleccionadas pueden ser inoculadas en el mosto simultáneamente con la levadura al inicio (coinoculación) o al final (inoculación tardía) de la FA. La inoculación puede ser efectuada también algunos días, o incluso semanas después de la FA del vino (inoculación retrasada). La mayor parte de los enólogos inoculan tras la FA, para prevenir el riesgo de “picado láctico” – excesiva producción de ácido acético. Sin embargo, de acuerdo con una reciente investigación, el método de coinoculación presenta tres importantes ventajas: facilita la aclimatación de las bacterias en ausencia de alcohol, mejora la absorción de nutrientes (en comparación con la inoculación tras la fermentación), y respeta las características frutales del vino. También

es muy apreciado el aspecto relativo a la seguridad, ya que permite que el vino saque rápidamente ventaja de la acción dominante de la cepa seleccionada y, en condiciones más fáciles, asegura un mayor control de la FML. La coinoculación también ayuda a proteger frente a la contaminación producida por levaduras del tipo *Brettanomyces*, cuyo desarrollo normalmente tiene lugar durante la fase de latencia, entre el final de la fermentación y el inicio de la FML.

El nivel de inoculación también tiene gran importancia. Una población mínima de 10⁶ células/mL es considerada necesaria para el arranque de la FML. Si no se alcanza este umbral, el inicio y el final de la FML podrían retrasarse considerablemente.

EN RESUMEN...

Es imposible garantizar la finalización de la fermentación maloláctica. Incluso cuando se utilizan cultivos seleccionados, hay numerosos factores que escapan a nuestro control, incluyendo deficiencias de nutrientes, competición entre microorganismos y presencia de inhibidores en el vino. La elección de la bacteria láctica utilizada para inducir la fermentación maloláctica se debe basar en las características físicas y químicas del mosto /vino y contribuir a su complejidad aromática. Algunas BL son particularmente adecuadas para la utilización en coinoculación. El kit Duo-Riesling es el primogénito de una línea de dúos levadura/bacteria diseñados para aplicaciones específicas, en función de la variedad y del estilo de vino, y que además son adecuadas a nivel de eficacia y de contribución al aroma.

Los laboratorios Lallemant acaban de desarrollar también una tabla (véase Tabla 3) para evaluar la viabilidad de la FML en función de determinadas características del vino. Esta tabla facilita la selección de la cepa de BL que mejor se adapte al vino y a las condiciones de vinificación.

Tabla 3. Test de viabilidad de la fermentación maloláctica en el vino.

Sume el total de puntos obtenidos en función de las características de su vino para determinar si presenta condiciones favorables, no demasiado favorables, difíciles o extremas en relación a la viabilidad de la FML.

Características generales de las condiciones del Vino para la Fermentación Maloláctica

	Mi vino	1 punto para la condición dada	2 puntos para la condición dada	8 puntos para la condición dada	10 puntos para la condición dada	Resultado
Alcohol (% vol.)		< 13	de 13 a 15	de 15 a 17	> 17	→
pH		> 3,4	de 3,1 a 3,4	de 2,9 a 3,1	< 2,9	→
SO ₂ libre (mg/L)		< 8	de 8 a 12	de 12 a 15	> 15	→
SO ₂ total (mg/L)		< 30	de 30 a 40	de 40 a 60	> 60	→
Temperatura (°C)		de 18 a 22	de 14 a 18 y de 22 a 24	de 10 a 14 y de 24 a 29	< 10 y > 29	→
Requerimiento nutricional de la levadura		Baja	Media	Alta	Muy alta	→
Desarrollo de la fermentación alcohólica		Sin problema	Levadura estresada	Fermentación lenta, parada de la FA	Contacto prolongado con la levadura	→
Valor inicial de ácido málico (g/L)		2 a 4	de 4 a 5 y de 1 a 2	de 5 a 7 y de 0,5 a 1	> 7 y < 0,5	→
Velocidad máxima de fermentación alcohólica (pérdida de puntos máxima en densidad por día)		< 8	de 8 a 16	de 16 a 24	> 24	→
<small>NOTA : Otros factores menos comunes y sujetos a numerosos estudios que no están contemplado en esta estimación : oxígeno disuelto, contenido de polifenoles, tipo de lías, residuos de pesticidas, etc.</small>						

Estimación del grado de facilidad de la fermentación maloláctica

< 13 puntos	13 - 22 puntos	23 - 40 puntos	> 40 puntos
Condiciones para la FML:			
 Favorables	 Poco favorables	 Difíciles	 Extremas