

# UN NUEVO CONCEPTO DE *LACTOBACILLUS PLANTARUM* SELECCIONADA PARA VINOS DE PH ELEVADO.

---

Sibylle KRIEGER-WEBER<sup>1</sup>, Magali DÉLÉRIS-BOU<sup>2</sup>, Ann DUMONT<sup>3</sup> y Francine VIDAL<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Lallemand, Office Korntal-Münchingen, Alemania

<sup>2</sup> Lallemand SAS, Blagnac, Francia

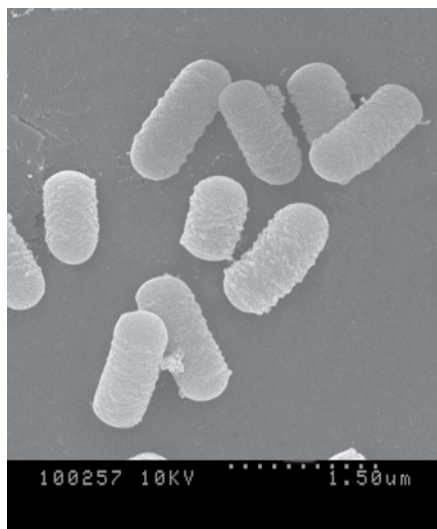
<sup>3</sup> Lallemand, Montréal, Canada

La fermentación maloláctica (FML) puede ocurrir durante o después de la fermentación alcohólica (véase The Wine Expert on co-inoculation, 2012), y se lleva a cabo por una ó mas especies de bacterias ácido-lácticas (BAL). Se han identificado cuatro géneros como los principales organismos involucrados en la FML: *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus* y *Pediococcus* (du Toit et al., 2011). *Oenococcus oeni* es la especie predominante y, además, un microorganismo bien conocido y eficaz para afrontar las condiciones difíciles de los vinos. Esta disponible en forma de cultivo iniciador, actualmente de gran fiabilidad. Algunas especies de *Lactobacillus* han demostrado que también pueden llevar a cabo y de manera muy eficiente la FML, especialmente en vinos con altos niveles de pH, como se demostró en la aplicación patentada EP1631657. En la presente edición de *Winemaking Update* se presentan los hallazgos más recientes en cuanto al empleo de *Lactobacillus plantarum*, de acuerdo con los nuevos conceptos para lograr la FML y limitar el crecimiento de flora indígena y de microorganismos potencialmente dañinos para el vino.

## 1. 1. *Lactobacillus plantarum* - el nuevo «viejo» amigo de la FML

El pH de los vinos ha venido aumentando gradualmente durante los últimos años. Así, vinos tintos con niveles de pH superiores a 3,5 o 3,6 son cada vez más frecuentes. Con semejantes niveles de pH, podemos notar un desarrollo muy rápido de diversos microorganismos indígenas, entre los cuales se encuentran bacterias contaminantes que pueden ocasionar un deterioro de la calidad en el vino. El pH determinará las especies de BAL presentes en un vino. Con niveles de pH superiores a 3,5, se favorece el desarrollo de las especies *Lactobacillus* y *Pediococcus*, mientras que con niveles inferiores, es *O. oeni* la especie que tiende a predominar (Henick-Kling 1993).

Algunas cepas seleccionadas de *L. plantarum* (fig.1) han mostrado resultados interesantes en cuanto a su capacidad de inducir la FML en condiciones de alto pH y, a diferencia de *Oenococcus oeni*, *L. plantarum* cuenta con un metabolismo heterofermentativo facultativo que previene la producción de ácido acético a partir de los azúcares hexosas. Además, las cepas de esta especie pueden presentar un pool enzimático más complejo cuyo efecto sobre el perfil sensorial frutal de los vinos puede resultar muy positivo. Pero la selección de una «buena» *Lactobacillus plantarum* enológica no es fácil. Ya en 1988, se seleccionaban cepas de *L. plantarum* con un éxito variable. Desde el 2005, sin embargo, algunas *L. plantarum* aisladas en la Universidad Católica del Sacro Cuore, en Italia, dieron como resultado una *L. plantarum* muy eficaz, adaptada a los vinos con altos niveles de pH. El nuevo cultivo iniciador, llamado ML Prime™, es una *Lactobacillus* pura cuyo metabolismo es heterofermentativo facultativo. Convierte la glucosa o la fructosa en ácido láctico, pero no en ácido acético, evitando por consiguiente un incremento de la producción de acidez volátil durante la FML. Gracias a su proceso de producción optimizado, ML Prime™ expresa una muy alta actividad de la enzima malolácticas en mostos, lo cual desencadena una FML rápida durante la fermentación alcohólica y en vinos con características enológicas de interés.



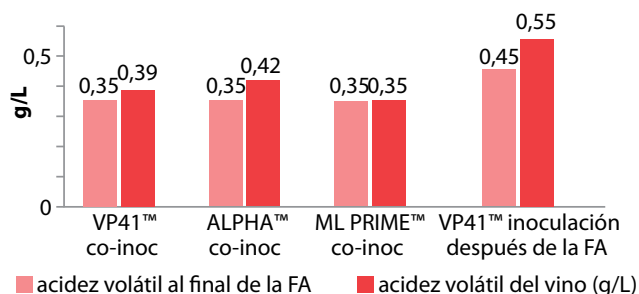
**FIGURA1.** *Lactobacillus plantarum*

## 2. Una FML rápida y fiable en vinos con altos niveles de pH (pH >3,4)

La principal preocupación de los enólogos al iniciar la fermentación maloláctica es que esta finalice a tiempo y produzca efectos positivos sobre el vino y con baja acidez volátil. La co-inoculación es una de las formas para lograr estos objetivos sin correr riesgos. Permite al enólogo controlar la FML, ya que las bacterias seleccionadas compiten de manera más eficaz contra la flora indígena. Sin embargo, algunos enólogos todavía estiman que la co-inoculación con *Oenococcus oeni* tiene riesgos debido al metabolismo heterofermentativo obligatorio de esta especie. ML Prime™ constituye una opción muy segura ya que no existe ningún riesgo de producción de acidez volátil durante la FML.

ML Prime™ ha sido objeto de numerosos estudios para garantizar FML rápidas y seguras que tarden de 3 a 15 días, dependiendo de las condiciones. Su gran vitalidad y alta concentración hacen que la fase de latencia sea muy corta, lo cual le permite dominar rápidamente la flora indígena y llevando a cabo un arranque rápido de la FML.

Por ejemplo, en un ensayo realizado con un garnacha (España, 2014), en un mosto con un pH de 3,7, un grado de alcohol potencial de 14% y un contenido inicial de ácido málico de 2 g/L, se comparó a *L. plantarum* ML Prime™ con dos bacterias distintas de *O. oeni* en co-inoculación y una bacteria en inoculación tras la FA. Con *L. plantarum* ML Prime™, la FML se llevó completó en tres días después de la inoculación, mientras que en el caso de la co-inoculación con *O.oeni*, la FML tardó una semana. En cuanto a la fermentación espontánea, esta tardó 12 días. Además, a excepción de la fermentación espontánea, la producción de AV se mantuvo muy baja en todos los casos (figura 2), es decir entre 0,39, 0,42 y 0,45, en el de *O. oeni* y 0,35 g/L en el de ML Prime™.



**FIGURA 2.** Medida de la acidez volátil del mosto de un Garnacha de España con un alto pH (3,7) al utilizar ML Prime™ y dos cepas de *O. oeni* en co-inoculación en comparación con Spontaneous MLF (FML espontánea)

Se han llevado a cabo estudios para determinar cuáles son los mejores procesos y condiciones para que ML Prime™ lleve a cabo la FML con éxito. Se analizaron factores como temperatura, pH, niveles de SO<sub>2</sub>, momento de las adiciones, contenido de ácido málico inicial y concentraciones de azúcar y alcohol.

Las mejores condiciones para realizar una FML con *Lactobacillus plantarum* ML Prime™ se establecieron tal como se describe en la tabla 1.

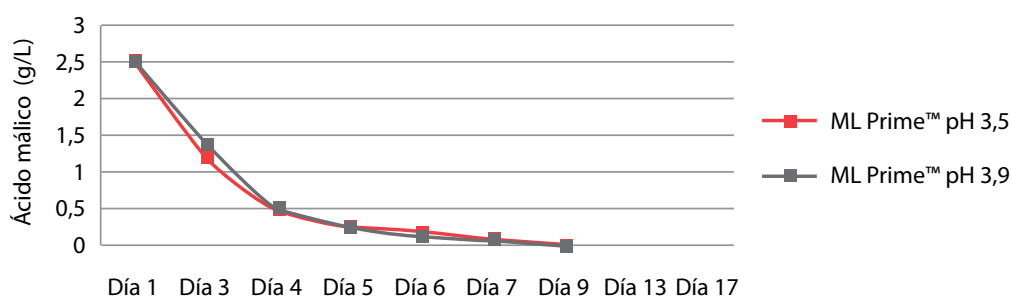
**TABLA 1.** Condiciones óptimas para el uso de *L. plantarum* ML Prime™

Tipos de vinos	Tintos - vinificación tradicional (maceración corta o media; termovinificación (fase líquida).
Momento de la inoculación con bacterias	Co-inoculación Adición de ML Prime, 24 horas después de la adición de la levadura
Adición de SO <sub>2</sub> a las uvas/ mosto	≤5 g/hL
pH	≥ 3,4
Contenido de ácido málico	máximo de 3 g/L
Temperatura durante la FA	20° a 26°C

### 3. Control de la contaminación microbiana bajo el cuidado de ML Prime™

Una normativa de la OIV del 2014 (OIV-Oeno-264-2014) sobre las buenas prácticas vitivinícolas para controlar las *Brettanomyces* especifica que «la co-inoculación de la levadura seleccionada y de las bacterias enológicas seleccionadas puede contribuir a reducir la fase de latencia entre la fermentación alcohólica y la fermentación maloláctica y, por consiguiente, el desarrollo de *Brettanomyces*». Dicha normativa también indica que el uso de iniciadores malolácticos es una buena forma de limitar el desarrollo de *Brettanomyces*.

Debido a la alta vitalidad inicial de *L. plantarum* ML Prime™, se puede observar un inicio inmediato de la fermentación maloláctica y la degradación del ácido málico durante la fermentación alcohólica. En la figura 3, el Syrah de Languedoc (INRA, Pech Rouge 2014) se fermentó bajo dos niveles diferentes de pH (3,5 y 3,9), en los que la contaminación microbiana constituye un riesgo, y la fermentación maloláctica se completó con ML Prime™ en 9 días, en ambos niveles de pH. De este modo pueden estabilizarse pronto los vinos y protegerlos contra otros contaminantes conservando así su integridad sensorial. Es importante notar que la AV final en dichos vinos no aumentó durante la FML, sino que se mantuvo a 0,17 g/L.



**FIGURA 3.** Degradación del ácido málico en los vinos Syrah de Languedoc (Francia). Co-inoculación 24 horas luego de la adición de las levaduras a dos niveles de pH diferentes: 3,5 y 3,9, con SO<sub>2</sub> inicial: 5 g/hL– azúcar inicial 220g/L– temp: 24°C – termovinificación (fase líquida)

Los ensayos en los que se llevaron a cabo controles de implantación mostraron que *L. plantarum* ML Prime™ lograba una implantación del 100 % en el mosto durante la co-inoculación y, por consiguiente, las bacterias ácido-lácticas indígenas contaminantes se mantenían bajo control y por debajo del nivel de 2x10<sup>3</sup> UFC/mL. Esto permite obtener un vino más estable, cuyo riesgo de desarrollo de contaminantes dañinos, tales como las bacterias acéticas al igual que cepas indeseables heterofermentativas estrictas de *Lactobacillus* o *Pediococcus*, se reduce de manera significativa.

La fuerte dominancia de ML Prime™ constituye una buena forma de contrarrestar el desarrollo de bacterias indígenas indeseables. Es bien sabido que las bacterias contaminantes pueden desarrollar metabolitos negativos los cuales afectan la calidad de los vinos, bien sea directamente produciendo aromas desagradables (gusto a ratón, fenoles volátiles, acidez volátil) ó enmascarando los caracteres frutales de los vinos debido a la producción de compuestos tales como aminas biógenas y diacetilo ó acetaldehído. Además, como ML Prime™ es "fenol-negativa", no posee la enzima cinamil esterasa y no puede producir precursores de fenoles volátiles para *Brettanomyces bruxellensis* (véase el *Winemaking Update* nº 1, del 2014, que trata de este tema).

#### **4. EN RESUMEN...**

La tendencia a vendimiar uvas con un mayor grado de madurez, resultando en niveles de pH y de alcohol más altos, parece favorecer aún más el desarrollo de bacterias indígenas. Para limitar el desarrollo de una flora indígena desconocida que pueda llevar a la producción de desviaciones sensoriales indeseables, la co-inoculación constituye una opción enológica interesante y utilizando de *Lb. plantarum* seleccionadas en forma liofilizada para la inoculación directa, parece ser una opción enológica muy segura. *L. plantarum* ML Prime™ ofrece numerosas ventajas para este nuevo enfoque: buena implantación, dominancia rápida y eficaz en co-inoculación y FML muy rápida y completa en condiciones de alto pH. Además, sus características heterofermentativas facultativas hacen de ML Prime™ una elección segura para prevenir la formación de ácido acético (acidez volátil) a partir de los azúcares hexosas.

Para obtener mayor información acerca del tema, comuníquese con su representante Lallemand. – Bibliografía disponible.