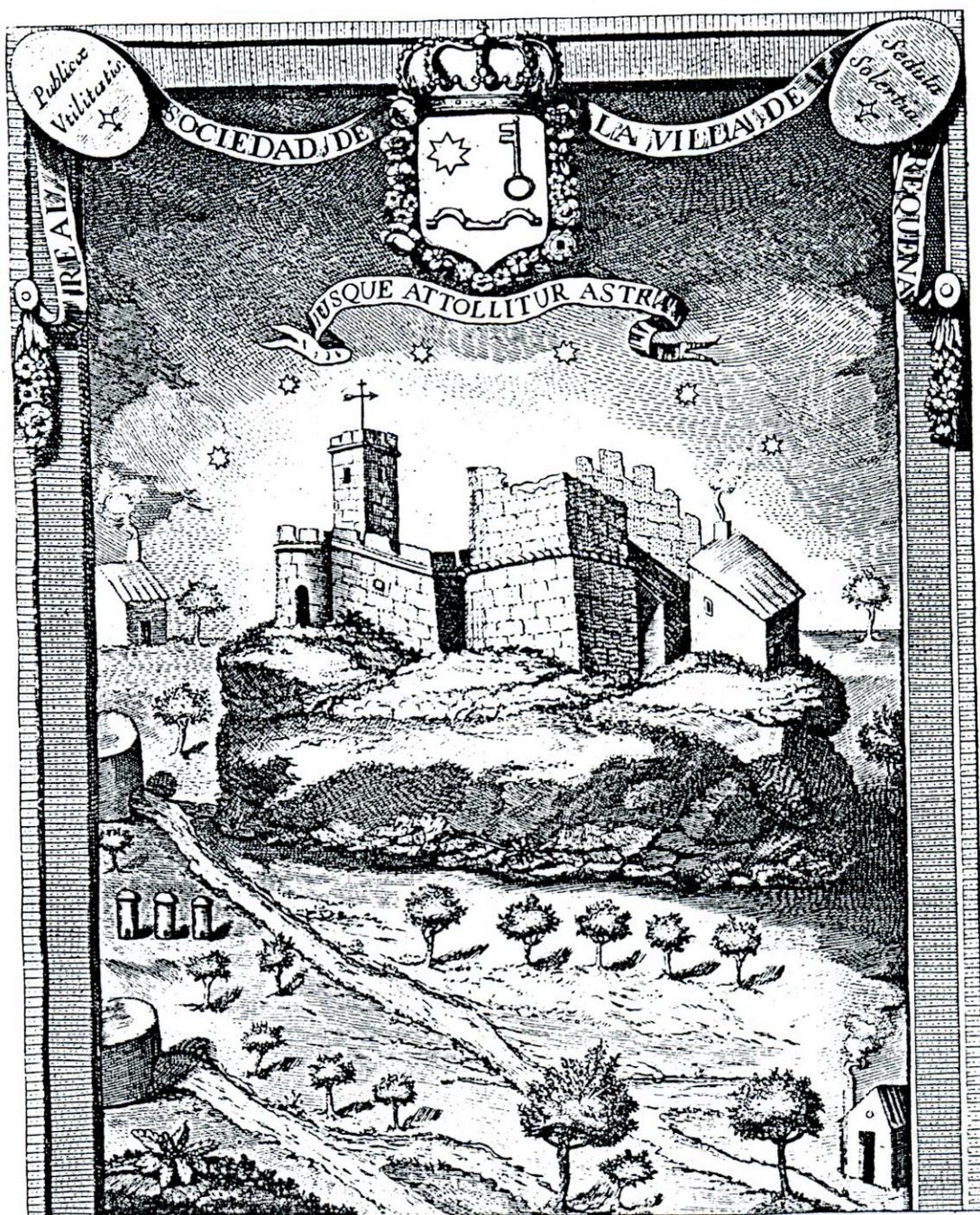


# OLEANA

Cuadernos de Cultura Comarcal



*Bombyce, et fructu, pastu, cum melle fluenti,  
REQUENA-tans, undis, sidere, clave, Jugo.*

Centro de Estudios Requenenses

N.º 2

# INFLUENCIA DE LA FERMENTACION MALOLACTICA, EN LA CALIDAD DE LOS VINOS PROCEDENTES DE LA VARIEDAD BOBAL, EN LA DENOMINACION DE ORIGEN UTIEL - REQUENA

por

M.<sup>a</sup> Angeles Novella, Pedro Pérez-Duque,  
Isabel Pardo.

Estación de Viticultura y Enología de Requena (Valencia).

«En las regiones frías y/o en los vinos de acidez suficientemente elevada el balance de las ventajas e inconvenientes de la fermentación maloláctica, parece netamente positivo».

CORDONNIER.

«No es exagerado decir, que sin la fermentación maloláctica, no existirían los grandes vinos tintos de Bordeaux, es completamente equivocado, considerar los grandes tintos de Bordeaux, como el resultado de la fermentación alcohólica pura».

RIBEAU-GAYON.

«La retrogradación maloláctica, es el segundo fenómeno biológico indispensable, para la perfecta maduración del vino».

BENVEGNIN.

«La desacidificación biológica, juega un papel precioso, en el afinamiento de los vinos de Bourgogne».

FERRÉ.

## RESUMEN

Se aislaron tres cepas de bacterias lácticas, de la familia *Streptococcaceae* (según Bergey's Manual of Determinative Bacteriology), en la comarca de Requena-Utiel. Dichas cepas han sido ensayadas en vino tinto directo, comparando actividad fermentativa y aparición de productos secundarios, con *Leuconostoc oenos* (starter comercial), utilizando un volumen testigo como referencia.

Posteriormente, se provocó la fermentación maloláctica, en un volumen de 1.500 l., el inóculo se componía de las tres cepas autóctonas, anteriormente citadas.

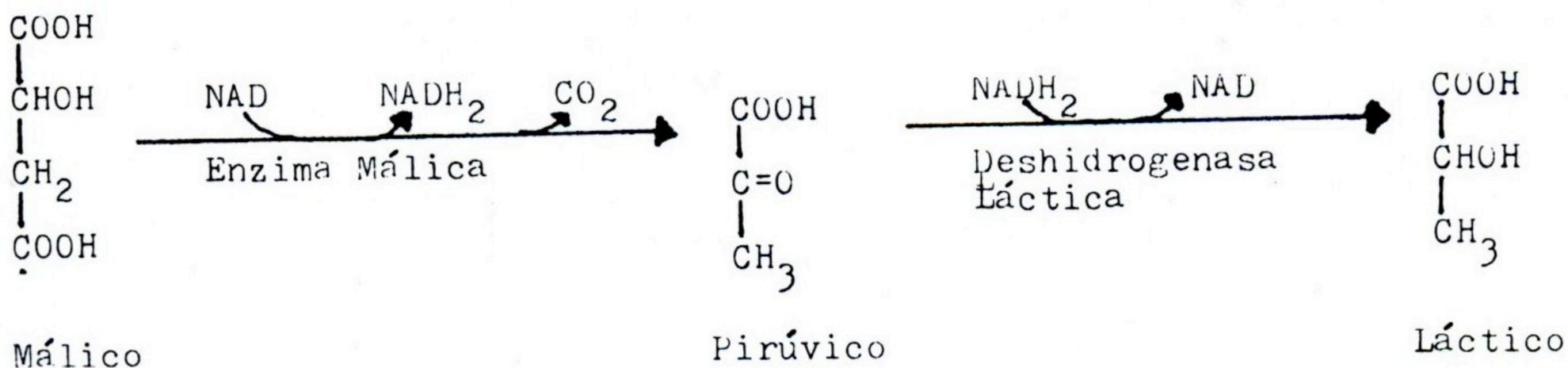
## INTRUDUCCION

La fermentación maloláctica, es una consecuencia del metabolismo de las bacterias lácticas, se funda en la desaparición del ácido L-málico de los vinos, con la correspondiente formación de ácido láctico.

El fenómeno fue descubierto por Koch (1900). Las investigaciones de Müller-Thurgau y Osterwalder (1913), los llevaron a la conclusión de que en los vinos, existen microorganismos capaces de descomponer el ácido L-málico en ácido láctico y anhídrido carbónico, a veces acom-

pañada de la formación de ácidos volátiles. Estos autores denominaron el proceso, como degradación biológica de la acidez.

Se trata de un verdadero proceso fermentativo. Según Jerchel, Flesch y Bauer, uno de los mecanismos perfectamente viables, sería:



### ¿QUE IMPORTANCIA TIENE LA FERMENTACION MALOLACTICA EN NUESTRA COMARCA?

Durante la campaña 85-86, se analizaron 92 muestras de mostos, correspondientes a diversas zonas de la comarca, pudiendo generalizar, que la concentración del ácido L-málico corresponde aproximadamente a un 40 % de los ácidos totales.

El ácido L-málico, en el vino, es el más interesante desde el punto de vista fisiológico, por ser más vulnerable al ataque de los microorganismos, que el tartárico o succínico, confiere un sabor áspero, agrio y duro, conocido como «verdor» en los vinos, porque recuerda el sabor a uva verde.

El ácido láctico, no se encuentra en la uva, se produce en pequeñas cantidades en la fermentación alcohólica, su contenido aumenta por descarboxilación del ácido L-málico en la fermentación maloláctica. Esta modificación en la composición química del vino, incide fundamentalmente, sobre su estabilidad, ya que el ácido láctico, es más estable microbiológicamente.

Un vino, elaborado a partir de uva sana, con una constitución normal, está expuesto a la inestabilidad biológica por causa de la flora microbiana, es una simple multiplicación vegetativa de los microorganismos, que producen formaciones macroscópicas, depositándose en el fondo o parte inferior de la botella almacenada.

La opinión coincidente de diversos autores (Ribereau-Gayon, Cordonnier, Lafon-Lafourcade), es, que la fermentación maloláctica, da suavidad al gusto, armonía al producto, acelerando la maduración, porque influye en una oxidación más rápida de la materia colorante, en definitiva, es un factor de calidad en los vinos.

En nuestra comarca, debido a la alta acidez total titulable, y probablemente, a los métodos de elaboración utilizados, no siempre se da dicha fermentación, es un proceso totalmente aleatorio, que cuando ocurre, de forma espontánea, suele coincidir con el aumento de las temperaturas de primavera.

Hay que tener en cuenta, que a pesar de los progresos prácticos, hoy conocidos, pueden obtenerse resultados mediocres, si no se consideran determinadas condiciones.

## MATERIAL Y METODOS

Las uvas de la variedad bobal, proceden del paraje denominado «La Pinada», en el término de San Juan (Requena), de excelente estado sanitario.

El mosto obtenido, tenía una densidad de 1090 y acidez total, expresada en tartárico 7'3 g/l., de la cual 2'41 g/l., corresponde al ácido L-málico. Se adicionó al mosto 10 g/Hl., de sulfuroso.

Se hicieron dos elaboraciones paralelas, con dos remontados diarios:

- 1.— se obtuvo aproximadamente 100 Ls., de vino (tinto directo)
- 2.— se obtuvo aproximadamente 1.500 Ls., de vino (tinto directo).

Las bacterias lácticas, utilizadas en la experiencia, han sido tres cepas autóctonas (73,77 y 6.162), aisladas en diferentes puntos de la comarca, en vino procedente de la variedad bobal, pertenecen a la familia Streptococacea (según Bergey's Manual of Determinative Bacteriology). La actividad fermentativa de estas cepas, fue ensayada, en el laboratorio, en medio nutritivo sintético, con una concentración de 3 g/l., de ácido L-málico, comprobando la total degradación del mismo. El starter comercial utilizado es *Leuconostoc oenos*.

Aparte de la analítica habitual en enología, se han realizado los siguientes análisis:

- acetaldehilo (método químico)
- ácido málico (cromatografía de papel)
- ácido láctico (método químico)
- ácido L-málico (método enzimático cuantitativo de Boehringer)
- ácido tartárico (método semicuantitativo de Merck)
- alcoholes superiores (cromatografía de gases con cromatógrafo Varian modelo 3700)
- medida de crecimiento bacteriano (mediante absorbancias en espectrofotómetro Varian modelo 634)
- pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias (Bergey's Manual of Determinative Bacteriology).

## RESULTADOS

Con el vino obtenido en la primera elaboración (100 l.), descubado a 1030 de densidad, se establecieron cinco experiencias al finalizar la fermentación alcohólica, cada una con un volumen de 20 l., de la siguiente forma:

- 1.— volumen testigo, no fue inoculado
- 2.— volumen inoculado con bacterias lácticas, cepa 73
- 3.— volumen inoculado con bacterias lácticas, cepa 77
- 4.— volumen inoculado con bacterias lácticas, *Leuconostoc oenos* (cepa comercial)
- 5.— volumen inoculado con bacterias lácticas, cepa 6162.

Todos los recipientes, se mantuvieron cerrados, en las mismas condiciones, y a 20°C de temperatura.

Durante la fermentación maloláctica, se efectuaron medidas de PH, para controlar la degradación del ácido L-málico, ya que éste es un ácido dicarboxílico, y el láctico, es un ácido monocarboxílico, con lo cual su carácter ácido es menor, conforme ocurre la transformación, el valor de PH aumenta, es un dato que obtenemos de forma inmediata.

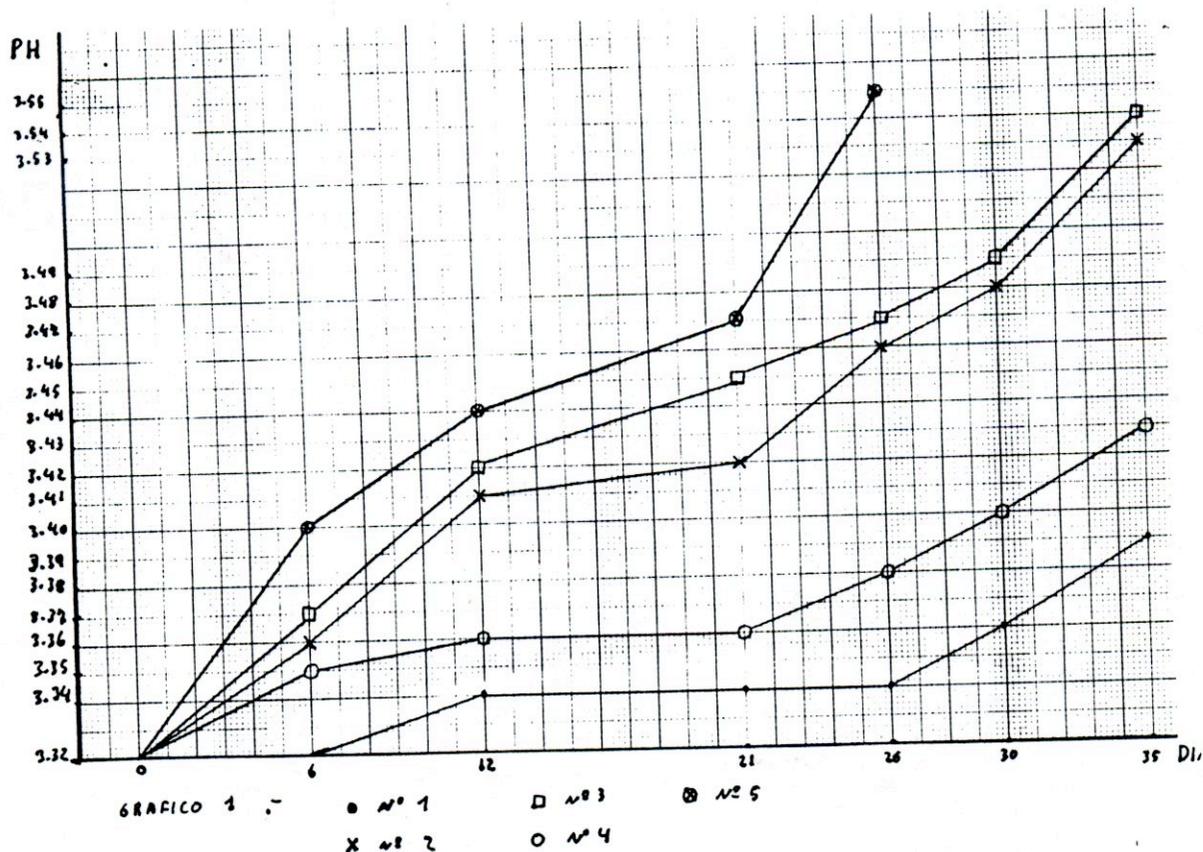
Determinadas bacterias lácticas, como consecuencia de su metabolismo, no producen láctico en razón estequiométrica al L-málico contenido (por una molécula de ácido L-málico, debe formarse una de ácido láctico), sino que parte de éste, es transformado en diversos productos

secundarios, entre ellos el ácido acético, por esta razón tienen intereses, los sucesivos controles de acidez volátil (no es conveniente que un vino sobrepase la cantidad de 1 g/l., expresada en acético), y en esta circunstancia radica la importancia, de elegir una cepa bacteriana adecuada.

La experiencia se inició el 8 de octubre, concluyéndola a los 35 días.

El gráfico 1, muestra el aumento paulatino del PH, se inicia la fermentación con un valor de 3.32 para el ácido L-málico degradado, aparecen valores de 3.54 y de 3.55. Hay que destacar la mayor rapidez de la cepa 6162, que había concluido la degradación a los 26 días.

El gráfico 2, muestra los valores de acidez volátil, expresada en g/l., de ácido acético, se inicia la fermentación maloláctica con 0,18 g/l., y alcanza los valores de 0.40 y 0.50 g/l., el máximo valor lo presentó el tésigo con 0.65 g/l., de acidez.



Experiencias	0 días	6 días	12 días	21 días	26 días	30 días	35 días
1 testigo	3.32	3.32	3.34	3.34	3.34	3.36	3.39
2 cepa 73	3.32	3.36	3.41	3.42	3.46	3.48	3.53
3 cepa 77	3.32	3.37	3.42	3.45	3.47	3.49	3.54
4 Leuconostoc oenos	3.32	3.35	3.36	3.36	3.38	3.40	3.43
5 cepa 6.162	3.32	3.40	3.44	3.47	3.55	—	—

Tabla 1.— Evolución de los valores PH, durante la fermentación maloláctica, corresponden estos valores al gráfico 1.

Experiencias	0 días	6 días	12 días	21 días	26 días	30 días	35 días
1 testigo	0.18	0.20	0.25	0.25	0.33	0.37	0.65
2 cepa 73	0.18	0.23	0.25	0.29	0.29	0.32	0.40
3 cepa 77	0.18	0.19	0.25	0.29	0.29	0.32	0.50
4 Leuconostoc oenos	0.18	0.19	0.25	0.25	0.25	0.31	0.40
5 cepa 6.162	0.18	0.20	0.25	0.25	0.40	—	—

Tabla 2.— Evolución de la acidez volátil, expresada en g/l., en ácido acético durante la fermentación maloláctica, corresponden estos valores a la acidez volátil real.

Esporádicamente se hicieron cromatografías de papel, para comprobar la degradación del ácido málico (es un método cualitativo), al terminar la experiencia, se hizo una valoración cuantitativa.

En la segunda elaboración, con volumen aproximado de 1.500 l., se descubrió a 1.030 de densidad, al finalizar la fermentación alcohólica, se inoculó, con las tres cepas de bacterias lácticas autóctonas el 27 de octubre, a los 20 días, el ácido L-málico, había sido degradado por completo, el vino se mantuvo aproximadamente a 20°C de temperatura.

Al igual que en la experiencia anterior, se efectuaron medidas periódicas de PH y de acidez volátil, y de forma esporádica, cromatografías de papel, para observar la evolución del ácido L-málico, al finalizar, se valoró de forma cuantitativa.

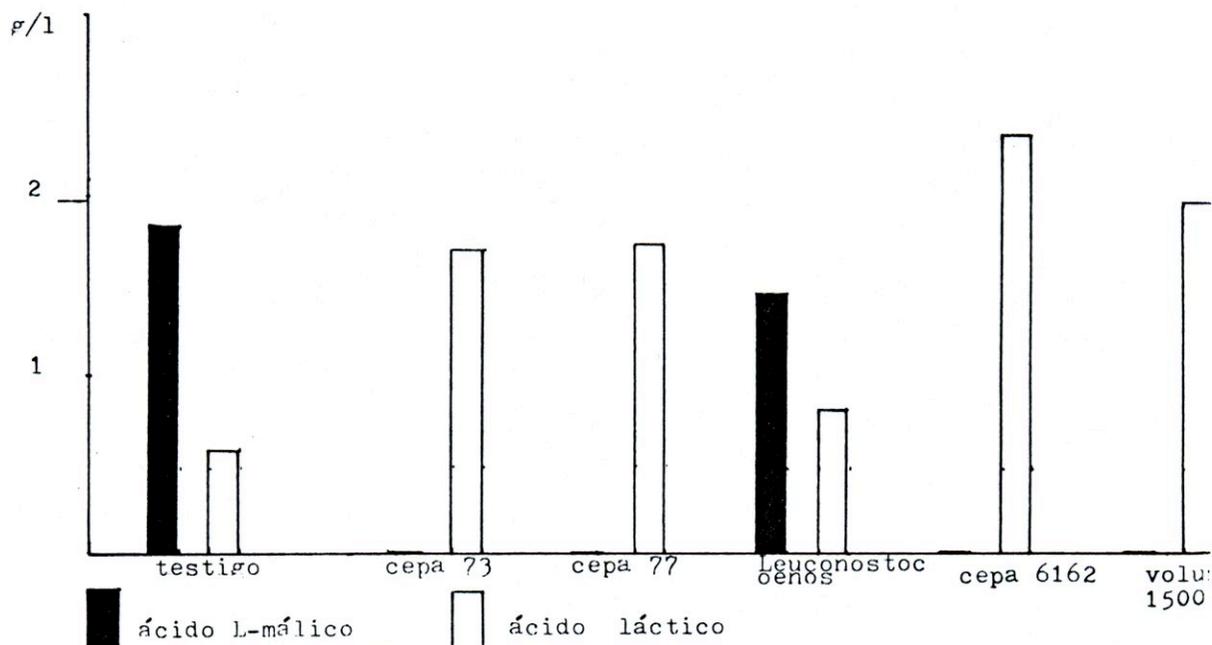
Como se expresa en la tabla siguiente, el valor del PH, al finalizar la fermentación maloláctica, coincide con la experiencia realizada en primer lugar. Los valores de acidez volátil, prácticamente no varían.

DIAS	PH	ACIDEZ VOLATIL
0	3.37	0.20
2	3.38	0.21
8	3.40	0.22
12	3.47	0.27
20	3.54	0.33

Finalizadas ambas experiencias, se hicieron los siguientes análisis, atribuyendo las diferencias encontradas, a la distinta concentración de ácido L-málico.

Experiencias Análisis	1	2	3	4	5	Volumen 1.500 L.
Igrado alcohólico	11.11	11.75	11.59	11.03	11.40	12.4
sulfuroso total mg/l.	71	70	70	70	70.5	69
sulfuroso libre mg/l.	10	10.2	10.5	10.2	10.1	10.3
acetaldehido mg/l.	54.1	55	57	60.2	55	61.6
PH	3.39	3.53	3.54	3.43	3.55	3.54
acidez volátil g/l., en ácido acético	0.65	0.40	0.50	0.40	0.40	0.33
acidez total g/l. en ácido tartárico	6.90	5.70	5.60	6.15	5.40	5.60
ácido L-málico g/l.	1.84	0	0	1.09	0	0
ácido láctico g/l.	0.58	1.66	1.65	0.81	2.30	1.94
ácido tartárico g/l.	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50

El diagrama de barras, expresa la relación de ácido L-málico degradado y ácido láctico producido. Según la estequiometría, de los 2'41 g/l., de L-málico que contenía el vino, debe aparecer 1'61 g/l., de láctico, la mayor cantidad formada, puede venir de la degradación de azúcares residuales, o ácidos como el cítrico o succínico, la desaparición de L-málico en el testigo, puede haber ocurrido por precipitación de sales, o por acción de las levaduras en la fermentación alcohólica.



## CONCLUSIONES

Hemos comprobado, que cualquiera de las tres cepas autóctonas, han degradado completamente el ácido L-málico, sin embargo la cepa comercial, en las mismas condiciones, no lo ha conseguido, lo cual viene a corroborar, la opinión de numerosos autores, acerca del mejor comportamiento, de las cepas autóctonas sobre las comerciales o de colección.

Respecto al aumento de la acidez volátil, que experimentan los vinos, en el transcurso de la fermentación maloláctica, es normal, son valores totalmente correctos, además la acidez volátil, suele aumentar, después del primer trasiego, sobre todo por descomposición del ácido cítrico en ácido acético, y cuando esta fermentación ocurre de forma espontánea, en los meses de primavera, suele alcanzar valores de 0.60 y 0.70 g/l.

Otro resultado significativo, fue el análisis organoléptico, se organizaron tres paneles de cata diferentes:

- comité de cata del Consejo Regulador de la Denominación de Origen Utiel-Requena.
- panel formado por técnicos de la zona
- panel formado por técnicos del sector de la exportación.

Todos coincidieron, en la mayor suavidad proporcionada, por la acción de las bacterias lácticas ensayadas, las muestras con fermentación maloláctica realizada, se consideraron, vinos de calidad, no sucedió así, con aquellas que contenían ácido L-málico, porque resultaron, de sabor áspero y ácido al paladar.

El vino ensayado con la cepa comercial, presentó menor intensidad de aromas que cualquiera de los ensayados con cepas autóctonas, y entre éstas, hay que destacar la acción de la cepa 6162, no sólo por la mayor intensidad, sino por la mayor persistencia de aromas.

Así pues, la fermentación maloláctica, además de conferir, una serie de cualidades organolépticas deseadas, influir en la formación del «bouquet», porque acelera la oxidación de la materia colorante, ofrece una gran ventaja, si el vino se destina a crianza, no sólo por la mayor estabilidad, también, por haber reducido ostensiblemente el tiempo, adelantamos de cinco a seis meses.

Nuestro trabajo, no termina en estos folios, el vino en cuestión, ha sido destinado a barricas de roble, al cual se le harán análisis químicos y organolépticos, hasta su completa crianza. Esta experiencia ha sido realizada en un volumen (1.500), que podemos considerar semi-industrial, en la próxima campaña, la realizaremos, en un volumen que oscilará alrededor de los 40.000 l., de tinto directo.

Hemos intentado abordar, uno de los múltiples factores que influyen en la calidad del vino, y que cuenta con nuestra plena satisfacción, queremos agradecer por ello a:

- Mariano Pérez Pedrón.
- Enriqueta Pérez Pedrón.
- Comité de cata del Consejo Regulador de la Denominación de Origen Utiel-Requena.
- Panel de cata formado por técnicos de la zona.
- Panel de cata formado por técnicos del sector de la exportación.

Y a las siguientes entidades cooperativas de la comarca:

- Conuva, S.A.
- Coviñas.
- Cooperativa Agrícola San José Obrero, Casas de Utiel.
- Cooperativa Agrícola de Utiel.
- Cooperativa del Campo, Camporrobles.
- Cooperativa Agrícola Albosa, Los Isidros.

- Cooperativa Agrícola La Purísima Concepción, Los Pedrones.
- Cooperativa Agrícola Nuestra Señora del Milagro, Los Ruices.
- Cooperativa Vinícola La Unión, La Portera.
- Cooperativa Viticultores, Requena.
- Cooperativa Vitivinícola, Sinarcas.
- Cooperativa Santa Rita, Fuenterrobles.

La colaboración que nos han prestado en este trabajo.

## BIBLIOGRAFIA

- Traite d'oenologia II  
J. Ribereau-Gayon et E. Peynaud.
- Enología teórico-práctica, vol. I  
Francisco Oreglia.
- L'attività malolattica nei vini  
C. Delfini e R. Di Stefano  
Vini d'Italia, marzo-aprile 1984.
- Bergey's Manual of Determinative Bacteriology  
R.C. Buchana, N.E. Gibbons, 8.<sup>a</sup> edition Williams Company Baltimore 1964.
- La fermentazione malolattica nei vini.  
Vini d'Italia, Rivista Internazionale d'enologia  
Pierluigi Bucelli, gennaio-febbraio.
- La fermentazione malolattica sotto l'aspetto microbiologico, clinico e tecnologico, Nota  
I, Vini d'Italia, 2, 125  
Gandini A., 1969.
- Lafon-Lafourcade S., Lucmaret V. et Joyeux A.  
Quelques observations sur la formation d'acide acetique par les bactéri lactiques.  
Conn. Vigne-Vin N.º 3, 1980.
- Traite d'Oenologia III  
J. Ribereau-Gayon et E. Peynaud.
- Rankine B.C. 1977  
Developments in malolactic fermentation of Australian red tables wines.  
Amerc. J. Enol. Viticul. 28, 27.
- Alfonso Pérez Duque Martínez.
- Andrés Ochando.