

VINOS

Influencia de la fermentación maloláctica, en la calidad de los vinos tintos, de la variedad bobal*

M.^a Angeles Novella, Pedro Pérez-Duque, Isabel Pardo
Estación de Viticultura y Enología
de Requena (Valencia)

INTRODUCCION

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

Por esta razón, y probablemente por los métodos de elaboración utilizados, la fermentación maloláctica, es un proceso aleatorio, que cuando ocurre de forma espontánea, suele coincidir, con el aumento de las temperaturas de primavera.

Sabiendo que el ácido L-málico, confiere al vino un sabor agrio, áspero y duro, conocido como «verdor», y que el ácido láctico, es más estable microbiológicamente, consideramos la fermentación maloláctica, como un proceso que mejora la calidad de los caldos (tinto directo), dando suavidad al gusto y armonía al producto.

El trabajo se fundamenta, en el aislamiento, en la variedad bobal, de tres cepas (73, 77 y 6162), de bacterias lácticas, que pertenecen a la familia *Streptococcaceae* (según *Bergey's Manual Determinative of Bacteriology*), dichas cepas, han sido ensayadas, en vino tinto directo (volúmenes de 20 l), procedente de bobal, con 2,41 g/l de ácido L-málico, comparando la actividad fermentativa y aparición de productos secundarios, con *Leuconostoc oenos* (stárter comercial), utilizando un testigo como referencia. Posteriormente se ha provocado la fermentación maloláctica, en un volumen de 1.500 l, cuyo inóculo estaba formado por las tres cepas autóctonas anteriormente citadas.

MATERIAL Y METODOS

Las uvas pertenecen a la variedad bobal, proceden del término de San Juan (Requena), de excelente estado sanitario.

El mosto obtenido, tenía una densidad (D_{20}^{20}) de 1.090, y acidez total, expresada en tartárico, de 7,3 g/l, de la cual, 2,41 g/l corresponde al ácido L-málico.

Se adicionó al mosto (previo a la fermentación alcohólica), 10 g/hl de anhídrido sulfuroso.

Se hicieron dos elaboraciones paralelas, con dos remontados diarios:

1. Se obtuvo aproximadamente 100 l de vino (tinto directo).
2. Se obtuvo aproximadamente 1.500 l de vino (tinto directo).

Las bacterias lácticas, utilizadas en la experiencia, han sido tres cepas autóctonas (73, 77 y 6162), aisladas en diferentes puntos de la comarca, en vino de la variedad bobal, pertenecen a la familia *Streptococcaceae* (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 stárter comercial utilizado es *Leuconostoc oenos*.

La analítica utilizada ha sido la siguiente:

- D_{20}^{20} , densidad a 20 °C, referida a la del agua, tomando para ésta un valor de 1.000 g/cc.
- Grado alcohólico, por destilación.
- Anhídrido sulfuroso (total y libre), método de Paul.
- Acidez volátil real, método García Tena.
- Acidez total, por volumetría.
- Acido málico, método cualitativo por cromatografía de papel.

- Acido L-málico, método enzimático cuantitativo de Boehringer.
- Acido láctico, método químico.
- Acido tartárico, método semicuantitativo de Merck.
- Alcoholes superiores, por cromatografía de gases con cromatógrafo Varian, modelo 3700.
- Medida de crecimiento bacteriano, por absorbancias, en espectrofotómetro Varian, modelo 634.
- Medida de pH, con pH-metro Radiometer Copenhagen 82.

RESULTADOS Y DISCUSION

Con el vino obtenido en la primera elaboración (100 l), descubierto a 1.030 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* (stárter 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, es un dato inmediato, para comprobar la evolución, de la degradación del ácido L-málico.

Uno de los productos secundarios que pueden aparecer, como consecuencia del metabolismo bacteriano, y de gran importancia, es el ácido acético, por esta razón tienen interés, los sucesivos controles de acidez volátil (no es

* (Comunicación presentada, en la Primera Reunión Nacional de Biotecnología, celebrada en la Universidad de León, julio 1986.)

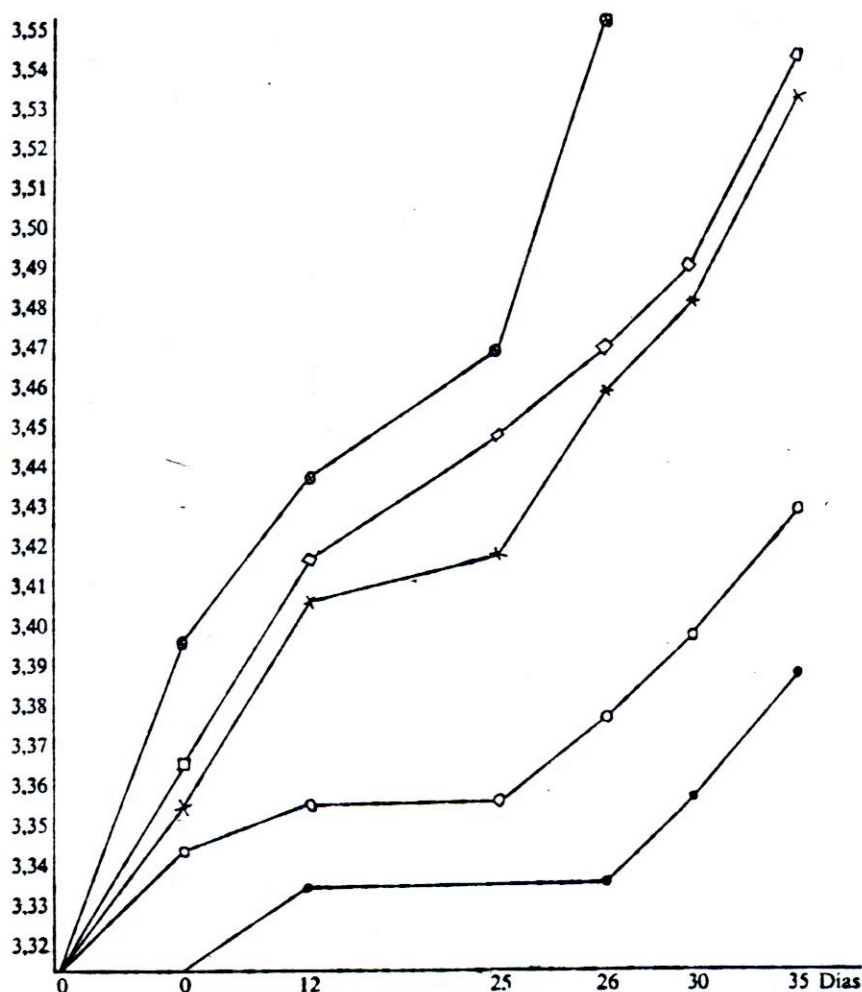


Gráfico 1. ● Testigo, × Cepa 73, □ Cepa 77, ○ Cepa comercial (*Leuconostoc oenos*), ⊗ Cepa 6162.

TABLA 1

Evolución de los valores de pH, durante la fermentación maloláctica, corresponden estos valores al gráfico 1

Experiencias	Dias	0	6	12	21	26	30	35
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	<i>Leuconostoc oenos</i>	3,32	3,35	3,36	3,36	3,38	3,40	3,43
5	Cepa 6162	3,32	3,40	3,44	3,47	3,55	—	—

TABLA 2

Evolución de los valores de acidez volátil real, expresada en g/l de ácido acético, se inicia la fermentación maloláctica con 0,18 g/l, y alcanza valores de 0,40 y 0,50 g/l, el máximo valor lo presentó el testigo con 0,65 g/l

Experiencias	Dias	0	6	12	21	26	30	35
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	<i>Leuconostoc oenos</i>	0,18	0,19	0,25	0,25	0,25	0,31	0,40
5	Cepa 6162	0,18	0,20	0,25	0,25	0,40	—	—

conyeniente que un vino sobrepase la cantidad de 1 g/l, expresada en ácido acético), y en esta circunstancia, radica la importancia, de elegir una cepa bacteriana adecuada.

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

Esporádicamente se hicieron cromatografías de papel, para observar la evolución del ácido L-málico, al finalizar la experiencia, se realizó una valoración cuantitativa.

El gráfico 1 muestra el aumento paulatino del pH. Se inicia la fermentación con un valor de 3,32, y para el ácido L-málico degradado, aparecen valores de 3,54 y 3,55. Hay que destacar la mayor rapidez de la cepa 6162, que había concluido la degradación a los 26 días.

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 totalmente, el vino se mantuvo aproximadamente a 20 °C de temperatura.

Se realizaron el mismo tipo de medidas y controles, que en la experiencia anterior.

El diagrama de barras, expresa la relación de ácido L-málico no 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

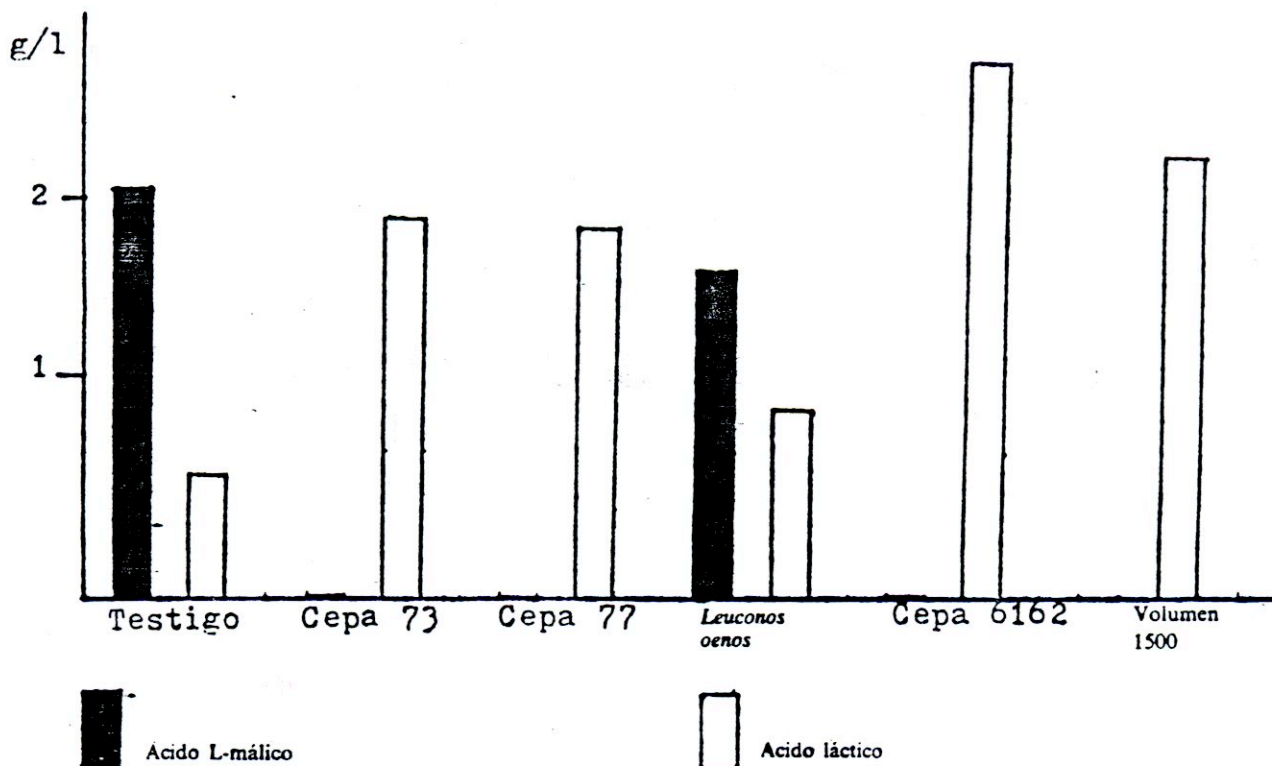


TABLA 3

Estos valores corresponden al volumen de 1.500 l, el valor de pH, al finalizar la fermentación maloláctica, coincide con la experiencia realizada en primer lugar. Los valores de acidez volátil prácticamente no varían

Días	pH	A. volátil real
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

formada, puede venir de la degradación de azúcares residuales o ácidos como el cítrico o succínico. La desaparición del ácido L-málico en el testigo puede haber ocurrido por precipitación de sales, o por acción de las levaduras, en la fermentación alcohólica.

Los datos analíticos, al concluir las experiencias, son:

Experiencias	Testigo	Cepa 73	Cepa 77	Leuco oenos	Cepa 6162	Vol. 1500
Grado alcohólico	11,11	11,75	11,59	11,03	11,40	12,40
Anhidrido sulfuroso Libre mg/l	10	10,2	10,5	10,2	10,1	10,3
Anhidrido sulfuroso Total mg/l	71	70	70	70	70,5	69
Acidez total g/l en ácido tartárico	6,90	5,70	5,60	6,15	5,40	5,60
Acidez volátil g/l en ácido acético	0,65	0,40	0,50	0,40	0,40	0,33
pH	3,39	3,53	3,54	3,43	3,55	3,54
Acetaldehído mg/l	54,1	55	57	60,2	55	61,6
Acido L-málico g/l	1,84	0	0	1,09	0	0
Acido láctico g/l	0,58	1,66	1,65	0,81	2,30	1,94
Acido tartárico g/l	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50
Alcoholes superiores	En los alcoholes cromatografiados, no se aprecian diferencias significativas.					

CONCLUSIONES

Hemos comprobado que cualquiera de las tres cepas autóctonas han degradado completamente el ácido L-málico, sin embargo la cepa comercial, no lo ha conseguido, en las mismas condiciones, 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, dicha acidez, puede aumentar después del primer trasiego, sobretodo por descomposición del ácido cítrico en ácido acético, y cuando ésta 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 inducida, 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

el aumento de estabilidad, también, por haber reducido ostensiblemente el tiempo, adelantamos de cinco a seis meses.

BIBLIOGRAFIA

- Bertrand, y Suzuca, K.: *Formation du butanol-2 par les bactéries lactiques isolées du vin*. Conn. Vigne-vin, n.º 4, 1976.
- Lafon-Lafourcade, S., y Peynaud, E.: *Sur l'action anti-bactérienne de l'anhydride sulfureux sous forme libre et sous forme combinée*. Conn. Vigne-vin, n.º 2, 1975.
- Lafon-Lafourcade, S.: *De la fermentescibilité malolactique des vins: interaction levures-bactéries*. Conn. Vigne-vin, n.º 3, 1974.
- Oreglia, F.: *Enologia teórico-práctica*, vol. I.
- Delfini, C., y Di Stefano, R.: *Latticità malolattica nei vini*. *Vini d'Italia*, marzo-abril, 1984.
- Buchana, R. C., y Gibbons, N. E.: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8ª edición, Williams Company, Baltimore, 1964.
- Bucelli, P.: *La fermentazione malolattica nei vini*. *Vini d'Italia*, enero-febrero, 1982.
- Gandini, A.: «La fermentazione malolattica sotto l'aspetto microbiologico, clinico e tecnologico», *Nota I*, *Vini d'Italia*, 2, 125, 1969.
- Ribereau-Gayon, J., y Peynaud, E.: *Traité d'oenologie II*.
- Lafon-Lafourcade, S.; Lucmaret, V., y Joyeux, A.: *Quelques observations sur la formation d'acido acetique par les bactéries lactiques*. Conn. Vigne-vin, n.º 3, 1980.
- Rankine, B. C.: «Developments in malolactic fermentation of Australian red table wines», *Amer. Enol. Viticul.* 28, 27, 1977.