

# Microbiología de la fermentación maloláctica. Generalidades

por M.<sup>a</sup> JOSÉ GARCÍA GARCERÁ e ISABEL PARDO CUBILLOS  
Departament de Microbiologia. Facultat de Biologia. Universitat de València

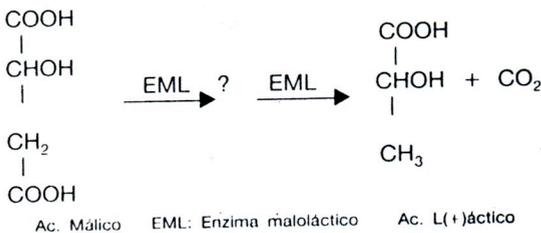
## Introducción histórica

Pasteur (1873) en su obra «Etudes sur le vin» describía a las bacterias lácticas como organismos causantes de enfermedades en el vino. Sólo en los albores de este siglo, se observó que en vinos con un bajo contenido de dióxido de azufre (SO<sub>2</sub>) frecuentemente se daba una fermentación que no era necesariamente perjudicial sino, que muchas veces resultaba incluso deseable. Desde entonces han proliferado los estudios sobre este tema. La importancia de este fenómeno queda constatada por la afirmación de Ribéreau-Gayon (1) en su famoso Tratado de Enología: «No es ninguna exageración decir que no existirían los grandes vinos de Burdeos sin la fermentación maloláctica (F. M.)».

## ¿Qué es la fermentación maloláctica?

La F. M. constituye, junto con la fermentación maloalcohólica, uno de los métodos de desacidificación biológica de un vino. La F. M. consiste en la descarboxilación del ácido málico por parte de las bacterias lácticas del vino, dando como productos ácido láctico y dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>).

El mecanismo que hasta el momento se propone para este fenómeno es el siguiente (4):



A la vista de esta reacción la primera conclusión que se extrae es que la F. M. conlleva un aumento del pH del vino. Esto es así puesto que durante este proceso, el ácido málico (ácido dicarboxílico que constituye muchas veces el 50% de la acidez total de un mosto o vino) se convierte en ácido láctico, que únicamente posee un grupo ácido. Además de esta consecuencia inmediata, la F. M. trae consigo otra serie de cambios en el vino, de manera que es difícil considerar este fenómeno como totalmente deseable o no en términos de calidad final del producto elaborado. Las ventajas o inconvenientes de la F. M. dependerán de la región vitivinícola, de la variedad de uva, de la composición del vino, de las técnicas de vinificación empleadas y por supuesto,

de los objetivos del elaborador (7). Por tanto, será necesario conocer los mecanismos de control (estimulación e inhibición) para alcanzar los fines perseguidos.

## Agentes de la fermentación maloláctica

Los mostos y vinos constituyen medios altamente selectivos para el desarrollo bacteriano debido al contenido en alcohol de los últimos y al bajo pH de ambos. Únicamente grupos especializados de bacterias consiguen sobrevivir y multiplicarse en medio tan hostil. Las bacterias lácticas y las bacterias acéticas pertenecen a estos grupos.

Las bacterias lácticas responsables de la F.M. pertenecen, generalmente, a los géneros *Lactobacillus*, *Leuconostoc* y *Pediococcus*. Estas bacterias se dividen en dos grupos: Homofermentativas si fermentan la glucosa y la fructosa produciendo casi exclusivamente ácido láctico (95-100%) y heterofermentativas que fermentan la glucosa produciendo ácido láctico, etanol y CO<sub>2</sub> en proporciones que varían según la cepa y el medio. Los microorganismos heterofermentativos producen manitol a partir de la fructosa. Son homofermentativas todas las especies de *Pediococcus* y algunas del *Lactobacillus*. Son heterofermentativas todas las especies del *Leuconostoc* y algunas de *Lactobacillus* (2).

Existen una serie de parámetros físico-químicos en los vinos que influyen de manera decisiva sobre el crecimiento de las bacterias lácticas que se encuentran en el mismo. Estos factores son: pH, temperatura, concentración de SO<sub>2</sub>, concentración de etanol, contenido de CO<sub>2</sub> y requerimientos nutricionales. Cuanto más bajos son los valores de pH y de temperatura el crecimiento bacteriano se encuentra más ralentizado, llegando incluso a inhibirse; lo mismo sucede cuanto mayor es la concentración de etanol y la de SO<sub>2</sub>. El papel del CO<sub>2</sub> y de los requerimientos nutricionales suscita cierta controversia entre los autores.

Generalmente estos microorganismos se encuentran en la superficie de los frutos y de las hojas de la vid, en un número moderado dependiendo de la madurez y del estado sanitario de las plantas. El equipo de bodega, tanques de almacenamiento, bombas, válvulas, barriles de madera o máquinas embotelladoras también son fuentes de bacterias lácticas. Una vez estrujadas las uvas estos microorganismos pasan al mosto. Si durante el proceso de vinificación las circunstancias son favorables para su crecimiento se desarrollarán hasta alcanzar una población suficiente.

te para dar lugar a una F.M. espontánea. De todos modos, el momento en el que se da la F.M. resulta bastante impredecible. Dicho proceso puede suceder inmediatamente tras la fermentación alcohólica o incluso, a veces, después de haber sido embotellado el vino. Cuando esto último ocurre se considera perjudicial para el vino que lo sufre.

Por otro lado, es sabido que la limpieza y esterilización del material de bodega así como la adición de  $\text{SO}_2$ , para obviar el problema de las contaminaciones, son prácticas fundamentales en la elaboración de vinos. La implantación de estas prácticas eliminan casi por completo la posibilidad de una F.M. espontánea.

## EFFECTOS BENEFICIOSOS DE LA FERMENTACION MALOLACTICA

### 1. Reducción de la acidez

Como ya hemos explicado con anterioridad, la F.M. constituye uno de los métodos de desacidificación biológica de un vino. Por este motivo es deseable y, a menudo es fomentada en regiones frías, productoras de uvas ácidas, confiriéndole al vino resultante una mayor suavidad.

### 2. Modificación de las características organolépticas

Aunque existen estudios que indican que la F.M. no altera significativamente las características sensoriales del vino, otros muestran que dicha fermentación sí las afecta debido al metabolismo bacteriano, que conlleva la producción de compuestos secundarios. Algunos autores afirman que la cepa bacteriana que lleva a cabo la F.M. influye decisivamente en las características del vino obtenido. Estas modificaciones se deben a la producción por parte de dichas bacterias de determinados compuestos entre los que se encuentran: acetaldehído, etanol, diacetilo, acetoína y 2,3-butanodiol. La producción de estos compuestos será favorable para la calidad organoléptica de un vino siempre que no excedan determinados niveles, puesto que de lo contrario pueden ser la causa de defectos en el mismo.

A pesar de que en regiones cálidas el efecto de la desacidificación no es deseado generalmente, en algunos casos se han obtenido vinos

de excelente calidad después de haber sufrido la F.M. Se ha sugerido que esto es debido a que la mayor complejidad organoléptica obtenida gracias a dicho proceso compensa la falta de acidez de este tipo de vinos.

### 3. Estabilidad microbiológica.

Es sabido que al ácido málico que contiene un vino ya terminado puede sustentar una población de bacterias lácticas suficiente para que se dé la F.M., sobre todo si el vino no ha sido esterilizado previamente.

Una de las principales razones a favor de la F.M. es que los vinos que la sufren son, desde el punto de vista microbiológico, más estables que aquellos en los que no se ha dado. Tanto es así que Rankine (3) afirma que la F.M. se considera una parte esencial de la maduración de los vinos de mesa tintos, los cuales no son biológicamente estables hasta que dicha fermentación ha sido completada.

En general, pocos bodegueros se arriesgan a embotellar el vino antes de que la F.M. haya concluido ya que si se da esta reacción en la botella, el sedimento, la turbidez y el gas producidos como consecuencia de la misma, provocan el rechazo del producto. Sin embargo, hay que tener en cuenta que la estabilidad tras la citada fermentación no es absoluta, puesto que el vino terminado aún contiene nutrientes que pueden mantener un crecimiento bacteriano considerable.

## EFFECTOS NO DESEABLES DE LA FERMENTACION MALOLACTICA

### 1. Cambios debidos al metabolismo celular.

#### 1.1. Oxidación del ácido tartárico.

Provoca el aumento de la acidez volátil por producción de ácido acético. El aroma a col fermentada es debida a la formación de acetoína. Es la denominada «vuelta» del vino (4).

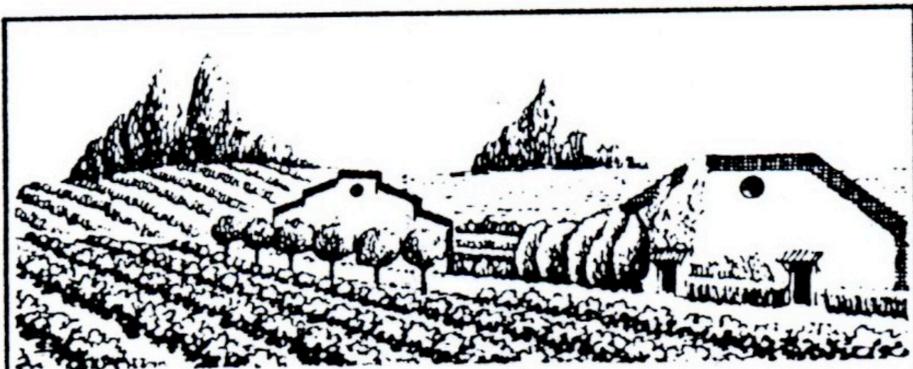
#### 1.2. Metabolismo del glicerol con formación de acroleína que confiere un sabor amargo al vino (4).

#### 1.3. Degradación de azúcares, que conduce a un aumento de la acidez fija y volátil por la producción de ácido láctico y ácido acético respectivamente. Es la llamada picadura láctica.

#### 1.4. Producción de manitol a partir de fructosa que provoca un sabor amargo al vino. Únicamente lo producen las bacterias heterofermentativas. Se denomina fermentación manítica o manita.

#### 1.5. Oxidación del ácido cítrico, que conduce a la formación de ácido acético, acetoína, diacetilo y 2'3-butanodiol. Estos últimos, en cantidades excesivas, pueden dar lugar a alteraciones en el vino.

#### 1.6. Formación de dextrano, que da lugar a la formación de películas de carbohidratos y que le confieren al vino un aspecto oleoso. Esto es provocado por las especies *Leuconostoc dextranicum* y *Leuconostoc mesenteroides*.



## BODEGAS TORRES FILOSO

Tel. (967) 14 00 90  
02600 VILLARROBLEDO (Albacete)

197

1.7. Producción de histamina. Los principales agentes de este fenómeno son especies pertenecientes al género *Pediococcus*.

## 2. Cambios producidos directamente por la desacidificación del vino.

2.1. La F.M. puede considerarse desaconsejable si la desacidificación provoca un vino plano e insípido.

2.2. La pérdida de acidez produce pérdida de color. Es el fenómeno denominado «blanqueamiento» del vino. Este fenómeno consiste en lo siguiente: las bacterias lácticas pueden atacar compuestos que se encuentran unidos al  $\text{SO}_2$ , este  $\text{SO}_2$  liberado se puede entonces combinar con los polifenoles del vino cambiando su estado de oxidación y haciéndoles pasar a su forma incolora.

2.3. Con el descenso de la acidez el vino resulta un medio más favorable para el crecimiento de otras especies microbianas perjudiciales y, por tanto, más susceptible de deterioro.

## CONTROL DE LA FERMENTACION MALOLACTICA

La gran influencia que tiene la F.M. sobre la calidad de los vinos, ha llevado a los bodegueros y enólogos a buscar métodos de control de dicho proceso. La F.M. debe potenciarse o no tras la realización de catas y análisis que apoyen la decisión a tomar para cada tipo de vino. La consecución de la F.M. no es siempre fácil ya que, aquellos vinos en los que sería interesante provocarla (vinos de elevada acidez), resultan un medio muy hostil para las bacterias lácticas debido a su bajo pH. El mejor control de este proceso requiere un profundo conocimiento de las cepas bacterianas implicadas en el mismo así como de los componentes del vino. En otras palabras, el enólogo se encuentra ante dos problemas: a) control del crecimiento microbiano y b) control del ataque a posibles sustratos metabolizables por dichas bacterias y que puedan provocar enfermedades en el vino (5).

### 1. Activación de la fermentación maloláctica.

1.1. Selección de condiciones que favorezcan el crecimiento de la flora maloláctica natural de un vino. Por ejemplo Lafon-Lafourcade (4) propone ajustar la temperatura del vino entre 19-20°C y una sulfitación moderada.

1.2. Inducción de la F.M. en vinos mediante la mezcla con vinos que están llevándola a cabo o acaban de realizarla.

1.3. Inoculación de cultivos puros de cepas bacterianas. Estos cultivos pueden ser, bien comerciales, o bien, preparados a partir de la flora autóctona de la zona a la que pertenece el vino a inocular.

Lafon-Lafourcade (4) sugiere que una inoculación masiva de bacterias lácticas puede compensar los efectos desfavorables de un bajo pH, de una elevada concentración alcohólica, de una baja temperatura y de una excesiva adición de  $\text{SO}_2$ .

Existe cierta controversia sobre el momento más adecuado para realizar la inoculación de un vino con estas bacterias. Mientras algunos autores afirman que se deben inocular ya en el mosto, otros piensan que el mejor momento para la inoculación es una vez terminada la fermentación alcohólica, incluso para algunos el momento de la inoculación carece de importancia. Nosotros pensamos que las inoculaciones deben realizarse una vez terminada la fermentación alcohólica puesto que es entonces cuando la presencia de azúcares en el vino es mínima (evitando así la picadura láctica) y porque la competencia con las levaduras es menor.

1.4. Otros. En este grupo se incluyen técnicas sofisticadas de potenciación de la F.M., que hoy en día se encuentran en estudio o que todavía resulta caro ponerlas a punto en una bodega. Estos métodos son:

- Empleo de enzimas y células inmovilizados.
- Adición de sustancias potenciadoras del crecimiento como son extracto de levadura e hidrolizados tripsicos.
- Técnicas de ingeniería genética.

El método más empleado hoy por hoy para conseguir una F.M. en vinos es por medio de una inoculación de bacterias seleccionadas, puesto que además de conseguir una desacidificación, el elaborador, generalmente, pretende también incrementar la complejidad organoléptica de sus vinos y, por supuesto, evitar en todo lo posible cualquier fenómeno indeseable.

Atendiendo a esto Delfini (6) estableció qué características debía reunir la bacteria maloláctica ideal:

- Poseer una elevada actividad maloláctica.
- Crecimiento rápido a  $\text{pH} < 3.3$ .
- Inactividad frente al ácido cítrico.
- Inactividad frente al ácido tartárico.
- Baja producción de acetoina y diacetilo.
- Buena producción de glicerina.
- Producción baja o nula de histamina.
- Producción nula de dextrano.
- Producción de sustancias aromáticas deseables.
- Utilización homoláctica de glucosa y fructosa.
- Buena resistencia al  $\text{SO}_2$  y a la elevada graduación alcohólica.

A pesar de que muchas especies de bacterias lácticas son capaces de realizar la F.M., *Leuconostoc oenos* está considerada como la bacteria

**BODEGA COOPERATIVA  
«VIRGEN DE LA ASUNCION»**

**Vinos de calidad**

**09442 LA HORRA (Burgos)**

maloláctica por excelencia. Esto es así bien porque generalmente es la que lleva a cabo la F.M., bien porque las especies de *Lactobacillus* y *Pediococcus* que en ocasiones la realizan, se encuentran asociadas, generalmente, con enfermedades del vino que se pueden dar a consecuencia de este proceso. *Leuconostoc oenos* es considerada como la especie más apropiada para la consecución de la F.M. ya que resiste bien los bajos pH, la elevada graduación alcohólica, es muy activa en la degradación del ácido málico, etc. Aunque nunca hay que excluir las demás especies de un estudio profundo ya que todas poseen unas propiedades que de algún modo pueden resultar interesantes en la elaboración de vinos; o en todo caso es importante conocer cómo inhibirlas en el caso de que así interese.

## 2. Inhibición de la fermentación maloláctica.

En el caso de que interese una inhibición de la F.M., habrá que seleccionar unas condiciones que restrinjan o impidan el crecimiento bacteriano. Dependiendo de las diferentes formas de vinificación y legislaciones de cada región así como de los objetivos del elaborador, se podrá actuar sobre el vino para que las bacterias lácticas sean incapaces de realizar dicho proceso.

Estas condiciones, según Davis *et al.* (7) podrían ser las siguientes:

- 2.1. Mantenimiento de una baja temperatura de almacenamiento.

- 2.2. Ajustar la concentración de SO<sub>2</sub> total a niveles adecuados.
- 2.3. Trasiago y clarificación temprana.
- 2.4. Reducción del tiempo de contacto del mosto con los hollejos.
- 2.5. Pasteurización.
- 2.6. Filtración esterilizante.

Con todo lo expuesto anteriormente se hace evidente el interés de llegar a un conocimiento profundo de las bacterias lácticas del vino así como de las condiciones propicias o no para su desarrollo. Del control de las mismas depende en gran medida la calidad de un vino y, por tanto, la economía de todo un sector, que en muchas regiones es el de mayor importancia.

## BIBLIOGRAFIA

- (1) Ribéreau-Gayon, J.; Peynaud, E.; Saudraud, P.; Ribéreau-Gayon, P. (1975) «Traité d'Oenologie. Sciences et Techniques du vin». Tomo 2. Dunod. Paris.
- (2) Benda, I. (1982). «Wine and brandy». En: Prescott & Dunn's Industrial Microbiology, 4th. ed. G. Reed (Ed.) pp 293-402. AVI Publishing Company, Westport, CT.
- (3) Rankine, B. C. (1963). «The microbiology of winemaking». Aust. Wine. Brew. Spirit. Rev. 31: 11-16.
- (4) Lafon-Lafourcade, S. (1983). «Wine and Brandy». En: Biotechnology. Vol. 5. H. J. Rehm and G. Reed (Eds.) pp 81-163. Verlag-Chemie, Weinheim.
- (5) Lafon-Lafourcade, S.; Ribéreau-Gayon, P. (1984). «Developments in the microbiology of wine production». En: Progress in industrial microbiology, pp 1-45. Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam. Netherlands.
- (6) Delfini, C. (1983). «Studio sull'attività biologica della schizoflora lattica nei mosti e nei vini. I. Contributo». Vigne Vine. 10: 67-74.
- (7) Davis, C. R.; Wibowo, D. J.; Eschenbruch, R.; Lee, T. H.; Fleet, G. H. (1985). «Practical implications of malolactic fermentation. A review». Am. J. Enol. Vitic. 36: 302-313.