Mejora de las propiedades y la vida útil de un cultivo maloláctico líquido

Yolanda Escribano[1], Eva Navascués[1], Mar Albendea[1], Isabel Pardo[2], Carmen Berbegal[2], Sergi Ferrer[2]

[1]Agrovin S.A. Av. De los Vinos s/n (P.I. Alces) 13600 Alcázar de San Juan (Ciudad Real)
[2]ENOLAB, ERI-ISIC BioTecMed. Universitat de València. C/ Dr. Moliner 50. 46100 Burjassot-València
Sergi.Ferrer@uv.es

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

La fermentación maloláctica (FML) se lleva a cabo cada vez más frecuentemente empleando cultivos iniciadores, especialmente de la especie *Oenococcus oeni*. Una de las posibilidades del uso de los cultivos iniciadores es inocular cultivos líquidos, que han sido desarrollados y se emplean desde hace años a nivel industrial. La mejora de las características de dichos cultivos, su facilidad de conservación, la supervivencia de las células, y mejorar la facilidad de empleo han sido los objetivos perseguidos en este trabajo.

De entre las distintas posibilidades de mejora realizadas, presentamos en este trabajo la optimización de la fuente de nitrógeno para el crecimiento y adaptación de las células bacterianas que constituyen el cultivo iniciador maloláctico. El objetivo principal ha sido la mejora de las condiciones de producción, almacenamiento, distribución y uso de dicho cultivo líquido, alargando al mismo tiempo los límites de especificación y vida útil del mismo.

RESULTADOS

Se han ensayado tres fuentes de nitrógeno (N-1, N-2 y N-3) distintas al extracto de levadura usado habitualmente (denominado "control" en este trabajo) para la formulación del medio de producción del cultivo iniciador de *O. oeni*. Las bacterias han sido crecidas en medios de producción con esas combinaciones de fuentes de nitrógeno, y se ha observado que los cultivos iniciadores formulados con fuentes de nitrógeno alternativas, presentan las mismas tasas de crecimiento y alcanzan los mismos niveles de biomasa que el cultivo iniciador con fuente de nitrógeno control, con valores siempre superiores a 10^9 UFC/mL (Figura 1). Ello indica que cualquiera de las tres fuentes de nitrógeno alternativas puede sustituir con garantías al extracto de levadura que se emplea habitualmente.

Por contra, al estudiar la viabilidad de los cultivos obtenidos con las 4 fuentes de nitrógeno, se observa claramente que cualquiera de las tres alternativas al extracto de levadura (fuentes N-1, N-2 y N-3) tiene un efecto positivo en cuanto a la viabilidad de las células del cultivo iniciador a lo largo del tiempo (Figura 2). Con fuentes de nitrógeno alternativas, la viabilidad se mantiene por encima de 10^9 UFC/ml hasta 140 días, abriendo la posibilidad de ampliar la vida útil del producto, establecida inicialmente en 90 días. De este modo, se amplían sensiblemente el límite de vida útil y el límite de especificación.

La viabilidad de las bacterias en vino tinto (ác. málico: 1.71 g/L; pH: 3.80; SO_2 libre: 2 mg/L; SO_2 total: 16 g/L; grado alcohólico: 13.84 % vol) es similar tras ser inoculadas con cultivos iniciadores, independientemente de la fuente de nitrógeno utilizada en la formulación del medio de cultivo. En todos los casos se observaron recuentos superiores a 10^6 UFC/mL a las 24 h desde la inoculación (Figura 1).

En cuanto a la actividad maloláctica, los cultivos iniciadores formulados con fuentes de nitrógeno alternativas, son igualmente eficaces en la degradación de ácido málico que el cultivo iniciador original, manteniendo por tanto la actividad metabólica (Figura 3).

Figura 1. Resultados de recuento de bacterias lácticas (BL) en cultivo iniciador tras el crecimiento en fermentador, y en vino tras 24 horas de ser inoculado

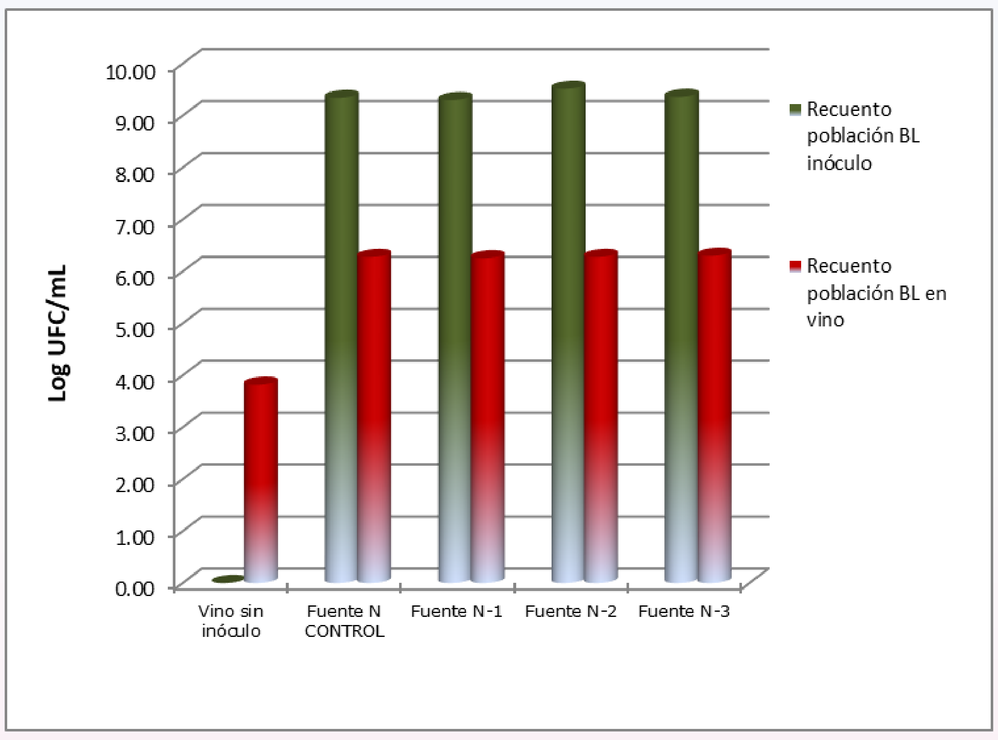


Figura 2. Evolución en el tiempo de la población de *Oenococcus oeni* en cultivos iniciadores líquidos con distintas fuentes de nitrógeno

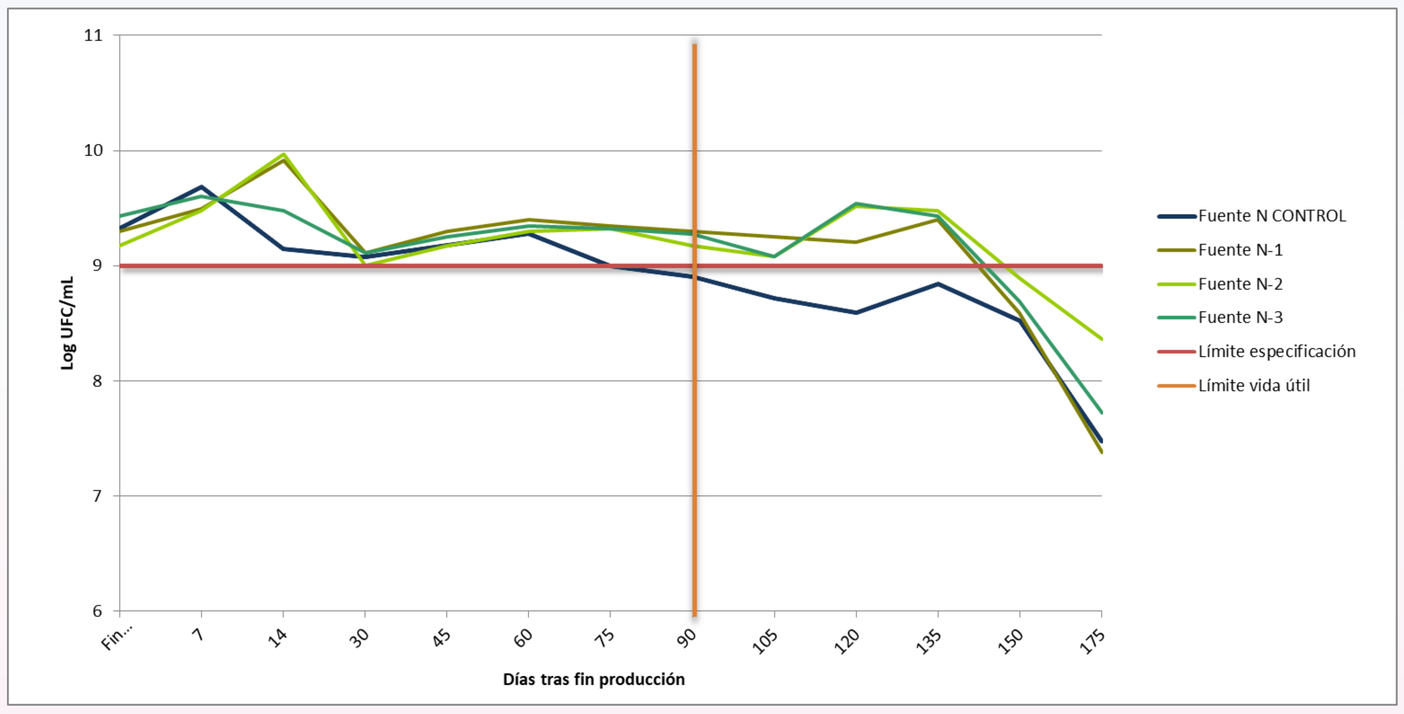
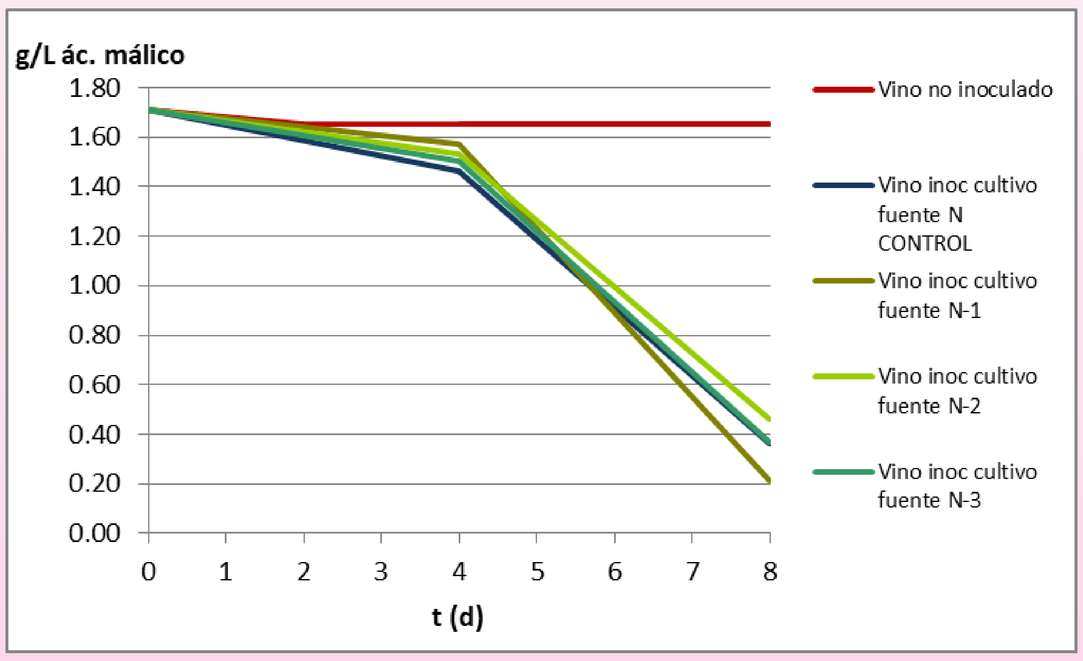


Figura 3: Degradación en el tiempo de ácido málico en vino no inoculado y vinos inoculados con cultivos iniciadores con distintas fuentes de nitrógeno



CONCLUSIONES

Se ha optimizado la composición del medio de cultivo empleado para fabricar los cultivos iniciadores líquidos de *O. oeni*, y se ensayaron distintos componentes del medio con especial énfasis en la fuente de nitrógeno. Así, se han buscado distintas alternativas al tradicional extracto de levadura empleado hasta el momento. Por otro lado, se ha optimizado la supervivencia de los cultivos en el tiempo, enriqueciendo el medio de cultivo con un componente protector frente a las situaciones de estrés que *Oenococcus oeni* encuentra en la FML, como etanol y pH bajo. De este modo, se logró encontrar un nutriente que ha mejorado la formulación del medio de cultivo precedente.

Desde que se desarrolló el cultivo iniciador líquido comercial, se buscó que éste tuviese la capacidad de producir cantidades elevadas de biomasa de *Oenococcus oeni*, viabilidad tras la inoculación en el vino y actividad metabólica para llevar a cabo la FML. Con el paso de los años se ha seguido trabajando en estos tres aspectos del cultivo iniciador para optimizar tanto el proceso productivo como el producto final. En la actualidad, el producto mejorado permite alcanzar los mismos niveles de biomasa activa con la misma rapidez, pero aumentando el límite de vida útil y el límite de especificación del producto. De este modo, se consigue al tiempo un mejor almacenamiento del cultivo iniciador una vez producido, una mejor y segura distribución (al no ser necesaria la refrigeración del cultivo iniciador durante su distribución), y un uso más fácil en la bodega.