

INTERACCIONES LEVADURA-BACTERIA

Lallemand I&D

Parte 1. Efecto sobre la Fermentación Maloláctica

Numerosos trabajos de investigación han estudiado la relación entre las levaduras y la fermentación maloláctica (FML). Esta relación puede estimular, inhibir o no tener ningún efecto en función de la pareja levadura-bacteria.

Tras varios años de investigaciones y ensayos, Lallemand en la actualidad está en condiciones de clasificar las levaduras según una **escala de compatibilidad con la FML**. Se ha determinado, en función del tipo de vino y de la variedad, **la combinación levadura- bacteria más eficaz, así como las condiciones de vinificación más adecuadas**. Este estudio, presenta la 1ª Parte del trabajo de investigación acerca del efecto de las interacciones sobre la FML. La 2ª Parte se centrará en la mejor pareja levadura-bacteria en función del tipo de vino.

1. Interacciones entre *Saccharomyces cerevisiae* y *Oenococcus oeni*

1.1 Inhibición de las bacterias lácticas por las levaduras

El etanol, producido por las levaduras durante la fermentación alcohólica (FA), afecta al crecimiento de las bacterias lácticas y, por consiguiente, al proceso de la FML.

Anhídrido sulfuroso (SO₂) es un factor principal de la inhibición de la FML (Henick-Kling y Park 1994). Su concentración en el vino es el resultado del SO₂ adicionado al mosto y de la producción de SO₂ por *Saccharomyces cerevisiae*.

Aunque la mayoría de las cepas producen menos de 30 mg/L de SO₂, algunas sin embargo pueden liberar más de 100 mg/L (Rankine y Pocock 1969, Eschenbruch 1974, Dott et al. 1976, y Suzzi et al. 1985)!. Un estudio realizado por Lallemand-ICV (Institut Coopératif du Vin) permitió distinguir tres grupos de levaduras en función de su nivel de producción de SO₂: bajo, medio o alto (véase Figura 1).

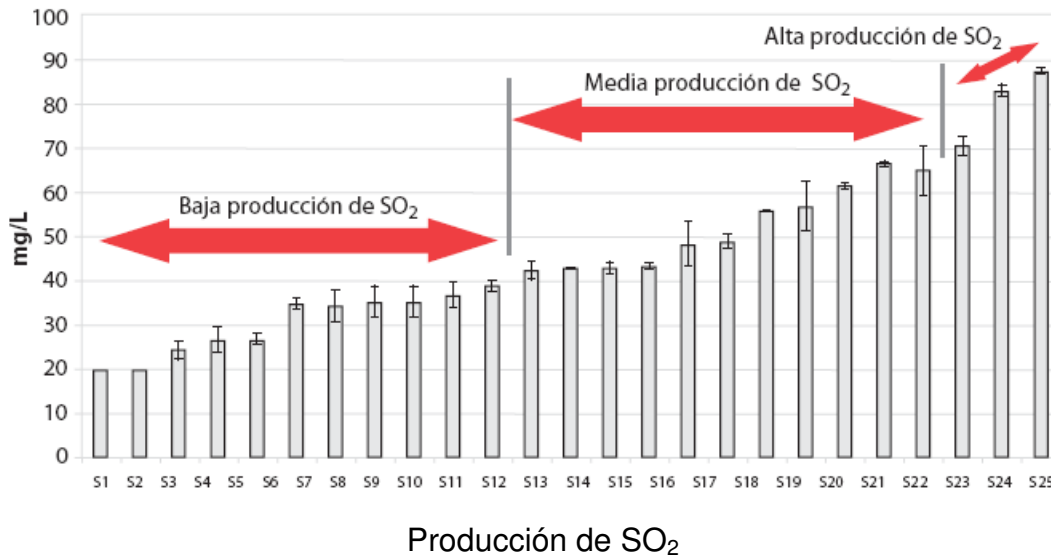
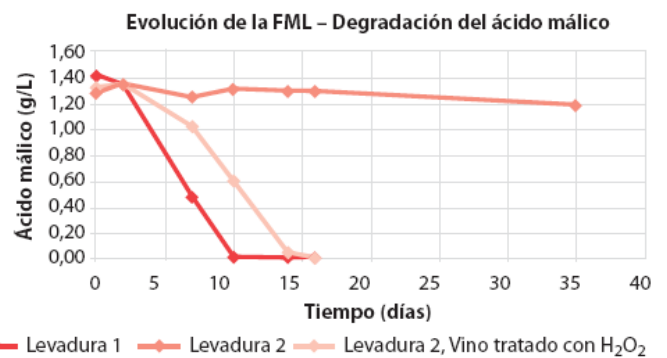
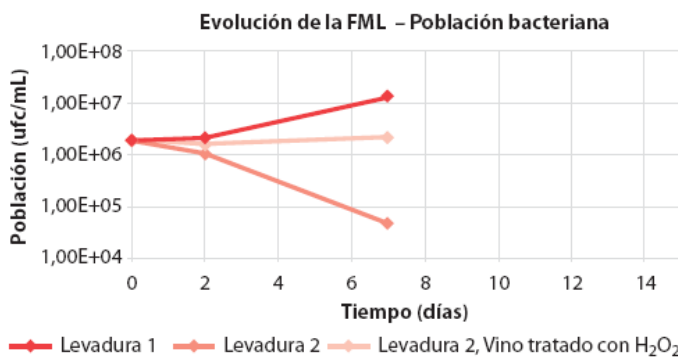


Figura 1. Producción de SO₂ por diferentes cepas de levaduras de vinificación (Lallemand-ICV)

Una levadura gran productora de SO₂ no permitirá el inicio de la FML. Las Figuras 2A y 2B muestran los resultados de los lotes del mismo mosto que fueron inoculados al mismo tiempo con Levadura 1 (favorable para la FML) y Levadura 2 (no favorable para la FML). Al final de la FA, los dos lotes de vino fueron sembrados con el mismo cultivo iniciador MBR® de FML. La FML se concluyó a los 10 días en el lote fermentado con la Levadura 1, sin embargo no se inició en el lote fermentado con la Levadura 2. En este lote, los investigadores observaron también un significativo descenso de la población bacteriana (desde 1x10⁶ ufc/mL hasta 5x10⁴ ufc/mL).



Figuras 2A y 2B. Evolución de la fermentación maloláctica en dos vinos fermentados con la Levadura 1 ó con la 2 (Lallemand I&D)

Es interesante observar que, tras el tratamiento con peróxido de hidrógeno (para reducir

el nivel de SO_2), en el lote que había sido inoculado con la Levadura 2, la FML se completó en 14 días – muy cerca de los 10 días empleados para la FML en el lote fermentado con la Levadura 1. Por tanto, este tratamiento eliminó el efecto inhibitor del SO_2 .

Los ácidos grasos de cadena media son tóxicos tanto para las levaduras como para las bacterias malolácticas. Limitan el crecimiento bacteriano y pueden reducir considerablemente la capacidad de las bacterias de metabolizar el ácido málico.

Producción de péptido o proteína antibacteriana. Dick et al. 1992 y Comitini et al. 2005 demostraron la existencia de productos antibacterianos de *S. cerevisiae* constituidos por una proteína natural. En 2007, Osborne et al., identificaron un péptido de la levadura inhibitor, de 5.9 kDa, que actúa en sinergia con el SO_2 sólo cuando está presente en elevadas concentraciones. Nehme (2008) también describió dos péptidos de levadura inhibidores de la FML entre 5 y 10 kDa.

Deficiencia de aminoácidos. La utilización de nutrientes por parte de *Saccharomyces* puede conducir a deficiencias que inhiben la FML. Las levaduras seleccionadas por Lallemand han sido clasificadas (véase Figura 3) en seis grupos (con unas necesidades de nitrógeno que varían entre extremadamente bajas y extremadamente elevadas).

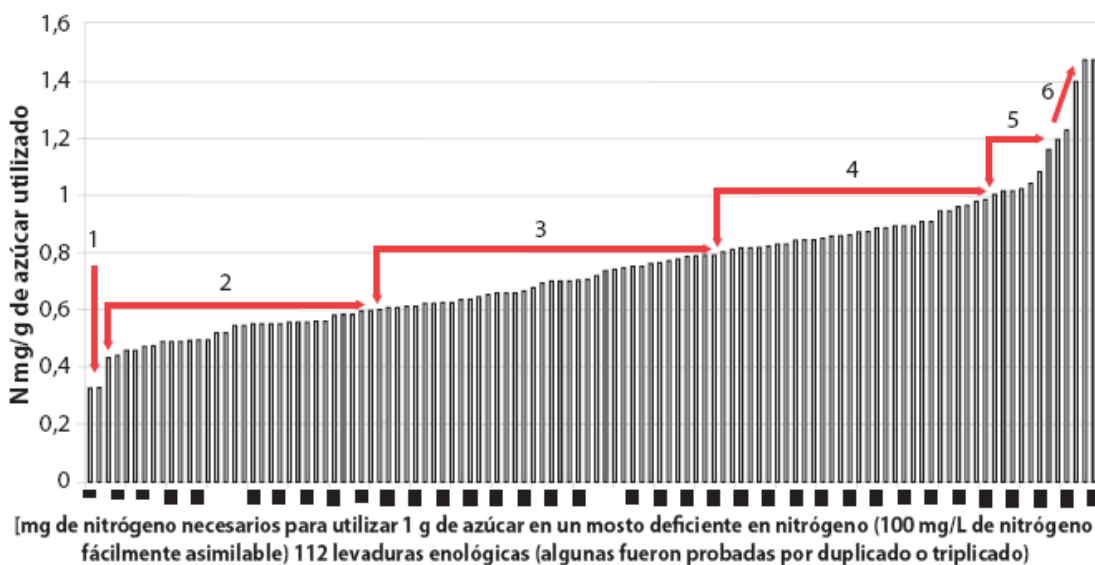


Figura 3: Clasificación de las levaduras Lallemand en función de sus necesidades de nitrógeno (Lallemand I&D)

Aminoácidos libres y pequeños péptidos son las fuentes de nitrógeno más frecuentes para el crecimiento de las bacterias lácticas. Dependiendo de la cepa, *Oenococcus oeni* tiene necesidades de aminoácidos diferentes: cada uno de los aminoácidos pueden ser esenciales, no esenciales o no tener ningún efecto. El **ácido glutámico** es esencial para *O. oeni*, que no es capaz de sintetizarlo. Sin embargo la ausencia de prolina, glicina y alanina tiene muy poco efecto sobre el crecimiento. Valina, leucina, triptófano, isoleucina, histidina, lisina y arginina no son esenciales, aunque su presencia mejora considerablemente el crecimiento.

Los oligopéptidos entre 0.5 y 10 kDa también pueden estimular el crecimiento de *O. oeni*. Son transportados dentro de la célula donde son hidrolizados (Remize et al. 2006).

Algunos compuestos aromáticos, como β -feniletanol o ácido succínico también han sido descritos como inhibidores de La FML (Lonvaud-Funel et al. 1988, Caridi y Corte 1997).

1.2 Estimulación de las bacterias malolácticas por las levaduras

Las concentraciones en el vino de los diversos compuestos nitrogenados varía en función de la variedad, la madurez de las uvas, la fertilización nitrogenada de la vid y la levadura.

La actividad autolítica de las levaduras al final de la FA modifica la concentración de aminoácidos, péptidos y proteínas del vino. Los glucanos y las manoproteínas son liberados. Los niveles dependen de la cepa de levadura (Rosi et al. 1999, Escot et al. 2001) y de las prácticas de vinificación.

Las manoproteínas estimulan a las bacterias a través de dos mecanismos:

- Adsorción de ácidos grasos de cadena media \rightarrow detoxificación del medio
- Hidrólisis enzimática por *O. oeni* \rightarrow fuente de nutrientes nitrogenados.

Vitaminas, nucleótidos y ácidos grasos de cadena larga también podrían incentivar el crecimiento bacteriano.

2. Estudios de interacciones levadura-bacteria

Todos los años Lallemand lleva a cabo ensayos con parejas levadura-bacteria en mostos reales a escala de laboratorio (fermentadores de 1,1 L), a escala piloto (1 hL) o en bodegas utilizando variedades diferentes y en diferentes países. Basándose en la caracterización de sus levaduras, en los resultados de I&D y en los ensayos en bodega, **Lallemand ha definido una escala de compatibilidad con la FML que clasifica las principales levaduras en cinco grupos:**

1. Levaduras que **inhiben** la FML (las que tienen una elevada producción de SO₂ o inhiben la FML).
2. Levaduras que **no son favorables para** la FML (elevadas necesidades de nitrógeno o alta producción de SO₂).
3. Levaduras que tienen un **efecto positivo o negativo** sobre la FML en función de las condiciones:
 - elevadas necesidades de nutrientes y autólisis temprana
 - de bajas a medias necesidades de nutrientes y producción media de SO₂ o de otros inhibidores.
4. Levaduras que son **favorables** para la FML.
5. Levaduras que son **muy favorables** para la FML (bajas necesidades de nutrientes, ninguna producción de compuestos inhibidores, o con autólisis rápida).

En resumen

La elección de la cepa de levadura a utilizar para la FA es un factor determinante para el desarrollo de la FML. Las levaduras han sido caracterizadas de acuerdo a su producción de SO₂, a sus necesidades de nitrógeno y a los resultados de los numerosos ensayos efectuados en bodega con el fin de clasificarlas según una escala de compatibilidad con la FML. La nutrición de las levaduras y bacterias es también un parámetro esencial para el buen desarrollo de las fermentaciones.

Referencias

Henick-Kling; Park. Considerations for the use of yeast and bacterial starter cultures: SO₂ and timing of inoculation. *American Journal of Enology and Viticulture*, 45, 464-469 (1994).

Comitini, F.; Ferreti, R.; Clementi, F.; Mannazzu, I.; Cianni, M. Interactions between *Saccharomyces cerevisiae* and malolactic bacteria: preliminary characterization of a yeast proteinaceous compound(s) active against *Oenococcus oeni*. *Journal Applied Microbiology*, 99, 105-111 (2005).

Nehme, N., Mathieu, F., Taillandier, P. Quantitative study of interactions between *Saccharomyces cerevisiae* and *Oenococcus oeni* strains. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 35, 685-693 (2008).

Remize F., Gaudin A., Kong Y., Guzzo J., Alexandre H., Krieger S. Guilloux-Benatier. *Oenococcus oeni* preference for peptides: qualitative and quantitative analysis of nitrogen assimilation. *Arch. Microbiol.*, 185(6):459-69 (2006).

Caridi, A., Corte, V. Inhibition of malolactic fermentation by cryotolerant yeasts. *Biotechnology Letters*, 19(8):723-726 (1997).