



Bioprotección activa en la elaboración de vinos tintos con *Metschnikowia pulcherrima*

Hoy en día existe una voluntad cada vez mayor de reducir los niveles de sulfitos en la elaboración del vino. Una de las principales funciones del SO₂ es la limitación del desarrollo de microorganismos contaminantes durante las fases prefermentativas. En este sentido, la investigación se ha centrado en la búsqueda de soluciones biológicas alternativas que permitan gestionar las poblaciones microbianas perjudiciales para la calidad del vino. Estas alternativas se presentan como opciones de interés para los enólogos, especialmente en el contexto del calentamiento global donde el aumento del pH hace que el SO₂ sea menos eficiente.

Aparte del interés continuo en la selección de nuevas cepas *Saccharomyces cerevisiae* y *Oenococcus oeni*, se ha prestado especial atención a la selección de especies/cepas no *Saccharomyces*, por sus capacidades de bioprotección natural contra el desarrollo de levaduras o bacterias contaminantes.

Una de las especies no *Saccharomyces* estudiadas es la *Metschnikowia pulcherrima*. En este artículo pondremos el foco en la actividad de una cepa específica de esta especie sobre otras que se desarrollan habitualmente en las fases prefermentativas.

Una potente actividad antimicrobiana en la elaboración de vinos tintos:

LEVEL₂ Guardia™ es una levadura de la especie *Metschnikowia pulcherrima* y ha sido seleccionada por el Instituto Francés de la Viña y del Vino de Borgoña (Francia) por su alta capacidad para controlar otros microorganismos contaminantes que se desarrollan habitualmente durante las etapas prefermentativas de la elaboración de tintos.

Uno de sus criterios de selección se centró en la capacidad de implantación y multiplicación en las uvas-mosto, lo que permite ocupar el medio y desplazar a otras especies, incluso a bajas temperaturas.

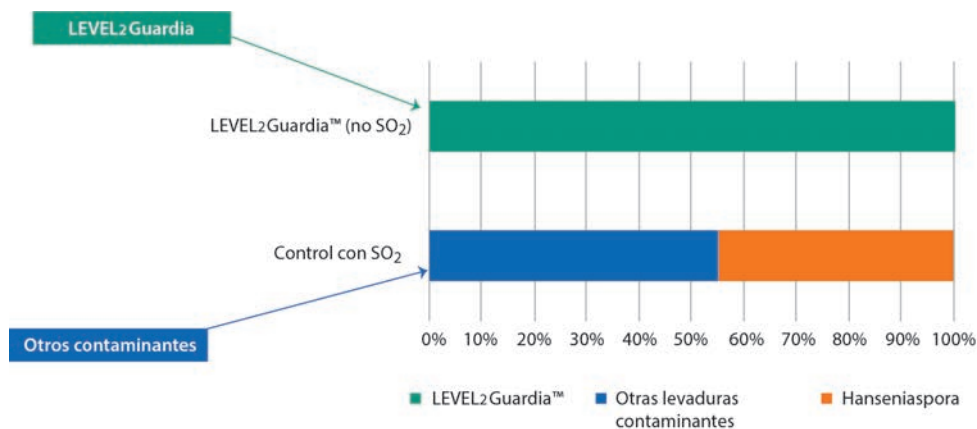


Figura 1. Recuento de levaduras tras 5 días de maceración prefermentativa a 10°C en un Pinot Noir (IFV Beaune, Francia, 2020). Ensayo comparativo entre *LEVEL₂ Guardia™* añadida a razón de 10 g/hL y un control con adición de SO₂ a 2,5 g / 100 kg.



Figura 2. Control de implantación realizado durante la maceración prefermentativa en frío (5 días a 10°C) en una garnacha (Incavi, 2020). Ensayo comparativo entre *LEVEL2 Guardia™* añadida a 10 g/hL y un control sin bioprotección. En ningún caso se añadieron sulfitos.

Como se muestra en la Figura 1, en un Pinot Noir de Borgoña durante la vendimia 2020 (IFV Beaune, Francia), *LEVEL2 Guardia™* fue capaz de multiplicarse durante una maceración prefermentativa en frío (5 días, a una temperatura de 10° C). Como consecuencia, al final de esta etapa, se observó una reducción de la población de *Hanseniaspora uvarum*, levadura oxidativa perjudicial, así como de otras levaduras contaminantes, en comparación con un control donde se había añadido SO₂.

Otro proyecto, realizado durante la vendimia 2020, con una Garnacha de la zona de Terra Alta, en colaboración con el Incavi (Instituto Catalán de la Viña y el Vino) ilustra también la buena implantación de *LEVEL2 Guardia™* a baja temperatura, así como su alta actividad antimicrobiana frente a distintas

especies. En este caso, se realizó la inoculación de *LEVEL2 Guardia™* en comparación con un testigo (sin adición de SO₂ en ninguna de las dos modalidades), durante una maceración prefermentativa en frío de las uvas (a 10 °C durante 5 días). Los resultados mostraron una muy buena implantación, dando lugar a una reducción considerable de las poblaciones de otras especies contaminantes tales como la *Hanseniaspora* (Figura 2). Después de la maceración prefermentativa, se inocularon ambos depósitos con la misma *Saccharomyces cerevisiae* para llevar a cabo la fermentación alcohólica. La acidez volátil obtenida al final de la fermentación alcohólica fue más baja en el vino bioprotegido durante la fase prefermentativa (Figura 3).

¿Por qué es *LEVEL2 Guardia™* un agente bioprotector tan potente?

Metchnikowia pulcherimma es un microorganismo interesante que se encuentra en la flora del mosto.

Como ocurre con *Saccharomyces cerevisiae*, dentro de la misma especie hay muchas cepas diferentes que se comportan de manera distinta entre ellas, de ahí la importancia de seleccionar la levadura correcta para cada aplicación específica.

El mecanismo de acción bastante único de esta cepa de *M. pulcherrima* radica en su capacidad para secretar ácido pulcherrimínico. Este es un ácido natural, sin impacto sensorial conocido, producido por algunas especies de levaduras, especialmente la *M. pulcherimma*, que posee los genes (PUL1,

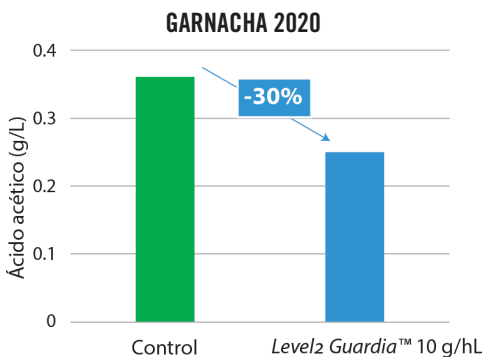


Figura 3. Acidez volátil en Garnacha (Incavi, España, 2020) a final de fermentación alcohólica con la misma *Saccharomyces cerevisiae*. Ensayo comparativo entre *LEVEL2 Guardia™* añadida a 10 g/hL y un control sin bioprotección. En ningún caso se añadieron sulfitos.

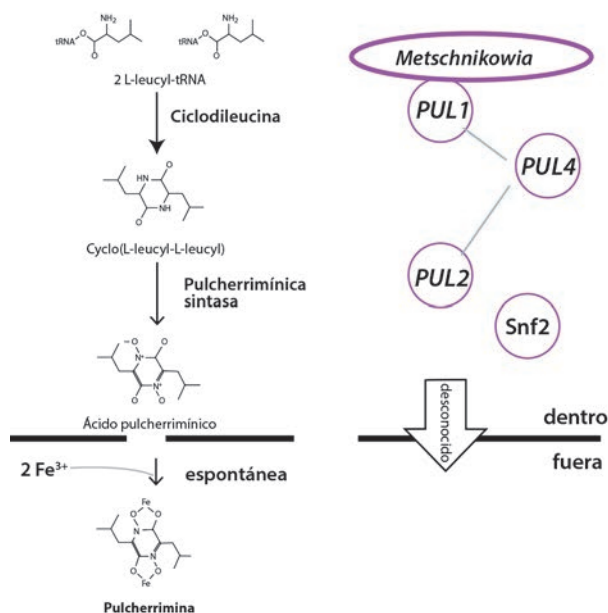


Figura 4. Biosíntesis del ácido pulcherrimínico por *M. pulcherrima* y su capacidad para atrapar el hierro (Sipiczki, 2020).

PUL2, PUL4, snf2) que permite su síntesis. Cuando la levadura produce ácido pulcherrimínico, una vez excretado en el medio, tendrá una fuerte afinidad por el hierro libre, dando lugar a su quelación (Figura 4).

Después se forma la pulcherrimina. El hierro presente en el mosto disminuye y el desarrollo de las especies contaminantes (por ejemplo, *Hanseniaspora*, etc.) se reduce puesto que el hierro libre es un elemento necesario para su creci-

miento. La Figura 5 muestra las distintas concentraciones de hierro libre y hierro total en un mosto donde se inocularon distintas *M. pulcherrima* entre las que figuran *LEVEL₂ Guardia™* y una *Saccharomyces cerevisiae* seleccionada.

Desde el punto de vista fenotípico, esta propiedad única se puede apreciar visualmente cuando *LEVEL₂ Guardia™* se desarrolla en medios de cultivo específicos y las colonias resultantes son rosas puesto que la pulcherrimina tiene un pigmento rosa (Figura 6). En este caso, y a diferentes concentraciones de hierro en el medio de cultivo, se observan las diferencias entre *LEVEL₂ Guardia™* y una *M. Pulcherrima* de referencia en relación a la coloración de las colonias.

La asociación positiva de *LEVEL₂ Guardia™* y la levadura enológica *Saccharomyces cerevisiae*:

Si bien *LEVEL₂ Guardia™* es extremadamente eficiente al quelar el hierro libre del mosto,

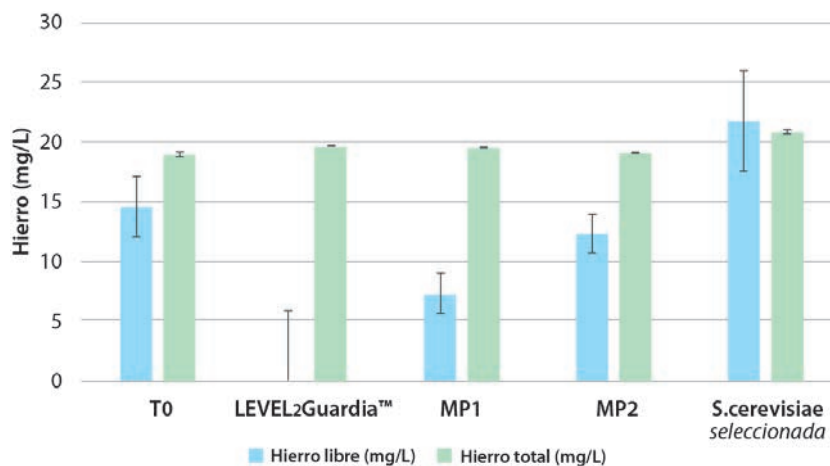


Figura 5. Concentración de hierro libre y total en mosto con diferentes *M. pulcherrima* y una *S. cerevisiae*.

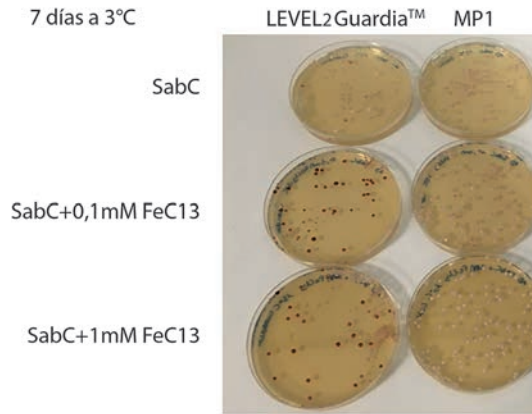


Figura 6. *LEVEL2Guardia™* cultivado 7 días a 13°C en medios específicos con diferentes niveles de hierro, comparado con otra *M. pulcherrima* (Laboratorio I+D Lallemand, Francia).

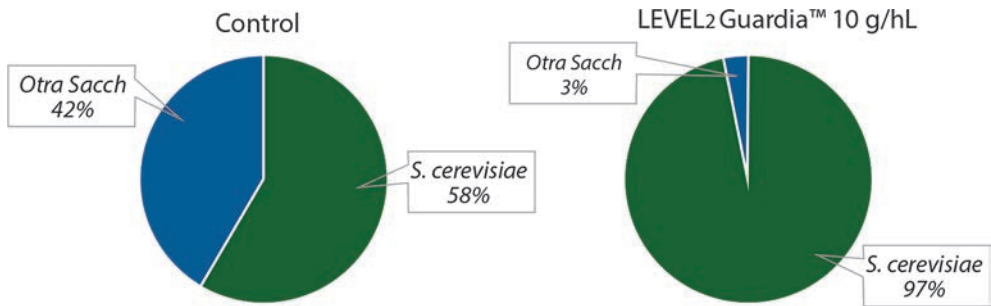


Figura 7. Control de implantación realizado a mitad de la fermentación alcohólica en una Garnacha (Incavi, 2020). Ensayo comparativo entre *LEVEL2Guardia™* añadida a 10 g/hL y un control sin bioprotección. En ningún caso se añadieron sulfitos.

disminuyendo así el desarrollo de otras especies de levadura, se podría suponer que la *S. cerevisiae* imprescindible y necesaria para completar la fermentación podría sufrir la formación de la pulcherrimina (debido a la falta de hierro). Sin embargo, la levadura enológica *S. cerevisiae* tiene la capacidad de volver a recuperar el hierro ligado al ácido pulcherrimínico y usarlo para sus funciones metabólicas. Gracias a la presencia de los genes PUL3 y PUL4 dentro de su genoma (Krause *et al*, 2018), la levadura enológica seleccionada *S. cerevisiae* se puede inocular después de usar *LEVEL2Guardia™*.

Además, la implantación de la *S. cerevisiae* seleccionada, inoculada después de la maceración prefermentativa en frío, demostró ser

incluso más eficiente cuando se había utilizado *LEVEL2Guardia™* durante esa fase, como se muestra en la Figura 7, debido a la fuerte limitación del desarrollo de la flora contaminante.

Conclusión

Durante las fases prefermentativas, el mosto es vulnerable al desarrollo de microorganismos no deseados y es necesaria su protección para evitar las desviaciones sensoriales justo al inicio del proceso de elaboración del vino. El uso de *LEVEL2Guardia™*, durante las fases prefermentativas de la elaboración de vinos tintos, se presenta como una alternativa eficiente al SO₂ para controlar una amplia variedad de contaminantes.

Más información en www.lallemandwine.com