

MODALITĂȚI DE DECLANȘARE ȘI DIRIJARE A FERMENTAȚIEI MALOLACTICE LA VINURILE ROȘII DE MURFATLAR

MODALITIES OF STARTING AND CONTROLLING THE MALOLACTIC FERMENTATION OF THE MURFATLAR RED WINES

BELENIUC GEORGETA

Stațiunea de Cercetare –Dezvoltare pentru Viticultură și Vinificație Murfatlar

Abstract. *Were made studies referring the starting and controlling of malolactic fermentation in the Murfatlar red wines, as well as on the conditions of this biochemical process. The starting of malolactic fermentation can be easy initiated, if for this purpose are used wines in full malolactic fermentation and mainly wines produced by carbonic maceration procedure. Because after inoculation the bacteria cells pass through a adaptation period, for inducing malolactic fermentation the initial titre need is 3×10^4 till $4,2 \times 10^4$ cells/mm³, for to remain in the medium a bacteria cells active number of 1×10^4 cel/mm³. It will be recommended three strains of lactic bacteria, isolated from the spontaneous microflora.*

Acidul malic din vinuri este degradat pe cale biologică prin fermentație malolactică. Acest proces este important pentru majoritatea vinurilor de calitate și de consum curent, având în vedere acțiunea pe care o are asupra vinurilor și anume: scăderea acidității, stabilizarea din punct de vedere bacterian și modificarea însușirilor organoleptice.

Cercetări referitoare la fermentația malolactică au fost efectuate în România de către Țârdea (1960), Mihalca (1971), Lepădatu (1975) și Kontek (1977).

Prin prezentul studiu se stabilesc modalitățile de declanșare și dirijare a fermentației malolactice la vinurile roșii din centrul viticol Murfatlar.

MATERIAL ȘI METODĂ

Experimentările s-au efectuat la SCDVV Murfatlar în anii 2000-2004. S-a urmărit:

- declanșarea spontană a fermentației malolactice;
- utilizarea în acest scop a maielelor reprezentate de vinuri în plină fermentație malolactică;
- utilizarea concentratului bacterian din microfloră spontană;
- utilizarea maielelor obținute din tulpini de bacterii lactice selecționate.

Declanșarea spontană a fermentației malolactice s-a urmărit pe loturi de vinuri obținute în cisterne cu o capacitate de 1000 și respectiv 10.000 litri. Pentru a se obține vinuri cu o densitate mare de bacterii lactice s-a folosit macerația carbonică.

Tulpinile de bacterii lactice folosite pentru obținerea maielelor au fost selectate din cele 10 exemplare izolate și identificate la SCDVV Murfatlar, din vinuri roșii cu pH scăzut, care au suferit fermentație malolactică spontană.

Pentru studiul bacteriilor lactice s-au folosit tehnicile și mediile indicate de Peynaud și Domercq (1969), iar pentru clasificarea lor s-a folosit determinantul Bergey (1987).

Concentratul bacterian s-a obținut dintr-un vin de Cabernet sauvignon în plină fermentație malolactică, prin procedeul de filtrare tangențială.

Evoluția numărului total de bacterii lactice s-a urmărit prin numărare pe lama Thoma, iar numărul celulelor apte de multiplicare s-a stabilit pe membrane filtrante cultivate pe cartonașe nutritive.

Evoluția metabolizării fermentației malolactice s-a pus în evidență prin cromatografie pe hârtie după metoda Kunkee- 1968 și prin evoluția numărului total de bacterii lactice din vin.

REZULTATE OBȚINUTE

Declanșarea spontană a fermentației malolactice în vinurile roșii de Murfatlar, depinde de cantitatea de dioxid de sulf rămasă în vin cât și de mărimea vaselor de fermentare.

În cazul vinurilor roșii cu pH = 3,4 obținute prin macerare în cisterne mari, procesul de metabolizare a acidului malic este început deja în momentul tragerii vinului de pe boștină (densitatea de 1,010), fără a fi influențat de dozele de SO₂ liber existente (aprox. 15 mg/l).

La vinurile roșii obținute în vase de capacitate mică (1000 l), menținute la temperatura de 18°C, timpul necesar pentru declanșarea fermentației malolactice este cuprins între 10-50 zile, fiind influențat în acest caz de conținutul vinului în SO₂ liber.

Declanșarea metabolizării acidului malic corespunde cu momentul realizării în masa vinului a unei densități bacteriene de $3 \times 10^4 - 4,2 \times 10^4$ celule/mm³, durata de metabolizare a 1,4 g/l acid malic fiind cuprinsă între 6 și 8 zile.

Cercetările au evidențiat că la sfârșitul metabolizării acidului malic, densitatea bacteriană în vin este crescută ajungând la $6,5 \times 10^4$ celule/mm³ (fig.1).

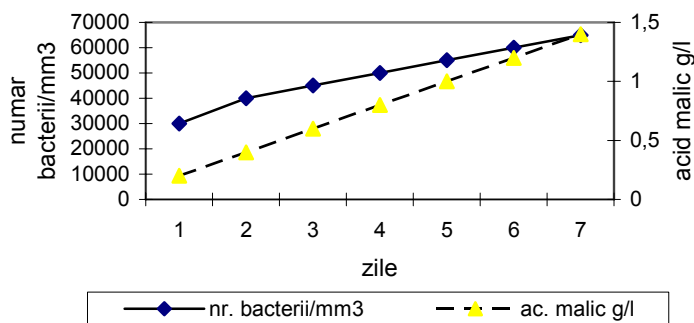


Fig. 1 - Viteza de metabolizare a acidului malic și evoluția numărului de bacterii

S-a constatat faptul că la sfârșitul fermentației alcoolice în vinurile roșii obținute prin macerație carbonică acidul malic era doar jumătate metabolizat. Păstrate în condiții corespunzătoare de temperatură și SO₂ acestea își desăvârșesc fermentația malolactică în 4 zile. Cupajarea acestora cu alte vinuri la care se dorește fermentația malolactică reprezintă o soluție eficientă. S-a observat că, cu cât cantitatea de vin-maia este mai mare, cu atât timpul de metabolizare a acidului malic scade. O proporție de 10% vin-maia a condus la realizarea unui titru de 5x10⁴ celule/mm³ (fig 2).

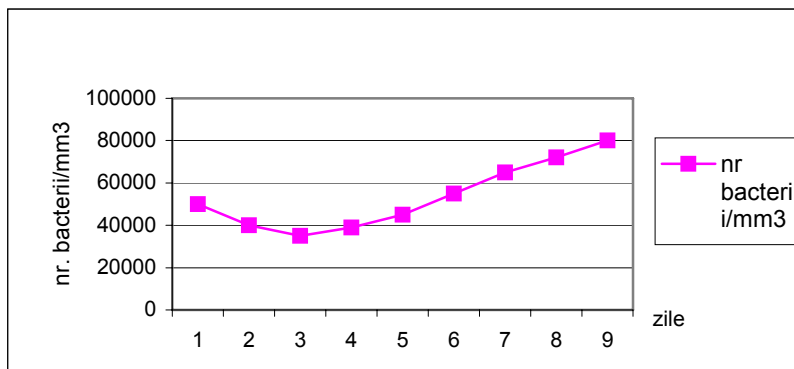


Fig. 2 - Evoluția nr. de bacterii lactice în vinurile inoculate cu 10% vin-maia în plină fermentație malolactică

O altă modalitate de declanșare a fermentației malolactice o reprezintă utilizarea concentratului bacterian obținut din microfloră spontană prin procedeul de filtrare tangențială. Acesta s-a obținut dintr-un vin roșu Cabernet sauvignon fermentat malolactic, ale cărui caracteristici sunt redată în tabelul 1. Numărul de bacterii lactice din concentratul obținut a fost de 1,4x10⁶ celule/mm³ (tab. 2).

Tabelul 1

Caracteristicile fizico-chimice și microbiologice ale vinului Cabernet sauvignon fermentat malolactic

Soiul	Alcool % vol.	Zaharuri g/l	Ac tot. g/l	Ac vol. g/l	SO ₂ mg/l Total liber		pH	Nr. bacterii/mm ³
Cabernet sauvignon	12,0	6,5	4,20	0,33	26,4	0	3,36	6,9x10 ⁴

Tabelul 2

Caracteristicile microbiologice și fizico-chimice ale concentratului și filtratului obținut din Cabernet sauvignon

	Număr bacterii lactice /mm ³	Antociani mg/l	PFT g/l
Concentratul bacterian	1,4 x 10 ⁶	214,0	1900
Filtrat	0	322,0	2000

În experimentări s-au făcut încercări pentru declanșarea fermentației malolactice prin utilizarea maielilor de bacterii lactice obținute de noi din tulpinile selecționate din vinuri roșii. În procesul de selecție, s-au avut în vedere criteriile pe care acestea trebuiau să le îndeplinească și anume: să posede capacitate ridicată de creștere la pH-uri scăzute; să se dezvolte în prezența alcoolului; să producă cantități scăzute de acizi volatili; să nu degradeze anumiți compuși din vin, ca pentoze, glicerol, acid tartaric etc.

Cele 10 tulpini izolate de noi s-au testat morfologic, fiziologic și oenologic și a rezultat că tulpinile înregistrate sub codul 1, 2, 5, 7 și 9 aparțin speciei *Leuconostoc oenos*, cele sub codurile 3 și 6 aparțin speciei *Leuconostoc gracile*, iar cele sub codurile 4, 8 și 10 aparțin speciei *Pediococcus cerevisiae*.

Acestea s-au verificat în privința formării acizilor volatili pe mediu Carr cu adaosuri de: arabinoză, xiloză, fructoză, acid citric, tartaric, malic și glicerol și s-a constatat că valorile acidității volatile înregistrează diferențe de la o tulpină la alta (tab. 3), iar viteza de metabolizare a acidului malic este diferită între tulpini.

Tabelul 3

Formarea acizilor volatili pe mediu Carr de către bacteriile lactice

Nr. tulpină	Fructoză	Arabinoză	Xiloză	Glicerol	Acid citric	Acid tartric	Acid malic
1	2,60	8,70	5,90	0,08	0,30	0,15	0,06
2	0,30	0,07	0,80	0,07	0,76	0,06	0,12
3	2,98	8,98	6,05	0,13	0,40	0,07	0,06
4	0,42	0,24	0,26	0,06	0,87	0,06	0,06
5	0,06	0,06	0,24	0,06	0,84	0,06	0,06
6	5,40	0,12	0,13	0,06	0,75	0,06	0,06
7	5,67	0,17	5,50	0,02	0,06	0,12	0,06
8	2,76	4,78	6,00	0,17	0,30	0,12	0,00
9	0,30	0,12	0,13	0,06	0,73	0,06	0,06
10	6,00	8,30	5,90	0,00	0,18	0,06	0,06

S-au ales pentru verificare în producție tulpinile 1, 2 și 5 care aparțin speciei *Leuconostoc oenos*.

În experimentările noastre, declanșarea fermentației malolactice s-a produs atunci când cantitatea de inocul a fost de $2,5-3 \times 10^4$ celule/mm³, cu condiția ca cel puțin $1,2 \times 10^4$ celule/mm³ să fie capabile de a forma colonii.

După inocularea în masa vinului a bacteriilor lactice s-a înregistrat o scădere a numărului lor, datorită faptului că ele traversează o perioadă de adaptare datorită conținutului în alcool și pH al vinului respectiv, după care încep să se multiplice (fig. 2) și declanșază fermentația malolactică.

Toate cele trei tulpini de bacterii lactice selectate verificate pe vinuri au realizat metabolizarea acidului malic în 5-7 zile. Aciditatea volatilă a vinurilor a înregistrat creșteri diferite, cea mai mică s-a produs la proba inoculată cu tulpina 2 (0,08 g/l CH₃COOH), iar cea mai mare la proba inoculată cu tulpina 1 (0,15 g/l CH₃COOH), (tab 4).

Tabelul 4

Transformările petrecute în compoziția unui vin însămânțat cu tulpini diferite de bacterii lactice după fermentația malolactică

Codul tulpinii	SO ₂ liber mg/l	Acetaldehidă Mg/l	Ac. tot. g/l H ₂ SO ₄	PH	Ac. vol. g/l CH ₃ COOH	Creșterea ac. vol, față de vinul inițial
Vin inițial	13,2	16,0	4,01	3,65	0,35	-
1	10,9	12,5	3,40	3,70	0,50	0,15
2	10,9	15,7	3,25	3,68	0,42	0,08
5	11,0	30,0	3,26	3,72	3,45	0,11

La analiza organoleptică a vinurilor obținute au existat diferențe evidente între probe. Proba de vin la care fermentația malolactică s-a efectuat cu tulpina 2, a fost echilibrat, armonios, fin și catifelat. Și celelalte probe obținute cu tulpinile 1 și 5 au fost plăcute dar nu au reușit să întrecă în armonie vinul a cărui fermentație malolactică s-a efectuat cu tulpina 2, de aceea, aceasta din urmă s-a recomandat pentru utilizarea ei în procesul de producție.

CONCLUZII

- La vinurile roșii obținute prin macerare în bazine de capacitate mare, declanșarea fermentației malolactice s-a produs la sfârșitul fermentației alcoolice în mod spontan, fără a fi influențată de dozele de SO₂ liber de aprox. 15 mg/l; la vinurile roșii obținute în bazine mici, fermentația malolactică s-a declanșat mai târziu după sfârșitul fermentației alcoolice, iar întârzierea a fost cu atât mai mare cu cât nivelul SO₂-ului liber a fost mai ridicat;

- S-a constatat că la vinurile obținute prin procesul de macerație carbonică, la sfârșitul fermentației alcoolice, fermentația malolactică era aproape jumătate realizată;

- În experimentările noastre, declanșarea fermentației malolactice s-a produs atunci când cantitatea de inocul a fost de $2,5-3 \times 10^4$ celule/mm³, cu condiția ca cel puțin $1,2 \times 10^4$ celule/mm³ să fie capabile de a forma colonii;

- S-a observat că după inocularea în masa vinului a bacteriilor lactice s-a înregistrat o scădere a numărului lor, datorită faptului că ele traversează o perioadă de adaptare datorită conținutului în alcool și pH al vinului respectiv, după care încep să se multiplice și declanșază fermentația malolactică;

- Cele 10 tulpini de bacterii lactice izolate, identificate, încadrate taxonomic și înregistrate sub codurile de la 1-10 aparțin speciilor: *Leuconostoc oenos* (cele înregistrate sub codurile 1, 2, 5, 7 și 9); *Leuconostoc gracile* (cele sub codurile 3 și 6) și *Pediococcus cerevisiae* (cele sub codurile 4, 8 și 10);

- La verificările în producție, cele mai bune rezultate s-au obținut cu tulpina *Leuconostoc oenos* 2, care de altfel s-a și recomandat procesului de producție;

- Modalitățile de declanșare și dirijare a fermentației malolactice care s-ar putea utiliza în tehnologia de preparare a vinurilor roșii sunt: declanșarea

spontană a fermentației malolactice; utilizarea în acest scop a maielelor reprezentate de vinuri în plină fermentație malolactică; utilizarea concentratului bacterian din microfloră spontană și utilizarea maielelor obținute din tulpini de bacterii lactice selecționate.

BIBLIOGRAFIE

1. **Beleniuc G., 2002** - *Using bacterial concentrates of spontaneous microflora for inducing malolactic fermentation in Murfatlar red wines*. Proc. XXVI IHC, Eds A.G. Reynolds and P. Bowen, Acta Hort. 640, ISHS.
2. **Cotea D.V. și colab., 1985** - *Tratat de Oenologie*. Ed. Ceres, București. p. 533-550.
3. **Davis C., Silveira N., and G. Fleet. 1985** - *Occurrence and properties of bacteriophages of Leuconostoc oenos in Australian wines*. Applied and Environmental Microbiology, p. 872-876.
4. **Davis C., Silveira N. and colab., 1986** - *Properties of wine lactic acid bacteria: Their potential enological significance*. Am. J. Enol. Vitic. 39: 137-142.
5. **Kunkee R.E., Ough C.S and Amerine M.A. 1964** - *Induction of malolactic fermentation by inoculation of must and wine with bacteria*. Amer. J. Enol. Vitic. 43: 41-46.
6. **Kunkee R.E. 1974** - *Malolactic fermentation and winemaking*. Chemistry of winemaking, Adv. Chem. Ser. 137, Amer Chem. Soc. WA.D.C. p. 151-157.
7. **Lepădatu G., Sandu-Ville G., 1975** - *Studiul câtorva factori care influențează desfășurarea fermentației malolactice în vinurile din podgoria Iași*. Anale ICVV, vol VI, p. 431-443.
8. **Țârdea C., 1996** - *Studiul fermentației malolactice a vinurilor din podgoriile Moldovei*. Lucrare de doctorat. Institutul Agronomic Iași.
6. **Țârdea C., Țârdea A., Sârbu G., 2000** - *Tratat de Vinificație*. P. 337-348. Ed. Ion Ionescu de la Brad, Iași.