

DIVERSIDAD METABÓLICA DE *OENOCOCCUS OENI* Y *LACTOBACILLUS PLANTARUM* DURANTE LA FERMENTACIÓN MALOLÁCTICA: EFECTO EN LA COMPOSICIÓN FENÓLICA NO ANTOCIÁNICA DE VINOS TINTOS

M.Victoria Moreno-Arribas^b, Teresa Hernández¹, Isabel Estrella¹, Fernanda Ruíz-Larrea²

¹Instituto de Fermentaciones Industriales (CSIC), Juan de la Cierva, 3, 28006 Madrid.

²Departamento de Alimentación y Agricultura, Universidad de La Rioja, Avda. Madre de Dios, 51, 26006 Logroño. E-mail: mvmoreno@ifi.csic.es

1. Introducción

Las bacterias lácticas tienen gran interés en Enología porque realizan la fermentación maloláctica del vino, proceso indispensable en la elaboración de vinos tintos, y cuyo principal efecto es la reducción de la acidez. En este proceso intervienen diferentes géneros de bacterias lácticas, fundamentalmente *Lactobacillus*, *Pediococcus* y *Oenococcus*, siendo, *Oenococcus oeni*, y en menor medida, *Lactobacillus plantarum*, las especies mayoritarias [1].

Los compuestos fenólicos presentes en los vinos están directamente relacionados con su calidad ya que contribuyen a las características organolépticas, como color, astringencia y amargor; además por su capacidad de captura de radicales libres, tienen un papel importante en el control de la oxidación en el organismo humano. Existen referencias bibliográficas que indican una reducción del contenido en antocianos y polifenoles totales de los vinos después de la FML [2], pero son escasos los datos sobre la influencia en otro tipo de compuestos fenólicos.

El objetivo de este trabajo es estudiar el efecto de distintas especies y cepas de bacterias lácticas sobre la composición fenólica no antocianica de un vino tinto de la variedad Tempranillo, después de la FML, con la finalidad de evaluar cómo la actividad metabólica de estas bacterias puede alterar la composición fenólica del vino y determinar las diferencias que pueden atribuirse a cada una de las cepas utilizadas.

2. Materiales y métodos

Muestras. Se partió de un vino de la variedad Tempranillo (AF), con el que se realizaron distintos experimentos de fermentación maloláctica a escala industrial, que incluían por un lado, una fermentación espontánea (MLFs), y a su vez inoculaciones con cuatro cultivos iniciadores de la FML, empleándose cuatro cepas distintas de bacterias lácticas seleccionadas, dos de la especie *Oenococcus oeni* (Oe-18 y Oe-159) y otras dos de *Lactobacillus plantarum* (Lp-51 y Lp-39), todas ellas, cepas autóctonas de la D.O.Ca. Rioja. Los experimentos se hicieron por duplicado en depósitos independientes, analizándose un total de 11 vinos.

En las muestras de vino se llevaron a cabo los recuentos de bacterias lácticas e identificación microbiológica y a nivel clonal mediante análisis de restricción del DNA genómico con el enzima *Sfi*I y mediante PFGE [3].

Análisis de compuestos fenólicos. La extracción de los compuestos fenólicos de los vinos se realizó según lo descrito por Fernández de Simón [4]. El análisis, identificación y cuantificación de los compuestos fenólicos, se realizó por HPLC-PAD y HPLC-(ESI)MS [5].

3. Resultados

En los vinos analizados, se han identificado 39 compuestos fenólicos, pertenecientes a los grupos hidroxibenzoicos, hidroxicinámicos, alcoholes, flavonoles, flavanoles y estilbenos, que se presentan detalladamente en la Tabla 1. El análisis clonal por PFGE puso de manifiesto que las cepas que se impusieron en los vinos en todos los casos fueron las cepas inoculadas.

A modo de ejemplo, en las figuras 1-3 se muestran las modificaciones detectadas en algunos de los compuestos analizados en los vinos elaborados según las distintas experiencias de fermentación maloláctica. Se observó un comportamiento distinto entre *O. oeni* y *L. plantarum*, encontrándose también diversidad dentro de cada grupo. En todos los casos, la fermentación maloláctica modificó la composición fenólica del vino, comprobándose que algunas de las cepas seleccionadas para este estudio, hidrolizan los isómeros *trans* de los ésteres tartáricos de los ácidos cinámicos (Figura 1), lo que indica

que estos compuestos, son sustratos de las bacterias lácticas del vino. A su vez, se detectó un incremento de la concentración de ácidos hidroxicinámicos libres, lo que puede ser de interés ya que estos compuestos están directamente relacionados con la concentración de vinilfenoles en vinos. En la mayor parte de los casos los isómeros *cis* se ven menos afectados.

Los compuestos hidroxibenzoicos parecen ser a los que menos afecta la FML con las distintas cepas de bacterias lácticas, y esto se observa más concretamente en los vinos que se han inoculado con O-18 y Lp-39, que tienen concentraciones similares al de MLFs.

Es importante el aumento de las distintas formas de resveratrol, que es más acusado en los isómeros *trans*, sobre todo en los vinos que proceden de la fermentación espontánea (MLFs) y los de Oe-18 (Figura 3).

Se observó, en algunos casos, un incremento de las concentraciones de (+) catequina, (-) epicatequina, tirosol, miricetina y quercetina, lo que puede contribuir a la calidad organoléptica y biológica de los vinos estudiados, por la implicación de estos compuestos en estas características. Las procianidinas (dímeros y trímeros) sufren en general un aumento después de la FML (Figura 2).

4. Conclusiones

De los resultados de este trabajo se puede deducir que las bacterias lácticas son capaces de hidrolizar los isómeros *trans* de los derivados tartáricos de los ácidos cinámicos, con la liberación de los correspondientes ácidos libres. Como consecuencia de esto se ha de tener en cuenta la presencia indeseable de enzimas descarboxilasas que pueden actuar sobre los ácidos libres formando vinilfenoles, responsables de aromas indeseables durante la elaboración del vino.

El aumento observado en la concentración de procianidinas, junto con el de catequina y epicatequina es importante, debido al papel que juegan estos compuestos en los fenómenos de complejación con los antocianos, lo que influye muy directamente en el color de los vinos resultantes.

La microbiota natural del vino ha mostrado mayor impacto en el contenido de algunos de estos compuestos en los vinos, que las cepas de bacterias lácticas inoculadas seleccionadas.

Los compuestos fenólicos están involucrados en algunas actividades biológicas por su actividad de captura de radicales libres, por lo que las diferencias en las concentraciones observados en los vinos sometidos a la FML con diferentes microorganismos, pueden dar lugar a diferencias en la actividad antioxidante resultante. Por esta razón y de acuerdo con los resultados obtenidos, se puede sugerir que las bacterias lácticas que actúan en el vino pueden ser uno de los factores que contribuyen a los potenciales beneficios de los vinos en la salud.

Bibliografía

1. MORENO-ARRIBAS, V.; POLO, M.C. 2005. Winemaking microbiology and biochemistry: current knowledge and future trends. *Cr. Rev. Food Sc.*, 45, 265-286
2. VRHOVSEK U., VANZO A., NEMANIC J. 2002. Effect of red wine maceration techniques on oligomeric and polymeric proanthocyanidins in wine, cv. Blaufränkisch. *Vitis*, 41, 47-51.
3. POZO-BAYÓN, M.A.; ALEGRÍA E.G; POLO, M.C ; TENORIO, C. ; P.J. MARTÍN-ÁLVAREZ, M.T. CALVO DE LA BANDA; RUIZ-LARRREA, F; MORENO-ARRIBAS, M.V. 2005. Wine Volatile and Amino acid Composición after Malolactic Fermentation: Effect of *Oenococcus oeni* and *Lactobacillus plantarum* Starter Cultures. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 8729-8735
4. FERNÁNDEZ DE SIMÓN B., HERNÁNDEZ T., CADAHÍA E., DUEÑAS M., Estrella I. 2003. Phenolic compounds in a spanish red wine aged in barrels of spanish, french and american oak wood. *Eur. Food Res. Technol.* 216, 150-156.
5. HERNÁNDEZ T., ESTRELLA I., CARLAVILLA D., MARTÍN-ÁLVAREZ P., MORENO-ARRIBAS MV. 2006. Phenolic compounds in red wine subjected to industrial malolactic fermentation and ageing on lees. *Anal. Chem. Acta* (2006). 563,116-125.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por los Proyectos AGL 2006-04514 del Ministerio de Educación y Ciencia y S-0505/AGR/0153 y ANALISYC (S-505/AGR-0312) de la Comunidad de Madrid.

Tabla 1. Compuestos fenólicos identificados en los vinos

Pico	Compuestos	λ max.(nm)	[M-H] ⁻	Fragmentos
Ácidos hidroxibenzoicos y derivados				
1	gálico	271.7	169.1	
3	protocatéquico	259.9/294.2	153.0	
8	galato de metilo	272.9	182.9	
13	vanillínico	261.1/293.0	167.1	
17	siríngico	274.6	197.1	
21	galato de etilo	272.9	197.1	
33	elágico	256.2/367	301.1	
Ácidos hidroxicinámicos y derivados				
2	<i>cis</i> -caftárico	310.9	311.1	149.0/179.1
6	<i>trans</i> -caftárico	325.9	311.1	149.0/179.1
9	<i>cis-p</i> -cutárico	310.8	295.0	149.0/163.1
11	<i>trans-p</i> -cutárico	313.2	295.0	149.0/163.1
14	<i>trans</i> -cafeíco	322.7	179.2	
15	<i>trans-p</i> -cumárico hexosa	312.0	325.1	162.0/163.1
19	<i>trans-p</i> -cumárico hexosa	312.0	325.1	162.0/163.1
23	<i>trans-p</i> -cumárico	314.3	163.1	
24	<i>cis-p</i> -cumárico	295.4	163.1	
27	<i>trans</i> -ferúlico	322.7	193.1	
Estilbenos				
31	<i>trans</i> -resveratrol glucósido	319.2	389.1	227.1
35	<i>cis</i> -resveratrol glucósido	286.7	389.1	227.1
37	<i>trans</i> -resveratrol	306.1	227.1	
38	<i>cis</i> -resveratrol	284.7	227.1	
Alcoholes				
10	tirosol	276.4	137.1	
32	triptofol	280.0	160.1	
Flavanoles				
4	procianidina trimero	278.8	865.1	289.1
5	prodelfinidina dimero	276.4	593.0	
7	procianidina dimero	278.8	577.1	289.1
12	(+) catequina	278.8	289.1	
16	procianidina trimero	278.8	865.1	577.1/289.1
20	(-) epicatequina	278.8	289.1	
22	procianidina trimero	278.8	865.1	577.1/289.1
25	procianidina dimero	278.8	577.1	289.1
26	procianidina dimero	278.8	577.1	289.1
30	procianidina dimero	278.8	577.1	289.1
Flavonoles				
18	dihidroquercetina derivado	283.1	465.1	303.0
28	miricetina 3- <i>O</i> -galactosido	261.1/354.9	479.1	317.1
29	dihidroquercetina	289.1	303.1	
34	quercetina 3- <i>O</i> -glucuronido	256.3/353.7	477.1	176.1/301.0
36	miricetina	252.8/372.1	317.0	
39	quercetina	255.2/369.0	301.0	

Los números de los compuestos corresponden a los de los picos del cromatograma

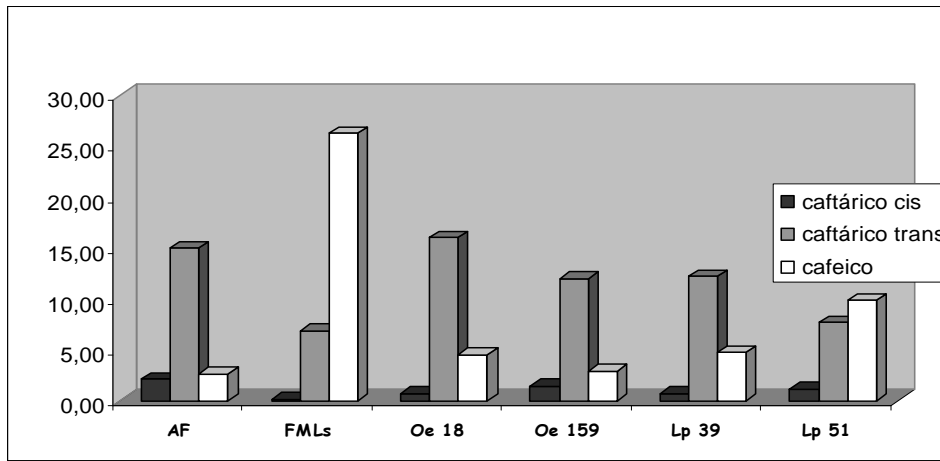


Figura 1. Concentración (mg/l) de los isómeros *cis* y *trans* del ácido caftárico y del correspondiente ácido libre

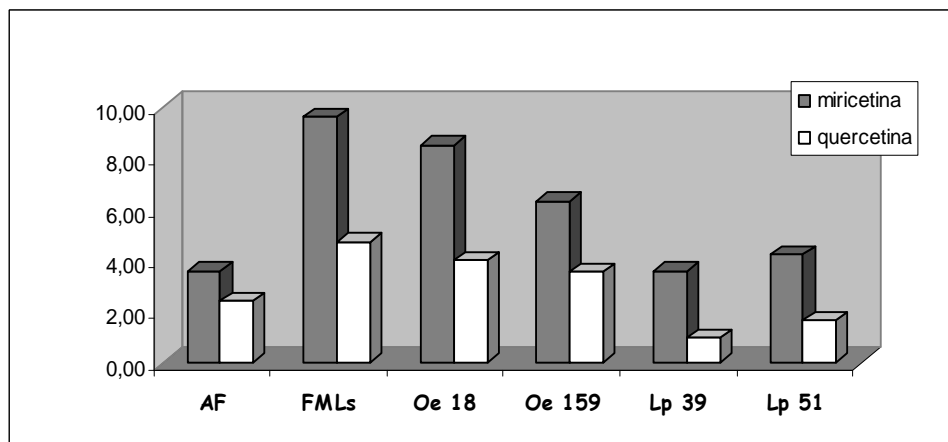


Figura 2. Concentración (mg/l) de los flavonoles miricetina y quercetina

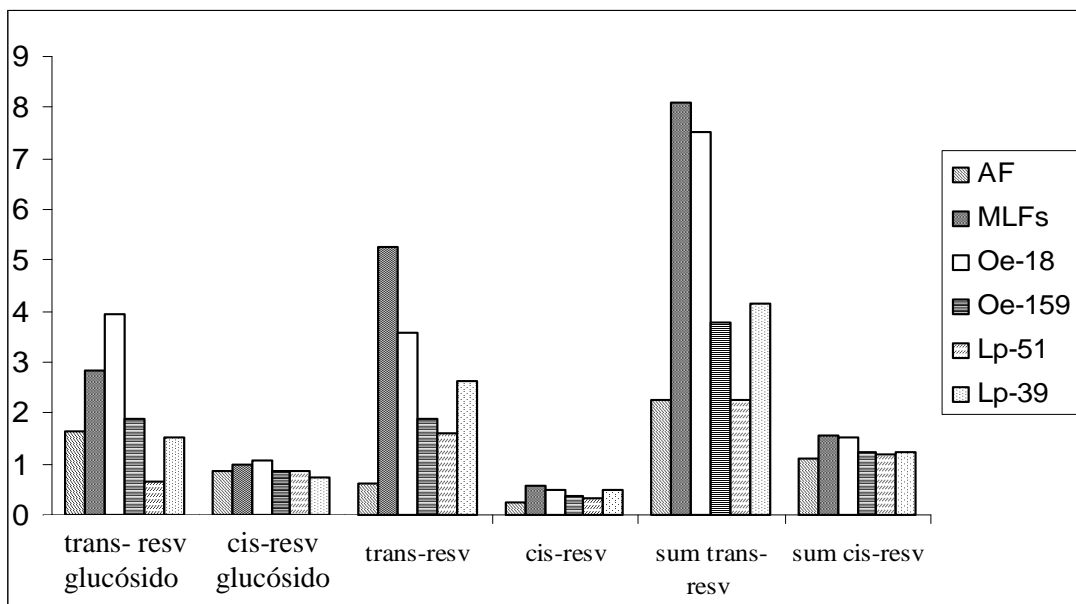


Figura 3. Concentración (mg/l) de los isómeros *cis* y *trans* de resveratrol y del glucósido de resveratrol