

## **Interacción entre microorganismos durante la fermentación alcohólica y maloláctica**

**José M. Guillamón Navarro**

Unitat d'Enologia del Centre de Referència de Tecnologia d'Aliments. Departamento de Bioquímica y Biotecnología. Facultad de Enología de Tarragona. Universidad Rovira i Virgili

La conversión del mosto de uva en vino es un complejo proceso bioquímico que implica interacciones entre levaduras y bacterias acéticas y lácticas. Estos microorganismos ya están presentes en el mosto y se van seleccionando aquellos que son más competitivos en cada fase de la vinificación. Nuestro grupo de investigación ha trabajado en los últimos años en el estudio de estas poblaciones de microorganismos durante las fermentaciones alcohólica y maloláctica. Para llevar a cabo este tipo de estudio es necesario disponer de técnicas rápidas y fiables para la identificación de los distintos grupos microbianos. Con este fin, hemos desarrollado y adaptado diferentes métodos moleculares de análisis rápido de los microorganismos del vino tales como:

1. El análisis de restricción del ADN ribosomal para la identificación de especies de levaduras (Guillamón et al., 1998)
2. El análisis de restricción del ADN mitocondrial para la tipificación de cepas de *S. cerevisiae* (Querol et al., 1992; Guillamón et al., 1994)
3. El análisis de restricción del ADN ribosomal 16S para la identificación de especies de bacterias acéticas (Poblet et al., 2000; Ruiz et al., 2000)
4. Amplificación específica, mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), del gen del enzima maloláctico para la identificación de *Oenococcus oeni* (Zapparelli et al., 1998)
5. Utilización de la técnica de “multiplex RAPD-PCR” para la identificación de cepas de *O. Oeni* (Reguant y Bordons, 2003).

La disponibilidad de estas técnicas nos ha permitido:

- a) seguir la evolución de las poblaciones de levaduras durante tres años consecutivos en diversas bodegas de las denominaciones de origen Priorato y Terra Alta (Torija et al., 2001)
- b) comprobar el efecto de la inoculación de levaduras comerciales sobre la microbiota autóctona en una bodega de nueva creación (Beltran et al., 2002)
- c) Estudiar conjuntamente la evolución de poblaciones de levaduras, bacterias lácticas y bacterias acéticas durante una fermentación alcohólica inoculada y otra espontánea. Este trabajo se amplió con el estudio de las poblaciones de bacterias lácticas y acéticas durante la fermentación maloláctica (Guillamón et al., 2002; Reguant y Bordons, 2003).

Las principales conclusiones que se pueden obtener de estos trabajos son:

- Las levaduras son los microorganismos más adaptados para su crecimiento en el mosto.
- Las especies de bajo poder fermentativo son mayoritarias al principio del proceso pero la mayor capacidad fermentativa, resistencia a etanol y SO<sub>2</sub> facilitan una imposición de las cepas de *S. cerevisiae* a los pocos días de iniciarse la fermentación alcohólica.
- La inoculación continuada de levaduras comerciales reduce la participación de las cepas autóctonas durante fermentaciones espontáneas

- La inoculación del mosto produce un inicio rápido de la fermentación alcohólica y reduce el desarrollo de las no-*Saccharomyces*
- Las poblaciones de bacterias lácticas y acéticas disminuyen a lo largo de la fermentación alcohólica, especialmente si el inicio de la fermentación es rápido.
- Las bacterias lácticas, pero también las bacterias acéticas, se desarrollan durante la fermentación maloláctica
- La cepa de *S. cerevisiae* que ha llevado a cabo la fermentación alcohólica determina clarísimamente el desarrollo de las bacterias lácticas durante la fermentación maloláctica (compatibilidad levadura-bacteria láctica)

## Referencias

- Beltran G, MJ Torija, M Novo, N Ferrer, M Poblet, JM Guillamon, N Rozes y A Mas.** Analysis of yeast populations during alcoholic fermentation: a six year follow-up study. *Systematic and Applied Microbiology*, 25: 287-293, 2002
- Guillamón JM., E. Barrio, T. Huerta y A. Querol.** Rapid characterization of four species of the *Saccharomyces sensu stricto* complex according to mitochondrial DNA patterns. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 44: 708-714, 1994
- Guillamón JM, J. Sabaté, E. Barrio, J. Cano y A. Querol.** Rapid Identification of wine yeast species based on RFLP analysis of the ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region. *Archives of Microbiology*, 169: 387-392, 1998
- Guillamón JM, A González, M Poblet y A Mas.** Development of molecular techniques for the analysis of acetic acid bacteria in winemaking. Lallemand Technical meetings, 45-49, 2002.
- Poblet M., N. Rozès, J.M. Guillamón y A. Mas.** Identification of acetic acid bacteria by restriction fragment length polymorphism analysis of a PCR-amplified fragment of the gene coding for 16S rRNA. *Letters in Applied Microbiology*, 31: 63-67, 2000.
- Querol, A., Barrio, E., Ramón, D.** A comparative study of different methods of yeast strain characterization. *Syst. Appl. Microbiol.* 15: 439-446, 1992
- Reguant C, Bordons A** (2003) Typification of *Oenococcus oeni* strains by multiplex RAPD-PCR and study of population dynamics during malolactic fermentation. *Journal of Applied Microbiology*, en prensa.
- Ruiz A., M. Poblet, A. Mas y J.M. Guillamón.** Identification of acetic acid bacteria by RFLP of the PCR-amplified 16S rDNA and 16S-23S rDNA intergenic spacers. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50: 1981-1987, 2000.
- Torija M.J., N. Rozès, M. Poblet, N. Rozès, J.M. Guillamón y A. Mas.** Yeast population dynamics in spontaneous fermentations: comparisons between two different wine producing areas over a period of three years. *Antonie van Leeuwenhoek Int. J. G*, 79: 345-352, 2001
- Zapparoli G, Torriani S, Pesente P, Dellaglio F.** Design and evaluation of malolactic enzyme gene targeted primers for rapid identification and detection of *Oenococcus oeni* in wine. *Letters in Applied Microbiology*, 27:243-246, 1998.