

STIVALA María G.<sup>a,b</sup>; VILLECCO, Margarita B. <sup>a</sup>; AREDES FERNÁNDEZ, Pedro A. <sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia – Universidad Nacional de Tucumán <sup>b</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)  
[maria.stivala@fbaf.unt.edu.ar](mailto:maria.stivala@fbaf.unt.edu.ar)

## INTRODUCCIÓN

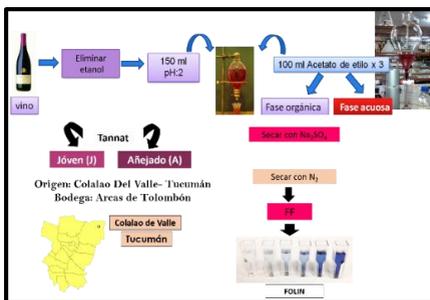
El vino es una de las bebidas alcohólicas más conocidas, consumidas e investigadas a nivel mundial. Es producido a partir de la fermentación alcohólica del mosto de uva fresca y atraviesa diferentes controles con el fin de asegurar su calidad y sanidad. El principal rol de los microorganismos involucrados en la vinificación es transformar los azúcares del jugo de uva en etanol, reduciendo la acidez e incorporando aroma y *flavor* deseables al producto final. Durante la vinificación pueden ocurrir alteraciones organolépticas e higiénico-sanitarias producidas por Bacterias Lácticas (BL) indeseables, especialmente del género *Lactobacillus*. Estas BL están relacionadas a la presencia de aminas biogénicas, principalmente de histamina, la cual está estrictamente regulada por países importadores. Actualmente, el control de la microbiota alterante en la industria se realiza únicamente con dióxido de azufre, sin embargo este agente químico puede producir alergias e intolerancia en personas sensibles. En las últimas décadas, el interés por los compuestos fenólicos (CF) se centró sobre sus propiedades biológicas asociados con efectos beneficiosos para la salud como la actividad antioxidante, antimicrobiana, antialérgica y antiinflamatoria. Los CF presentes en vinos inhiben el crecimiento de las BL. El proceso de añejamiento en barrica de roble libera una mayor cantidad CF al vino.

## OBJETIVO

El objetivo de este trabajo es investigar el efecto de la fracción fenólica de bajo peso molecular (FF) extraída de un vino joven o añejado sobre el crecimiento de tres cepas de *Lactobacillus hilgardii* (5w, 6F y X<sub>1</sub>B), aisladas de vino y con documentada capacidad para producir aminas biogénicas.

## METODOLOGÍA

### Obtención de la fracción fenólica de vinos



**Cuantificación de compuestos fenólicos:** Se determinan por el método de Singleton y Rossi usando una curva estándar de ácido gálico. Los resultados se expresan como mg/L de GAE.

**Microorganismos y condiciones de crecimiento:** *Lactobacillus hilgardii* 5W, 6F y X<sub>1</sub>B aislados de vinos de Cafayate, Salta. Las células fueron cosechadas, lavadas e inoculadas en Medio Sintético-Símil Vino (MVS). El MSV contiene en g/L: glucosa 5,0; fructosa 3,0; ácido L-málico 3,0; ácido tartárico 4,0; ácido cítrico 0,7; K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1; MgSO<sub>4</sub> 0,025; MnSO<sub>4</sub> 1,0. También se adicionó un 10% de etanol (99,5 % v/v), aminoácidos esenciales y solución al 1,7% (10X) de YNB (DifcoTM & BBLTM), el pH se ajusta a 4,5. El MVS, que simula las condiciones naturales del vino, se suplementa individualmente con las diferentes FF extraídas a la misma concentración que se encuentra en el vino (1X) y dos veces concentrada (2X). Cada medio formulado se incubó a 20°C durante 72 h.

### Parámetros de crecimiento

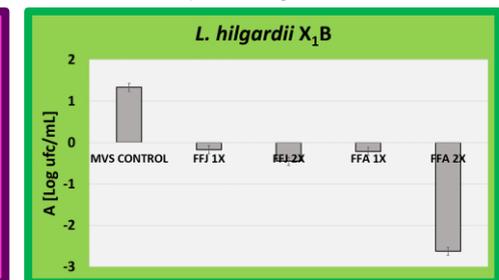
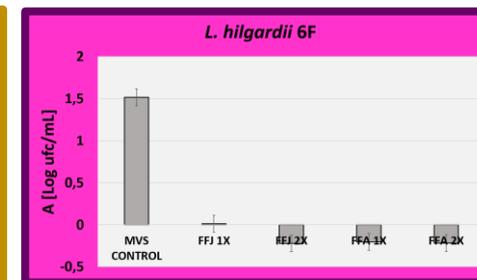
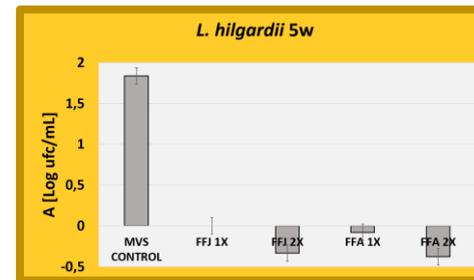
Diferencia entre viabilidad final e inicial  
 $A = \log \left( \frac{N_f}{N_0} \right)$   
 Donde:

N: Concentración de células viables en el tiempo final  
 N<sub>0</sub>: Concentración de células viables en el tiempo inicial

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Cuantificación de compuestos fenólicos

Concentración [mg L <sup>-1</sup> GAE]	JOVEN	AÑEJADO
VINO	3057,4±289	2868,7±240
FF	268,9±24	940,8±91



### Efecto de las FBP sobre el crecimiento de *Lactobacillus hilgardii*

En MVS, sin la adición de FF, las cepas 5w, 6F y X<sub>1</sub>B de *L. hilgardii* incrementan su viabilidad en 1,83, 1,51 y 1,33 ciclos log, respectivamente (72 h). En presencia de FFJ 1X, todas las cepas estudiadas muestran una detención del crecimiento respecto al control, manteniendo valores de viabilidad similares al del inóculo durante todo el periodo de incubación (A=0 Log ufc/mL). Al duplicar la concentración de FFJ se observa, en todos los casos, una disminución en la concentración de células viables con respecto al inóculo, alcanzando valores de A entre -0,22 y -0,45 Log ufc/mL.

La incorporación al MVS de las FFA 1X y 2X provocó una disminución en la viabilidad microbiana con respecto al inóculo. Siendo, *L. hilgardii* X<sub>1</sub>B la bacteria más sensible, observándose a 2X un brusco descenso de la concentración celular (A=-2,62 log ufc/mL). Se conoce que los CF poseen actividad antimicrobiana sobre las BL (García-Ruiz y col. 2012; Stivala y col. 2014, 2015, 2017). Además, se informó que los CF de bajo peso molecular, producen una fuerte inhibición sobre las BL del vino (García-Ruiz y col. 2012; Stivala y col. 2014, 2015), que involucraría el efecto sinérgico de los componentes de la fracción. El grupo de investigación, vinculado a este trabajo, ha caracterizado la composición fenólica de bajo peso molecular de otros vinos de los Valles Calchaquíes (Stivala y col. 2014, 2015; Ledesma y col. 2018), demostrando la presencia de CF con actividad antioxidante y antimicrobiana sobre BL deteriorantes de vino.

## CONCLUSIONES

- Los CF presentes en las FF de los vinos estudiados producen la detención del crecimiento y pérdida de viabilidad en bacterias alterantes de vino en las condiciones estudiadas.
- Los CF de vino podrían ser propuestos como alternativa natural al uso de los agentes químicos usados actualmente.
- En las condiciones ensayadas, la actividad antimicrobiana ejercida por las FFJ y FFA no mostró una notable diferencia, a excepción de la FFA, en concentración 2x, con la cepa X<sub>1</sub>B de *L. hilgardii*, en donde se observa un mayor efecto antimicrobiano.

## BIBLIOGRAFÍA

- García-Ruiz A, Cueva C, González-Rompinelli EM, Yuste M, Torres M, Martín-Álvarez PJ, Bartolomé B, Moreno-Arribas MB (2012). Food Control 28, 212-219.
- Ledesma SC, Stivala MG, Rubio MC, Fanzone ML, Jofré V, Aredes-Fernández P (2018). J. Wine Res. 29, 143-150
- Stivala MG, Vilecco MB, Enriz E, Aredes-Fernández P (2017). Am. J. Enol. Vitic. 68, 228-233.
- Stivala MG, Vilecco MB, Fanzone M, Jofré V, Aredes-Fernández P (2015). Biotechnol. Lett. 37, 2435-2444.
- Stivala MG, Vilecco MB, Fanzone M, Jofré V, Rodríguez-Vaquero MJ Aredes-Fernández P (2014). Open Conf Proc J. 5, 29-37.