

13. Polifenoles como una alternativa natural a los sulfitos en el control del crecimiento de bacterias lácticas en vinos: eficacia tecnológica y mecanismos bioquímicos y moleculares implicados

Almudena García-Ruiz, Begoña Bartolomé, Carolina Cueva, Juan José Rodríguez-Bencomo, Teresa Requena, Pedro J. Martín-Álvarez, M. Victoria Moreno-Arribas

Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL), (CSIC-UAM). c/ Nicolás Cabrera, 9. Campus de Cantoblanco. Universidad Autónoma de Madrid. 28049 Madrid. Tel 910017900- Fax 910017905. E-mail: victoria.moreno@csic.es

Con el objetivo de desarrollar alternativas naturales al tradicional empleo de los sulfitos en enología, en este trabajo se ha llevado a cabo un estudio sistemático del efecto de los polifenoles sobre el crecimiento y metabolismo de bacterias lácticas del vino, y su mecanismo de acción, evaluando además el posible uso de extractos fenólicos naturales como aditivos antimicrobianos durante la elaboración del vino. Para ello, en una primera fase, se ha evaluado el efecto de distintos compuestos fenólicos presentes en el vino sobre el crecimiento y metabolismo de las principales especies de bacterias lácticas implicadas en el proceso de fermentación maloláctica y/o causantes de alteraciones en los vinos, y se ha establecido la relación estructura/actividad. A su vez, se ha dilucidado el mecanismo de acción antimicrobiana y la posible interacción de los polifenoles con actividades metabólicas bacterianas relevantes, como la implicada en la degradación de aminas biógenas. Estos trabajos previos han servido de base para la selección de los mejores extractos fenólicos, obtenidos a partir de plantas y diferentes productos vegetales (incluida la vid), con actividad antimicrobiana frente a bacterias lácticas de origen enológico. La aptitud tecnológica e impacto organoléptico de los extractos más activos se ha estudiado en experimentos de fermentación maloláctica en vinos a escala de microvinificación y de bodega. Finalmente, se ha caracterizado genéticamente la población de *Oenococcus oeni* representativa de los vinos tratados y no tratados con extractos fenólicos como antimicrobianos, y se ha evaluado la influencia de estos extractos sobre marcadores genéticos de interés en esta especie.

Los resultados indican que los compuestos fenólicos del vino, especialmente los flavonoles, presentan capacidad para inhibir el crecimiento de *O. oeni*, la principal especie implicada en la fermentación maloláctica, así como de *L. hilgardii* y *P. pentosaceus*, asociadas a alteraciones del vino. Para *O. oeni*, la mayoría de los compuestos fenólicos muestran un efecto inhibitorio -expresado como IC₅₀- superior al del metabisulfito potásico. El mecanismo de acción antimicrobiana de los polifenoles es diferente al del dióxido de azufre, comprobándose mediante microscopía de electrónica de transmisión que los polifenoles dañan la integridad de la membrana celular bacteriana. Se han seleccionado 12 extractos fenólicos de origen vegetal y distinta composición fenólica con elevada capacidad antimicrobiana frente a bacterias lácticas y bacterias acéticas del vino. El extracto de hojas de eucalipto (*Eucalyptus*) presenta la mayor capacidad antimicrobiana. En un experimento a escala de laboratorio sobre vinos tintos elaborados a nivel industrial, se ha conseguido que la adición del extracto de hoja de eucalipto retrase significativamente la fermentación maloláctica, tanto inducida por un inóculo como llevada a cabo de forma espontánea, aunque el efecto resulta considerablemente inferior al conseguido por el empleo de anhídrido sulfuroso. En un experimento a escala de bodega sobre vinos blancos sometidos a crianza en madera, se ha comprobado que la adición del extracto de hoja de eucalipto (0,1 g/l) conjuntamente con una dosis reducida a la mitad de SO₂ asegura la estabilidad microbiológica de los vinos durante la crianza, lo que confirma la eficacia tecnológica de este tipo de extractos para el control de la fermentación maloláctica y el crecimiento indeseable de microorganismos durante la vinificación. Por otro lado, la adición de extractos fenólicos antimicrobianos durante la elaboración de los vinos tintos, no parece condicionar las propiedades organolépticas asociadas a su composición volátil y fenólica. Finalmente, aplicando diversas técnicas moleculares, se ha encontrado que las cepas de *O. oeni* aisladas de vinos tintos tratados con extractos fenólicos antimicrobianos presentan un menor número de marcadores genéticos relacionados con la adaptación y supervivencia a las condiciones en las que transcurre la fermentación maloláctica, en comparación con las cepas de la misma especie y aisladas de los vinos no tratados. En nuestro conocimiento, éstos son los primeros indicios de que la acción de los polifenoles sobre las bacterias lácticas representa un mecanismo de selección de especies y cepas, y abren el camino a futuras investigaciones que sienten las bases sobre los mecanismos moleculares y evolutivos implicados.