



DEGRADACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS PRESENTES EN VINO MEDIANTE CEPAS DE *Lactobacillus plantarum*

José María Landete, Héctor Rodríguez, Blanca de las Rivas, Rosario Muñoz

Departamento de Microbiología, Instituto de Fermentaciones Industriales, CSIC, C/ Juan de la Cierva 3, 28006 Madrid.
Tno 91 562 2900. E-mail: jm.landete@ifi.csic.es

Resumen:

Los compuestos fenólicos influyen en las características sensoriales y nutricionales del vino. La especie *Lactobacillus plantarum*, modelo de cultivo iniciador en biotecnología de alimentos vegetales, es una de las especies de bacterias lácticas mayoritarias en vino. El estudio pretende analizar la capacidad que presentan varias cepas de *L. plantarum* para degradar 15 de los compuestos fenólicos mayoritarios presentes en vinos. Los sobrenadantes de cultivos de *L. plantarum* crecidos en presencia de los compuestos fenólicos se analizaron para comprobar su posible degradación, así como para determinar el compuesto producido. Los resultados obtenidos indican que todas las cepas de *L. plantarum* presentan un comportamiento similar y sólo son capaces de metabolizar 7 de los 15 compuestos fenólicos analizados. Tiene especial relevancia la descarboxilación de algunos ácidos cinámicos (ácido *p*-cumárico y ácido ferúlico) que originan la formación de vinilfenoles (4-vinilfenol y 4-vinilguayacol, respectivamente), y su posterior reducción, con la formación de etilfenoles. La producción de estos fenoles volátiles tiene una gran influencia en el aroma del vino.

Palabras clave: *Lactobacillus plantarum*; ácidos cinámicos; fenoles volátiles; vinilfenoles; compuestos fenólicos.

1. INTRODUCCIÓN

Los compuestos fenólicos revisten una gran importancia en enología debido al papel que juegan directamente o indirectamente sobre la calidad de los vinos. En efecto, son el origen del color y de la astringencia, además de algunas de sus propiedades nutricionales y farmacológicas.

La composición fenólica del vino depende de numerosos factores entre los que se encuentran la variedad de uva (blanca o tinta), el modo de estrujado, la posible inclusión o eliminación antes de la fermentación de los hollejos, semillas y pulpa de la uva (especialmente en las variedades tintas), el tipo de vinificación (temperatura y tiempo de maceración) y el envejecimiento. La composición fenólica también se modifica durante la fermentación por la actividad de las levaduras las cuales son capaces de metabolizar algunos de los compuestos fenólicos presentes. Y en último término, el contacto del mosto y del vino con la barrica de madera también contribuye a la presencia de compuestos fenólicos en el vino.

El proceso de fermentación produce cambios cualitativos y cuantitativos en la composición fenólica del vino. Durante la fermentación, los compuestos derivados del ácido hidroxicinámico se hidrolizan a ácido hidroxicinámico libre, el cual se puede después oxidar y convertir en fenoles volátiles por acción de descarboxilasas presentes en las levaduras, o ser adsorbidos por las levaduras. Aproximadamente, el 27,6% de los ácidos hidroxicinámicos se pierden durante el proceso de vinificación. En la mayoría de los vinos tintos se produce un segundo proceso fermentativo, la fermentación maloláctica, llevada a cabo por bacterias lácticas. Los compuestos fenólicos van a influir en el crecimiento de estas bacterias, y algunos de ellos van a ser degradados por las bacterias lácticas como consecuencia de su crecimiento en el mosto y vino.

La especie de bacteria láctica *L. plantarum* es el modelo de bacteria láctica ubicua en sustratos vegetales ricos en compuestos fenólicos. La particularidad metabólica que presenta *L. plantarum* para compuestos fenólicos se ve también reflejada en la observación de que esta especie tiene uno de los genomas más grandes entre las bacterias lácticas poseyendo, por tanto, un alto potencial metabólico. Este estudio se ha planteado con objeto de conocer la capacidad de *L. plantarum* para metabolizar algunos de los compuestos fenólicos presentes en el vino.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Cepas bacterianas

Se estudiaron 4 cepas de *L. plantarum* aisladas de diferentes orígenes. *L. plantarum* CECT 748^T, suministrada por la CECT y aislada de col fermentada; *L. plantarum* WCSF1, suministrada por el Dr. M. Kleerebezem (Wageningen Centre for Food Sciences, NIZO Food Research) y aislada de saliva; *L. plantarum* LPT57/1 suministrada por el Dr. J. L. Ruiz-Barba (Instituto de la Grasa, CSIC) y aislada de aceitunas; y *L. plantarum* RM-76 aislada en el Instituto de Fermentaciones Industriales (CSIC) de una muestra de vino.

2.2. Ensayo de degradación de compuestos fenólicos

Las cepas de *L. plantarum* se inocularon en el medio basal descrito por Rozès y Peres [1]. Estos cultivos se utilizaron como inóculos para medios conteniendo compuestos fenólicos. Los compuestos fenólicos analizados son: ácido gálico (5 mM), ácido protocatéquico (15 mM), tirosol (15 mM), ácido vainillílico (25 mM), catequina (15 mM), epicatequina (15 mM), quercitina (25 mM), ácido cafeico (15 mM),

ácido siríngico (15 mM), ácido *p*-cumárico (5 mM), ácido ferúlico (15 mM), metil galato (5 mM), ácido cinámico (5 mM), triptofol (5 mM), y ácido salicílico (25 mM). Los compuestos fenólicos se extrajeron con acetato de etilo y se analizaron mediante HPLC.

2.3. Análisis mediante HPLC

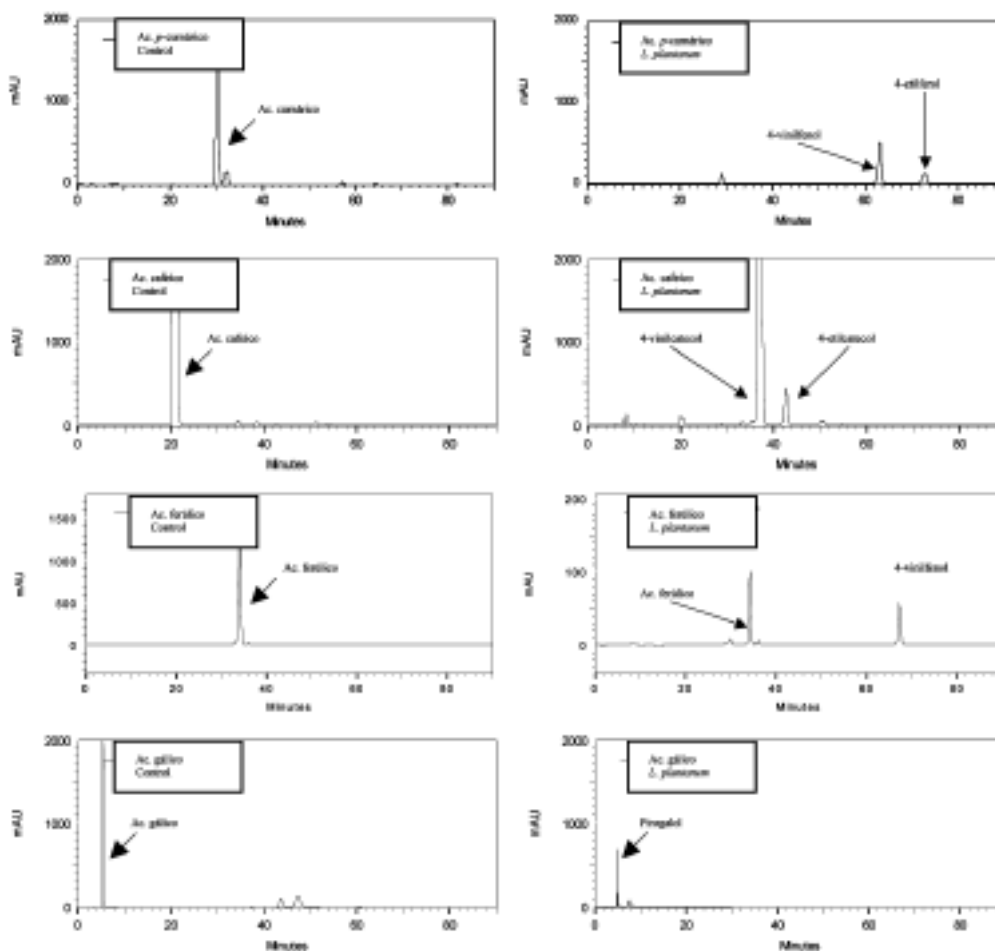
Para la detección de compuestos fenólicos se utilizó un equipo cromatográfico (Thermo Electrón) compuesto por una bomba cuaternaria P400 SpectraSYSTEM y un detector de diodos UV6000LP. Se utilizó un gradiente de solvente A (agua:ácido acético, 98:2) y solvente B (agua:acetonitrilo:ácido acético, 78:20:2) en un cartucho Nova-pack C₁₈ (25 cm x 4.0 mm d.i.) según el método descrito por Bartolomé y cols. [2].

3. RESULTADOS

3.1. Degradación de compuestos fenólicos por *L. plantarum*

Todas las cepas de *L. plantarum* mostraron un comportamiento similar respecto a su capacidad para degradar los distintos compuestos fenólicos ensayados, puesto que fueron capaces de degradar los mismos compuestos fenólicos. De todos los compuestos ensayados sólo se degradaron el ácido cumárico, ácido caféico, ácido ferúlico, ácido gálico, metil galato, ácido protocatequico, ácido sinápico. La Figura 1 muestra los cromatogramas obtenidos con algunos de estos compuestos.

Fig. 1. HPLC cromatogramas que muestran la degradación de algunos de los ácidos fenólicos ensayados



3.2. Compuestos fenólicos originados por el metabolismo de *L. plantarum*

Las cepas de *L. plantarum* degradaron algunos de los compuestos fenólicos ensayados originando compuestos con gran importancia en el aroma, como los etilfenoles.

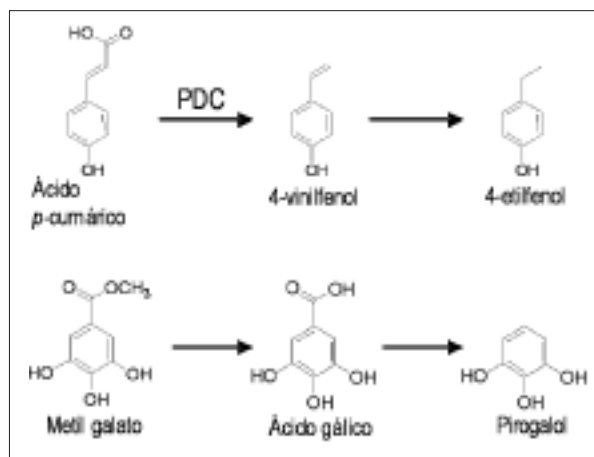
Tal como muestra la Tabla 1, la mayoría de los compuestos metabolizados por las cepas de *L. plantarum* son ácidos los cuales experimentan una descarboxilación, que en algunos casos va acompañada de una reducción. La Figura 2 muestra algunas de las posibles rutas implicadas en la degradación de estos compuestos fenólicos.



Fig. 2. Posibles rutas implicadas en la degradación de compuestos fenólicos por *L. plantarum*

Compuesto	Producto	Reacciones enzimáticas
Ácido <i>p</i> -cumárico	4-vinilfenol, 4-etilfenol	Descarboxilasa y reductasa
Ácido protocatequico	Catecol	Descarboxilasa
Ácido gálico	Pyrogalol	Descarboxilasa
Metil galato	Pyrogalol	Esterasa y descarboxilasa
Ácido cafeico	4-vinilcatecol, 4-etilcatecol	Descarboxilasa y reductasa
Ácido ferúlico	4-vinilguayacol, 4-vinilfenol	Descarboxilasa y reductasa

Fig. 2. Posibles rutas implicadas en la degradación de compuestos fenólicos por *L. plantarum*



4. DISCUSIÓN

Lactobacillus plantarum es capaz de modificar alguno de los compuestos fenólicos presentes en vino originando compuestos con repercusión en el aroma. En la actualidad, las enzimas implicadas permanecen sin caracterizar, a excepción de una descarboxilasa de ácidos fenólicos (PDC) que ha sido descrita previamente [3].

5. BIBLIOGRAFÍA

1. ROZÈS, N.; PERES, C. 1998. **Effects of phenolic compounds on the growth and the fatty acid composition of *Lactobacillus plantarum***. *Appl Microbiol Biotechnol* 49, 108-111.
2. BARTOLOMÉ, B.; PEÑA-NEIRA, A.; GÓMEZ-CORDOVÉS, M. C. 2000. **Phenolics and related substances in alcohol-free beers**. *Eur Food Res Technol* 210, 419-423.
3. CAVIN, J.-F.; BARTHELMEBS, L.; DIVIES, C. 1997. **Molecular characterization of an inducible *p*-coumaric acid decarboxylase from *Lactobacillus plantarum***. *Appl Environ Microbiol* 63, 1939-1944

6. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido realizado gracias a la financiación recibida de los proyectos AGL2005-00470 (CICYT), RM03-002 (INIA) y 07G/0035/2003 (CAM).