



MENDIKOI

Heziketa, Sustapena, Landa Garapena
Formación, Promoción, Desarrollo Rural

<http://www.mendikoi.net>

Jornada de Investigación

Estudio de las alteraciones bacterianas en las sidras:

ahilado y amargor



30 de junio de 2004

Ana Irastorza y Maite Dueñas (UPV)

Mendikoi Nekazaritza Garapenerako Institutua, S.A. • Sociedad Unipersonal • CIF: A-01150770

Mendikoi - Maeztu
Estazio kalea, z/g
01120 Maeztu (Araba)
Tel.: 945 410 303

Mendikoi - Arkaute
01192 Arkaute (Araba)
Tel.: 945 285 387
Fax: 945 284 955

Mendikoi - Derio
Berreaga, 5
48160 Derio (Bizkaia)
Tel.: 944 541 421

Mendikoi - Fraisoro
Elbarrena auzoa, z/g
20159 Zizurkil (Gipuzkoa)
Tel.: 943 692 162



Estudio de las alteraciones bacterianas en las sidras: ahilado y amargor

Ana Irastorza y Maite Dueñas

Grupo de Microbiología.
Dpto de Química Aplicada
Fac. Química. San Sebastián

Las alteraciones de la sidra: el ahilado/aceitado

Idoia Ibarburu López

El aceitado o ahilado

- Alteraciones microbianas
- Alteraciones por bacterias lácticas (BAL)

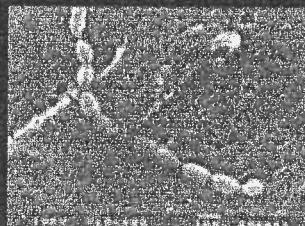
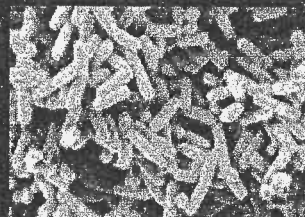
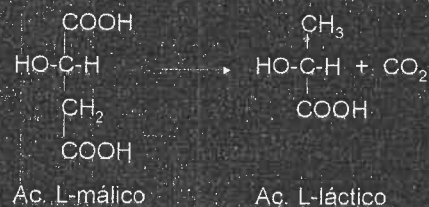
Acetificación

Amargor

Aceitado o ahilado

BAL: responsables del aceitado

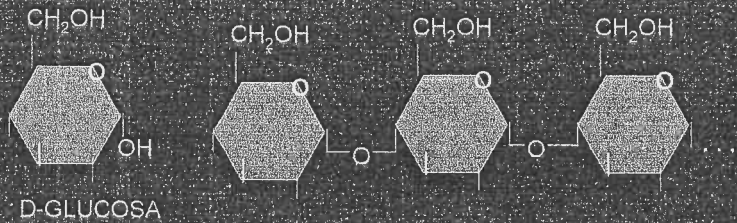
- BAL necesarias para la fermentación maloláctica (FML)



- Poblaciones altas: alteraciones

➤ Ahilado: origen

□ Producción de exopolisacáridos (EPS)



Excreción al medio → alteración

Estudios sobre el aceitado en las sidras gipuzkoanas: Objetivos

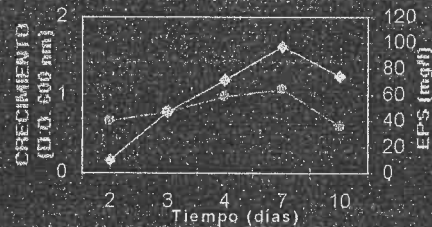
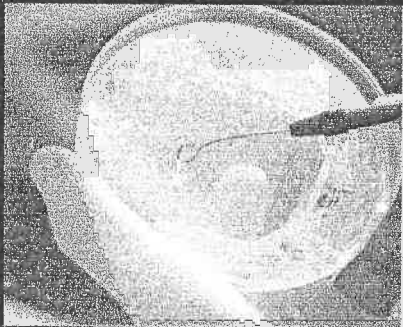
- Aislamiento e identificación de bacterias lácticas responsables del aceitado
- Caracterización estructural de los polisacáridos
- Estudio de la influencia de diferentes factores medioambientales sobre el crecimiento y producción de polisacáridos
- Diseño de un método rápido de detección de la presencia de estas bacterias

Aislamiento e identificación de bacterias lácticas responsables del aceitado

- Recogida de muestras
- Tabla

MUESTRA	BACT ACÉTICAS (UFC/ml)	LEVADURAS (UFC/ml)	BACT LÁCTICAS (UFC/ml)
G1	4	5.0×10^5	2.1×10^7
G2	0	0	6.6×10^5
G3	96	26	5.8×10^7
G4	27	23	2.8×10^5
G5	2	80	1.2×10^7
G6	32	0	1.0×10^7
G7	46	30	5.3×10^7
G8	0	1.1×10^5	4.7×10^7
G9	2.9×10^4	0	1.9×10^5

Aislamiento e identificación de bacterias lácticas responsables del aceitado



Producción de EPS en medio líquido

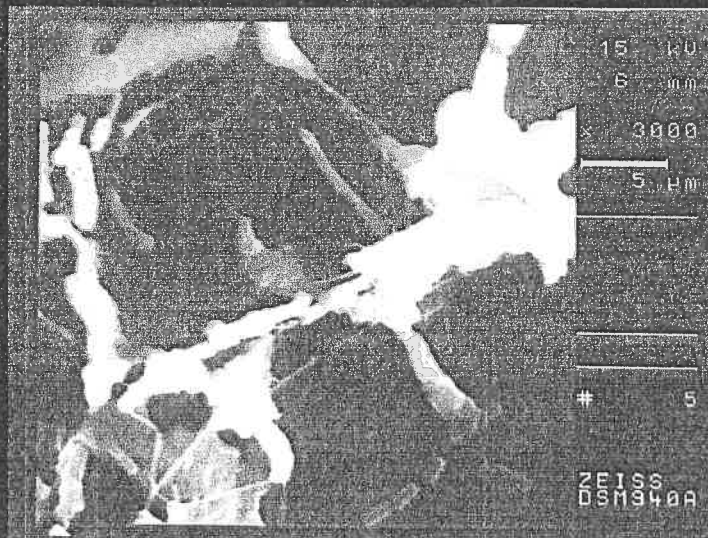
Géneros encontrados:

Lactobacillus 61%

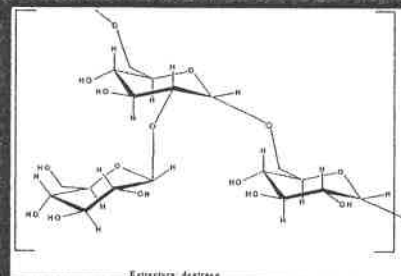
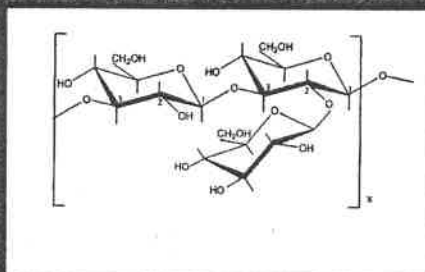
Pediococcus 35%

Oenococcus 4%

Micrografía de Lactobacillus



Caracterización estructural de los polisacáridos



Pediococcus: β -glucano

Lactobacillus: β -glucano + α -glucano

Oenococcus: β -glucano + heteropolisacárido

Diseño de un método rápido de detección de la presencia de estas bacterias

ADN



gen gtf

Glicosil transferasa



EPS

➤ Reacción en cadena de la polimerasa: PCR

➤ Electroforesis en gel



- | | |
|------------------------------|-------------------------|
| 2. <i>P. damnosus</i> 2.6R | 7. <i>L. helveticus</i> |
| 3. <i>O. oeni</i> 14 | 8. <i>Pediococcus</i> |
| 4. <i>Lactobacillus</i> G77 | 9. <i>Lactobacillus</i> |
| 5. <i>Len. mesenteroides</i> | 10. 10.2 |
| 6. <i>P. damnosus</i> (CECT) | |

Resultados de la PCR

Cepas de colecciones de cultivo

➤ No producen EPS: 100% resultado -

➤ Producen EPS: 2 resultados +

Cepas de nuestra colección

➤ No producen EPS: 100% resultado -

➤ Producen EPS: 100% resultado +

EUSKAL HERRIKO SAGARDOEN MIKASTASUNAREN ARDURADUN DIREN BAKTERIO LAKTIKOEN IKERKETA

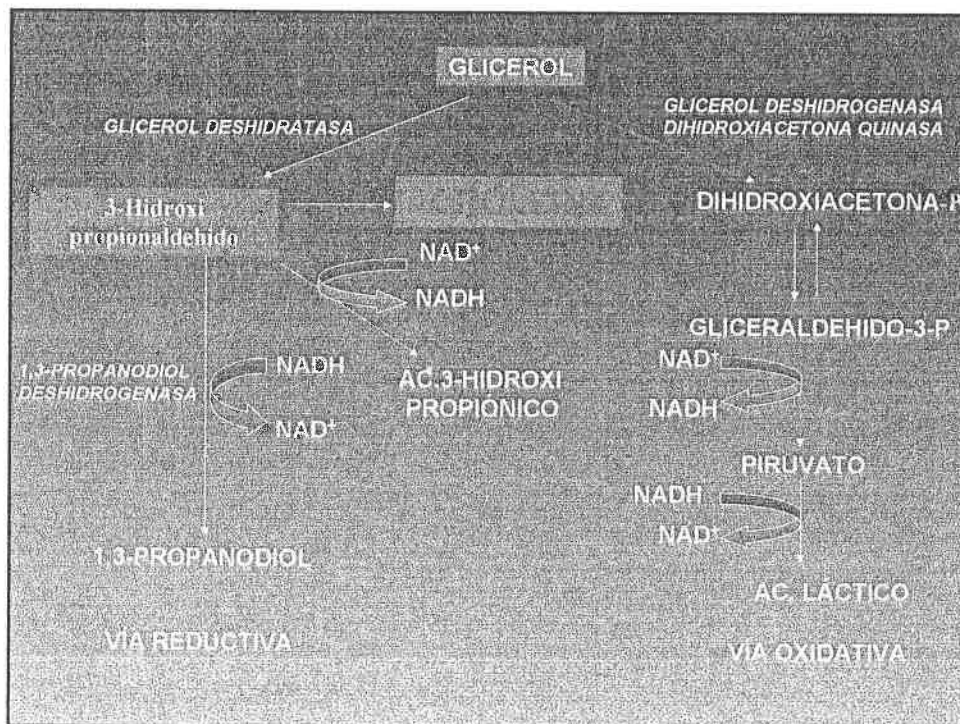
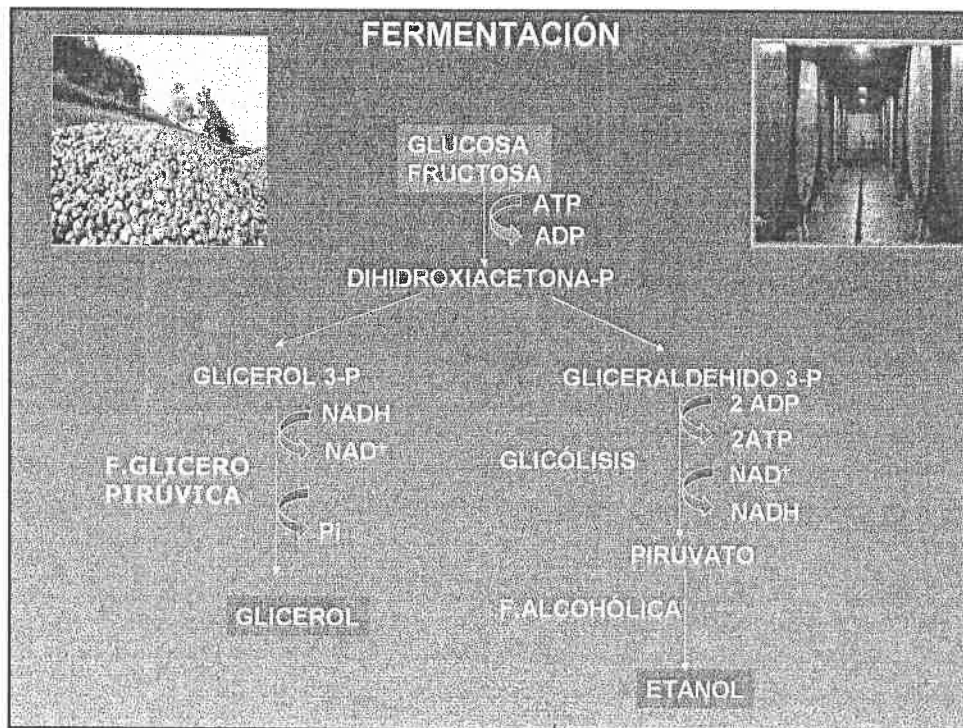
ESTUDIO DE LAS BACTERIAS LÁCTICAS RESPONSABLES DEL AMARGOR EN SIDRA DEL PAÍS VASCO

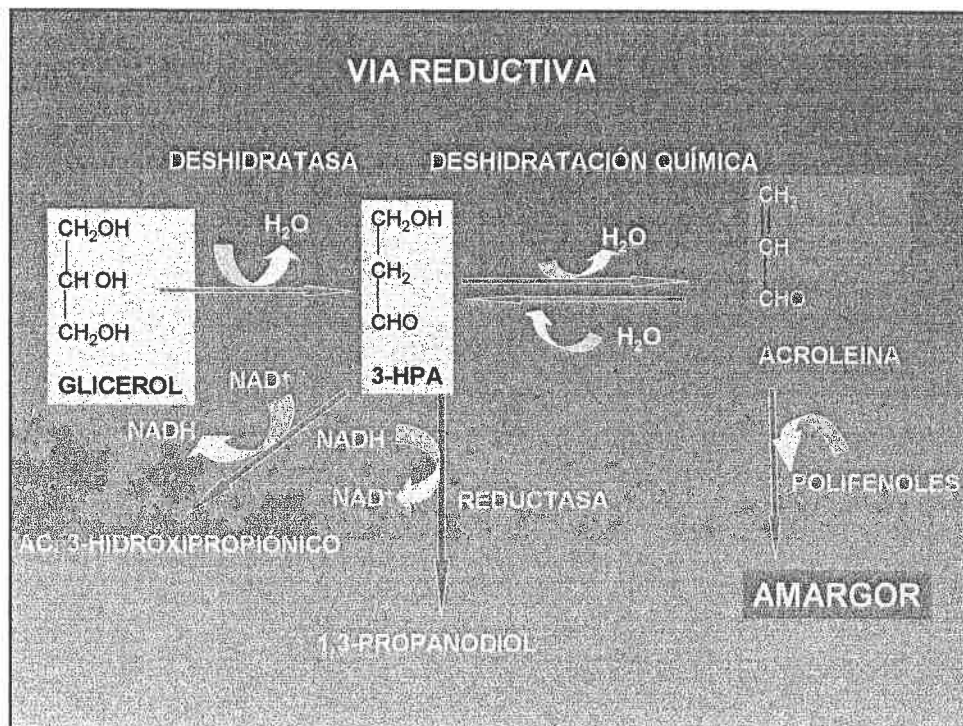
GATZKA GARAI IBABE
BEKA: EUSKO JAULARITZAKO
NEKAZARITZA ETA ARRANTZA SAJLA

LA ALTERACIÓN DEL AMARGOR

QUE ES EL AMARGOR?

- Alteración producida por Bacterias Lácticas
- Consumen glicerol produciendo 3-Hidroxipropionaldehído el cual se deshidrata químicamente dando acroleína
- La acroleína reacciona con los fenoles de la sidra creando compuestos de sabor amargo
- Especies responsables del amargor descritas en sidras y Vinos
 - + *Lactobacillus collinoides*
 - + *Lactobacillus diolivorans*
 - + *Lactobacillus hilgardii*
 - + *Pedfococcus pentosaceus*





OBJETIVOS DEL PROYECTO

- 1 - CARACTERIZACIÓN ANALÍTICA Y MICROBIOLÓGICA DE SIDRAS AMARGAS
- 2 - AISLAMIENTO DE BACTERIAS LÁCTICAS DE SIDRAS AMARGAS
- 3 - CONSTITUCIÓN DE UNA COLECCIÓN DE BACTERIAS QUE DEGRADAN EL GLICEROL
- 4 - ESTUDIO DEL METABOLISMO DEL GLICEROL POR BACTERIAS DE DIFERENTES ESPECIES
- 5 - PUESTA A PUNTO DE UN MÉTODO DE PCR PARA LA DETECCIÓN RÁPIDA DE BACTERIAS LÁCTICAS RESPONSABLES DEL AMARGOR

DESARROLLO DEL PROYECTO

RECOGIDA DE MUESTRAS

- SELECCIÓN DE MUESTRAS PARA ESTUDIO

+ CRITERIO: DESAPARICIÓN TOTAL O PARCIAL DEL GLICEROL
CATA

+ 7 MUESTRAS

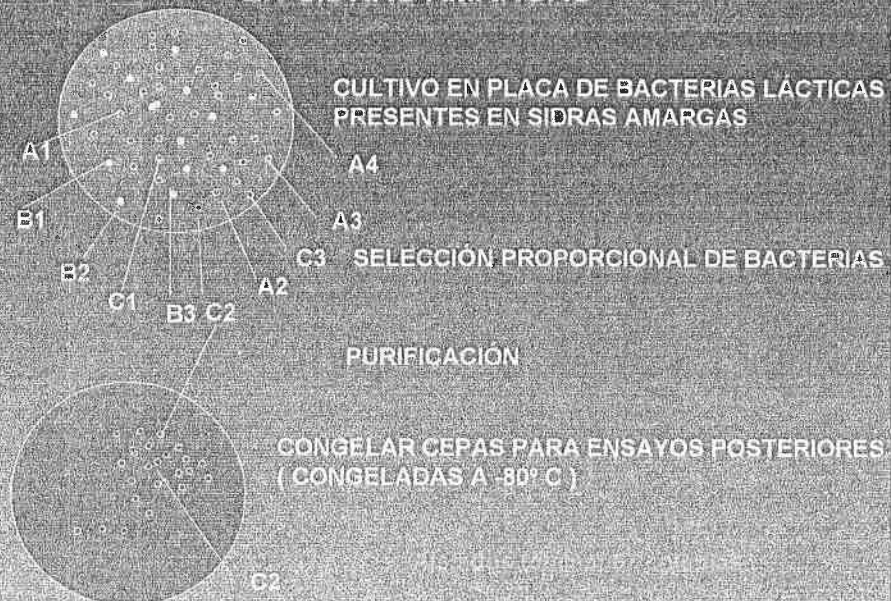
- CARACTERIZACIÓN ANALÍTICA (GRUPO DE QUÍMICA ANALÍTICA)

- ESTUDIO MICROBIOLÓGICO

RECuento DE MICROORGANISMOS Y CONTENIDO EN GLICEROL

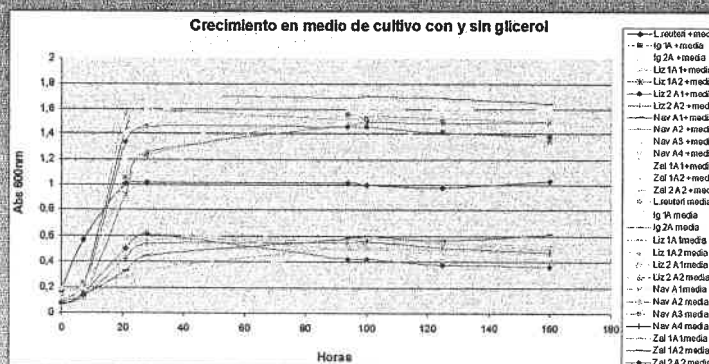
SIDRA	RECuentos (UFC/ml)			GLICEROL (g/l)
	B. Lácticas	Levaduras	B. Acéticas	
A	0	0	0	0,53
B	0	0	0	1,51
C	$21 \cdot 10^3$	0	0	0,41
D	$153 \cdot 10^3$	$58 \cdot 10^2$	0	1,53
E	$124 \cdot 10^3$	0	0	2,79
F	$215 \cdot 10^3$	$136 \cdot 10^2$	0	1,49
G	0	0	0	3,28

AISLAMIENTO DE BACTERIAS PRESENTES EN SIDRAS AMARGAS



ESTUDIO DE LA PRODUCCIÓN DE ACROLEINA DE BACTERIAS AISLADAS

1- BUSQUEDA DE CEPAS PRODUCTORAS DE ACROLEINA (SCREENING)



ESTUDIOS A DESARROLLAR

- ESTUDIO DE LOS FACTORES QUE AFECTAN A LA PRODUCCIÓN DE AGROLEINA

+CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES, pH, AEROBIOSIS/ANAEROBIOSIS...

- DETECCIÓN PREVENTIVA

+ MÉTODO DE PCR BASADO EN LA DETECCIÓN EN EL GENOMA DEL MICROORGANISMO DEL GEN GLICEROL DESHIDRATASA.