



**SEMINARIO**  
VITIVINÍCOLA 2017

**VARIACIÓN POBLACIONAL DE  
BACTERIAS LÁCTICAS DURANTE LA  
FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA EN VINOS  
DE MENDOZA. VENDIMIAS 2015 Y 2016**

*Bioq. Adriana Telechea de Juez*  
*Lic. René Alberto Juez*

FACULTAD DE  
ENOLOGÍA Y  
AGROINDUSTRIAS



- ▶ **Director: Adriana del Valle Telechea**
- ▶ **Codirector: René Alberto Juez**
- ▶ **Investigador: Alicia Natalia Lombardo**
- ▶ **Becarios alumnos:**
  - **Daiana Viviano**
  - **Matías Agustín Turri**





## **OBJETIVOS:**

- **Determinar la cinética poblacional de las BAL durante la vinificación**
- **Conocer los población de las BAL presentes en nuestro medio**
- **Formación de Recursos Humanos**
- **Realizar aportes a la industria enológica, dando a conocer nuestros resultados**



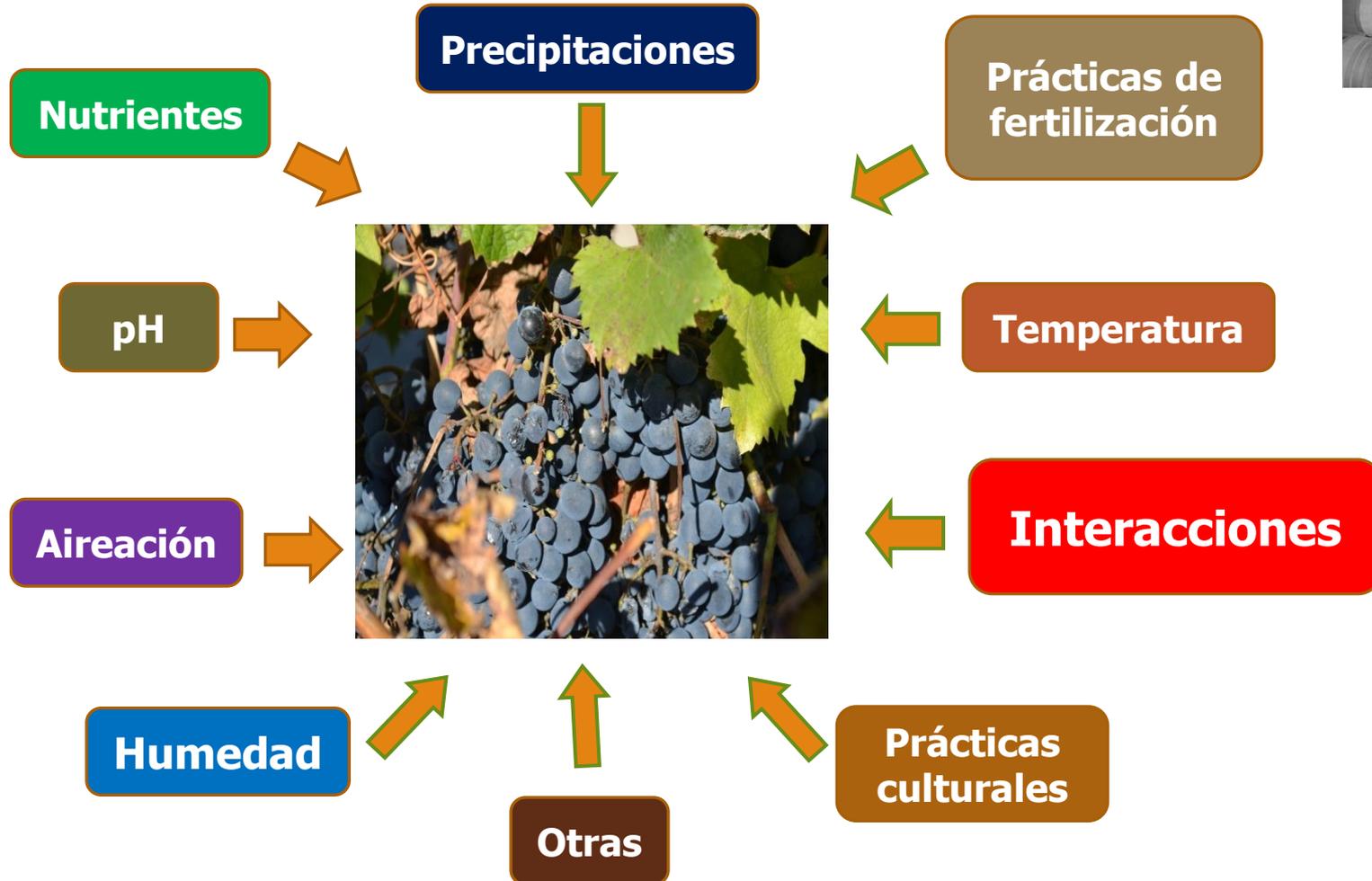
## En resumen:

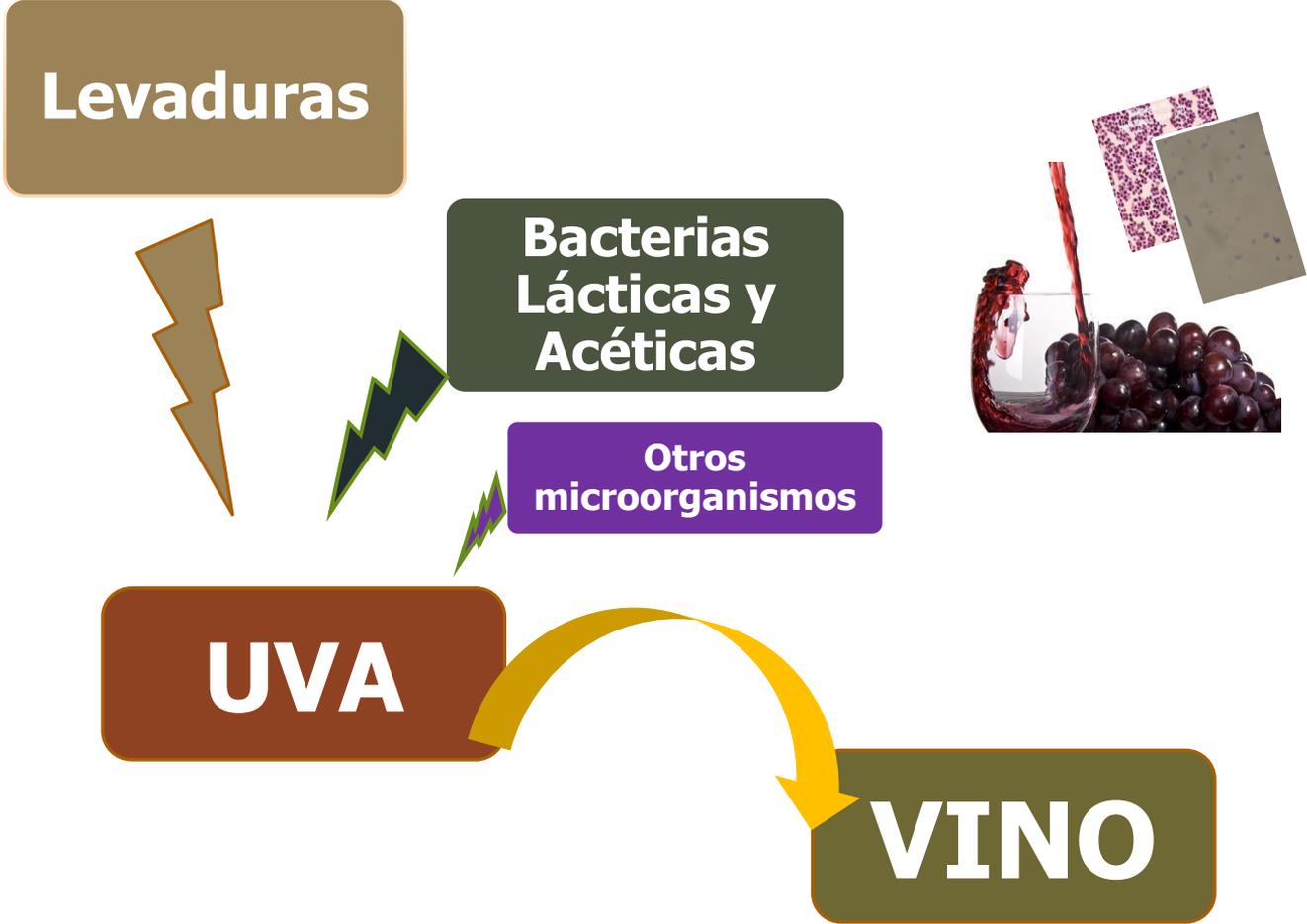
Conocer la **evolución** de estas **poblaciones microbianas** durante una **fermentación alcohólica** controlada, para posteriormente destacar las **posibles desviaciones** de esta dinámica poblacional, que pueden acarrear **alteraciones perjudiciales** para la **calidad final del vino**.

# INTRODUCCIÓN

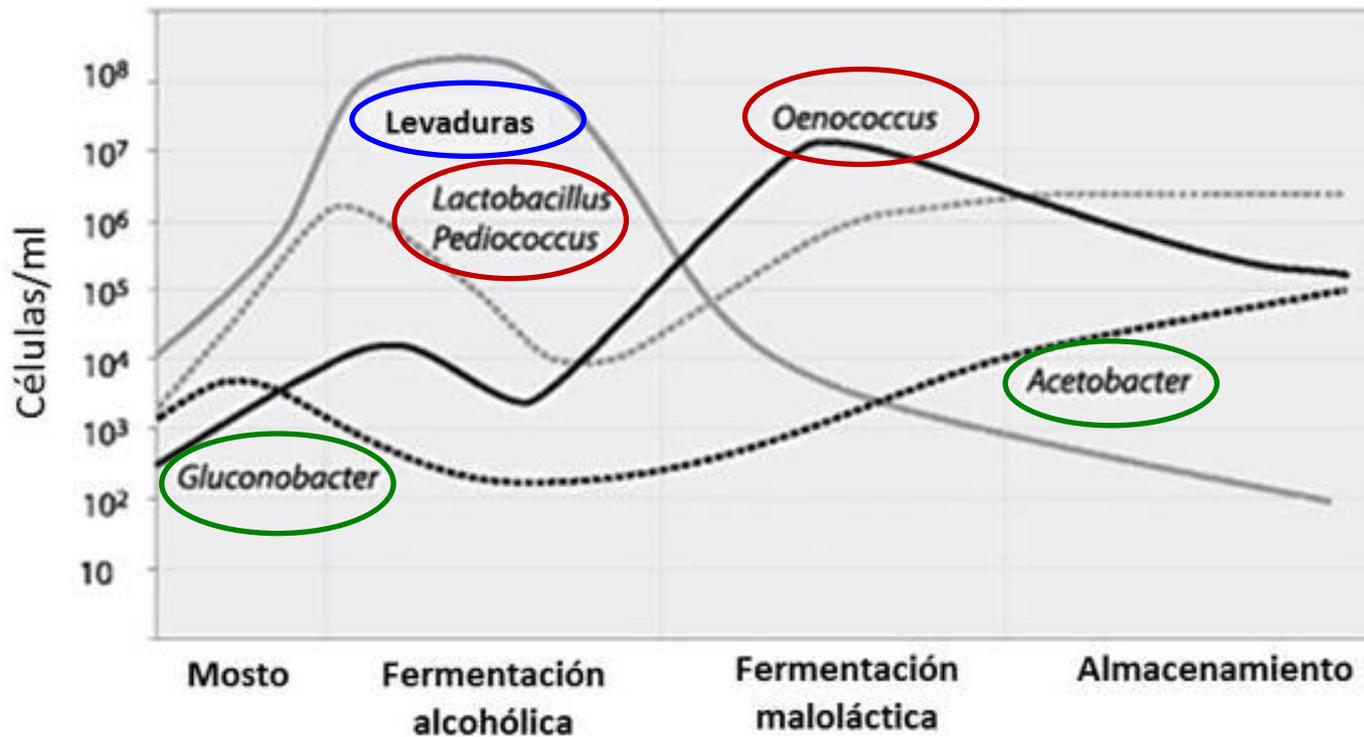


*“Variación poblacional de bacterias lácticas durante la fermentación alcohólica en vinos de Mendoza. Vendimias 2015 y 2016”*





“Variación poblacional de bacterias lácticas durante la fermentación alcohólica en vinos de Mendoza. Vendimias 2015 y 2016”



Referencias

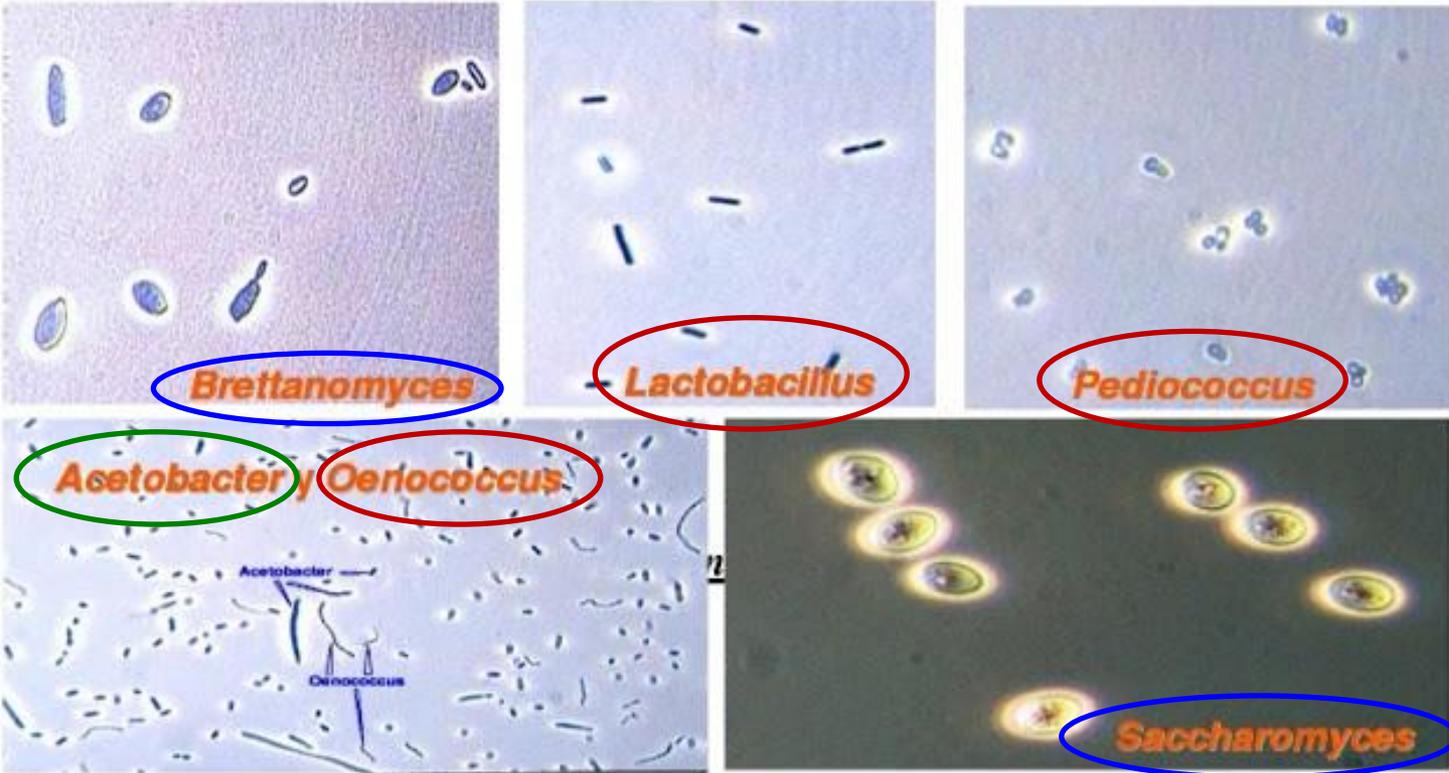
- Bacterias lácticas
- Bacterias acéticas
- Levaduras

**Evolución de levaduras y los principales géneros de bacterias lácticas y acéticas durante las fermentaciones alcohólica y maloláctica y durante el almacenamiento o crianza del vino.**

(Fuente: Esta gráfica ha sido adaptada a partir de la publicada por Krieger, 2005)

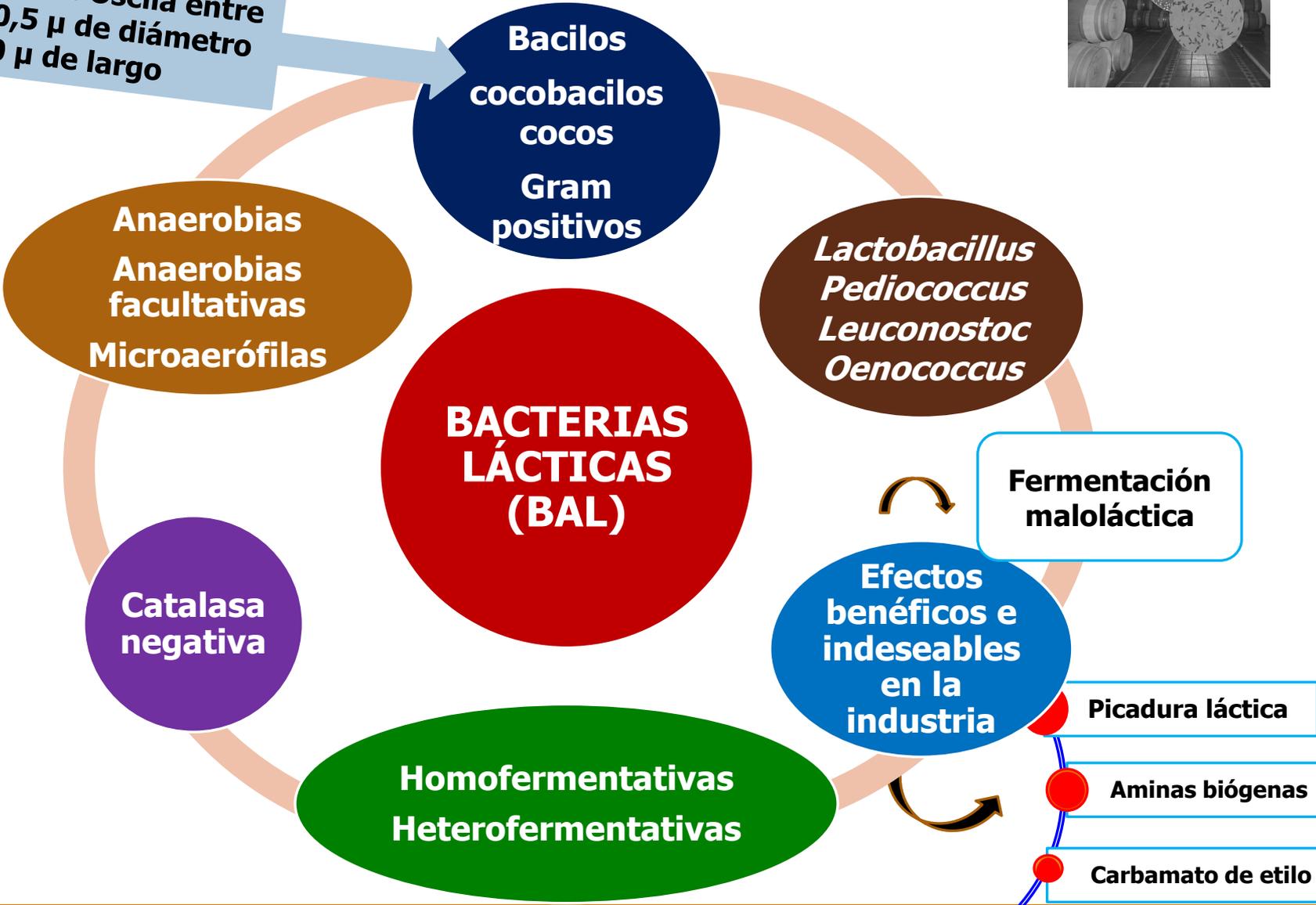


# Microorganismos del vino





**Tamaño:** Oscila entre de 0,5  $\mu$  de diámetro y 10  $\mu$  de largo





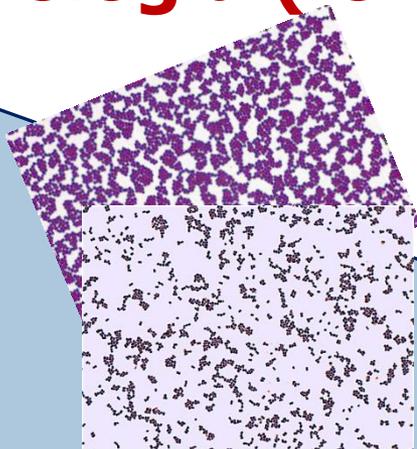
## Hábitat

**Se encuentran de forma natural en:**

- Uvas**
- Hojas**
- Suelo**
- Tienen la capacidad de crecer en ambientes diversos, incluido el mosto de uva y el vino**
- Superficie de la maquinaria de la bodega**

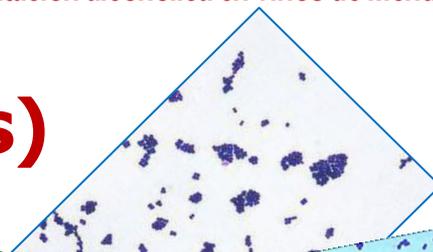


## Morfología (formas)



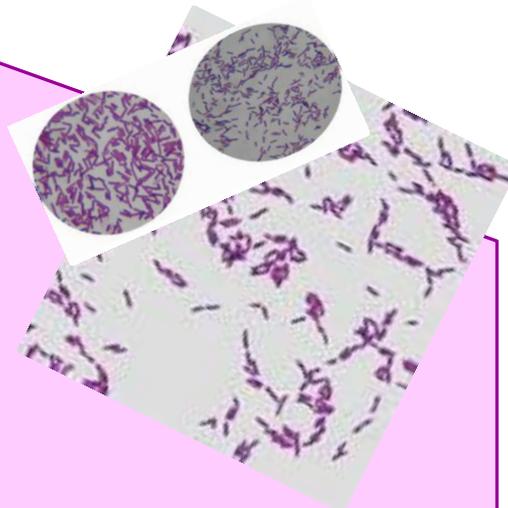
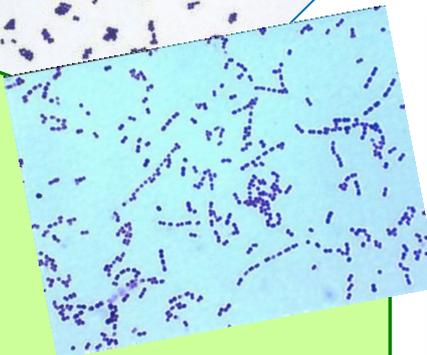
### ***Pediococcus***

**cocos agrupados  
en parejas o  
tetradas, nunca  
forman cadenas**



### ***Leuconostoc Oenococcus***

**cocos o  
cocobacilos  
agrupados en  
parejas y, más  
frecuentemente,  
en cadenas**



### ***Lactobacillus***

**forma de bacilos  
o bastoncillos**

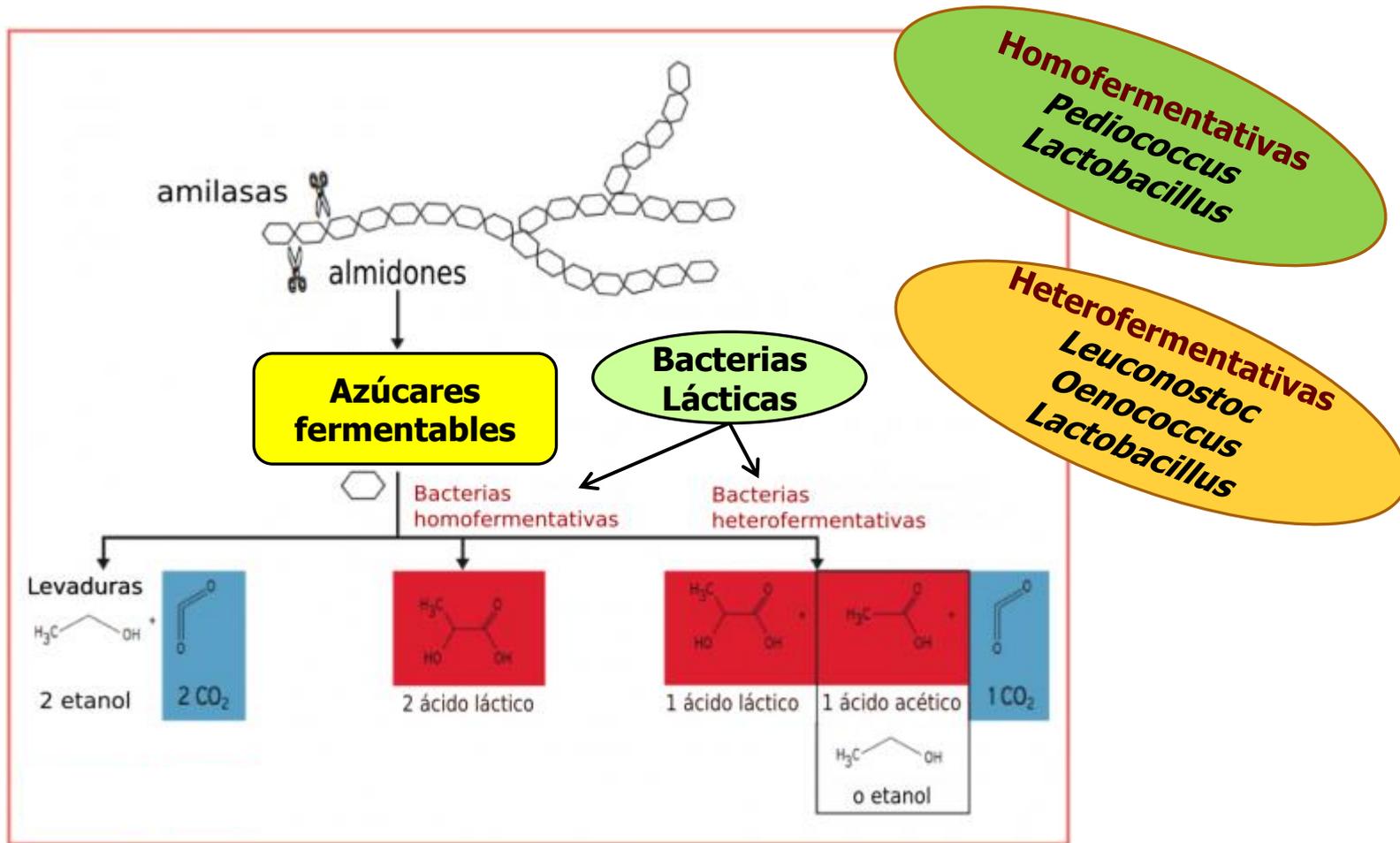


## Otras características:

- ❑ **Son Gram positivas**
- ❑ **Catalasas negativas: No poseen la enzima catalasa, capaz de descomponer el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno. Por lo tanto, nos indica que no pueden poseer metabolismo oxidativo**
- ❑ **No esporuladas**
- ❑ **No tienen flagelos, por lo que son inmóviles**
- ❑ **Anaerobias facultativas y además microaerófilas**
- ❑ **Temperatura óptima de crecimiento 20°C - 30°C**
- ❑ **Fermentadoras de azúcares**



## Metabolismo de las bacterias lácticas frente a los azúcares





## Factores que influyen negativamente sobre la población láctica:

- ❑ Temperatura baja
- ❑ Alto grado alcohólico
- ❑ Elevada acidez (*Oenococcus oeni* es el más resistente)
- ❑ Alta dosis de anhídrido sulfuroso (acción inhibitoria sobre las enzimas citoplasmáticas, parando el crecimiento bacteriano)
- ❑ Falta de nutrientes nitrogenados
- ❑ Presencia de ciertos ácidos grasos sintetizados por las levaduras: ácidos grasos de cadena media como, hexanoico, octanoico, decanoico y dodecanoico



## **Otros factores que influyen negativamente sobre la población láctica:**

- ❑ Interacciones con otros microorganismos**
- ❑ Sinergismo y antagonismos entre las diferentes especies de lácticas**
- ❑ Clarificación de mostos y vinos**
- ❑ Termovinificación**

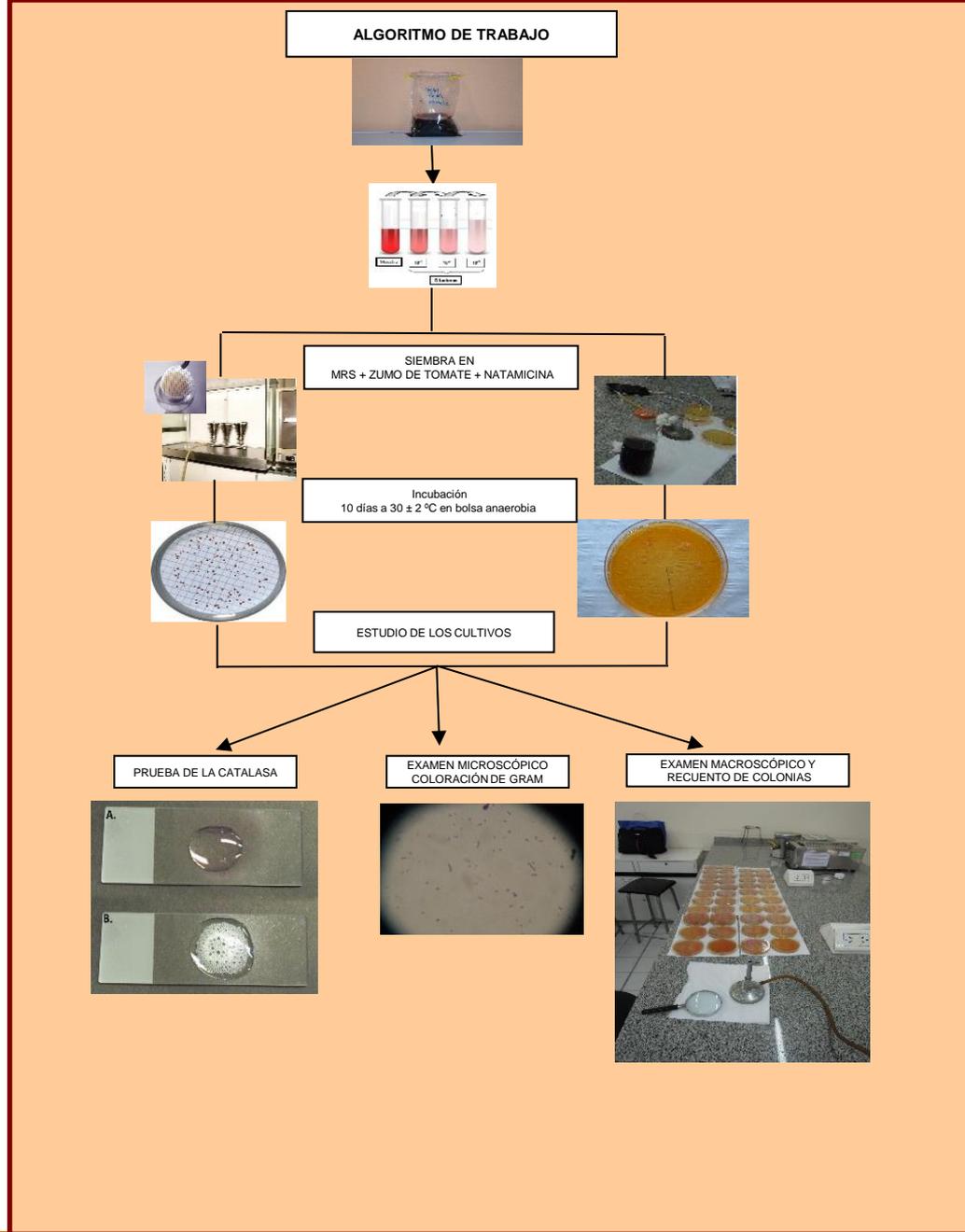
**MATERIALES  
Y  
MÉTODOS**





# METODOLOGÍA





# M E T O D O L O G Í A



PIPETA (estéril)

Muestra N° .....

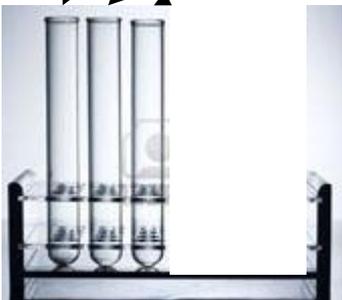
10<sup>-1</sup> 10<sup>-2</sup> 10<sup>-3</sup>

1º

Homogeneizar bien la muestra



3º 1 mL muestra



**ESQUEMA DE MÉTODO DE SIEMBRA**

2º 9 mL de SF estéril

4º 0,1 mL de cada dilución. Distribuir varias gotitas en distintos puntos de la placa

5º Siembra masiva

PLACAS CON MEDIO DE CULTIVO

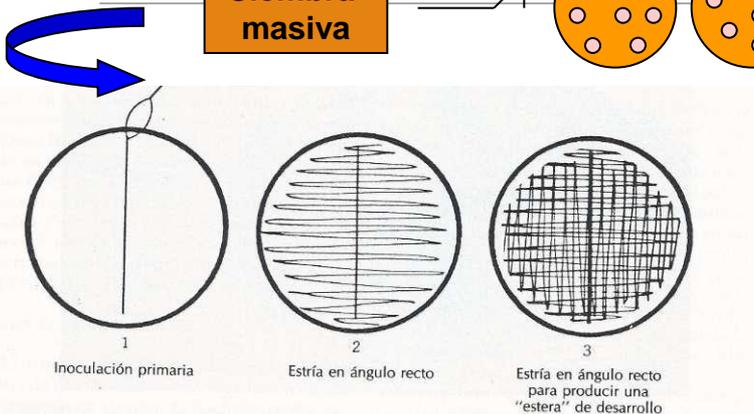
6º

SOBRE PARA GENERAR ANAEROBIOSIS

Incubar en anaerobiosis a 28°C por 5 días aprox.



CAJA CON PLACAS PARA INCUBAR EN ANAEROBIOSIS





## Medio de cultivo

### MEDIO PARA EL RECuento DE LACTOBACTERIAS

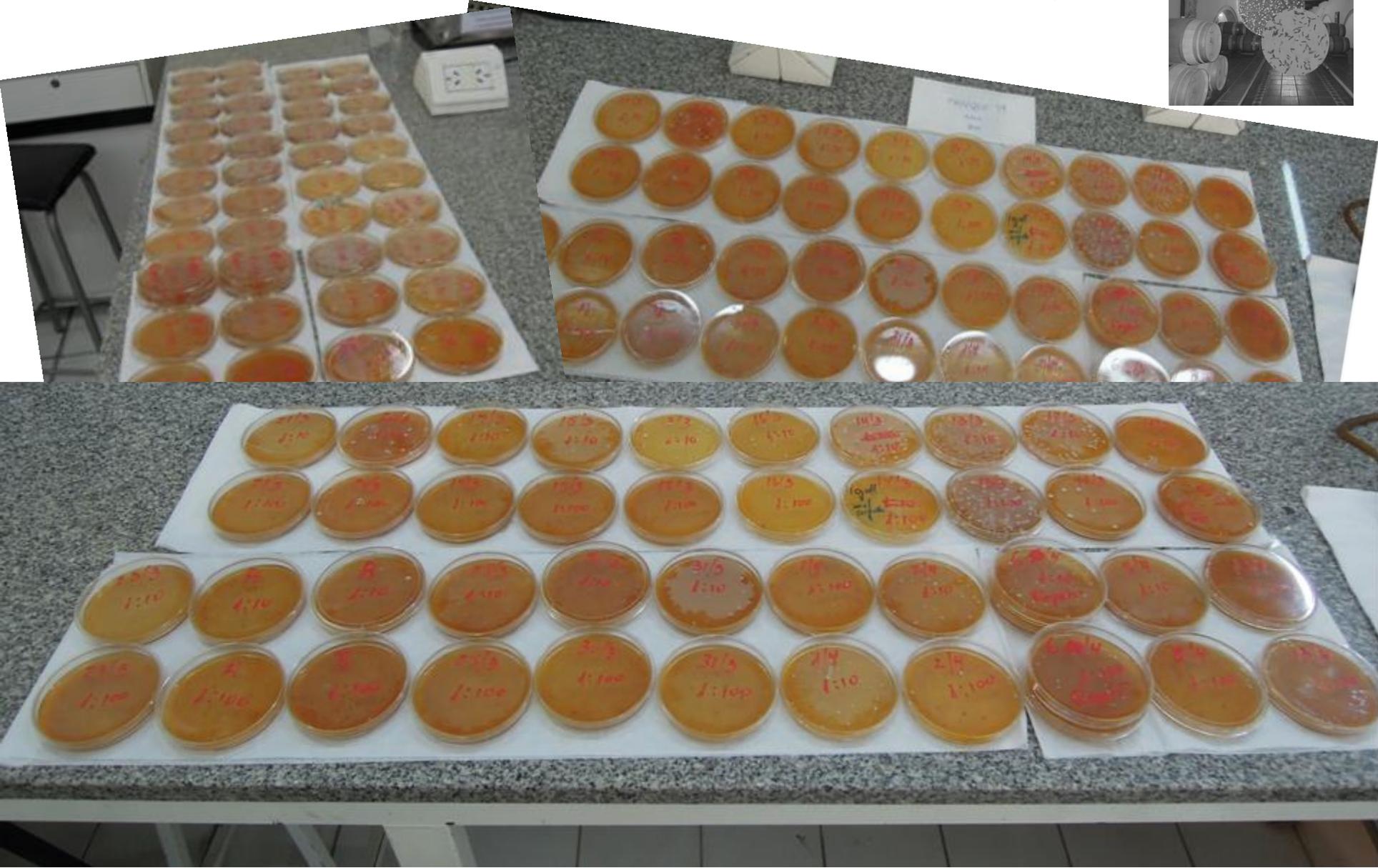
#### M.R.S. + zumo de tomate (o de manzana)

- **Glucosa** 20 g
- **Peptona** 10 g
- **Extracto de vacuno** 8 g
- **Extracto de levadura** 4 g
- **Fosfato dihidrógeno potásico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )** 2 g
- **Acetato de sodio .  $3\text{H}_2\text{O}$**  5 g
- **Citrato de amonio** 2 g
- **Sulfato de magnesio .  $6\text{H}_2\text{O}$**  0,2 g
- **Sulfato de manganeso .  $4\text{H}_2\text{O}$**  0,05 g
- **Tween 80** 1 mL
- **Agar agar** 12 g
- **Agua destilada csp** 1000 mL
- **Zumo de tomate (también de manzana o de uva)** 200 mL
- **Agregar 100 mg/L de natamicina (pimaricina) para inhibir el crecimiento de levaduras, después de tenerlo en autoclave, justo antes del uso**

**RESOLUCIÓN OIV/OENO 206/2010**

**ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE VINOS Y MOSTOS -REVISIÓN DE LA RESOLUCIÓN OENO 8/95**

**“Variación poblacional de bacterias lácticas durante la fermentación alcohólica en vinos de Mendoza. Vendimias 2015 y 2016”**





# IDENTIFICACIÓN

## PRUEBAS MORFOLÓGICAS

**EXÁMENES MACROSCÓPICOS y MICROSCÓPICOS DE LAS COLONIAS**  
(morfología, agrupación/disposición y respuesta al Gram)

## PRUEBAS BIOQUÍMICAS

**Prueba de la catalasa**  
**Fermentación de azúcares**

## PRUEBAS MOLECULARES GENÉTICAS OTRAS

**Pruebas de alta complejidad**

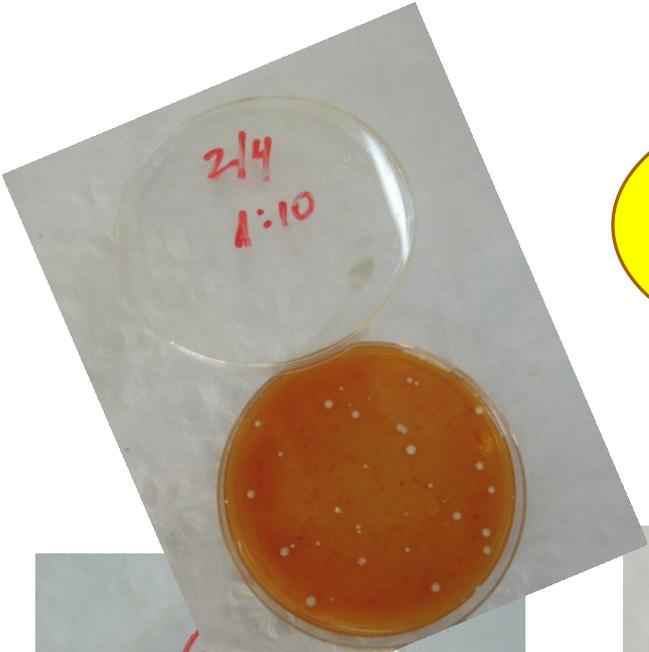


**TIPOS DE COLONIAS**





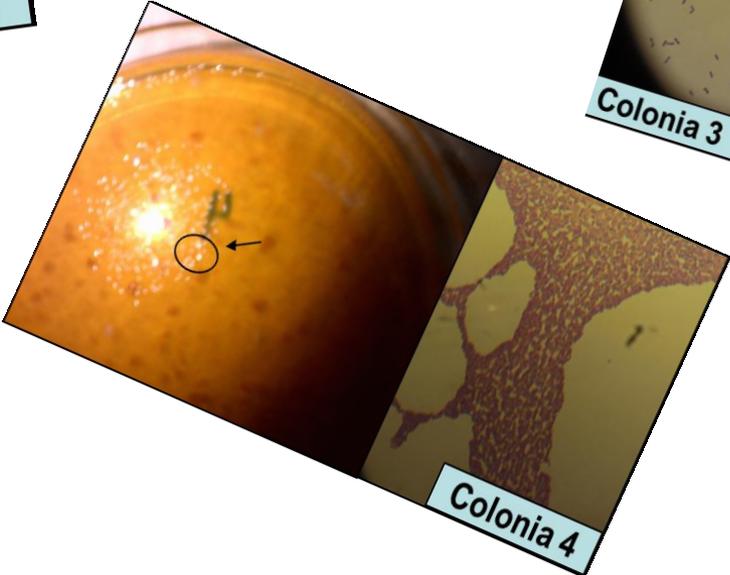
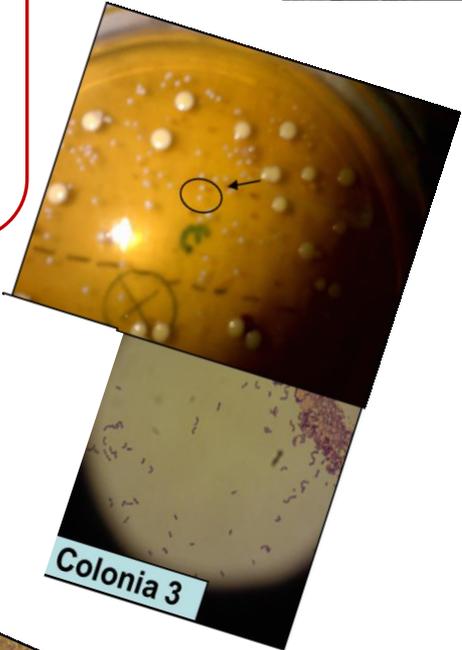
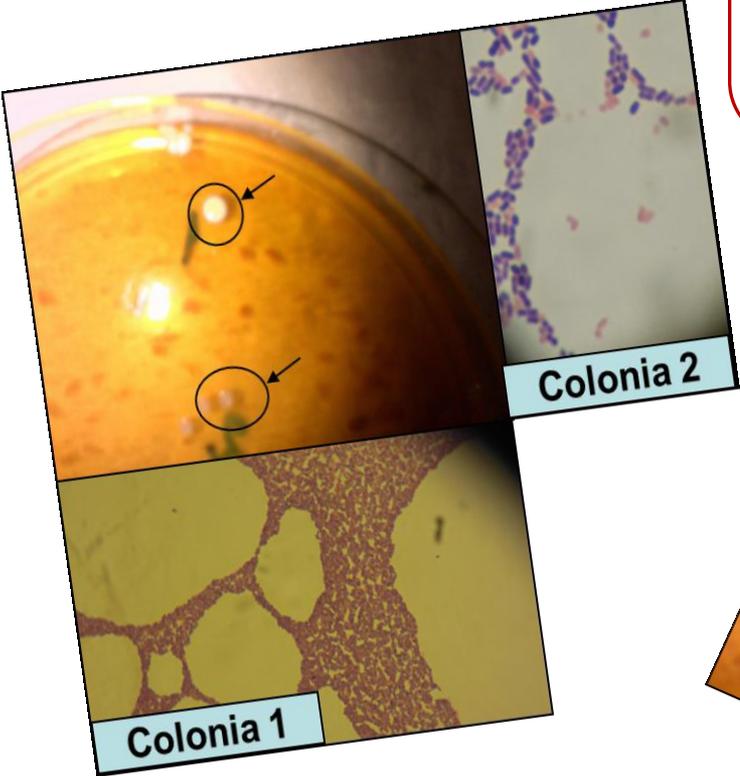
**TIPOS DE COLONIAS**





**PRUEBAS MORFOLÓGICAS**

**EXÁMENES MACROSCÓPICOS y MICROSCÓPICOS DE LAS COLONIAS**  
(morfología, agrupación/disposición y respuesta al Gram)





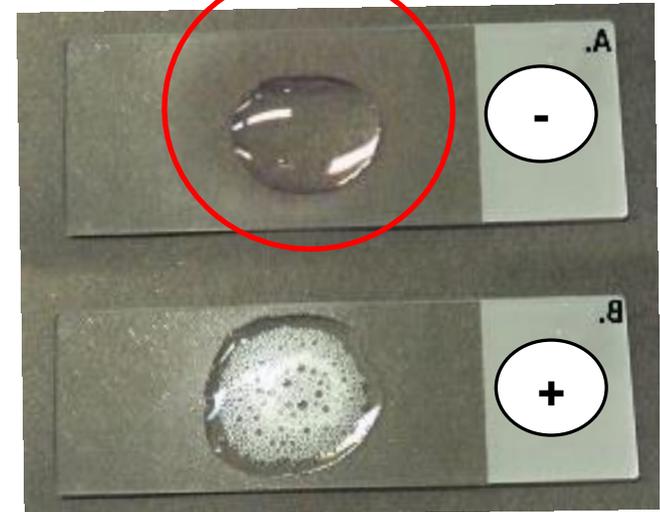
## PRUEBAS MORFOLÓGICAS

**EXÁMENES MICROSCÓPICOS**  
(morfología, agrupación/disposición y respuesta al Gram)



## PRUEBAS BIOQUÍMICAS

**Prueba de la catalasa**





# PRUEBAS BIOQUÍMICAS

## Fermentación de azúcares



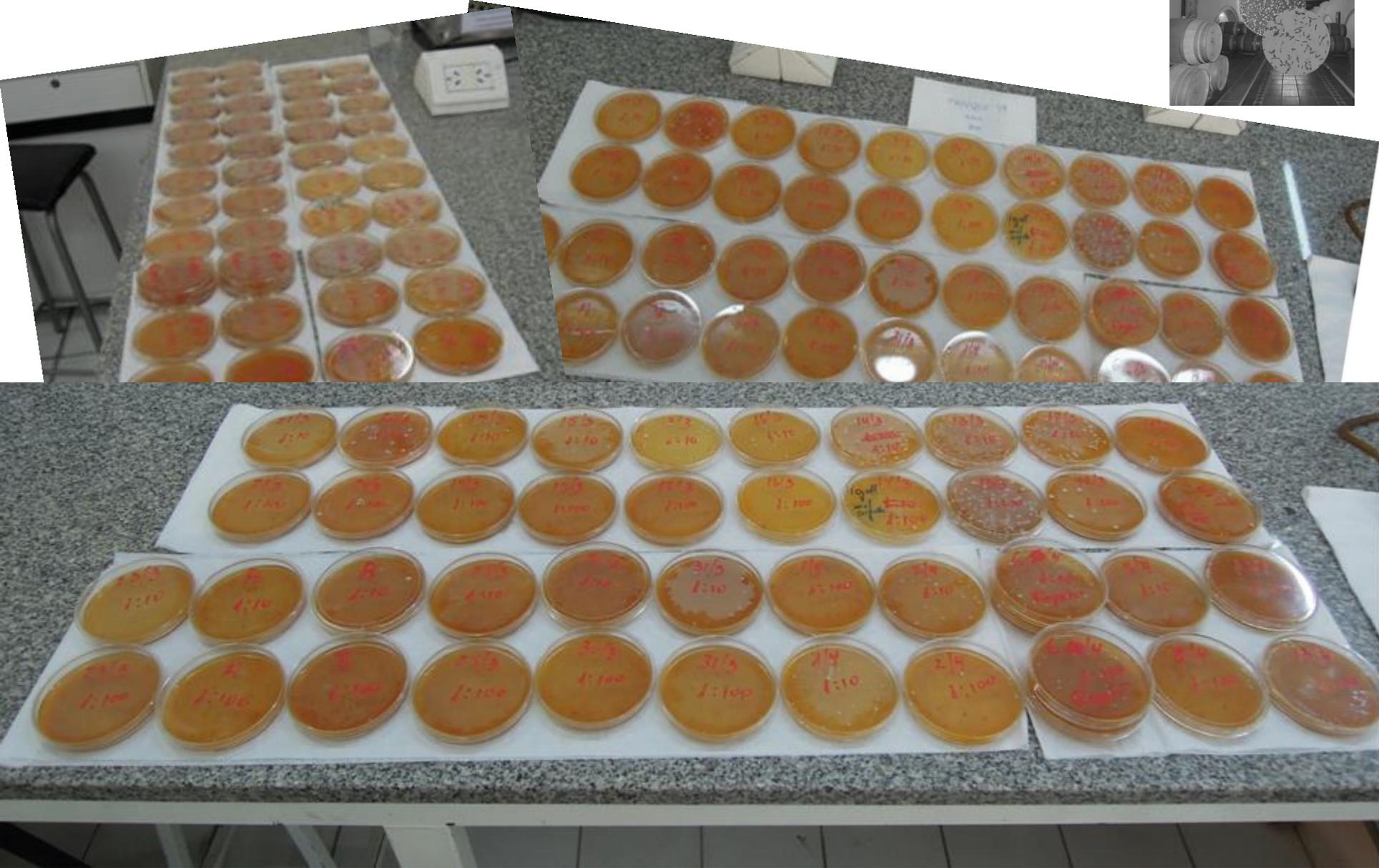
**PENDIENTE!!**



# RESULTADOS



**“Variación poblacional de bacterias lácticas durante la fermentación alcohólica en vinos de Mendoza. Vendimias 2015 y 2016”**





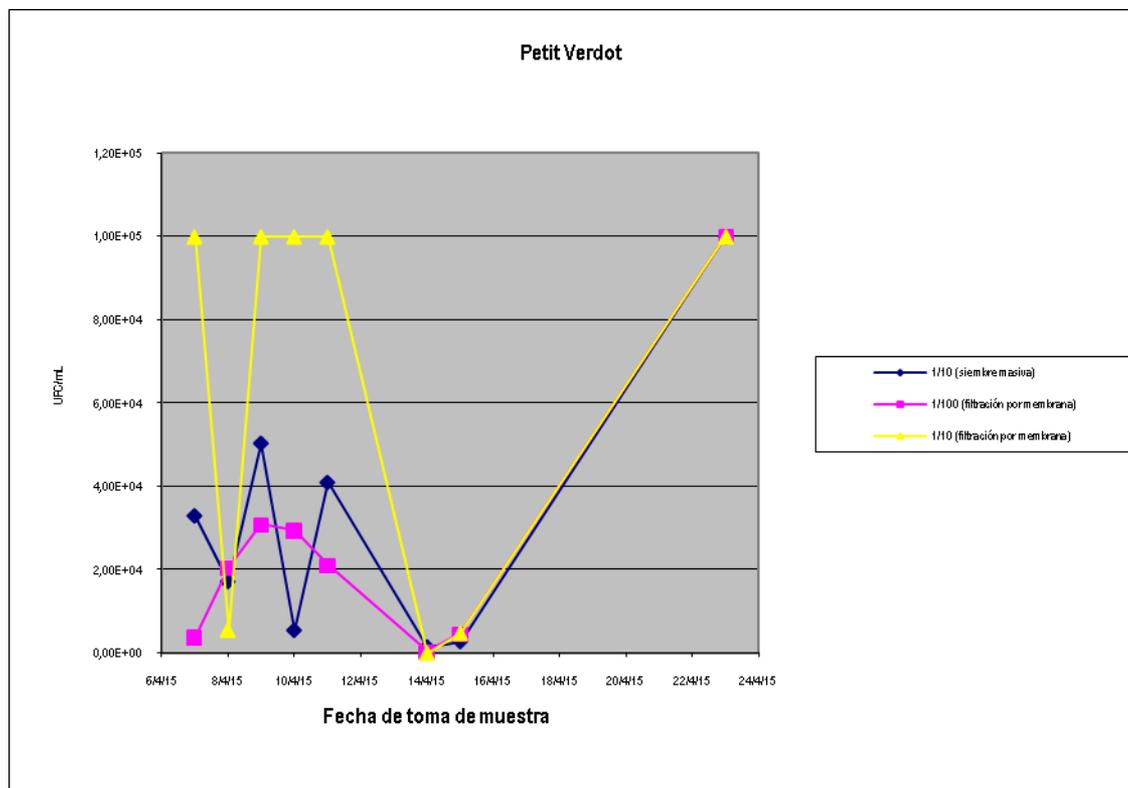
# RESULTADOS

## Petit Verdot 2015

Dilución 1:10 (siembra masiva)	
Fecha	Recuento (UFC/mL)
7/4/15	3,30E+04
8/4/15	1,72E+04
9/4/15	5,04E+04
10/4/15	5,50E+03
11/4/15	4,10E+04
14/4/15	1,50E+03
15/4/15	2,80E+03
23/4/15	1,00E+05

Dilución 1:100 (filtración por membrana)	
Fecha	Recuento (UFC/mL)
7/4/15	3,80E+03
8/4/15	2,05E+04
9/4/15	3,08E+04
10/4/15	2,95E+04
11/4/15	2,11E+04
14/4/15	4,00E+02
15/4/15	4,60E+03
23/4/15	1,00E+05

Dilución 1:10 (filtración por membrana)	
Fecha	Recuento (UFC/mL)
7/4/15	1,00E+05
8/4/15	5,56E+03
9/4/15	1,00E+05
10/4/15	1,00E+05
11/4/15	1,00E+05
14/4/15	3,00E+01
15/4/15	4,80E+03
23/4/15	1,00E+05

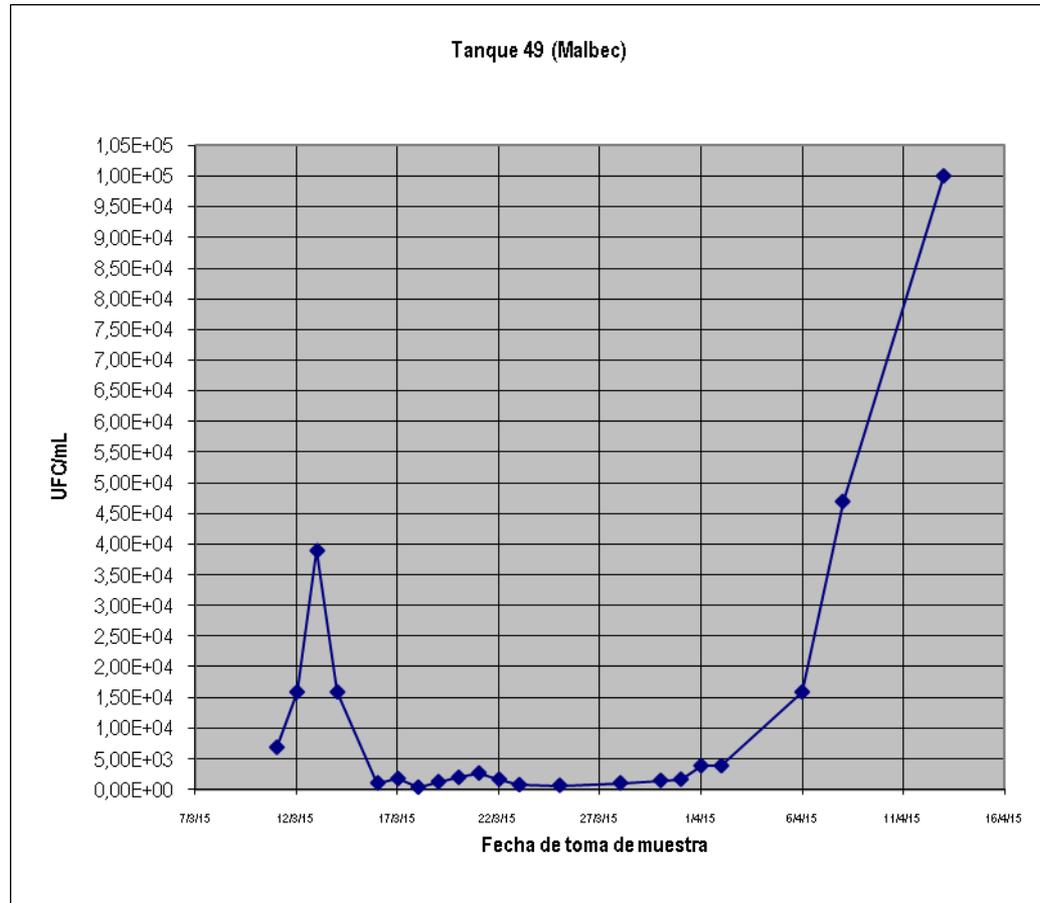




# RESULTADOS

## Malbec 1 2015

Fecha	Recuento (UFC/mL)
11/3/15	7,00E+03
12/3/15	1,60E+04
13/3/15	3,90E+04
14/3/15	1,60E+04
16/3/15	1,20E+03
17/3/15	1,90E+03
18/3/15	5,00E+02
19/3/15	1,40E+03
20/3/15	2,10E+03
21/3/15	2,80E+03
22/3/15	1,80E+03
23/3/15	9,00E+02
25/3/15	8,00E+02
28/3/15	1,20E+03
30/3/15	1,60E+03
31/3/15	1,80E+03
1/4/15	4,00E+03
2/4/15	4,00E+03
6/4/15	1,60E+04
8/4/15	4,70E+04
13/4/15	1,00E+05

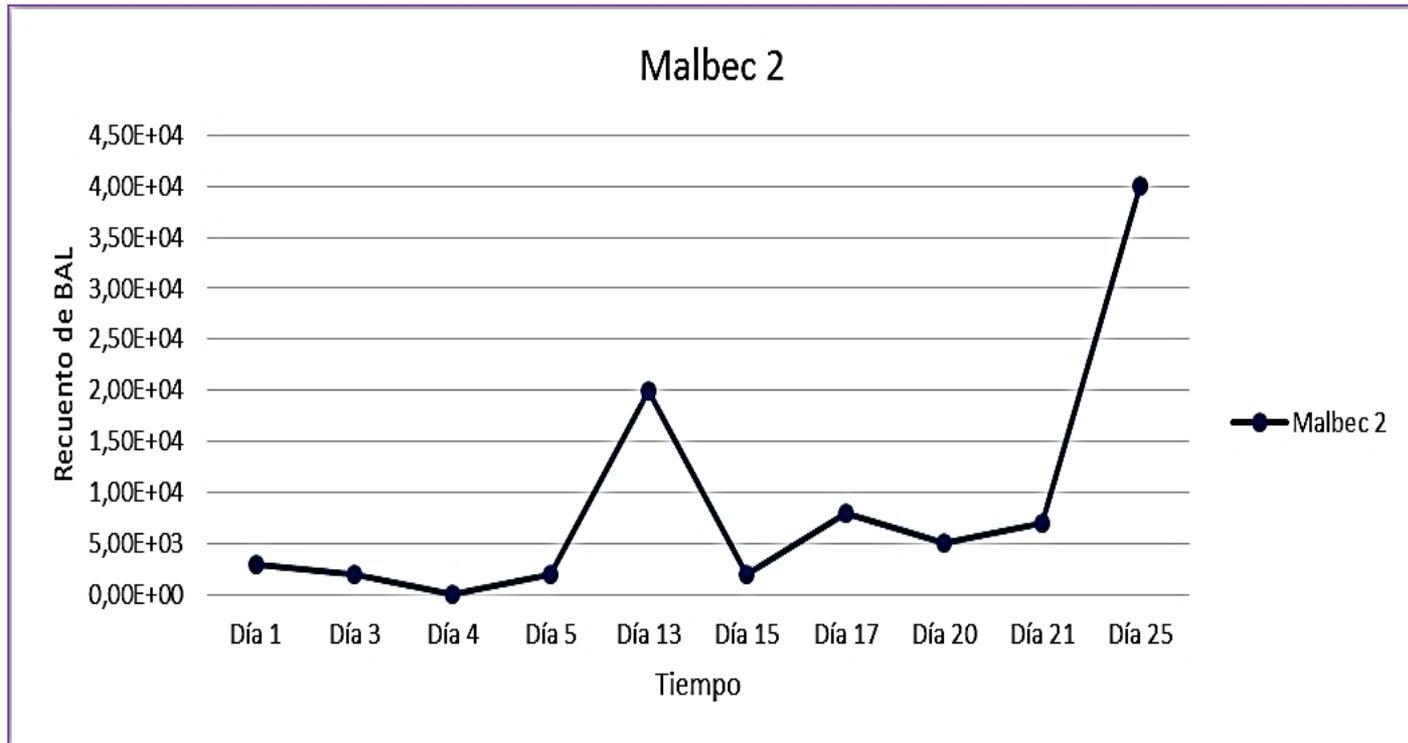




## RESULTADOS

### Malbec 2 2016

Malbec 2	
Tiempo	UFC/mL
Día 1	$3 \times 10^3$
Día 3	$2 \times 10^3$
Día 4	0
Día 5	$2 \times 10^3$
Día 13	$2 \times 10^4$
Día 15	$2 \times 10^3$
Día 17	$8 \times 10^3$
Día 20	$5 \times 10^3$
Día 21	$7 \times 10^3$
Día 25	$4 \times 10^4$

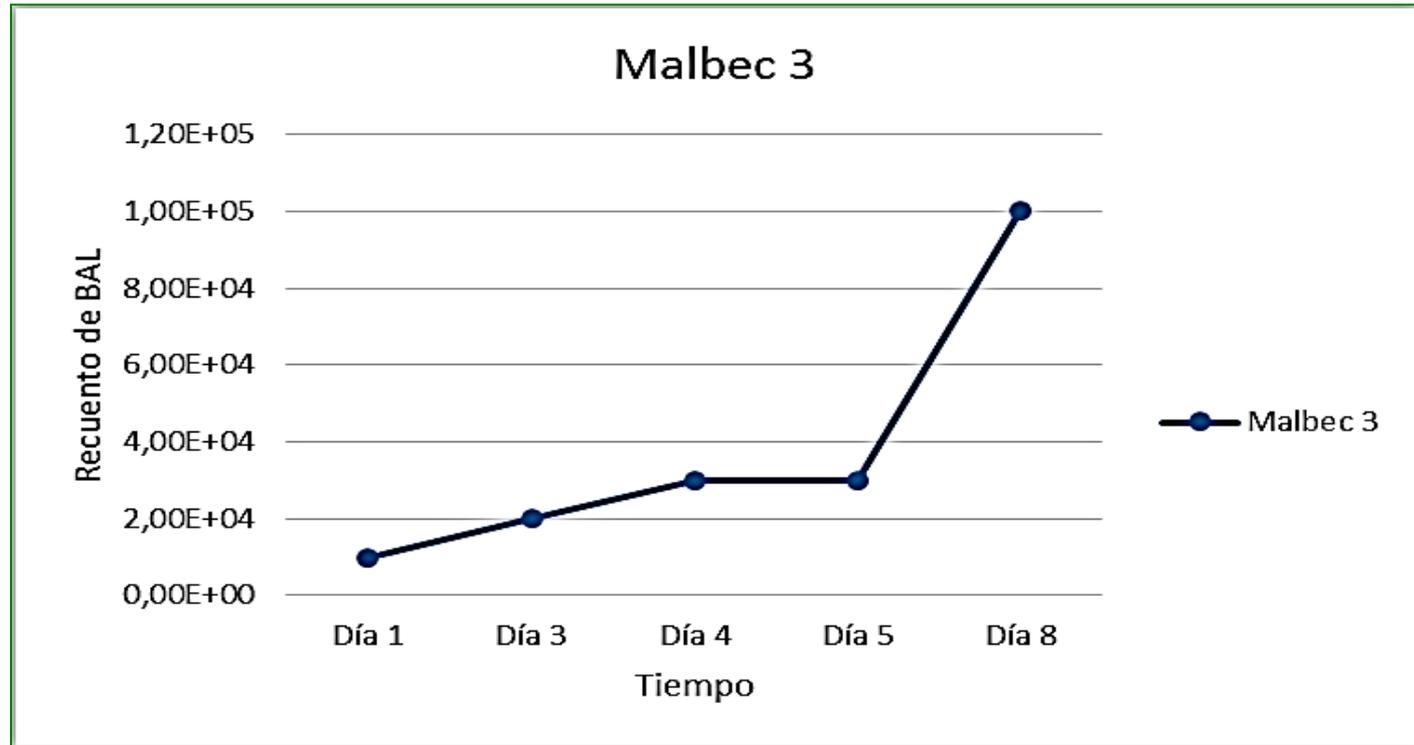




## RESULTADOS

### Malbec 3 2016

Malbec 3	
Tiempo	UFC/mL
Día 1	$1 \times 10^4$
Día 3	$2 \times 10^4$
Día 4	$3 \times 10^4$
Día 5	$3 \times 10^4$
Día 8	$1 \times 10^5$

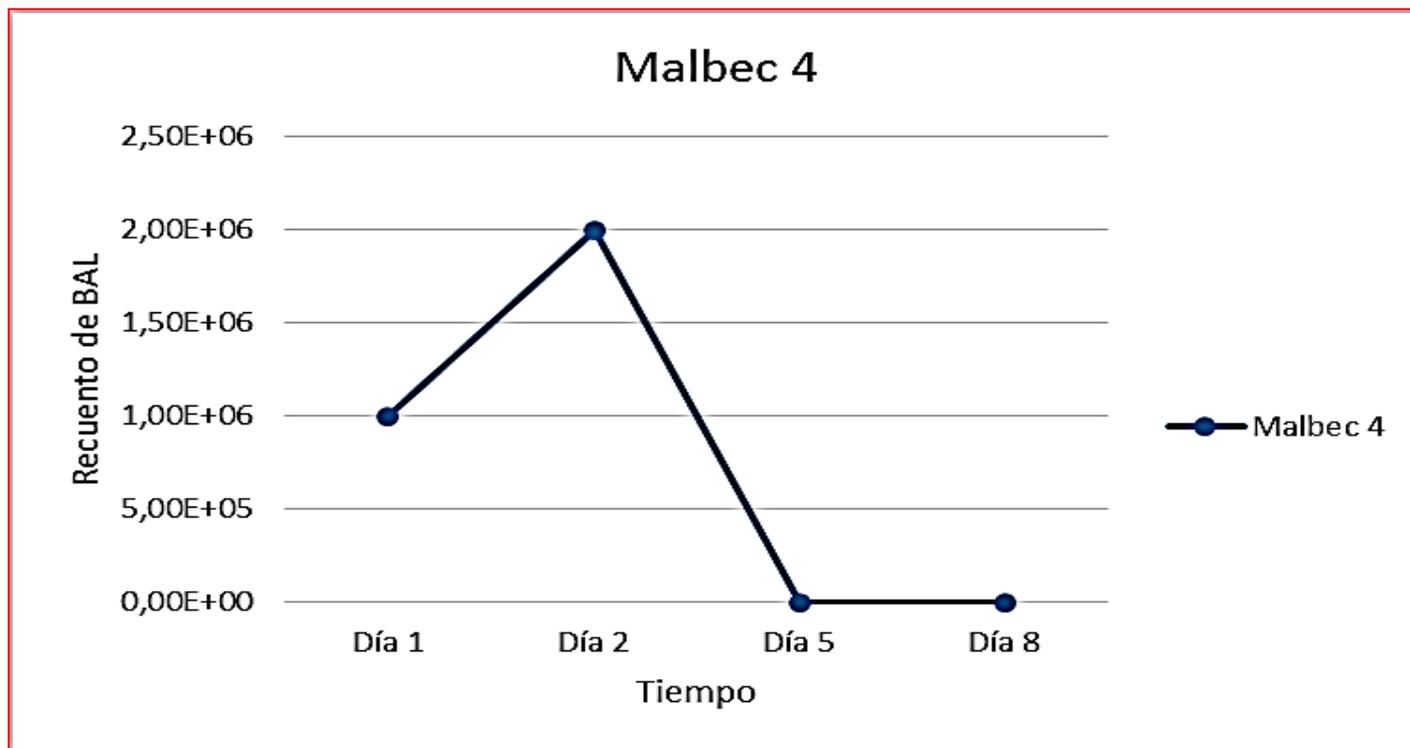




## RESULTADOS

### Malbec 4 2016

Malbec 4	
Tiempo	UFC/mL
Día 1	$1 \times 10^6$
Día 2	$2 \times 10^6$
Día 5	$5 \times 10^2$
Día 8	0



# CONCLUSIONES





## CONCLUSIONES

- El trabajo se pudo llevar a cabo sin mayores complicaciones.
- La metodología usada fue conveniente, pero muy básica a modo de inicio de la investigación.
- Los resultados no fueron semejantes, en términos de recuento, comparando las cosechas 2015 y 2016. En el caso de la primera, los valores fueron similares entre sí, pero se presentaron en diferentes momentos del proceso, para las 2 variedades estudiadas. En tanto, para la última, se observaron distintos valores en el inicio para cada uno, con oscilaciones en valores cercanos para uno, ascendentes para otro y descendentes para el otro.
- Las variaciones observadas pueden corresponderse a las características climáticas tan diferentes de un año y otro (se muestra en la gráfica siguiente).
- Es necesario continuar con el estudio comparativo entre variedades de uvas/vinos, de diferentes zonas vitivinícolas de la provincia, y con mayor número de muestras. Así como, tipificar las especies microbianas involucradas para obtener resultados más concluyentes.

*“Variación poblacional de bacterias lácticas durante la fermentación alcohólica en vinos de Mendoza. Vendimias 2015 y 2016”*



**TAREAS  
PENDIENTES**





## TAREAS PENDIENTES

- **Obtener muestras de diferentes zonas vitivinícolas y de diferentes variedades**
- **Tipificar las distintas especies de bacterias que se aíslan de nuestros vinos**
- **Determinar el movimiento de las distintas poblaciones de BAL durante el proceso de vinificación**
- **Hacer ensayos para conocer interacciones entre las distintas especies y los otros microorganismos del vino**
- .....

*“Variación poblacional de bacterias lácticas durante la fermentación alcohólica en vinos de Mendoza. Vendimias 2015 y 2016”*

**¡MUCHAS GRACIAS!**

**Contactos:**

**Bioq. Adriana Telechea de Juez – [atelechea@yahoo.com](mailto:atelechea@yahoo.com)**

**Lic. René Alberto Juez - [renealbertojuez@yahoo.com.ar](mailto:renealbertojuez@yahoo.com.ar)**