

Microbiología de fermentaciones vínicas y panaderas en Andalucía

BELÉN FLORIANO, ANDRÉS GARZÓN, JUAN QUINTERO Y JUAN JIMÉNEZ

Universidad Pablo de Olavide. Ctra de Utrera, Km 1. 4013-Sevilla

✉ agarvil@upo.es | jjimmar@upo.es | bflopar@upo.es

Los grupos de investigación que trabajan en estrecha colaboración en la Universidad Pablo de Olavide (UPO), de Sevilla en la caracterización microbiológica de fermentaciones vínicas y panaderas en Andalucía aglutinan personas con una amplia experiencia en levaduras (Andrés Garzón, Juan Quintero y Juan Jiménez, investigadores del Centro Andaluz de Biología del Desarrollo, CSIC-UPO-Junta de Andalucía / UPO) y en bacterias (Belén Floriano, investigadora del Dpto. de Biología Molecular e Ingeniería Bioquímica, Facultad de Ciencias Experimentales, UPO).

En el campo de las fermentaciones vínicas el grupo cuenta con el liderazgo de Juan Jiménez, que presenta una extensa trayectoria de investigación sobre levaduras vínicas en los marcos de vinos de Jerez y Montilla Moriles y, especialmente, en la caracterización de levaduras de flor, habiendo identificado, por ejemplo, el gen responsable de la capacidad de colonizar la superficie del vino¹. Recientemente, hemos trabajado con varias bodegas andaluzas de la zona del Aljarafe sevillano y de la Sierra Norte de la provincia con el objetivo de identificar microorganismos autóctonos, levaduras y bacterias lácticas en los viñedos de las diferentes uvas utilizadas y mostos fermentados. Es conocido que la microbiota asociada a los viñedos de cada región contribuye al llamado *terroir* que deja una huella única en los vinos de cada bodega². Así, el aislamiento e identificación de los microorganismos autóctonos tanto



Figura 1. De izquierda a derecha, Andrés Garzón, Juan Jiménez y Belén Floriano. Completa la imagen D. Pedro Oliver, director de la Escuela Superior de Hostelería de Sevilla y coorganizador del curso.

de uvas como de fermentaciones vínicas naturales permite, no solo la conservación de la biodiversidad asociada a este ecosistema, sino su posible explotación y una mayor comprensión de su papel en las características propias y únicas de cada vino. La identificación se realiza combinando técnicas de microbiología clásica dependientes de cultivo en medios selectivos/indicadores y técnicas moleculares independientes de cultivo como la ampliación de secuencias ITS y su análisis mediante RFLP y secuenciación, así como mediante el análisis de microsatélites para la identificación y monitorización de las diferentes cepas de *S. cerevisiae*. En el caso de bacterias lácticas de la especie *Oenococcus oeni*, responsables de la fermentación maloláctica de vinos tintos, se utilizan otros marcadores genéticos para la detección de

diferentes cepas³. La disponibilidad de una planta piloto en la universidad permite llevar a cabo microvinificaciones controladas para el estudio de la contribución de cada microorganismo y/o combinaciones de los mismos al vino resultante.

Además, el grupo está particularmente interesado en el estudio del fenotipo *killer* de las cepas de *Saccharomyces cerevisiae* identificadas⁴, tanto en el conocimiento

¹ Fidalgo M, Barrales RR, Ibeas JI, Jimenez J. Adaptive evolution by mutations in the FLO11 gene. Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Jul 25;103(30):11228-33. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.0601713103>

² Knight, S., Klaere, S., Fedrizzi, B. et al. Regional microbial signatures positively correlate with differential wine phenotypes: evidence for a microbial aspect to terroir. Sci Rep 5, 14233 (2015). <https://doi.org/10.1038/srep14233>

³ Claisse, O.; Lonvaud-Funel, A. Development of a multilocus variable number of tandem repeats typing method for *Oenococcus oeni*. Food Microbiology 2012, 30: 340-347. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.01.001>

⁴ Quintero-Blanco J, Jimenez J, Garzón A. A Simple Multiplex Reverse Transcription-PCR Method for the Diagnosis of L-A and M Totiviruses



Figura 2. Actividad fermentativa de bacterias y levaduras de masas madres panaderas medida en producción de gas capaz de inflar un globo y aumentar el volumen de la masa.

de su biología básica y su ecología⁵ como sus posibles usos biotecnológicos. Las cepas *killer* se caracterizan por portar en su citoplasma dos totivirus de ARNdc: M, que codifica una toxina capaz de matar a levaduras competidoras que no poseen el virus y L-A, que codifica las proteínas necesarias para la replicación y encapsidación de ambos virus. Aunque se podría presuponer que este fenotipo les confiriera a las cepas una ventaja selectiva en las fermentaciones vínicas, los datos obtenidos distan de demostrar esta hipótesis, lo que indica la necesidad de una mayor investigación sobre su significado biológico.

Otras aportaciones biotecnológicas del grupo han sido el desarrollo de sistemas de diagnóstico temprano de infección de los vinos por levaduras del género *Brettanomyces*⁶ y el desarrollo y comercialización de un vino naturalmente dulce sin sulfitos

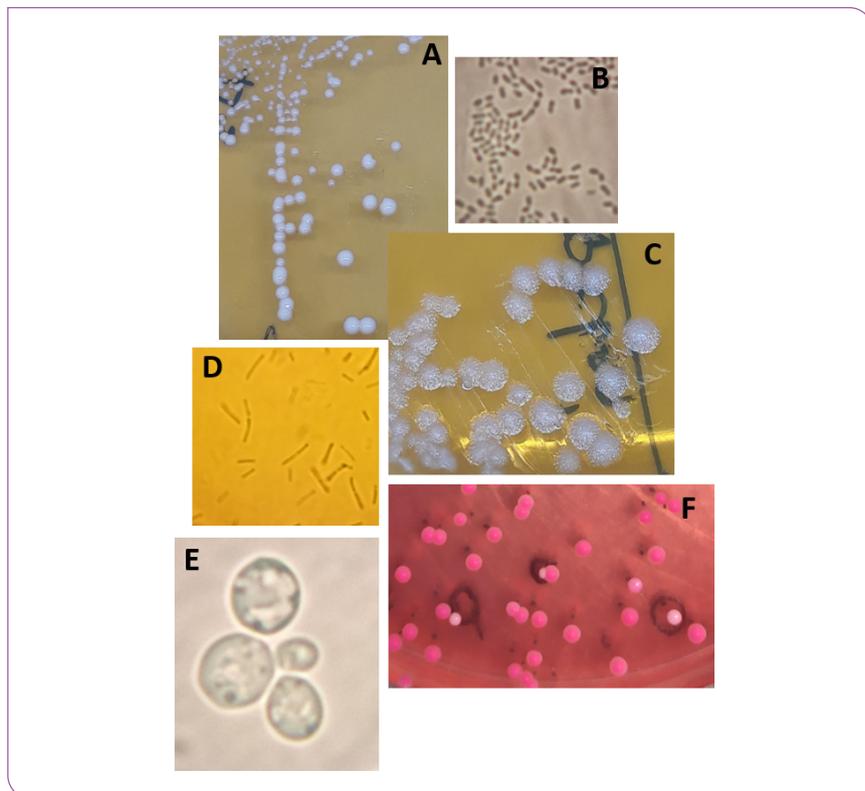


Figura 3. Microorganismos aislados de masas madre panaderas. A. Colonias de *Companilactobacillus paralimentarius* en medio MRS. B. Células de *Leuconostoc lactis*. C. Colonias de *Levilactobacillus spicheri* en medio MRS. D. Células de *Fructilactobacillus sanfranciscensis*. E. Células de *Saccharomyces cerevisiae*. F. Colonias de levaduras en medio rosa de Bengala (*Saccharomyces cerevisiae* y rosa oscuro, *Kazachstania humilis*).

ni otros aditivos que se comercializa bajo la marca Olavidium y que se sirve a varios restaurantes de la ciudad⁷.

El estudio de las fermentaciones panaderas por parte del grupo es relativamente reciente⁸. Para ello, se colabora con empresas y panaderías artesanas de la provincia de Sevilla que utilizan masas madre propias para la elaboración de pan con el fin de caracterizar microbiológicamente dichas masas y dotar de fundamento científico a las cualidades de los panes elaborados. Los resultados obtenidos hasta el momento confirman la especificidad de los consorcios microbianos en cada obrador y la estabilidad de los mismos siempre y cuando las condiciones ambientales se mantengan constantes. Así, cada masa

madre se caracteriza por una proporción de levaduras, bacterias lácticas y bacterias acéticas concreta y una asociación específica de géneros y cepas de cada uno de estos microorganismos, lo que proporciona un *fingerprint* identificativo a cada masa. La caracterización de las propiedades biotecnológicas de los microorganismos aislados permitirá asociar algunas de las características saludables descritas en la literatura⁹ a los panes elaborados con estas masas madre. También trabajamos en identificar las condiciones que determinan la estabilidad microbiológica de las masas madre.

Una parte importante de la actividad del grupo es la participación en actividades de difusión de los resultados de investigación a la sociedad como la Noche Europea de I@S Investigador@s o la organización de cursos de verano en diferentes universidades.

in *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Environ Microbiol.* 2022 Feb 22;88(4):e0221321. <https://doi.org/10.1128/aem.02213-21>

⁵ Quintero-Blanco, J.; Delodi, E.; Garzón, A.; Jimenez, J. Sexually-Driven Combinatorial Diversity in Native *Saccharomyces* Wine Yeasts. *Fermentation* 2022, 8, 569. <https://doi.org/10.3390/fermentation8100569>

⁶ Ibeas JI, Lozano I, Perdigonos F, Jimenez J. Detection of *Dekkera-Brettanomyces* strains in sherry by a nested PCR method. *Appl Environ Microbiol.* 1996 Mar;62(3):998-1003. <https://doi.org/10.1128/aem.62.3.998-1003.1996>

⁷ www.olavidium.es

⁸ Identificación de la microbiota de masas madre panaderas mediante técnicas dependientes e independientes de cultivo y evaluación del impacto de su ingesta en el comportamiento de *Drosophila melanogaster*. Proyecto Programa Operativo FEDER andalucía 2014-2020.

⁹ Gobetti, M., Rizzello, C. G., Di Cagno, R. & De Angelis, M. How the sourdough may affect the functional features of leavened baked goods. *Food Microbiol.* 2014. 37, 30-40. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.04.012>