

# Las bacterias lácticas en la elaboración de la sidra natural y su implicación en alteraciones

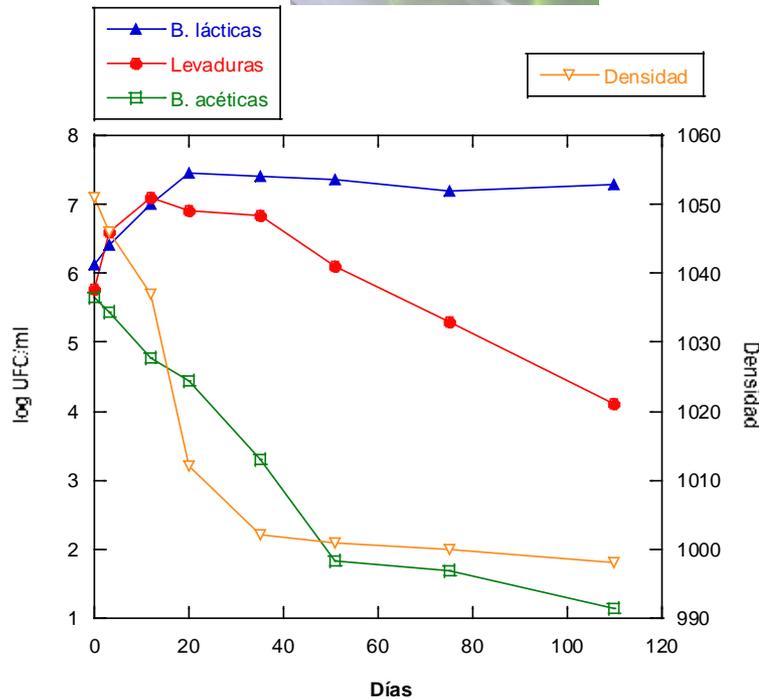
**M.T. Dueñas, A. Irastorza**

**I. Ibarburu, A. I. González**

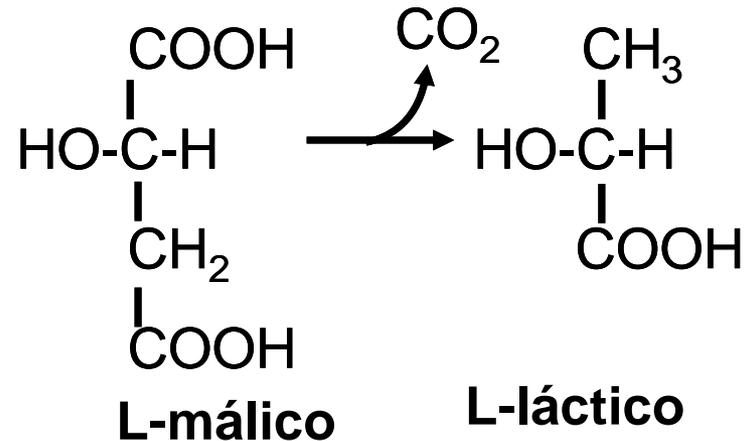
**Departamento de Química Aplicada, (Sección Microbiología)  
Facultad de Química  
San Sebastián**

- **Evolución e identificación de las BAL implicadas en la elaboración de sidra. Fermentación maloláctica**
- **Alteraciones: Picado acroléico**
- **Alteraciones: Ahilado, producción de exopolisacáridos**
- **Aminas biógenas en sidra natural**

# Evolución e identificación de las BAL implicadas en la elaboración de sidra. Fermentación maloláctica



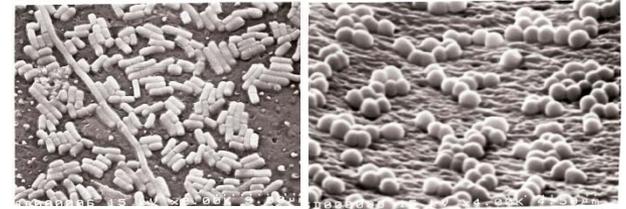
## FERMENTACIÓN MALOLÁCTICA



Perfil habitual de la evolución de la microbiota durante el proceso de elaboración de la sidra natural

# Bacterias lácticas presentes en mostos de manzana y sidra

Micrografía electrónica de barrido de  
*Lactobacillus diolivorans* y *Pediococcus parvulus*



---

<b>Género</b>	<b>Metabolismo de azúcares</b>	<b>Especie</b>
<b><i>Lactobacillus</i></b>	<b>Homofermentativo</b>	<b><i>L. mali</i></b>
	<b>Heterofermentativo facultativo</b>	<b><i>L. Plantarum</i></b>
		<b><i>L. brevis</i></b>
	<b>Heterofermentativo</b>	<b><i>L. collinoides</i></b>
		<b><i>L. suebicus</i></b>
		<b><i>L. diolivorans</i></b>
	<b><i>L. hilgardii</i></b>	
<b><i>Pediococcus</i></b>	<b>Homofermentativo</b>	<b><i>P. parvulus</i></b> <b><i>P. damnosus</i></b>
<b><i>Oenococcus</i></b>	<b>Heterofermentativo</b>	<b><i>O. oeni</i></b>
<b><i>Leuconostoc</i></b>	<b>Heterofermentativo</b>	<b><i>Leuc. mesenteroides</i></b>

---

# Picado Acroléico en Sidra Natural del País Vasco

- Identificación de la microbiota láctica responsable del picado acroléico
- Análisis de la influencia de la concentración de fructosa, pH y temperatura sobre el metabolismo del glicerol y la producción 3-hidroxipropionaldehído en *Lactobacillus collinoides*

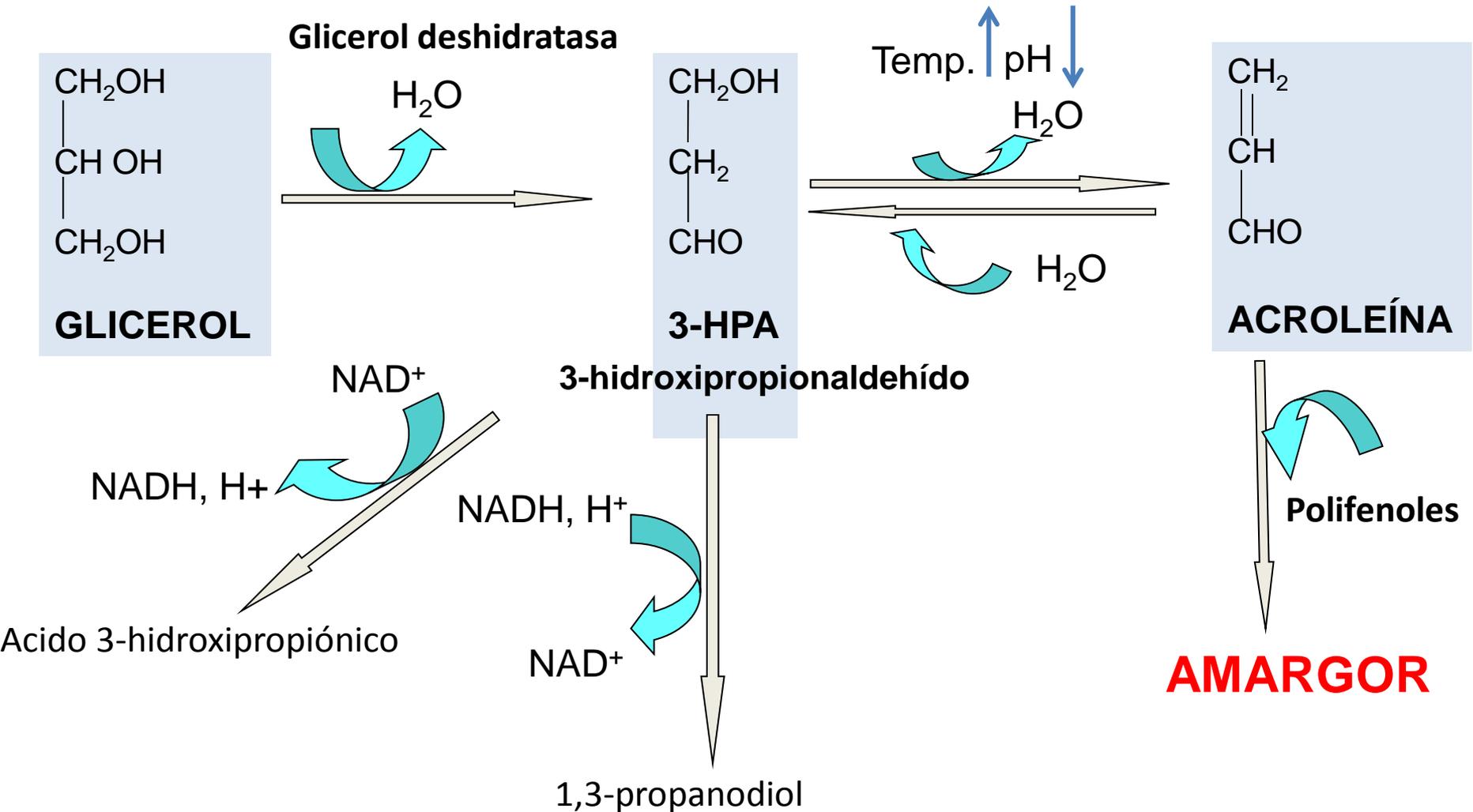
Garai-Ibabe et al. (2008) Int. J. Food Microbiol. 121:253–261

# Alteraciones por bacterias lácticas: Picado acroléico



*Lactobacillus collinoides*

## Vía glicerol deshidratasa

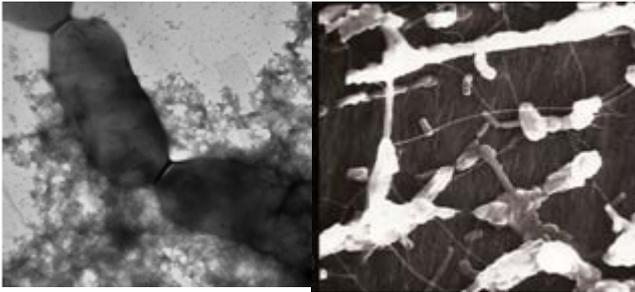


## Ahilado: Producción de exopolisacáridos

- Aislamiento e identificación de bacterias lácticas responsables del ahilado
- Detección de cepas productoras de  $\beta$ -glucano en sidra: Método de PCR basado en el gen *gtf*

# Aislamiento e identificación de bacterias lácticas responsables del ahilado

Síntesis de exopolisacáridos (EPS) → Aumento de viscosidad

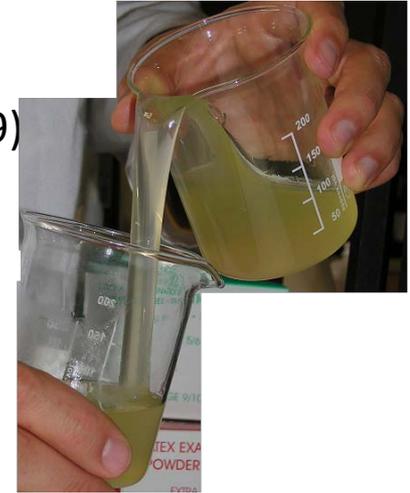


*Pediococcus parvulus* (Dueñas et al. 1998)

*Lactobacillus diolivorans* (Dueñas et al. 1999)

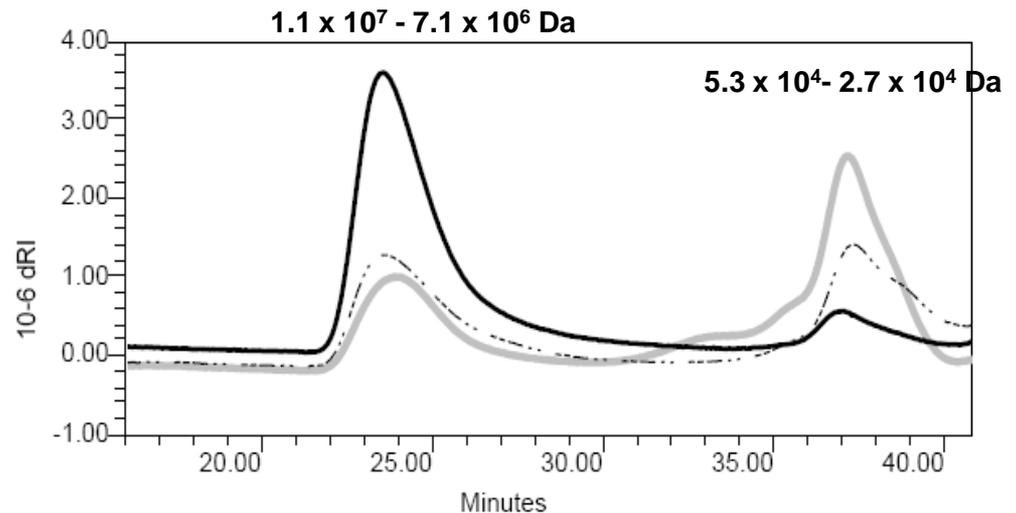
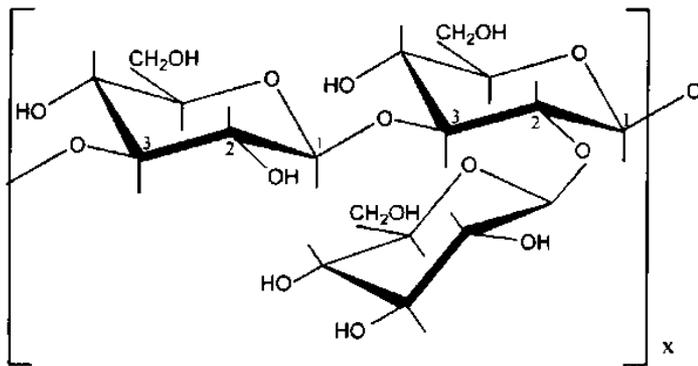
*Lactobacillus suebicus* (Ibarburu et al. 2012)

*Oenococcus oeni* (Ibarburu et al. 2007)



Estructura del (1→3)(1→2)-β-D-glucano

Cromatogramas de exclusión molecular de los EPSs



➤ **BAL productoras de exopolisacáridos** → **Interés industria alimentaria**



- **Cultivos iniciadores o coadyuvantes:** bioespesantes naturales en productos lácteos y panadería

**(1,3)-β-D-glucanos**

- **Efectos beneficiosos para la salud:**
  - Actividad antitumoral
  - antibacteriana
  - antifúngica
  - Reducción niveles de colesterol

➤ **Transferencia a Ceba Foods AB (Lund, Suecia)**  
**de *P. parvulus* 2.6 y *Lactobacillus* G-77**

Empresa que elabora alimentos fermentados basados en avena

Martensson, Nutrition Research 25 (2005) 429–442



# Detección y cuantificación de BAL productoras de (1→3)(1→2)-βD-glucanos mediante técnicas moleculares

## PCR convencional

## PCR a tiempo real (RTi-PCR)

- ✓ Detección precoz y control de BAL alterantes
- ✓ Detección y búsqueda de nuevas BAL de diferentes orígenes
- ✓ Seguimiento de su implantación en la elaboración de alimentos funcionales (RTi-PCR)



## Patente:

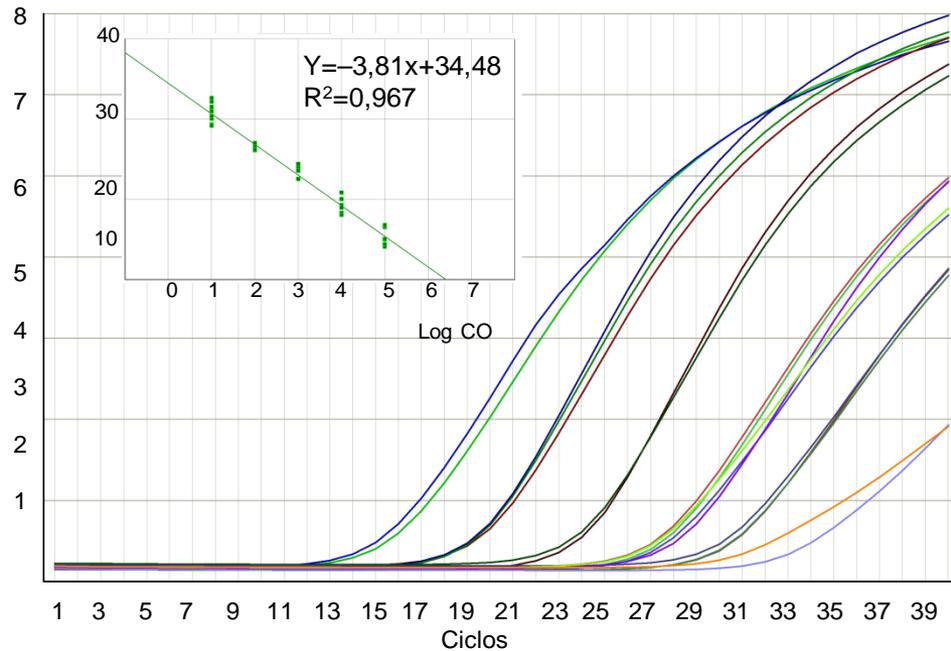
**SOLICITANTES (p.o. de firma):** Paloma López García, M<sup>a</sup> Laura Werning, Ana Irastorza Iribas, M<sup>a</sup> Teresa Dueñas Chasco, Idoia Ibarburu López y Jesús Navas Méndez.

**TITULO:** GTF cells vectors and sequences and applications thereof in the food sector

**SOLICITUD DE EXTENSIÓN DE PATENTE:** PCT N<sup>o</sup> PCT/ES2005/070127. (Países contratantes del PCT en Europa, Asia y Africa)

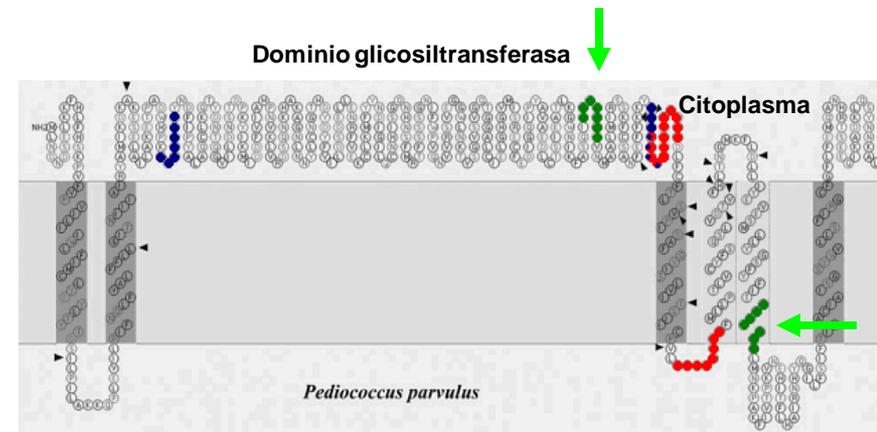
**ENTIDAD TITULAR:** Consejo de Investigaciones Científicas, Universidad de Cantabria, Universidad del País Vasco

➤ Desarrollo de un método de RTi-PCR para la detección y estimación de las poblaciones de BAL productoras de (1→3)(1→2)-β-D-glucano



16 y  $1,65 \times 10^5$  UFC/reacción

E = 0,83



Werning et al., 2006 J. Food Prot., 69 (1) 161-169

# Aminas biógenas en Sidra Natural del País Vasco

- **Determinación del contenido de aminas biógenas en sidra natural comercializada**
- **Identificación de la microbiota láctica responsable de su síntesis**

Garai-Ibabe, et al. (2006) J. Food Protection, 69: 3006-3012.

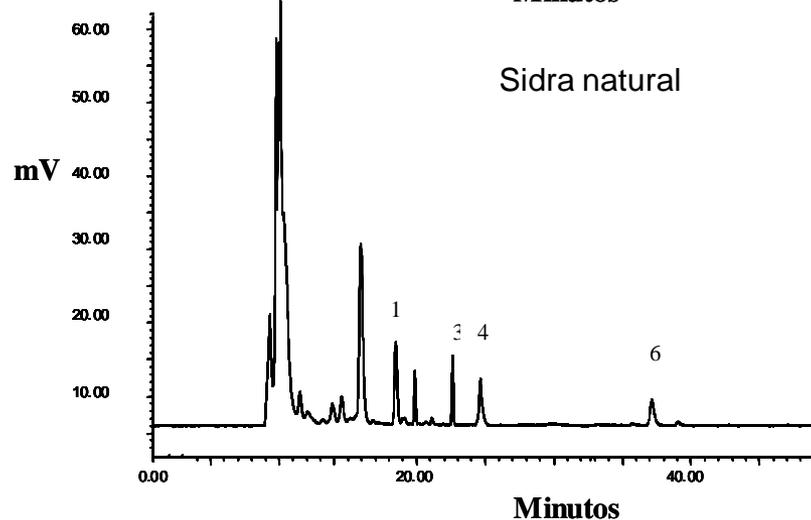
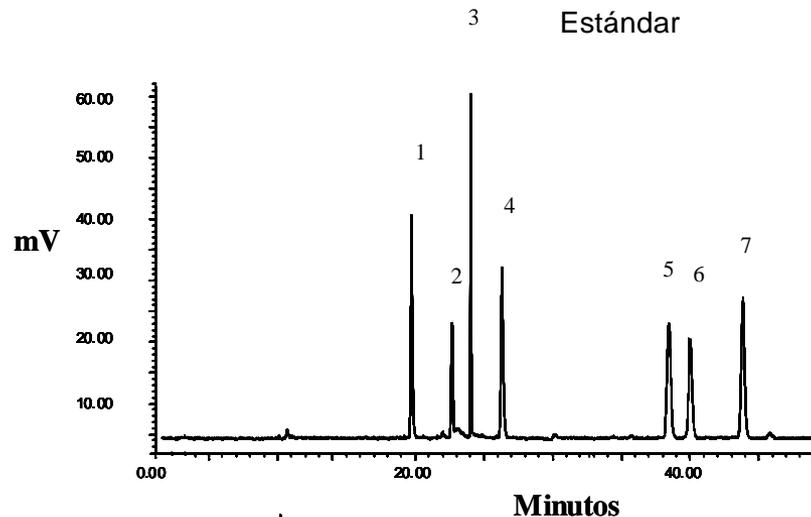
Garai-Ibabe, et al. (2007) Letters Appl. Microbiol. 45:473-478.

# Aminas biógenas en sidra natural



Derivatización precolumna  
Oftaldehído/ Mercaptoetanol

sidra	Histamina (mg/l)	Tiramina (mg/l)	Putrescina (mg/l)
1	3,03	4,81	9,39
2	n.d.	n.d.	7,31
3	n.d.	n.d.	n.d.
4	3,29	5,03	10,82
5	n.d.	n.d.	n.d.
6	n.d.	n.d.	n.d.
7	n.d.	n.d.	n.d.
8	n.d.	2,01	4,89
9	1,64	n.d.	3,32
10	1,08	n.d.	4,27
11	1,03	3,95	5,21
12	n.d.	n.d.	n.d.
13	5,83	4,25	10,08
14	n.d.	n.d.	n.d.
15	0,93	3,03	4,51
16	n.d.	n.d.	n.d.
17	n.d.	n.d.	n.d.
18	n.d.	4,03	7,31
19	2,21	n.d.	6,01
20	n.d.	n.d.	n.d.
21	n.d.	n.d.	n.d.
22	n.d.	n.d.	n.d.
23	6,93	4,08	12,25
24	n.d.	n.d.	n.d.
Media	1,08	1,30	3,56



1) Histamina; 2) Metilamina; 3) Etilamina ;4) Tiramina;  
5) Feniletilamina; 6) Putrescina; 7) Cadaverina.