IVES Technical Reviews
viña & vino

https://doi.org/10.20870/IVES-TR.2023.7868

No, ¡*Brettanomyces bruxellensis* no es responsable de todos los males!

Pierre Moulis[1,2], Cécile Miot-Sertier[1], Céline Franc[1], Laurent Riquier[1], Stéphanie Marchand[1], Gilles de Revel[1], Doris Rauhut[2], Patricia Ballestra[1]

[1] Université de Bordeaux, INRAE, Bordeaux INP, Bordeaux Sciences Agro, UMR 1366, ŒNO, ISVV, F-33882 Villenave d'Ornon, France

[2] Department of Microbiology and Biochemistry, Hochschule Geisenheim University, 65366 Geisenheim, Germany

En el vino, los aromas de galletas de arroz y de piel se salchichón se asocian generalmente con la alteración de «gusto a ratón». Estos constituyen un defecto en recrudecimiento en ciertos vinos. Los presentes trabajos han permitido aislar los microorganismos presentes en 25 vinos alterados. Se identificó a la levadura de alteración *Brettanomyces bruxellensis*, así como a las bacterias lácticas de las especies *Oenococcus oeni* y *Lentilactobacillus hilgardii*. Además, se verificaron sus capacidades para producir los *N*-heterociclos responsables del gusto a ratón. *B. bruxellensis* no se encuentra sino en la minoría de los vinos alterados por el gusto a ratón.

Introducción

El defecto del «gusto a ratón» se caracteriza por aromas que van del «arroz basmati» a la «orina de ratón», pasando por la «piel de salchichón». No es perceptible sino por vía retronasal, en razón de la baja volatilidad de los compuestos responsables de la alteración al pH del vino[1]. Estos pueden ser producidos por bacterias lácticas tales como *Lentilactobacillus hilgardii* y *Oenococcus oeni*, así como por la levadura *Brettanomyces bruxellensis*, ya conocida por la producción del carácter fenolado de los vinos[2 3]. De manera general, esta levadura es muy frecuentemente acusada de ser la responsable del defecto, ¿pero es su incidencia tan importante como se supone? Finalmente, muy pocos trabajos se interesan en la diversidad microbiana de los vinos afectados por el «gusto a ratón». Este trabajo se basa entonces en la identificación de los microorganismos presentes en 25 vinos alterados y el estudio de sus capacidades para producir la alteración en un medio modelo.

Resultados

Un conjunto de 353 muestras microbianas fueron aisladas a partir de los 25 vinos que presentaban en defecto del tipo «gusto a ratón». Los diferentes microorganismos fueron identificados por MALDI-TOF MS. Entre las levaduras, 101 muestras revelan la presencia de 4 especies: *B. bruxellensis*, *Pichia manshurica*, *Priceomyces carsonii* y *Saccharomyces cerevisiae*. Con respecto a las 252 muestras de bacterias lácticas, se identificaron 3 especies: *O. oeni*, *L. hilgardii* y *Pediococcus parvulus*. Las frecuencias de las especies identificadas se muestran en la Figura 1.

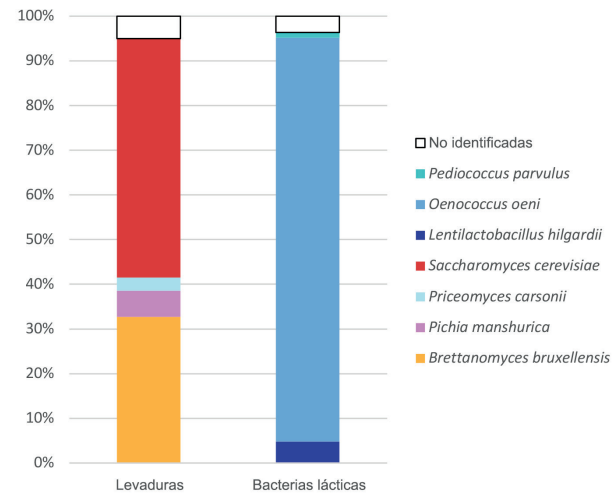


FIGURA 1. Especies microbianas identificadas en las muestras de los 25 vinos alterados[4].

La capacidad de producción de los «gustos a ratón» de estos diferentes microorganismos aislados fue evaluada en un medio modelo *N*HAM (medio que contiene todos los precursores conocidos al día de hoy para la producción de los *N*-heterociclos). Se midieron enseguida los tres compuestos *N*-heterocíclicos reconocidos como los responsables de la alteración de los «gustos a ratón», vale decir la acetilpirrolina (APY), el etiltetrahidropiridina (ETHP), y la acetiltetrahidropiridina (ATHP)[5]. Solo 53 muestras fueron capaces de producir la alteración: 13 de *B. bruxellensis*, 3 de *L. hilgardii* y 37 de *O. oeni*, es decir el 100 % de las muestras testeadas de estas especies. El estudio fue luego extendido a 22 cepas de *B. bruxellensis*, 20 cepas de *O. oeni* y 10 cepas de *L. hilgardii* provenientes de diferentes colecciones (proveídas por el CRBO (Burdeos, Francia), el laboratorio GMGM (Estrasburgo, Francia), el AWRI (Adelaida, Australia) y la DSM (Braunschweig, Alemania)). El objetivo fue determinar la variabilidad del nivel de producción de los tres compuestos *N*-heterocíclicos.

Los resultados se presentan en la Figura 2. Todas las cepas testeadas produjeron al menos 2 de estos compuestos. Las cepas de *B. bruxellensis* produjeron ATHP y ETHP. Las bacterias lácticas, por su parte, mostraron una tendencia a producir mayoritariamente APY y ATHP. Se notan diferencias a nivel de producción para los tres compuestos entre las cepas de una misma especie, pero no pudo establecerse ningún nexo entre el tipo genético de las cepas testeadas y su capacidad para producir las moléculas de «gusto a ratón» en condiciones estandarizadas (medio *N*HAM).

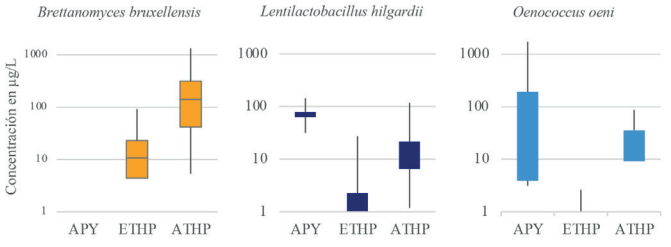


FIGURA 2. Compuestos de alteración en µg/L producidos por cepas de colecciones[4] en medio modelo.

Estas tres especies productoras fueron detectadas en algunos de los vinos estudiados y no en otros. Sus prevalencias se indican en la Figura 3. *O. oeni* se encuentra presente en el 84 % de los vinos mientras que *B. bruxellensis* y *L. hilgardii* no se encuentran más que en el 20 % y el 12 % de los vinos, respectivamente. Para 2 de estos vinos, no pudo aislarse ningún microorganismo perteneciente a estas 3 especies. Curiosamente, uno de los dos vinos no contenía ningún microorganismo. La ausencia de información obtenida sobre estos vinos no descarta la posibilidad de una filtración previa al muestreo.

Esta obra está bajo una licencia internacional Creative Commons Atribución 4.0.

En cambio, el segundo contenía otros microorganismos, tales como *Saccharomyces cerevisiae*. La posibilidad de que la alteración haya sido producida por otras vías que estas 3 especies sigue siendo una hipótesis de trabajo.

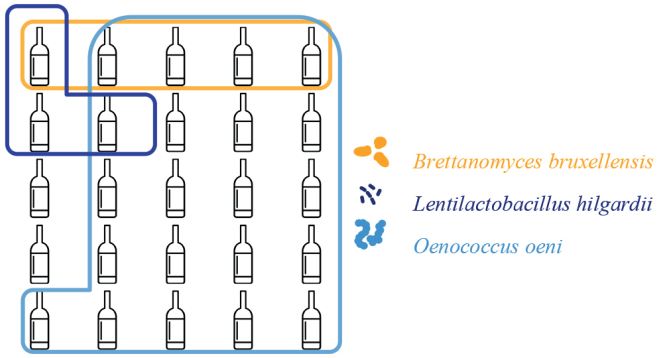


FIGURA 3. Prevalencia de las especies aisladas de 25 vinos alterados[4].

Otro estudio conducido en el Institut des Sciences de la Vigne et du Vin (ISVV, Villenave d'Ornon, Francia)[6], enfocado en el desarrollo de un método de cuantificación de los *N*-heterociclos responsables de la alteración en los vinos, se interesó en la medición de estos 3 compuestos en 62 vinos defectuosos. Cada vino analizado contuvo al menos uno de los 3 compuestos. En paralelo de los *N*-heterociclos, se midieron el 4-etilfenol y el 4-etilguayacol, responsables del carácter fenolado producido por *B. bruxellensis*. De los 62 vinos alterados, solo 8 presentaron cantidades significativas de fenoles volátiles (por sobre los límites de cuantificación), es decir el 12,9 % de los vinos. La ausencia de compuestos fenolados en la mayoría de los vinos afectados por el gusto a ratón sugiere que no hay nexo entre las dos alteraciones.

Conclusión

El objetivo de este estudio fue determinar la diversidad de los microorganismos en los vinos alterados por «los gustos a ratón» y evaluar sus capacidades de producción en un medio modelo. La mayoría de los microorganismos aislados de vinos defectuosos pertenecían a las especies *O. oeni, B. bruxellensis* y *S. cerevisiae*. De las 4 especies de levaduras aisladas, solo *B. bruxellensis* mostró la capacidad de producir la alteración en medio modelo. De la misma manera, solo *O. oeni* y *L. hilgardii* tienen esta capacidad entre las 3 especies de bacterias lácticas aisladas. En la mayoría de los vinos (16/25 vinos), la única especie microbiana encontrada y capaz de producir el defecto fue *O. oeni*. En cambio, *B. bruxellensis*, a menudo asociada con la alteración, no se encontró más que en el 20 % de los vinos defectuosos. ■

Agradecimientos: *Esta investigación fue financiada en el marco de la alianza internacional de proyectos Burdeos-Adelaida-Geisenheim (BAG), a través del Colegio doctoral franco-alemán CDFA-03-18, la región Nueva Aquitania y la Land de Hesse.*

1 Tempère, S., Chatelet, B., de Revel, G., Dufoir, M., Denat, M., Ramonet, P.-Y., Marchand, S., Sadoudi, M., Richard, N., Lucas, P., Miot-Sertier, C., Claisse, O., Riquier, L., Perello, M.-C., & Ballestra, P. (2019). Comparison between standardized sensory methods used to evaluate the mousy off-flavor in red wine. *OENO One, 53*(2). https://doi.org/10.20870/oeno-one.2019.53.2.2350

2 Chatonnet, P., Dubourdieu, D., Boidron, J., & Pons, M. (1992). The origin of ethylphenols in wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 60*(2), 165–178. https://doi.org/10.1002/jsfa.2740600205

3 Peynaud, E., & Domercq, S. (1956). *Brettanyomyces* isolated from grapes and wine. *Archiv Fur Mikrobiologie, 24*(3), 266–280. https://doi-org.docelec.u-bordeaux.fr/10.1007/BF00419012

4 Moulis, P., Miot-Sertier, C., Cordazzo, L., Claisse, O., Franc, C., Riquier, L., Albertin, W., Marchand, S., De Revel, G., Rauhut, D., & Ballestra, P. (2023). Which microorganisms contribute to mousy off-flavour in our wines? *OENO One, 57*(2), 177–187. https://doi.org/10.20870/oeno-one.2023.57.2.7481

5 Snowdon, E. M., Bowyer, M. C., Grbin, P., & Bowyer, P. K. (2006). Mousy off-flavor: A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54*(18), 6465–6474. https://doi.org/10.1021/jf0528613

6 Kiyomichi, D., Franc, C., Moulis, P., Riquier, L., Ballestra, P., Marchand, S., Tempère, S., & de Revel, G. (2023). Investigation into mousy off-flavor in wine using gas chromatography-mass spectrometry with stir bar sorptive extraction. *Food Chemistry, 411*, 135454. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135454