

1. Record Nr.	TD18003804
Autore	Vendrame, Marco
Titolo	Study of <i>Oenococcus oeni</i> to improve wine quality [Tesi di dottorato]
Editore	Università degli Studi di Udine, 2013-03-22

Lingua di pubblicazione	Inglese
Formato	Tesi di dottorato
Livello bibliografico	Monografia
Note	diritti: info:eu-repo/semantics/openAccess In relazione con info:eu-repo/semantics/altIdentifier/hdl/11390/1132690

Sommario

Lactic acid bacteria (LAB) are, besides yeasts, the best adapted microbial family to wine conditions. Many genera have been isolated both from grape must and wine, and they represent an important resource in winemaking since most of them are able to perform malolactic fermentation (MLF), the conversion of L-malic acid into L-lactic acid, which is often required to obtain wines with positive flavor and taste characteristics, but has to be avoided in some cases. Among LAB, *Oenococcus oeni* is without any doubt the best adapted species to the wine environment, and is often used as a starter to perform MLF. However, this step in winemaking is often difficult to induce and control. Moreover, this microorganism requires up to 10 days to grow and develop countable colonies on plate using classical microbiological methods to enumerate viable cells, and the control of the inoculation, as well as the evaluation of the presence or absence of *O. oeni* in a sample, requires usually a considerable amount of time. For these reasons one of the purposes of this research project was the development of a Propidium monoazide - quantitative PCR (PMA-qPCR) technique for the fast enumeration of *O. oeni* in must and wine, and the results obtained show how the developed technique is able to provide a detection limit (0.33 log CFU/mL in must and 0.69 log CFU/mL in wine) which is lower than all of the

other molecular biology techniques developed until now. Furthermore, to better understand which conditions are the most favorable for a successful MLF, a Reverse Transcription – quantitative PCR (RT-qPCR) technique has been developed to study the gene expression levels of the *mleA* gene, encoding for the malolactic enzyme, in *O. oeni*. The results obtained show that co-inoculation with *Saccharomyces cerevisiae* and high concentrations of ethanol in the medium are the best conditions to ensure high levels of transcription of the *mleA* gene. Besides the capacity of performing MLF, LAB are capable to influence the aromatic complexity of wine thanks to the release of volatile compounds due to the activity of the β-glucosidase enzyme, which has been isolated in various strains, including *O. oeni*. For this reason, the last purpose of this work has been the development of a RT-qPCR technique to find out which winemaking practice (sequential inoculation or co-inoculation) is the best to ensure high levels of transcription of the gene encoding for the β-glucosidase enzyme. Results point out that during co-inoculation higher levels of expression are registered. Therefore, and although winemakers try often to avoid this practice, co-inoculation can be considered the best winemaking scenario to ensure both rapid completion of MLF and expression of β-glucosidase encoding gene, which can lead to the release of positive aromatic volatile compounds in wine.

I batteri lattici (LAB) sono, insieme ai lieviti, la famiglia microbica meglio adattata alle avverse condizioni chimiche e chimico-fisiche presenti nel vino. Molti generi sono stati isolati sia dal mosto che dal vino, ed essi rappresentano un’importante risorsa nelle pratiche enologiche, dal momento che molti sono in grado di effettuare la fermentazione malolattica (FML), la conversione dell’acido L-malico in acido L-lattico, che è spesso necessaria per ottenere vini con caratteristiche desiderate di sapore e gusto, ma che in alcuni casi deve essere evitata. Tra i LAB, *Oenococcus oeni* è senza dubbio il meglio adattato alle condizioni del vino, ed è spesso usato come starter per eseguire la FML. Tuttavia questa fase è spesso difficile da indurre e controllare nella produzione del vino. In più questo microorganismo richiede fino a 10 giorni per crescere e dare origine a colonie visibili e contabili in piastra utilizzando metodi di microbiologia classica per contare le cellule vitali, e il controllo dell’inoculo, così come la valutazione della presenza o dell’assenza di *O. oeni* in un campione, richiede di solito una significativa quantità di tempo. Per queste ragioni uno degli scopi di questo progetto di ricerca è stato lo sviluppo di una tecnica di PCR quantitativa basata sull’uso di Propidio Monoazide (PMA-qPCR) per la rapida enumerazione di *O. oeni* in mosto e in vino, e i risultati ottenuti mostrano che tale tecnica presenta un limite di rilevabilità del microorganismo (0.33 log UFC/mL in mosto e 0.69 log UFC/mL in vino) più basso rispetto a tutte le altre tecniche di biologia molecolare finora sviluppate. In seguito, per meglio comprendere quali condizioni siano le più favorevoli affinchéè la FML venga eseguita con successo, è stata sviluppata una tecnica di trascrizione inversa seguita da PCR quantitativa (RT-qPCR) per studiare i livelli di espressione genica del gene *mleA*, codificante per l’enzima malolattico, in *O. oeni*. I risultati ottenuti indicano che il coinoculo con *Saccharomyces cerevisiae* e alte concentrazioni di etanolo nel mezzo sono le condizioni migliori per assicurare alti livelli di trascrizione del gene *mleA*. Accanto alla capacità di eseguire la FML, i LAB

sono in grado di influenzare la complessità; aromatica del vino grazie al rilascio di composti volatili dovuto all'attività; dell'enzima α -glucosidasi, che è stato isolato da diversi ceppi, anche appartenenti alla specie *O. oeni*. Per questa ragione l'ultimo obiettivo di questo lavoro è stato lo sviluppo di una tecnica RT-qPCR al fine di individuare quale tecnica produttiva (inoculo sequenziale o coinoculo) fosse la migliore per assicurare alti livelli di trascrizione del gene codificante per l'enzima α -glucosidasi. I risultati evidenziano che durante il coinoculo vengono registrati livelli di trascrizione più alti. Perciò, nonostante spesso i produttori tendano ad evitare questa pratica, il coinoculo può essere considerato lo scenario migliore per assicurare una rapida conclusione della FML e alti livelli di espressione del gene codificante per l'enzima α -glucosidasi, che può condurre al rilascio di composti aromatici volatili favorevoli nel vino.

Localizzazioni e accesso

http://memoria.depositolegale.it/*/http://hdl.handle.net/11390/1132690
