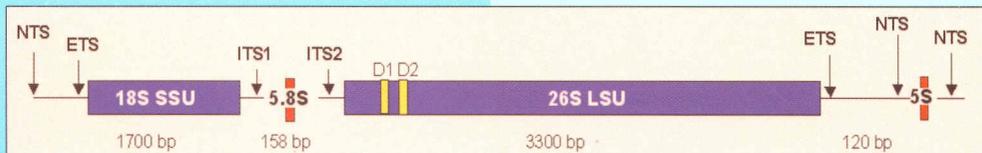
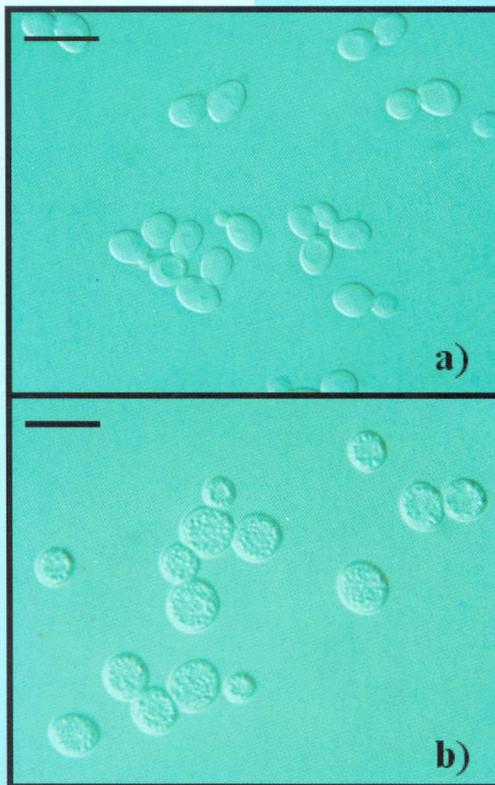


MICROBIOLOGÍA DEL VINO

Coordinadores

Alfonso V. Carrascosa, Rosario Muñoz y Ramón González



AMV EDICIONES

ÍNDICE

Capítulo 1. Levaduras. *Saccharomyces* I. Levaduras de primera fermentación.

<i>Agustín Aranda, Emilia Matallana, Marcel·lí del Olmo</i>	19
1.1. Levaduras de interés en la producción del vino	19
1.1.1. Microbiota de levaduras en la uva, en la bodega y en el mosto	19
1.1.2. Morfología y organización celular de las levaduras	21
1.1.3. Características genéticas de las levaduras vínicas	21
1.2. Características del crecimiento de <i>Saccharomyces</i> durante la fermentación	23
1.2.1. Composición de los mostos	23
1.2.2. Parámetros físicos de la fermentación	26
1.2.3. Crecimiento de las levaduras y cinética de la fermentación	28
1.2.4. Bioquímica de la fermentación	29
1.3. Expresión génica a lo largo de la fermentación	37
1.3.1. Genes glicolíticos	39
1.3.2. Genes de respuesta a estrés osmótico	40
1.3.3. Genes inducidos por fase estacionaria	42
1.3.4. Expresión génica en levaduras vínicas sometidas a condiciones particulares de estrés	45
1.4. Aspectos potencialmente mejorables de la actividad de las levaduras durante la fermentación	46
1.4.1. Mejora de la capacidad fermentativa	47
1.4.2. Mejora de la resistencia a etanol	48
1.4.3. Mejora de propiedades nutricionales y organolépticas del vino	49
Bibliografía	50

Capítulo 2. Levaduras. *Saccharomyces* II. Levaduras de segunda fermentación.

<i>Alfonso V. Carrascosa, Adolfo J. Martínez-Rodríguez, Eduardo Cebollero, Ramón González</i>	57
2.1. Elaboración de vinos espumosos. Tecnología y legislación	57
2.1.1. Los vinos espumosos y su clasificación	57
2.1.2. Los vinos espumosos elaborados por método tradicional	58
2.2. Elaboración del cava	59
2.2.1. 1ª fermentación o fermentación del mosto	60
2.2.2. Toma de espuma	61
2.2.3. 2ª Fermentación	62
2.3. Aspectos microbiológicos de la 2ª fermentación	62
2.4. Envejecimiento	64

Índice	12
---------------	----

2.4.1. Cambios bioquímicos que tienen lugar en el vino durante el envejecimiento	65
2.4.2. Cambios morfológicos en las células de levadura durante el envejecimiento	68
2.4.3. Genética de la autólisis. Autofagia	69
2.5. Influencia del envejecimiento en la calidad de los vinos espumosos elaborados por el método tradicional.	72
2.6. Métodos para acelerar la autólisis de las levaduras y su implicación en el proceso de elaboración de los vinos espumosos.	73
2.6.1. Incremento de la temperatura y adición de autolisados	73
2.6.2. Mejora genética de levaduras	73
Bibliografía	75

Capítulo 3. Levaduras. *Saccharomyces* III. Levaduras de vinos de crianza biológica.

<i>Tahía Benítez y Antonio C. Codón</i>	78
3.1. Introducción	78
3.1.1. Elaboración de vinos de crianza biológica	78
3.1.2. Las levaduras de fermentación y las de maduración de los vinos de crianza biológica.	84
3.2. Características de las levaduras de vinos de crianza	85
3.2.1. Características fisiológicas	85
3.2.2. Características Genéticas	90
3.3. Influencia de los factores ambientales en las características de las levaduras de crianza biológica	93
3.3.1. Influencia en las mitocondrias	93
3.3.2. Influencia en los cromosomas nucleares	95
3.3.3. Influencia en la membrana y la pared celular	96
3.4. Evolución de los genomas celulares y de las poblaciones de levaduras devinos de crianza biológica	97
3.5. Mejora genética de las levaduras vínicas	99
3.5.1. Mejora de las características de las levaduras de fermentación	100
3.5.2. Mejora de las características de las levaduras de maduración	102
3.6. Conclusiones	107
Bibliografía	107

Capítulo 4. Levaduras. No *Saccharomyces*.

<i>Paloma Manzanares y Salvador Vallés</i>	114
4.1. Introducción	114
4.2. Aislamiento, enumeración e identificación de levaduras no- <i>Saccharomyces</i>	114
4.2.1. Aislamiento y enumeración	115
4.2.2. Identificación	116
4.3. Papel de las levaduras no- <i>Saccharomyces</i> en la vinificación	119
4.3.1. Influencia sobre el proceso	120
4.3.2. Influencia en el aroma	123
4.4. Diseño de cultivos iniciadores mixtos	136
4.5. Alteraciones del vino por levaduras no- <i>Saccharomyces</i>	139

4.5.1. Refermentación	139
4.5.2. Formación excesiva de ésteres	140
4.5.3. Incremento de la acidez volátil	140
4.5.4. Formación de fenoles volátiles y compuestos derivados de la tetrahidropiridina	141
4.5.5. Formación de películas o films microbianos	141
4.5.6. Desacidificación	141
4.6. Consideraciones finales	141
Bibliografía	142

Capítulo 5. Identificación y caracterización molecular de levaduras vínicas.

<i>María T. Fernández-Espinar, Eladio Barrio y Amparo Querol</i>	148
5.1. Biodiversidad de levaduras durante la fermentación.	148
5.2. Métodos moleculares para identificar y caracterizar levaduras vínicas.	149
5.2.1. Métodos de identificación	151
5.3. Métodos para diferenciar cepas de la especie <i>S. cerevisiae</i>	158
5.3.1. Técnicas de hibridación	158
5.3.2. Electroforesis de cromosomas en campo pulsante	160
5.3.3. Análisis de restricción del mtDNA	162
5.3.4. Métodos basados en la técnica de PCR	166
5.3.5. AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)	172
5.4. Aplicaciones	172
5.4.1. Estudio de la variabilidad de poblaciones durante fermentaciones naturales. Ecología del vino	172
5.4.2. Estudio de la variabilidad de poblaciones durante fermentaciones inoculadas. Seguimiento de la implantación	174
5.4.3. Caracterización de levaduras comerciales.	175
5.4.4. Búsqueda de nuevas especies e híbridos implicados en la fermentación vínica.	176
5.4.5. Detección de levaduras alterantes del vino	177
Bibliografía	178

Capítulo 6. Genómica y proteómica de levaduras vínicas.

<i>José E. Pérez-Ortín y José García</i>	185
6.1. Introducción	185
6.2. Características genómicas de las levaduras vínicas.	186
6.3. Genómica comparada y el origen del genoma de <i>S. cerevisiae</i>	189
6.4. Chips de DNA. La levadura <i>S. cerevisiae</i> como modelo para su desarrollo tecnológico	191
6.4.1. Estudios metabólicos.	193
6.4.2. Efectos de drogas u otros agentes.	193
6.4.3. Aplicación de los Chips de DNA a las levaduras industriales.	195
6.4.4. Estudios genómicos.	198
6.5. Proteómica en levaduras vínicas.	199
6.6. Otros estudios globales.	202
6.7. Perspectivas de futuro.	204
Bibliografía.	204

Capítulo 7. Mejora de levaduras vínicas mediante técnicas de ingeniería genética.

<i>Daniel Ramón</i>	210
7.1. Vino, biotecnología y genética	210
7.1.1. Vino y genética clásica.	210
7.1.2. Vino e ingeniería genética	211
7.2. Sistemas de transformación genéticas en levaduras vínicas	214
7.2.1. Procedimientos de transformación	214
7.2.2. Marcadores de selección	214
7.3. Regulación de la expresión génica: promotores de interés biotecnológico	217
7.4. Levaduras vínicas transgénicas.	219
7.4.1. Mejoras que afectan al proceso industrial de vinificación.	221
7.4.2. Mejoras que afectan a las propiedades físico químicas de los vino	222
7.4.3. Mejora de propiedades organolépticas y nutricionales.	222
7.5. Legislación en torno al empleo de ingeniería genética en vinificación	223
7.5.1. El marco legal	223
7.5.2. El etiquetado.	225
7.5.3. La situación en otros países.	225
7.6. El futuro	226
Bibliografía	227

Capítulo 8. Bacterias lácticas.

<i>Rosario Muñoz, M. Victoria Moreno-Arribas y Blanca de las Rivas</i>	231
8.1. Introducción. Características generales	231
8.2. Identificación de bacterias lácticas	232
8.2.1. Métodos clásicos	233
8.2.2. Métodos moleculares	234
8.3. Evolución de la población de bacterias lácticas durante la vinificación	236
8.4. Metabolismo	238
8.4.1. Metabolismo de hidratos de carbono	238
8.4.2. Metabolismo de ácidos orgánicos	241
8.4.3. Metabolismo de compuestos fenólicos	244
8.4.4. Catabolismo de aldehídos	246
8.4.5. Hidrólisis de glicósidos	247
8.4.6. Síntesis e hidrólisis de ésteres	247
8.4.7. Hidrólisis de lípidos	247
8.4.8. Degradación de proteínas y péptidos	248
8.4.9. Catabolismo de aminoácidos	248
8.5. Fermentación maloláctica	250
8.5.1. Empleo de cultivos iniciadores malolácticos	250
8.5.2. Contribución de la FML a las características sensoriales del vino	251
8.6. Otros aspectos relevantes	253
8.6.1. Formación de aminas biógenas	253
8.6.2. Formación de precursores de carbamato de etilo	258
8.6.3. Resistencia al estrés	258
8.6.4. Presencia de bacteriófagos	259
8.6.5. Producción de bacteriocinas	260
8.7. Interacciones entre bacterias lácticas y otros microorganismos	261

8.8. Alteraciones sensoriales del vino producidas por bacterias ácticas	262
8.8.1. Picado láctico	262
8.8.2. Degradación de glicerol y producción de acroleína	262
8.8.3. Producción de polisacáridos extracelulares	263
8.8.4. Producción de off-flavor	263
Bibliografía	264

Capítulo 9. Bacterias acéticas.

<i>José M. Guillamón y Albert Mas</i>	273
9.1. Introducción	273
9.2. Características generales	273
9.3. Nutrición y metabolismo	274
9.3.1. Metabolismo de los carbohidratos	274
9.3.2. Metabolismo del etanol y otros alcoholes	276
9.3.3. Metabolismo de los ácidos orgánicos	277
9.3.4. Metabolismo del nitrógeno	277
9.4. Taxonomía	278
9.4.1. Aislamiento	279
9.4.2. Identificación	280
9.4.3. Técnicas moleculares para la identificación rápida de bacterias acéticas	281
9.4.4. Técnicas moleculares para la tipificación de cepas de bacterias acéticas.	284
9.5. Desarrollo de las bacterias acéticas en los procesos enológicos.	285
9.5.1. Asociación de las bacterias acéticas en la uva.	285
9.5.2. Evolución de las bacterias acéticas durante la fermentación alcohólica.	286
9.6. Factores determinantes del crecimiento de las bacterias acéticas. Métodos de control	289
9.7. Alteraciones en el vino como consecuencia del desarrollo de las bacterias acéticas	291
9.8. Interacciones con otros microorganismos del vino	293
9.9. Recomendaciones finales para evitar los efectos perjudiciales de las bacterias acéticas en el vino.	294
Bibliografía	295

Capítulo 10. Hongos filamentosos.

<i>Jesús M. Cantoral e Isidro G. Collado</i>	298
10.1. Introducción.	298
10.2. Principales hongos filamentosos fitopatógenos de la vid	298
10.2.1. Oidio	298
10.2.2. Mildiu	299
10.2.3. Podredumbre negra (Black rot)	300
10.2.4. Excoriosis	301
10.2.5. Eutipiosis	302
10.3. <i>Botrytis cinerea</i> como modelo de estudio de hongo fitopatógeno de la vid	303

10.3.1. Infección de cultivos vinícolas.	304
10.3.2. Mecanismo de penetración química	304
10.3.3. Estrategias de estudio del hongo fitopatógeno <i>B. cinerea</i>	306
Bibliografía	316

Capítulo 11. Producción de cultivos iniciadores para elaborar vino.

<i>Ramón González, Rosario Muñoz y Alfonso V. Carrascosa</i>	318
11.1. Introducción	318
11.2. Levaduras	319
11.2.1. Notas históricas	319
11.2.2. Aislamiento y selección	321
11.2.3. Producción de biomasa	326
11.2.4. Secado	330
11.2.5. Utilización	331
11.3. Bacterias lácticas	332
11.3.1. Selección e identificación de cepas	333
11.3.2. Producción de biomasa	335
11.3.3. Liofilización, empaquetamiento y almacenamiento	337
11.3.4. Utilización	337
Bibliografía	338

Capítulo 12. La conservación de cepas microbianas relacionadas con el vino.

<i>María D. García, José M. López-Coronado, Laura López y Federico Uruburu</i>	342
12.1. Introducción	342
12.2. Métodos de conservación de cepas microbianas	342
12.2.1. Métodos de elección o de conservación a largo plazo	342
12.2.2. Métodos alternativos	345
12.2.3. Otros métodos de conservación	346
12.2.4. Recuperación	347
12.3. Conservación de levaduras de interés enológico	347
12.3.1. Conservación a largo plazo	347
12.3.2. Conservación a corto plazo	350
12.4. Conservación de bacterias del vino	350
12.4.1. Métodos de conservación a largo plazo	350
12.4.2. Conservación a corto plazo	354
12.5. Conservación de hongos filamentosos del vino	355
12.5.1. Métodos de conservación en hongos filamentosos	355
Bibliografía	357

Capítulo 13. APPCC en la elaboración del vino: Ocratoxina A.

<i>Alfonso V. Carrascosa</i>	361
13.1. Introducción	361
13.2. Generalidades sobre el APPCC	362
13.2.1. Principios del APPCC	362
13.2.2. Programas previos necesarios	363
13.3. Aplicación del APPCC a la elaboración del vino	365
13.3.1. Antecedentes	365

13.3.2. Aplicación del APPCC a la aparición de ocratoxina A durante la elaboración del vino	366
Bibliografía	379
Capítulo 14. Microbiología enológica aplicada.	
<i>Braulio Esteve -Zaroso, Mireia Martínez, Xavier Rubires, Maria Yuste y Mireia Torres</i>	
	381
14.1. Introducción	381
14.2. Control microbiológico de la uva	381
14.3. Formas de siembra de microorganismos	383
14.3.1. Siembra directa	384
14.3.2. Elaboración de pies de cuba y determinación del porcentaje de siembra	384
14.4. Métodos moleculares de monitorización de microorganismos utilizados en bodega (mtDNA, RFLP-ITS, RAPD's)	385
14.5. Control de calidad de levaduras comerciales y su implantación	387
14.6. Control de la implantación de bacterias lácticas (RAPD's)	389
14.7. Paradas de fermentación, soluciones rápidas	389
14.7.1. Procedimiento de actuación en caso de paradas de fermentación.	389
14.8. Control de contaminaciones de microorganismos no deseados	390
14.8.1. Precauciones en alteraciones debidas a levaduras	390
14.8.2. Precauciones en alteraciones debidas a bacterias lácticas	392
14.8.3. Precauciones en alteraciones debidas a bacterias acéticas	392
14.9. Microbiología de la elaboración de vinos típicos (Jerez, cava)	393
14.9.1. Vinos finos	393
14.9.2. Cava	395
14.10. Control de calidad microbiológica del producto final.	395
14.11. Nuevos retos planteados a la comunidad científica: Organismos Genéticamente Modificados	396
Bibliografía	397