

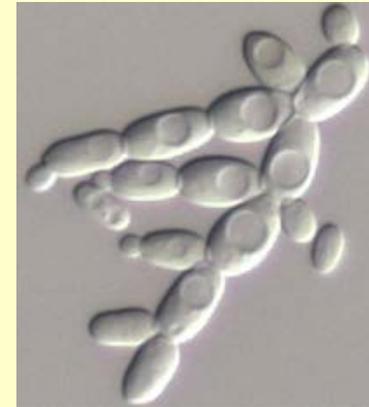
Microbiología Enológica



Manuel Ramírez Fernández
Departamento de Ciencias Biomédicas
Área de Microbiología
Facultad de Ciencias
UEX. 06071-Badajoz
E-mail: mramirez@unex.es

BODEGUERO
INTAEX (CICYTEX)
Badajoz 31 de Mayo de 2018

Vino = colaboración hombre y microorganismos



- Historia de la Microbiología Enológica
- Microorganismos necesarios en la elaboración de vino.
- Microorganismos perjudiciales.
- ¿Puede ser beneficioso y perjudicial el mismo microorganismo?
- ¿Podemos evitar los microorganismos perjudiciales y potenciar la actividad de los beneficiosos?
- Selección, mejora genética y reprogramación.
- Producción de levaduras y utilización en bodega.

¿Desde cuando conocemos el vino?

Vino, cerveza y pan: biotecnologías muy antiguas

¿Cuándo? *Neolítico o antes.*

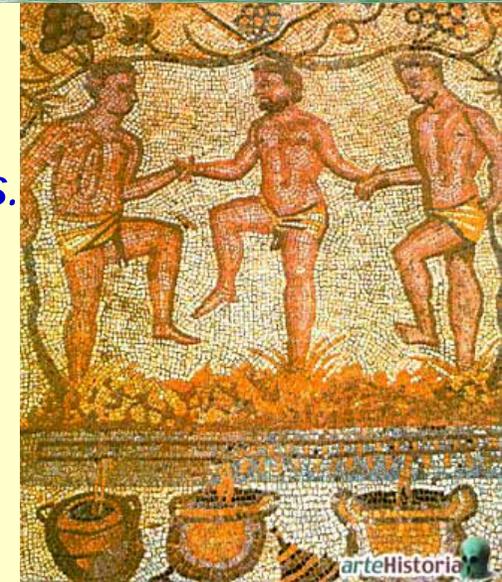
¿Dónde? *Vino, este Mar Negro, 5.000 a.C. Cerveza, Sumeria y Babilonia, 6.000 a.C.*

¿Cómo? *De forma accidental.*

¿Quién la desarrolló?
Civilizaciones mediterráneas excepto Islam.

¿Quién la extendió y preservó? *Romanos y cristianos.*
Elaborador de vino (Columela).
Iglesia (Sangre de Cristo), Edad Media (antiseptico y excipiente).

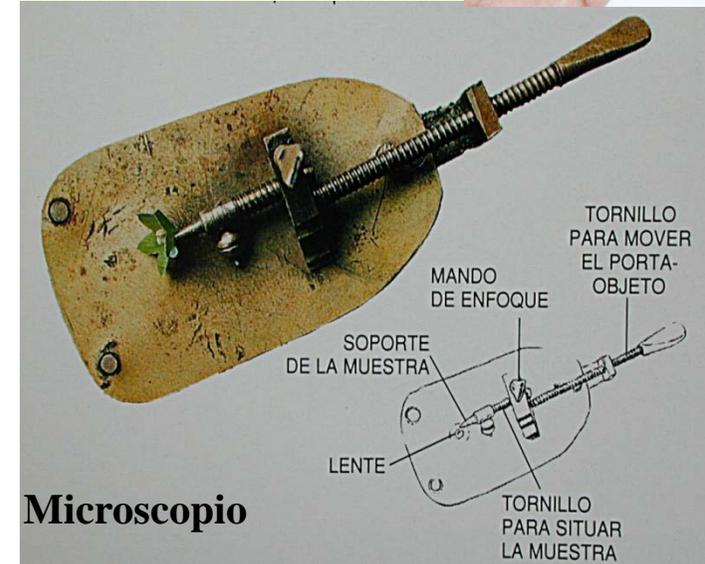
¿Primer organismo domesticado por el hombre? *Levadura*



¿Quién descubrió los microbios del vino?

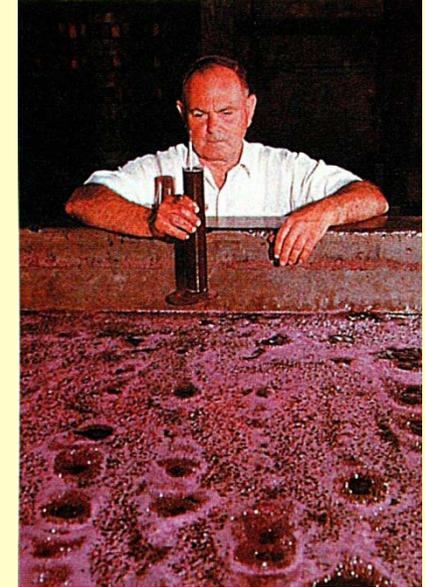
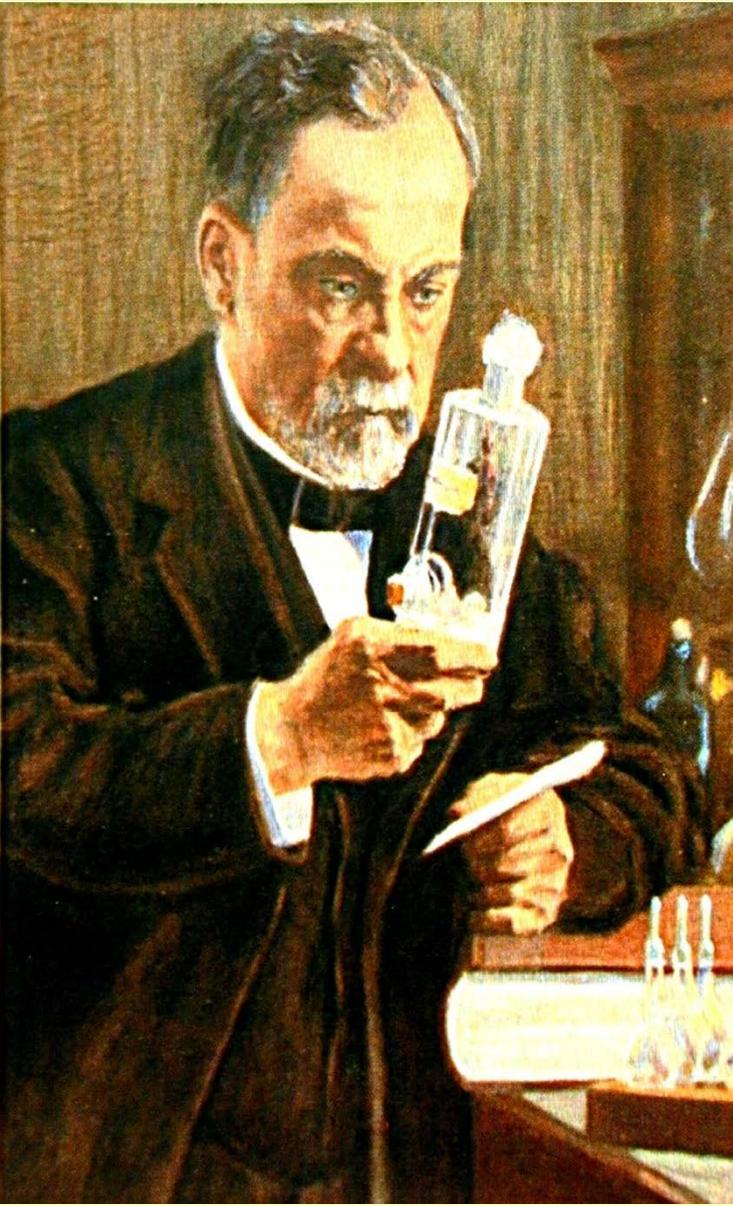


1678-**Leeuwenhoek** observó levaduras en sedimentos de vino.



1837- **C. Cagniard-Latour**, **Th. Schwann** y **F. Kützing**, la levadura que aparece en la fermentación alcohólica era una **planta microscópica** que convertía los azúcares en alcohol y CO_2 . Atacados por químicos de vanguardia (**J.J. Berzelius**, **J. Liebig** y **F. Wohler**), quienes mantenían que putrefacción y fermentación eran procesos químicos. Síntesis de urea en 1828.

¿Quién descubrió los microbios del vino?



1856-1878. **Pasteur**, demostró que todas las fermentaciones son el resultado de actividad microbiana.

¿Quién descubrió los microbios del vino?

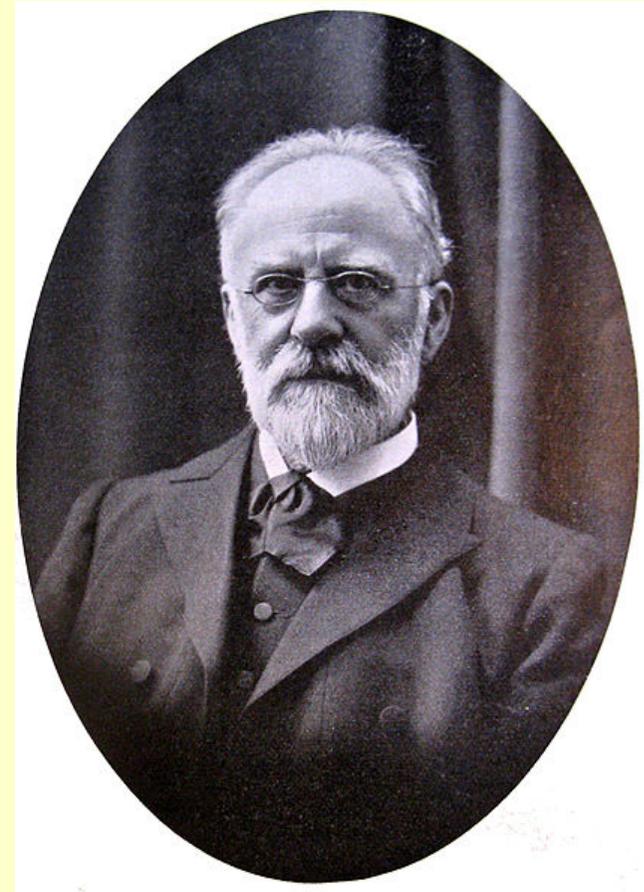
Problemas de picado láctico de los destiladores de Lille. **Pasteur** demostró azúcar → láctico, e identificó a los microorganismos responsables (cocos y bacilos) que habían sustituido a las levaduras en los tanques de fermentación.

1860. Problemas de putrefacción de los vinos en Francia. **Pasteur** observó en vino putrefacto bacterias similares a las responsables de las fermentaciones del láctico y acético. Descubrió que calentando a 55-60° morían y se conservaba el vino durante largos periodos de tiempo (**Pasteurización**). **Filoxera, oídio y mildiu**.



1878. **Pasteur**: ausencia de fermentación espontánea del mosto si se impide el desarrollo de las levaduras en la piel de las uvas.

¿Quién descubrió los microbios del vino?



1876 Christian Hansen: Levaduras en suelo de viñas. Cultivos puros para fabricación de cerveza.

Se reconoce a las levaduras como organismos vivos responsables de la fermentación alcohólica
→ **proceso biológico.**

Interés de algunos vinateros por mantener sus levaduras e impedir la actividad de otros microorganismos indeseables.

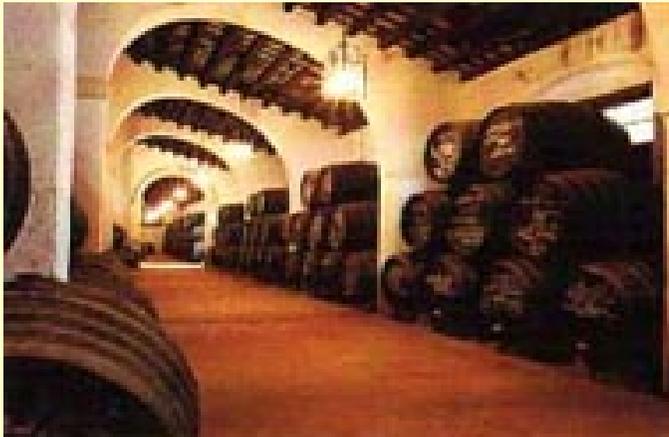
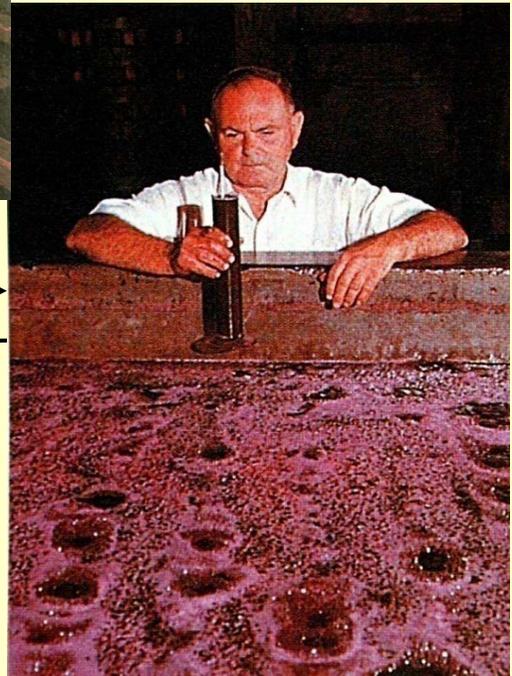
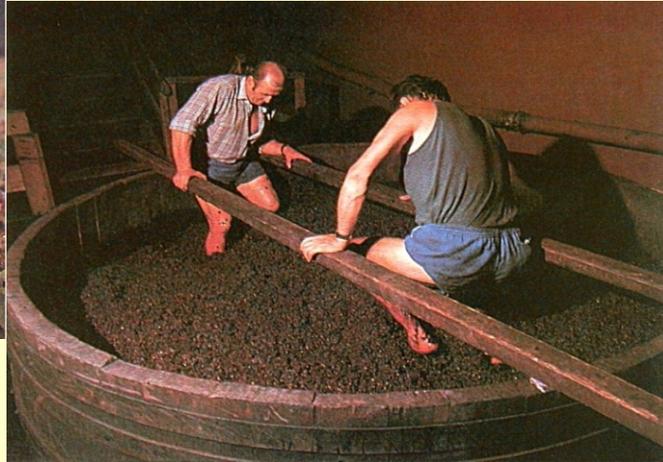
No hay desarrollo evidente de la microbiología enológica, sí de la investigación en levaduras (panaderas y cerveceras).

Vuelta a la investigación con levaduras vínicas

1960s. Universidad de **Davis CA**: Se establecen las bases de la última revolución enológica. Se relanza la **microbiología enológica**. Especialmente los estudios de ecología microbiana en viñedos y fermentaciones para controlar el proceso biológico de elaboración de vino (**calidad**).



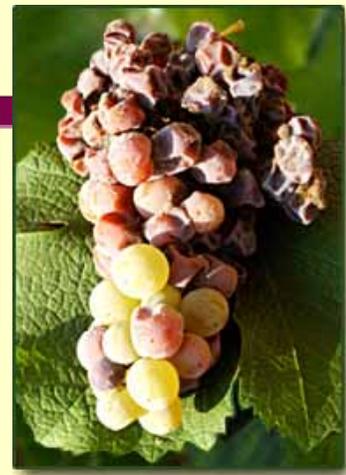
Elaboración del vino (saludable)



Maduración/envejecimiento

¿Dónde se encuentran los microbios?

-**Plantas.** Interfase nutrientes solubles y parte aséptica. Insectos. Patógenas. Exudados azucarados, frutos pasos y en descomposición.



-**Animales.** Intestinos. Algunas patógenas. Comensales en insectos.



-**Suelo.** Huertas y viñedos >40.000 cfu/g. **Reservorio supervivencia larga.**

-**Agua.** Dulce y salada (-3 a 13°C , 35% sal, 4.000 m profundidad). Estuarios.



-**Atmósfera.** Procedentes de cubierta vegetal de suelos, aire, bodegas.

-**Ambientes extremos.** Halotolerantes, soluciones saturadas. Osmófilas 40-70% azúcar. Glaciares en Rusia y Antártida.



Elaboración y calidad nutricional



MOSTO

Fermentación alcohólica

VINO



Levaduras

Fermentación maloláctica

Bacterias

Etanol 10°-14°

CO₂↑

Glicerol 5-10 g/l

Aminoácidos distintos de los originales.

Alcoholes superiores.

Ácidos grasos.

Ésteres de los dos anteriores (aromas).

Ácidos: **málico**, tartárico (precipita), acético (volátil).

Restos de polifenoles y otros compuestos minoritarios.

Láctico

Azúcares (20-24%): hexosas (glc, fruc) y pentosas (arabinosa, ramnosa y xilosa).

Nitrógeno total 200-500 mg/l. 100-200 mg/l nitrógeno asimilable: aa (gln, pro, ala y arg) + amonio.

Ácidos: 5-10 g/l tartárico, 5-10 g/l málico, 100-500 mg/l cítrico. pH= 3-3,5 (4 en zonas calidas).

Vitaminas: tiamina, riboflavina, piridoxina, ac. pantoténico, ac. nicotínico, biotina, inositol.

Cationes: K, Ca, Mg, Na, Fe, Co, Al.

Aniones: SO₄²⁻, PO₄²⁻.

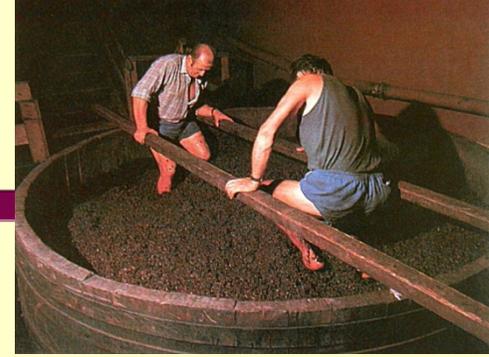
Polifenoles: antocianos (uva negra), flavonas (uva blanca) y taninos (astringencia).

Otros compuestos minoritarios (aromas primarios característicos de la variedad de uva).

Pesticidas y herbicidas

Compuestos añadidos: sacarosa, SO₂, láctico, SO₄H₂, gelatina, carbón activo, bentonita, Velcorín, etc.

¿Quién hace el vino?



Sucesión de especies microbianas

MOSTO



MOSTO-VINO



VINO

Levaduras: variable, 10^3 - 10^5 cfu/ml:
Hanseniaspora uvarum / *Kloeckera apiculata*
(50-75%)

Candida pulcherrima / *Metchnikowia pulcherrima*, *Candida stellata*

Pichia membranaefaciens

Hansenula anomala

Issachenkia, *Debaromyces*, *Kluyveromyces*,
Torulaspora

Saccharomyces

Rodotorula minuta (rosa-roja)

Criptomococcus

Aureobasidium pullulans.

Saccharomyces cerevisiae: 50 cfu/ml,
variable (tiempo, madurez, fungicidas, pájaros,
vendimia, insectos, equipo bodega, principio o
final vendimia, tiempo de transporte de uva).

Bacterias (según estado sanitario).

Mohos.

Levaduras:
 10^8 - 10^9 cfu/ml.

Sucesión de especies:

S. cerevisiae (más del 90%),
Saccharomyces sp.

Brettanomyces/Deckkera:
acético, octanoico y decanoico
(inhibidores de *S. cerevisiae*).
Sólo en condiciones especiales
y baja temperatura 16°C.

Bacterias (disminución).

Mohos.

Levaduras: Se mantiene la
población casi 100% *S.*
cerevisiae, comienza a
degenerar.

Raramente sucesión de
especies, quizás de cepas
(debido a efecto killer), aunque
haya azúcar y nutrientes.

Bacterias (muy pocas,
salvo maloláctica o
alteración).

Mohos.

¿Quién hace el vino?



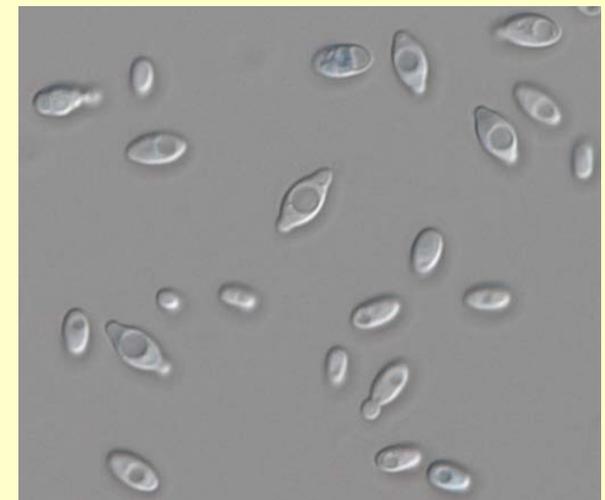
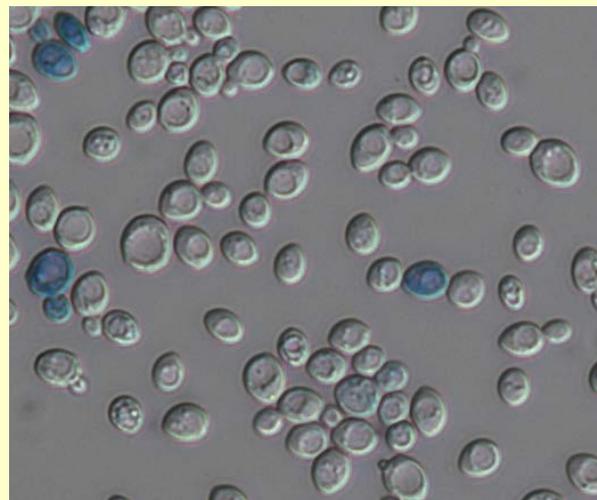
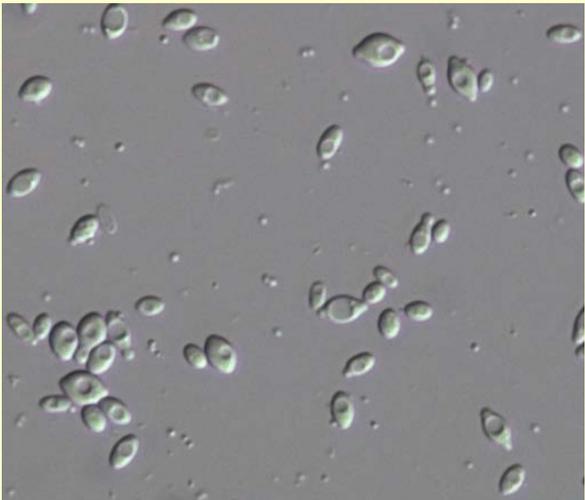
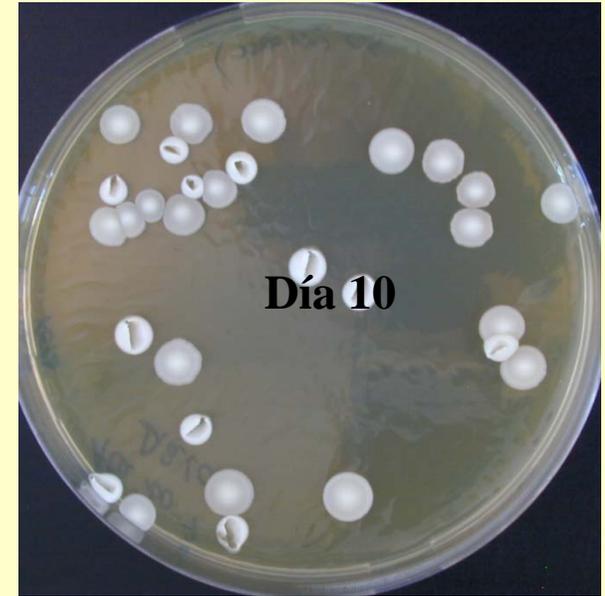
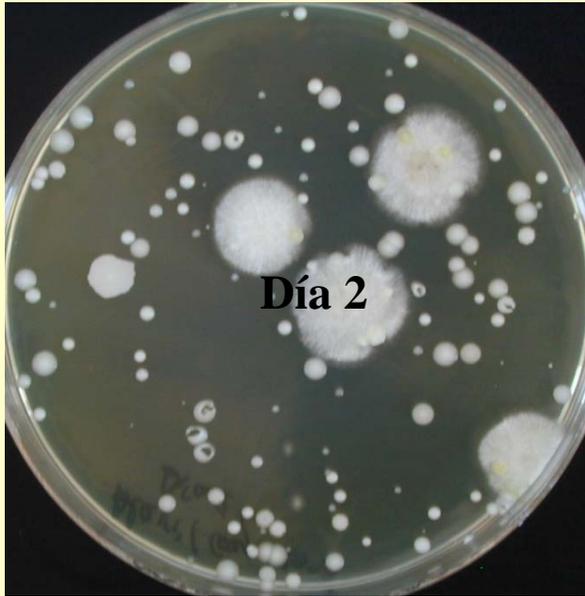
MOSTO



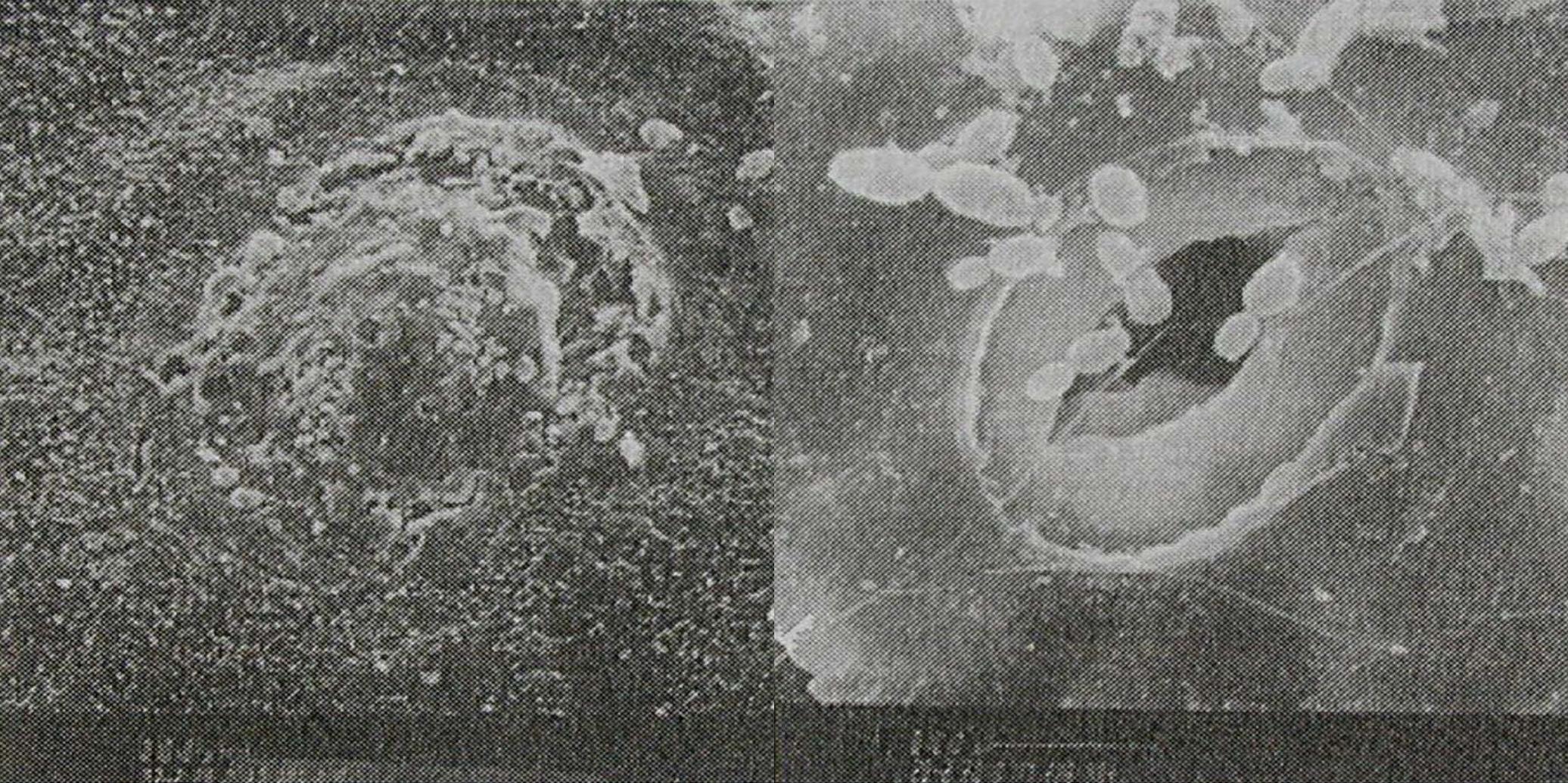
MOSTO-VINO



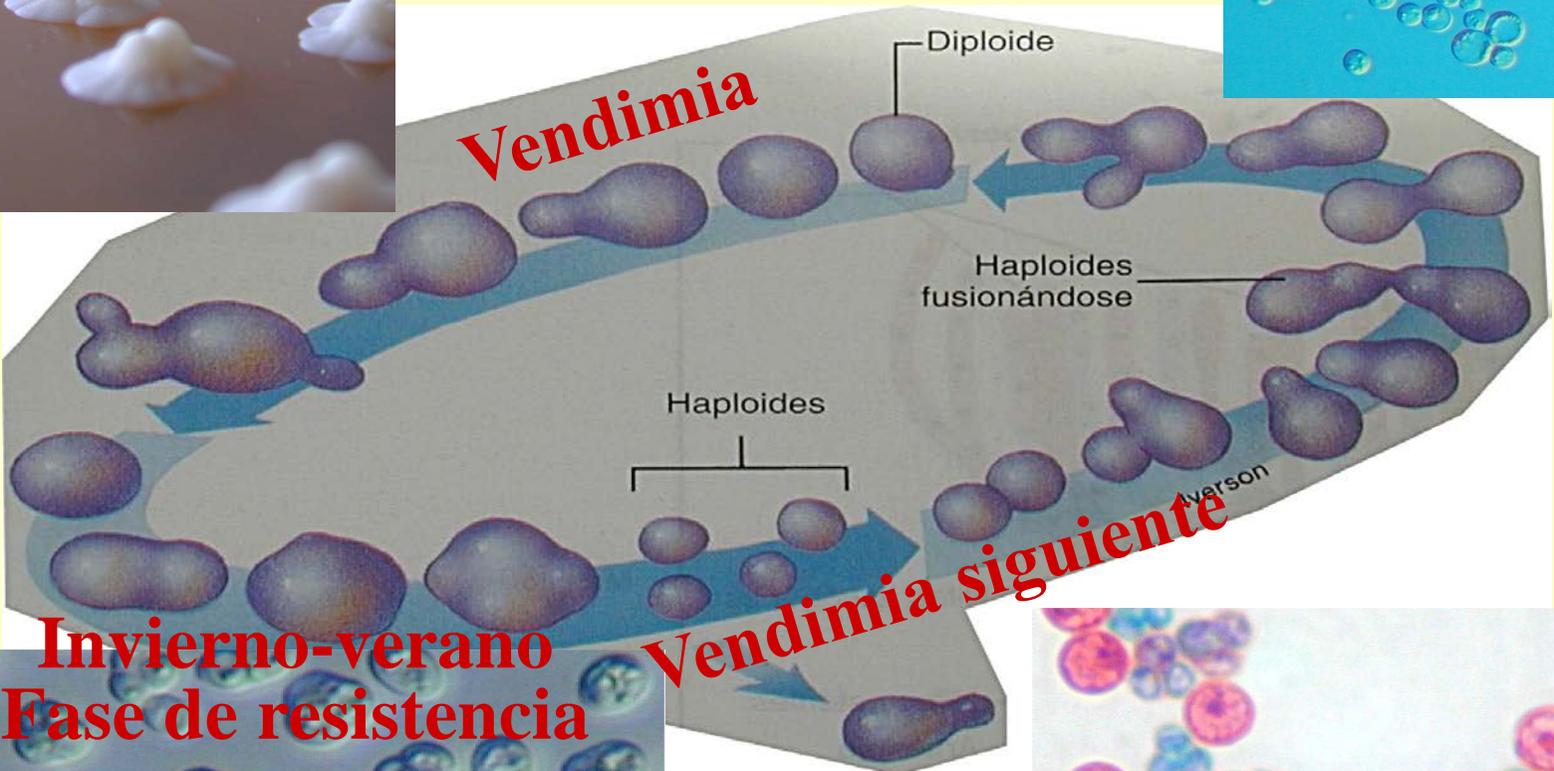
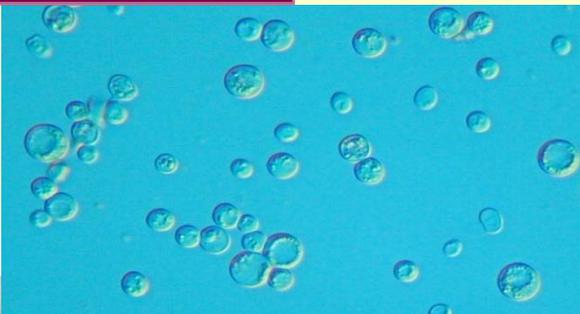
VINO



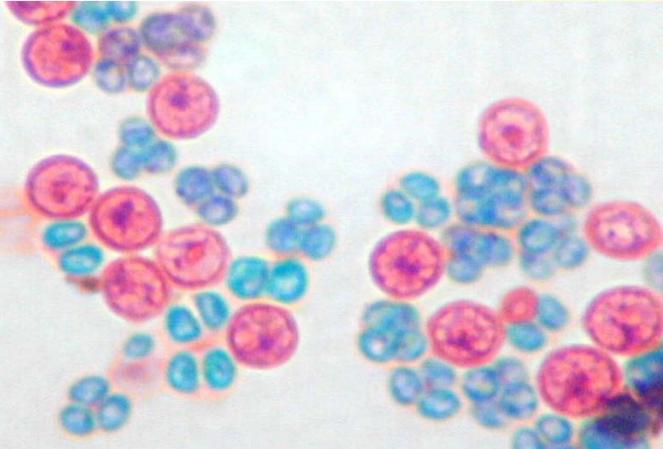
Origen de las levaduras vínicas



Ciclo biológico de *Saccharomyces cerevisiae*

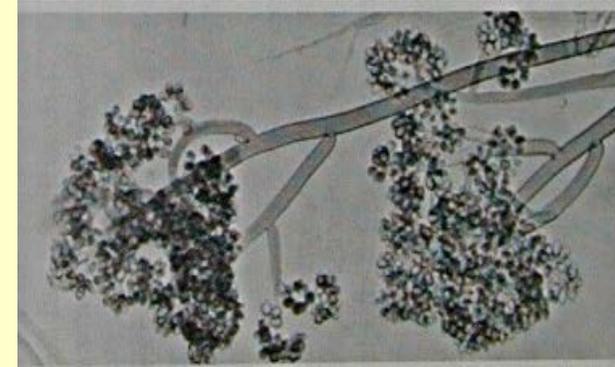


**Invierno-verano
Fase de resistencia**

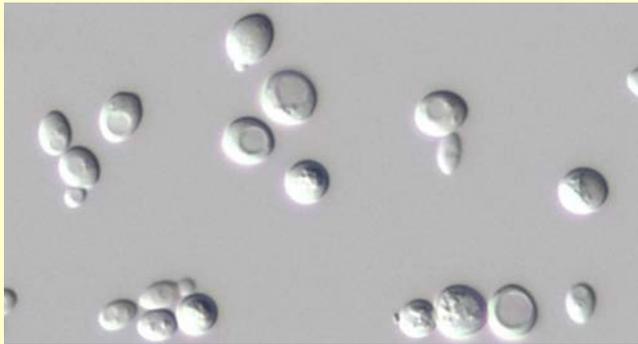


Microorganismos relacionados con el vino

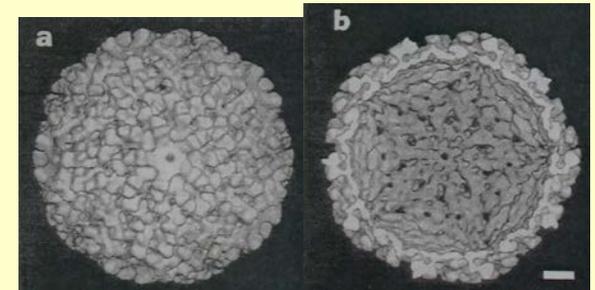
Mohos



Levaduras



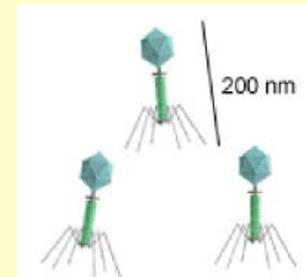
Virus levaduras



Bacterias

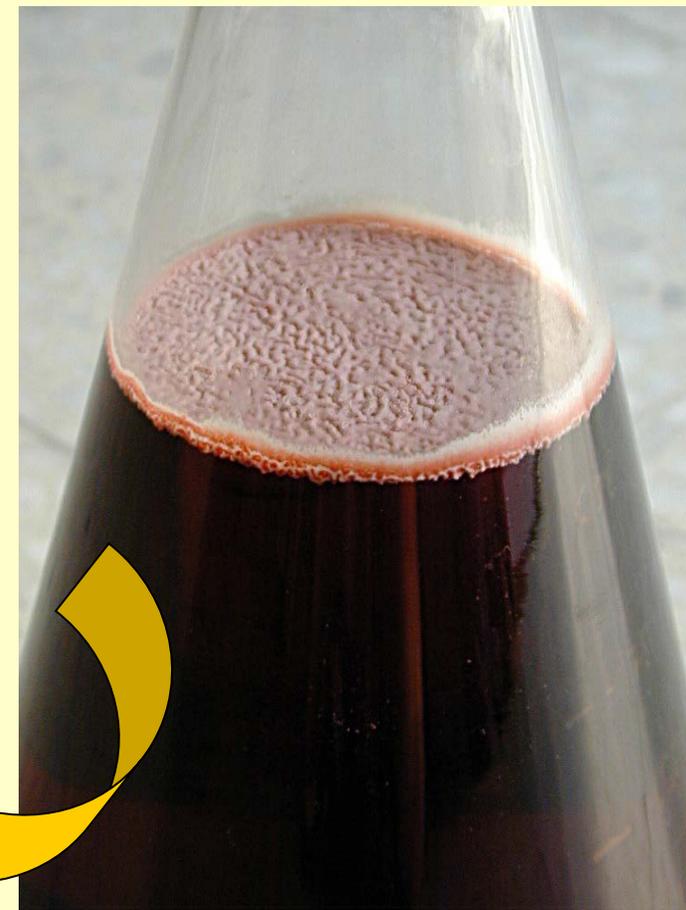
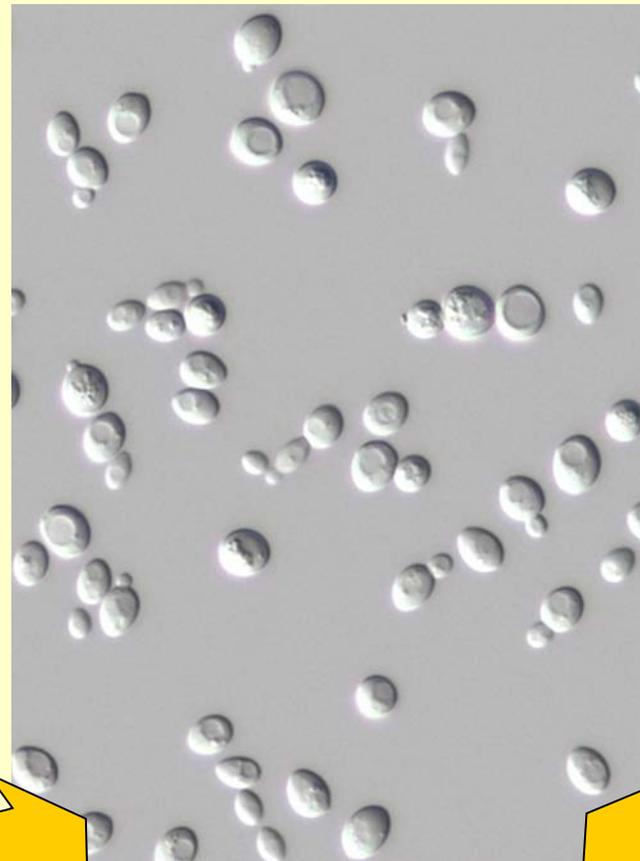
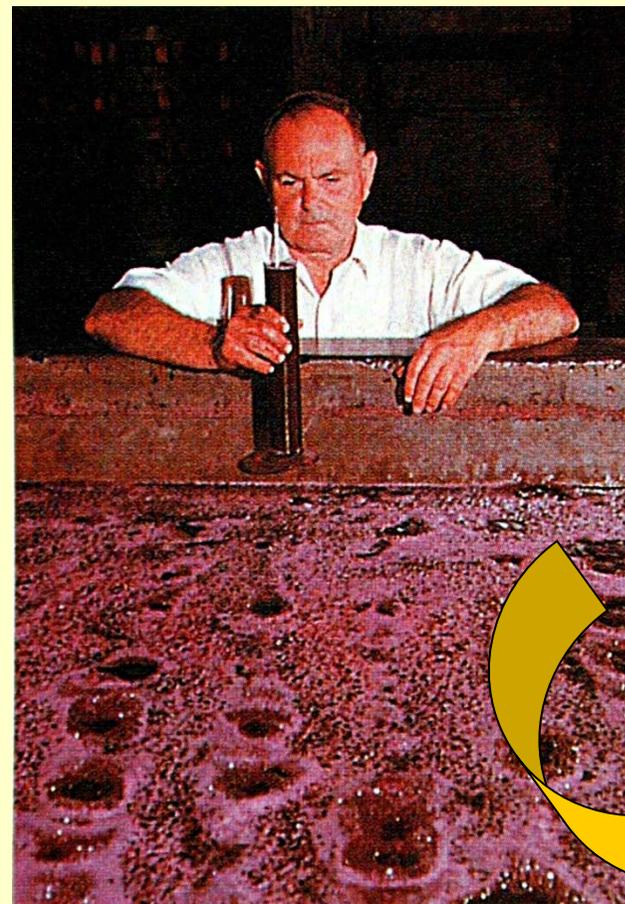


Virus bacterias



Microorganismos relacionados con el vino

Comportamiento dual



Microorganismos relacionados con el vino

Elaboración

● Hongos

→ Mohos

Botrytis cinerea (Cotnari, Grasa)

→ Levaduras

Candida

Pichia

Hansenula

Kloeckera/Hanseniaspora

*Torulaspota**

*Kluyveromyces (Lachancea)**

Brettanomyces/Dekkera

Saccharomyces

*Schizosaccharomyces pombe**

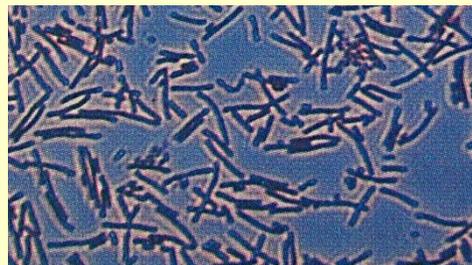
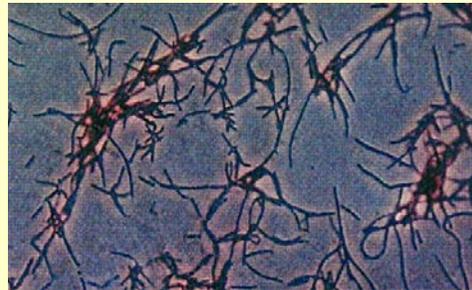
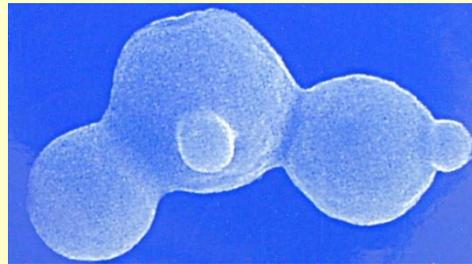
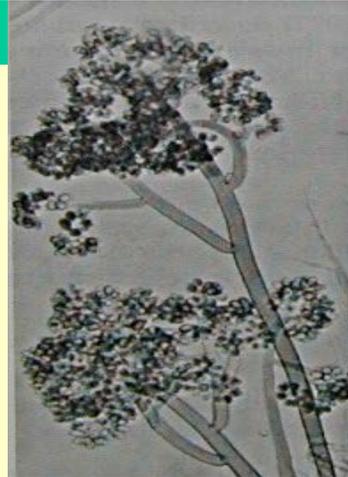
● Bacterias

→ Lácticas

Lactobacillus

Leuconostoc

→ Acéticas



Alteración

● Hongos

→ Mohos

Botrytis cinerea, *Penicillium*,
Aspergillus, *Mucor* y *Rizopus*

→ Levaduras

Candida

Pichia

Hansenula

Kloeckera/Hanseniaspora

Zygosaccharomyces

Torulaspota

Kluyveromyces (Lachancea)

Brettanomyces/Dekkera

Saccharomyces

Saccharomyces

Schizosaccharomyces pombe

● Bacterias

→ Lácticas

Lactobacillus

Pediococcus

Leuconostoc

→ Acéticas

Acetobacter

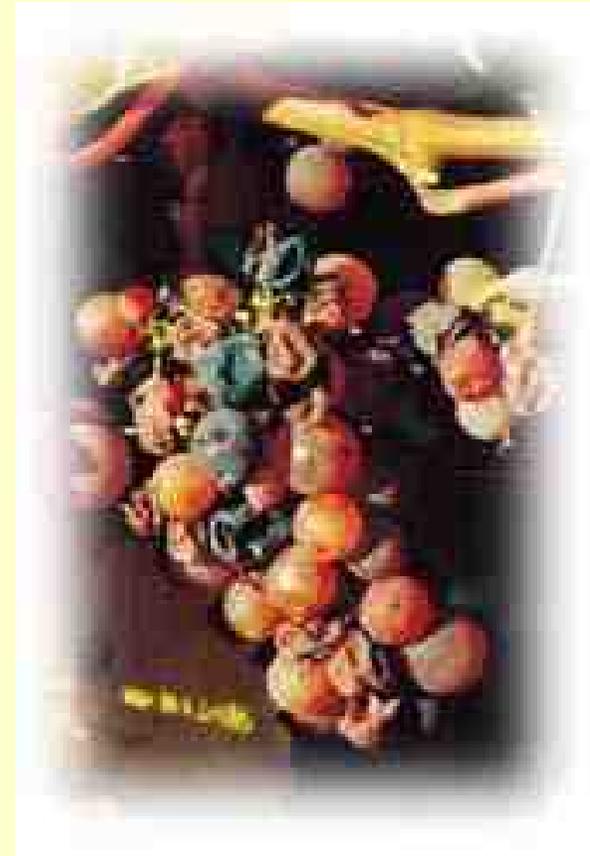
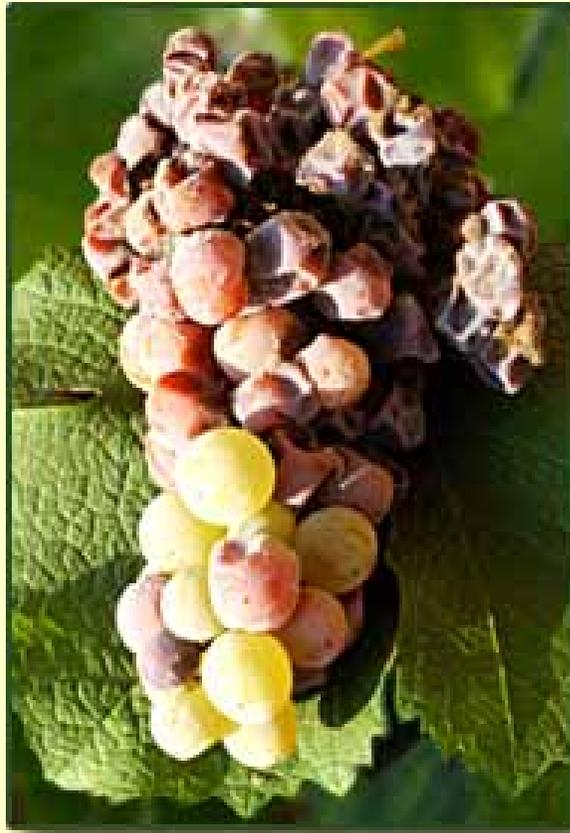
Gluconobacter

Podredumbre noble (*Botritis cinerea*)

Tokay
Cotnari
Sauternes

.....

Riego controlado



Enfermedades más frecuentes en los vinos

Enfermedad	Microorganismo	Alteración
Picado acético (superficie)	Bacterias acéticas (aeróbicas)	↑ Acidez volátil (acético y acetato de etilo)
Flor (superficie)	Levaduras oxidativas o anaerobias facultativas	↑ Acidez volátil, acetaldehído ↓ Etanol, glicerol, ac. fija
Vuelta (interior)	Bacterias lácticas anaeróbicas o microaerofílicas	↑ Acidez volátil, láctico, CO ₂ , olor ratón (tetrahidropiridina) ↓ Ac. fija, aroma y sabor
Amargor (interior)	Bacterias lácticas anaeróbicas o microaerofílicas	↑ Láctico, acético, acroleína ↓ Glicerol, ac. fija
Grasa o hilado (interior)	Bacterias lácticas anaeróbicas o microaerofílicas	Fermentación maloláctica, vino aceitoso ↑ CO ₂
Picado láctico o fermentación manítica (interior)	Bacterias lácticas anaeróbicas o microaerofílicas	↑ Acidez volátil, ac. fija, manitol ↓ Azúcares (mosto-vino)

Algo bueno tiene el vino cuando todos los curas lo bendicen, lo consagran y lo beben como si fuera la sangre de Cristo

Muchas gracias