



Amparo Querol

Biología de Sistemas en Levaduras de Interés Biotecnológico: Biotecnología enológica

PERSONAL DEL GRUPO



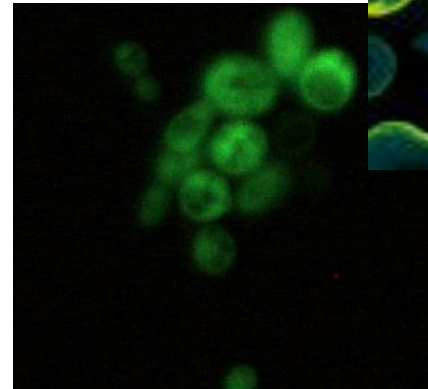
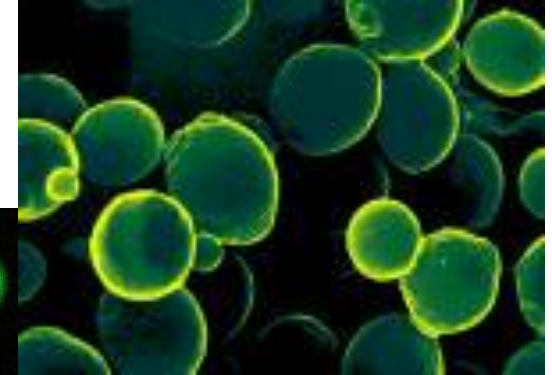
- Eladio Barrio



- Jose Manuel Guillamón



- Amparo Querol



Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, CSIC



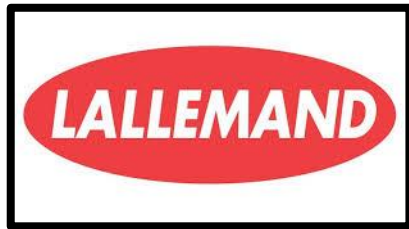
Contacto: aquerol@iata.csic.es



Líneas de investigación del arubo

- Métodos para monitorizar, e identificar levaduras inoculadas y alternantes en fermentaciones vínicas, sidra y cerveza
- Selección natural de cepas del género *Saccharomyces* responsables de la fermentación alcohólica: *S. cerevisiae*, *S. uvarum*, *S. kudriavzevii* e híbridos, así como de otras especies no convencionales
- Caracterización de propiedades enológicas de cepas mediante microbiología predictiva
- Mejora genética de levaduras mediante técnicas no generadoras de OMGs tales como evolución dirigida, hibridación intra e inter-específica:
 - incrementar la producción de glicerol
 - disminuir el rendimiento o la tolerancia al etanol
 - mejorar la tolerancia a bajas temperaturas
 - mejorar el crecimiento en condiciones limitantes de nitrógeno
 - mejorar la producción de aromas fermentativos y la liberación de aromas varietales
 - obtención de cepas de *S. cerevisiae* con capacidad fructofílica

Biología de Sistemas en Levaduras de Interés Biotecnológico: Biotecnología enológica



BODEGAS HISPANCO SUIZAS



GRUPO MATARROMERA



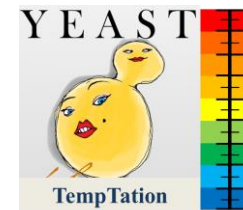
Biología de Sistemas en Levaduras de Interés Biotecnológico: Biotecnología enológica



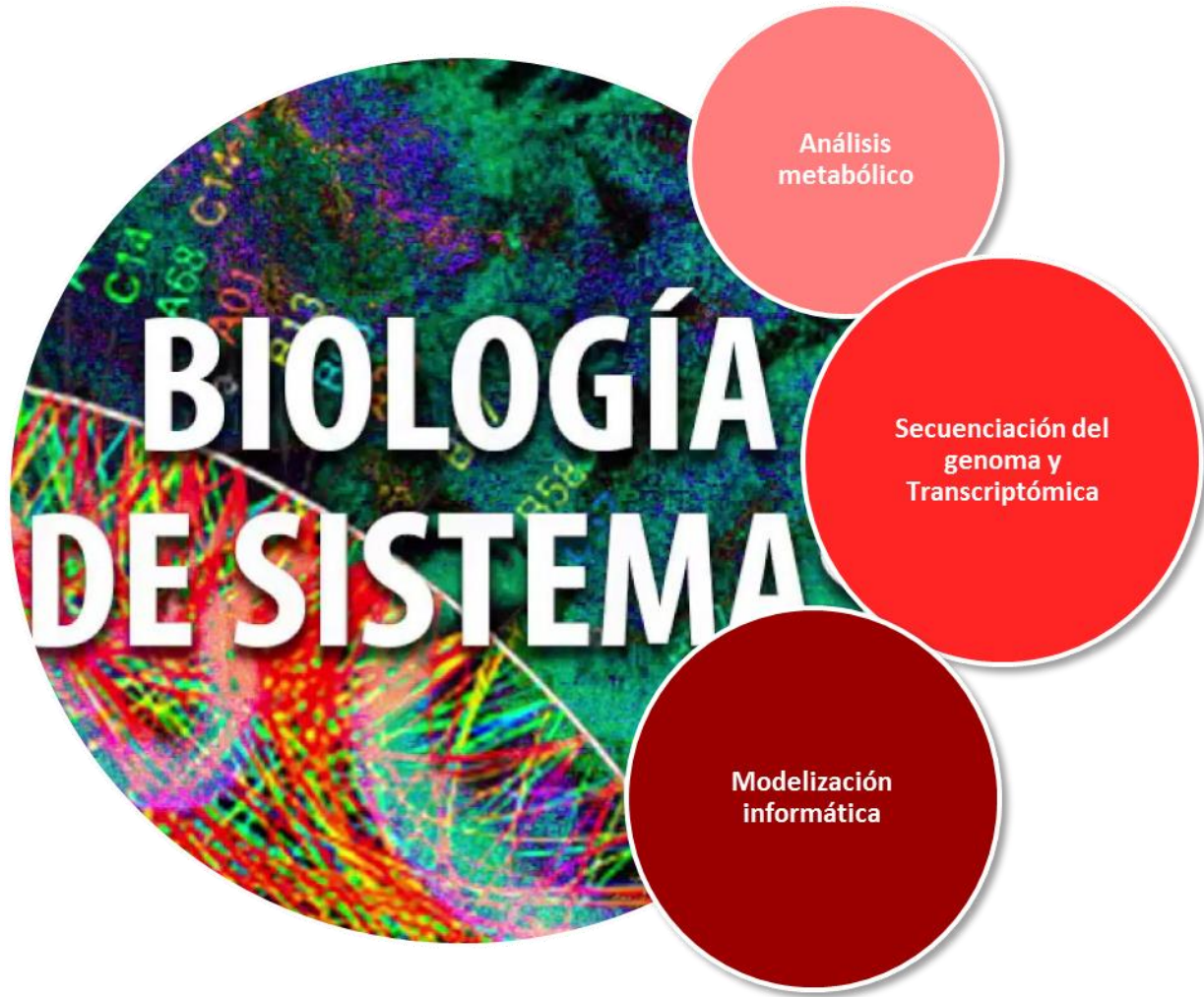
FRENCH WINES



memBrane

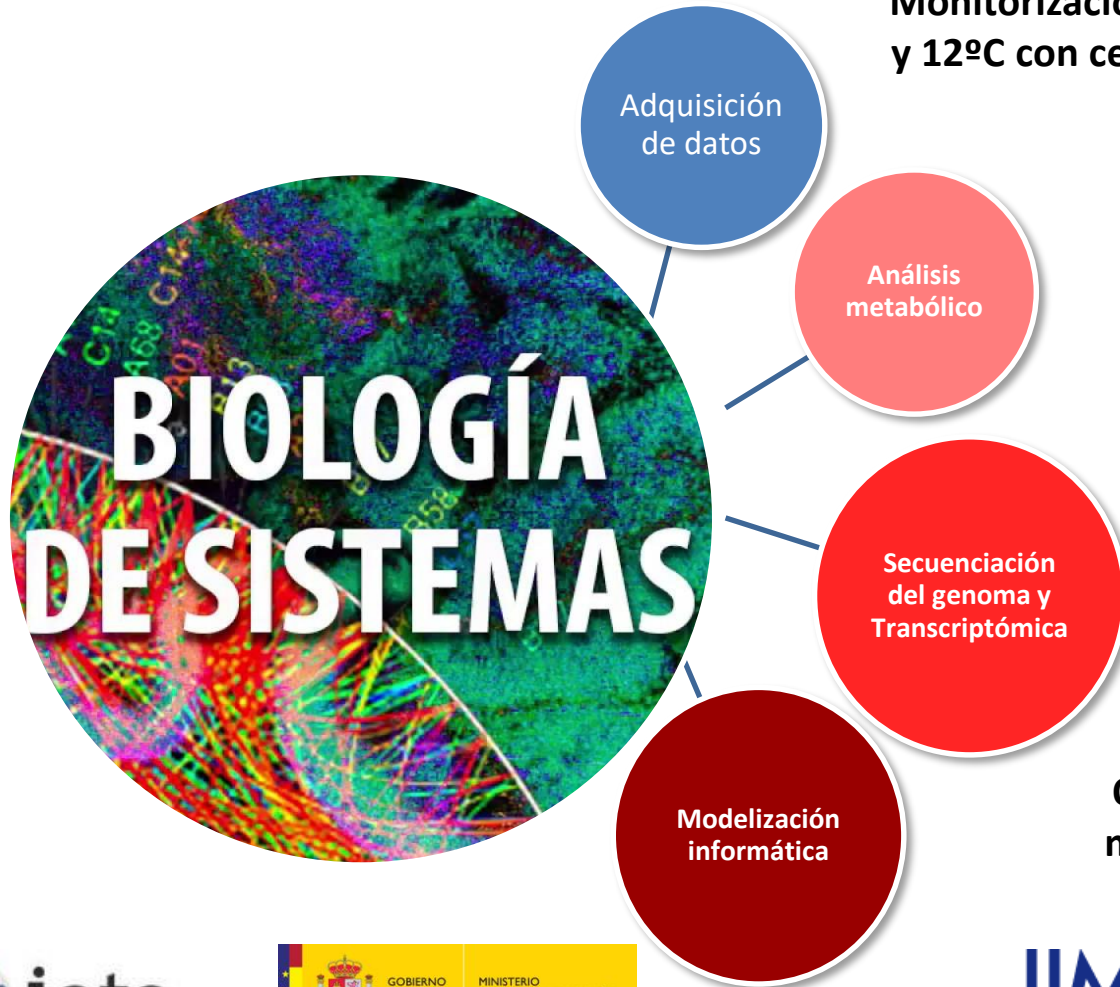


CONTROL DE PROCESOS



Estudio de las diferencias en la regulación del metabolismo fermentativo en las especies del género *Saccharomyces*.

Monitorización de microvinificaciones a 25°C y 12°C con cepas de las especies *S.c*, *S.k* y *S.u*



Análisis de metabolitos tanto extracelulares como intracelulares



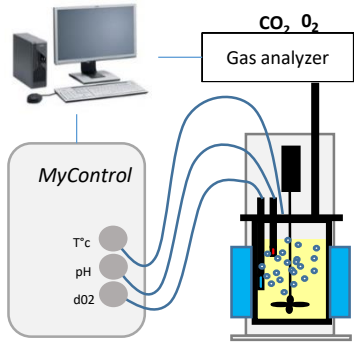
Análisis bioinformático



Obtención de modelos de crecimiento multiescalas en condiciones enológicas



Objetivo 1 Monitorización de microvinificaciones a 25°C y 12°C con cepas de las especies *S.c*, *S.k* y *S.u*

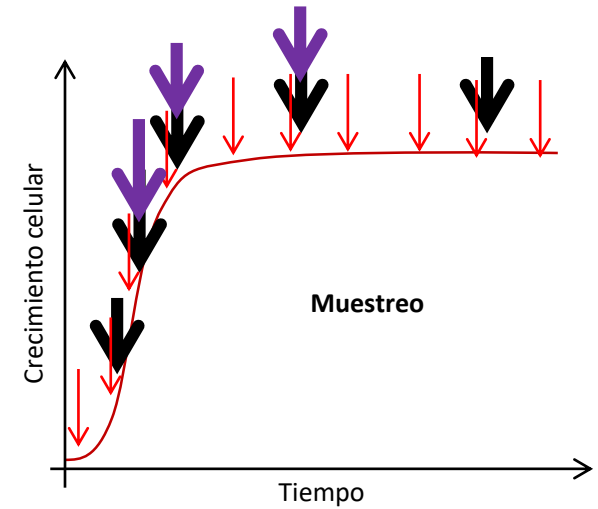


Mosto natural de uva blanca
Self-generated anaerobic conditions

25°C

12°C

Strain name	Species	Source	T°C
T 73	<i>S. cerevisiae</i>	Wine	25 – 12
EC 1118	<i>S. cerevisiae</i>	Wine	25
YPS 128	<i>S. cerevisiae</i>	Soil	25 – 12
Chr 96.2	<i>S. cerevisiae</i>	Soil	25
BMW 58	<i>S. uvarum</i>	Wine	25 – 12
CECT 12600	<i>S. uvarum</i>	Sweet wine	25
CR 85	<i>S. kudriavzevii</i>	<i>Quercus ilex</i> bark	25 - 12



↓
Parametros fisiológicos (OD, DW, etc)
Metabolitos extracelulares

↓
Metabolitos intracelulares

↓
Muestreo para RNAseq



Materiales y métodos

Adquisición
de datos

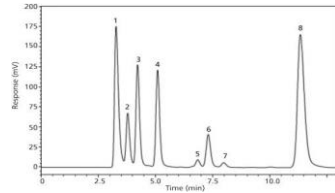
Metabolitos extracelulares



Cromatografía líquida

HPLC

- Azúcares (Glucosa, fructosa, sacarosa)
- Glicerol
- Etanol
- Ácidos orgánicos (succínico, láctico, cítrico, málico, tartárico, acético)
- Amino ácidos



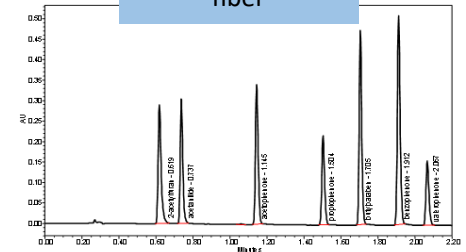
Aromas



Cromatografía gaseosa

GC - FID
SPME-PDMS
fiber

- Alcoholes superiores (5 cuantificados)
- Esteres (11 cuantificados)



Metabolitos intracelulares



Cromatografía gaseosa

- Intermediarios de la glicolisis
- Intermediarios del ciclo de Krebs
- Vía de las pentosas
- Amino ácidos

GC - MS
IBMCP / U.P.V.



Parámetros fisiológicos



Citometría de flujo,
UFCs, OD600, DW

Datos de RNA



Servicio de
secuenciación
masiva de la UV

Modelos matemáticos

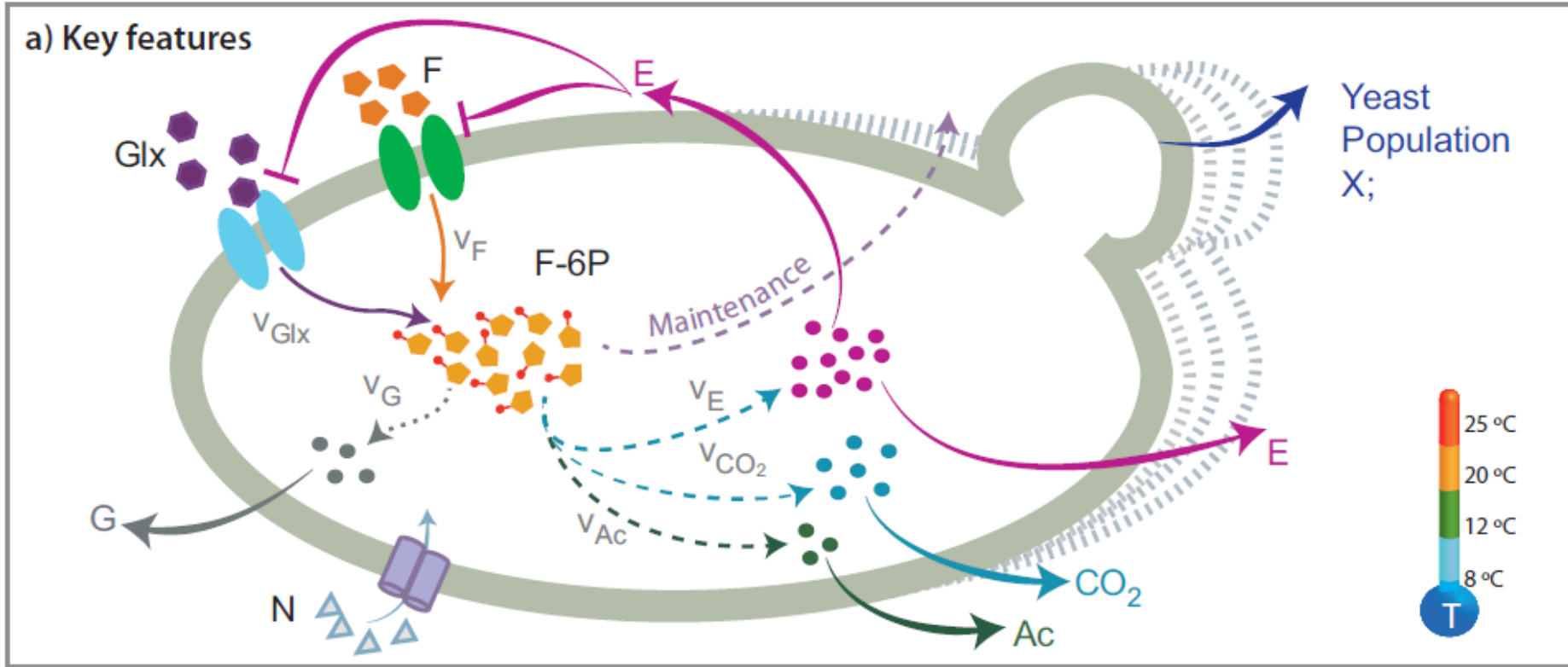


IIM
Instituto de Investigaciones
Marinas de Vigo

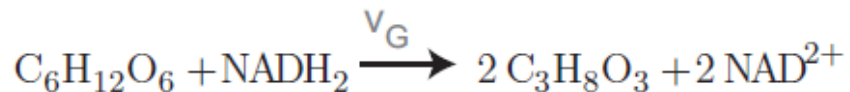


METABOLON

Modelado cinético



b) Stoichiometry

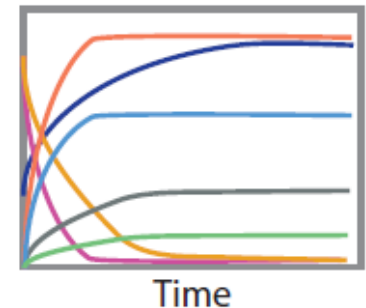


c) Generic model

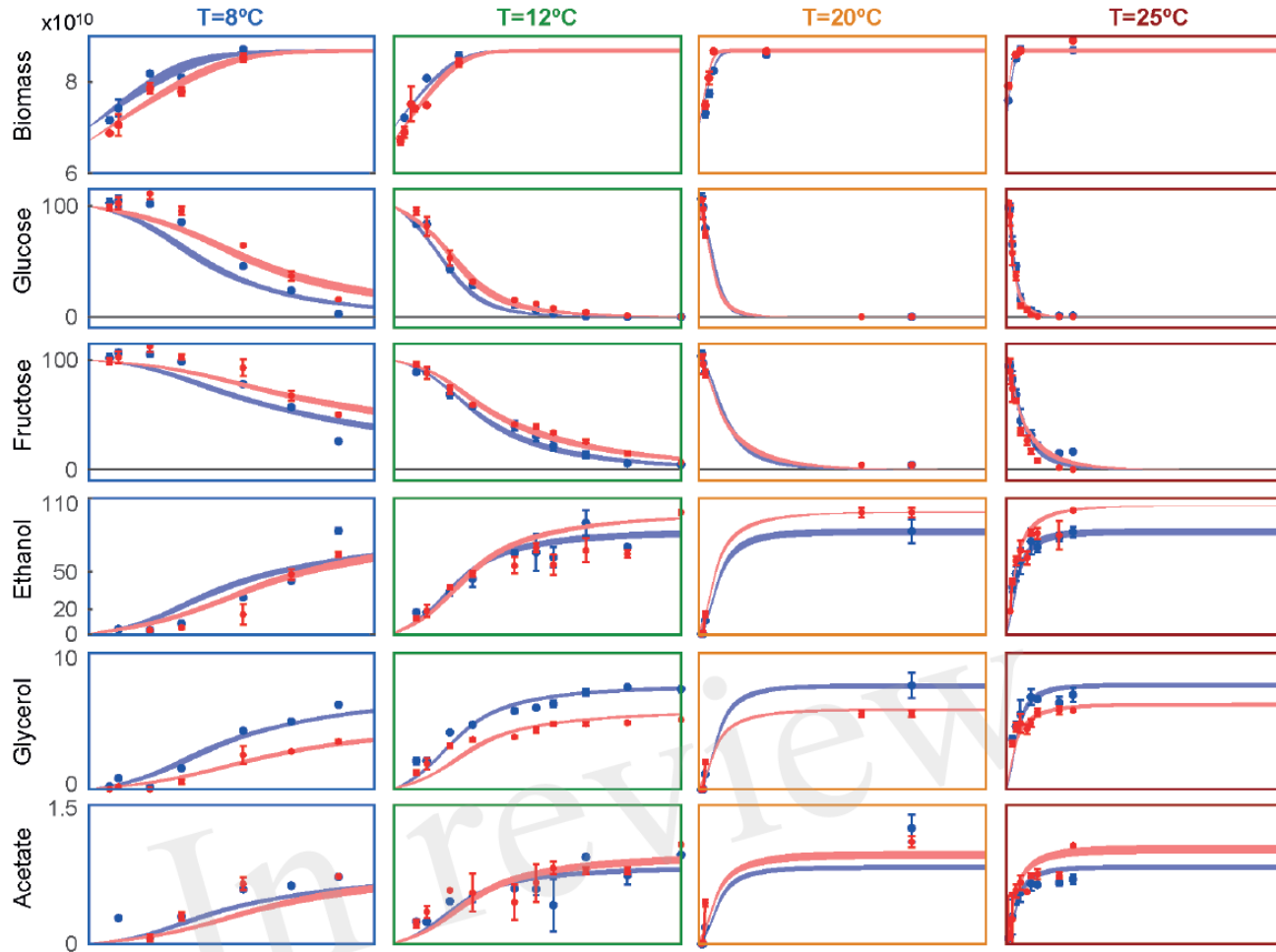
$$\frac{dX}{dt} = \mu(T) \cdot f(X,t)$$

$$\frac{dC}{dt} = S \cdot v(T,X,C,t)$$

$$C = [Glx \ F \ F6P \ E \ CO_2 \ Ac \ G]^T$$



Modelado cinético

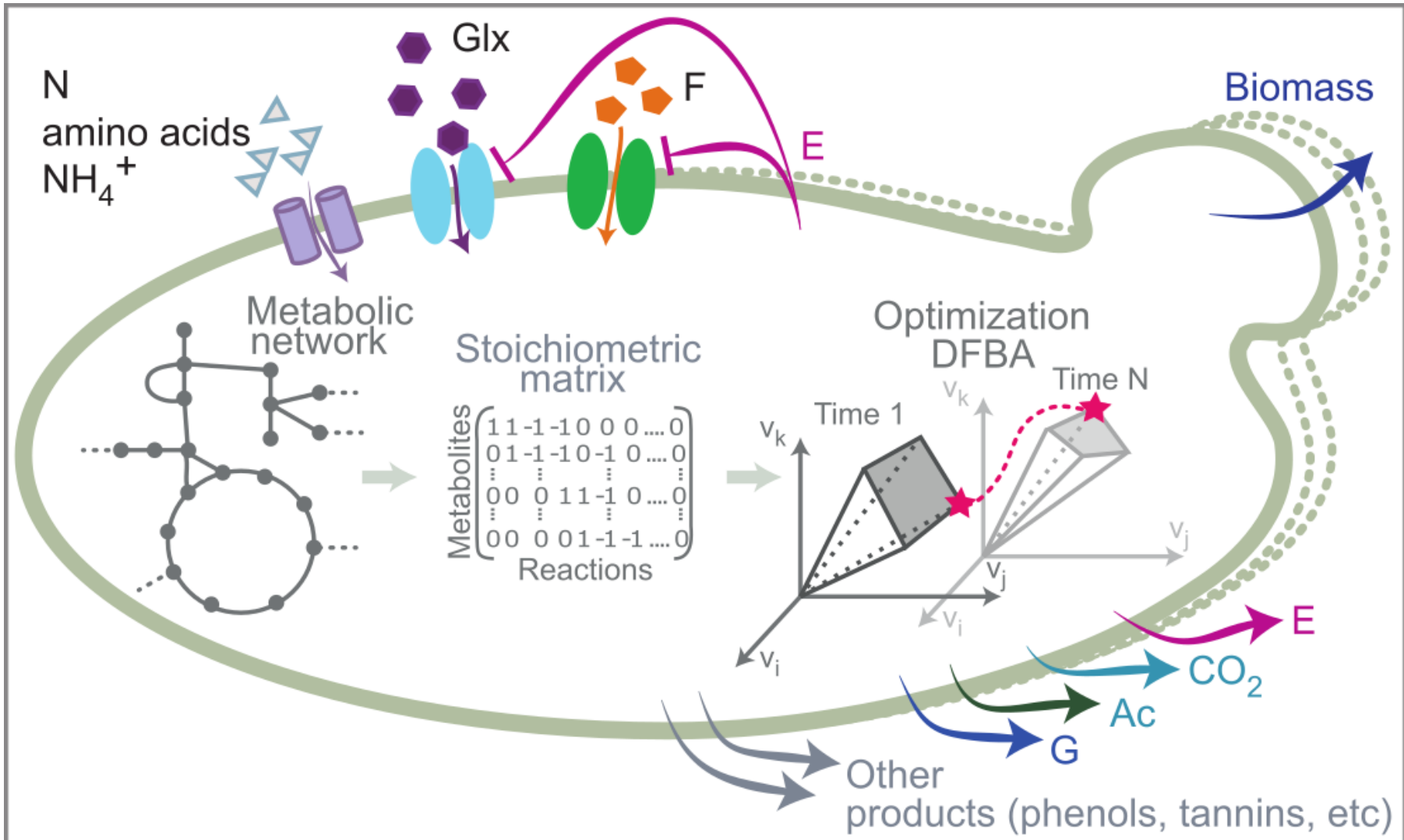


- Biomasa y metabolitos relevantes
- Escala microfermentación

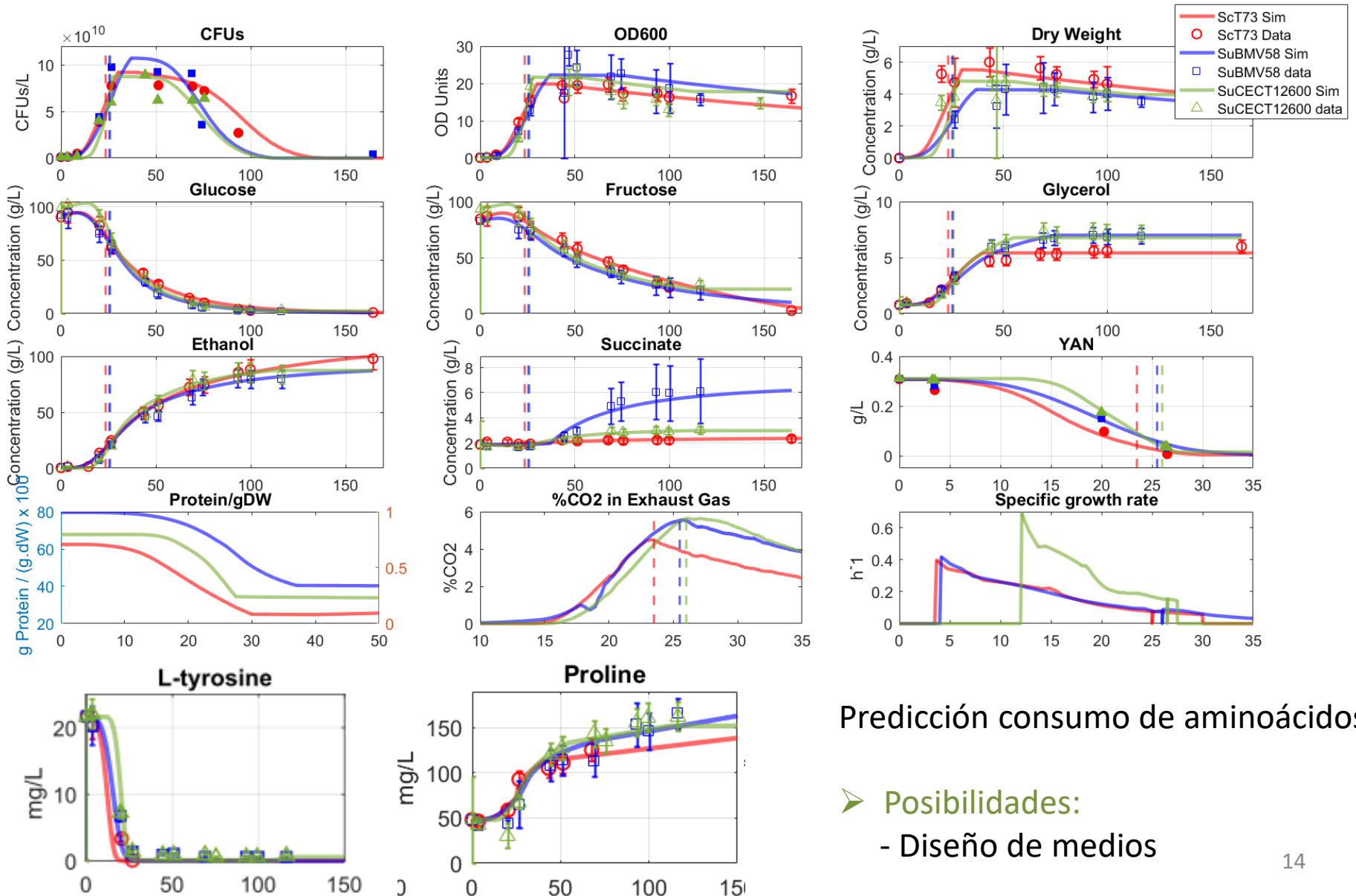
➤ Posibilidades:

- Escala fermentador: distribución espacial de variables relevantes
- Diseño: especie, T, N
- Control automático: optimización en tiempo real

Modelado metabolismo escala genómica



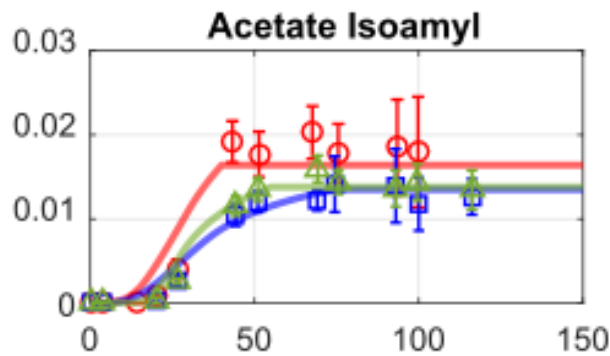
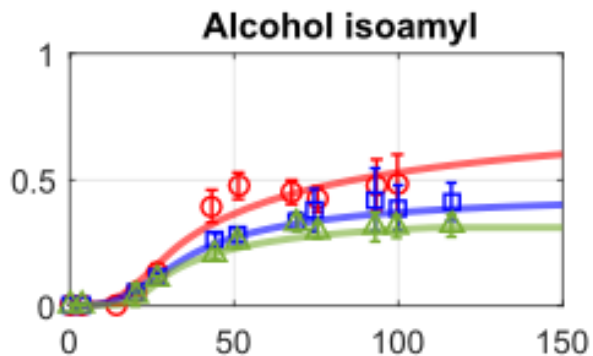
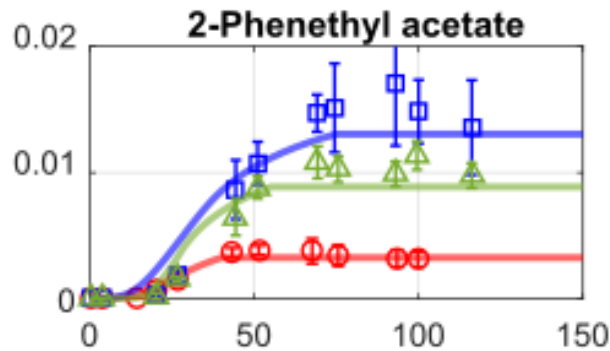
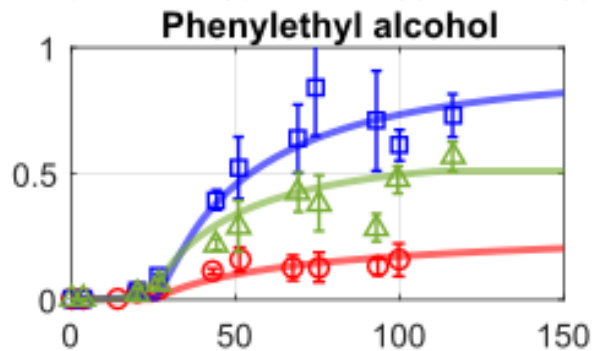
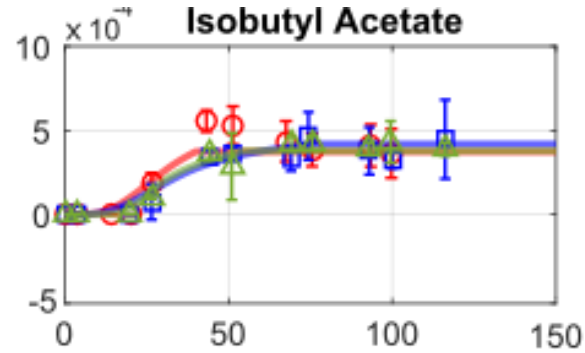
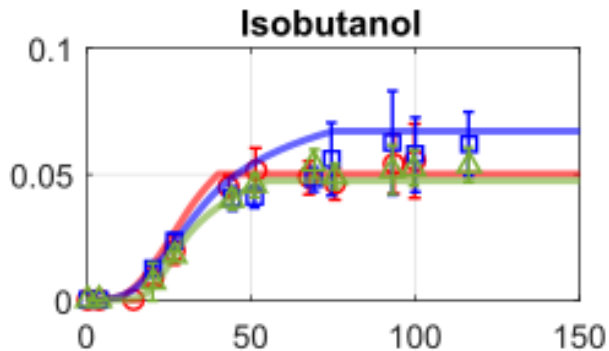
Modelado metabolismo escala genómica



Predicción consumo de aminoácidos

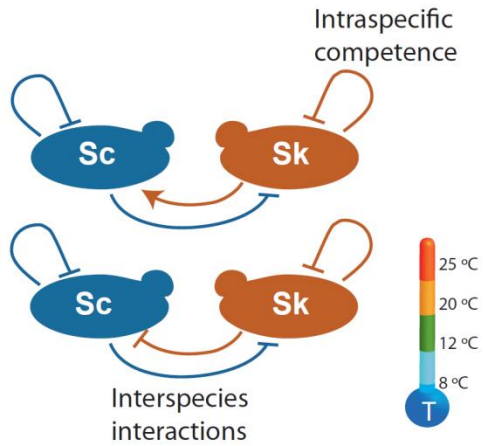
- Posibilidades:
 - Diseño de medios

Modelado metabolismo escala genómica

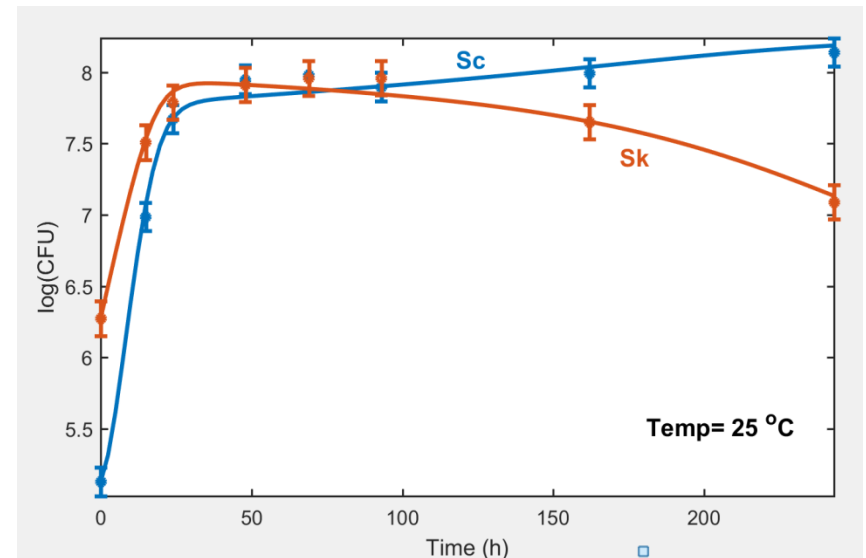
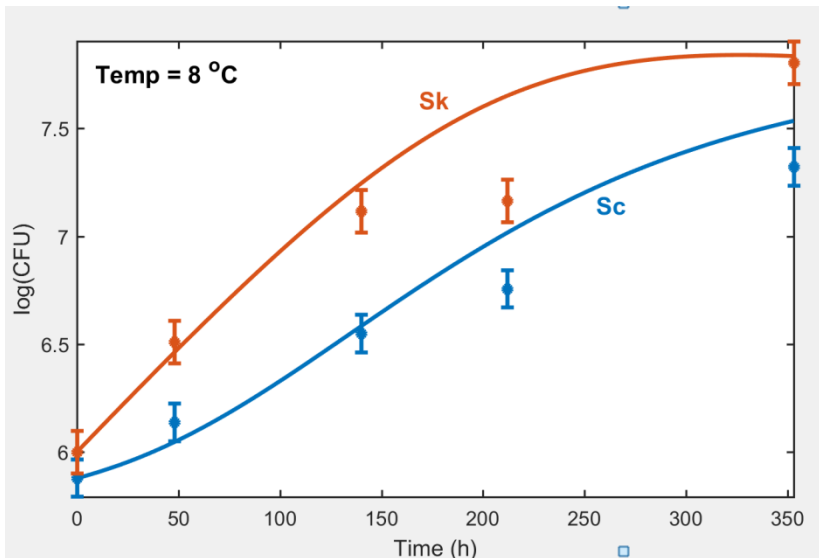


- Predicción producción de aromas
- Posibilidades:
- Diseño de nuevos procesos- especies + temperatura + otros

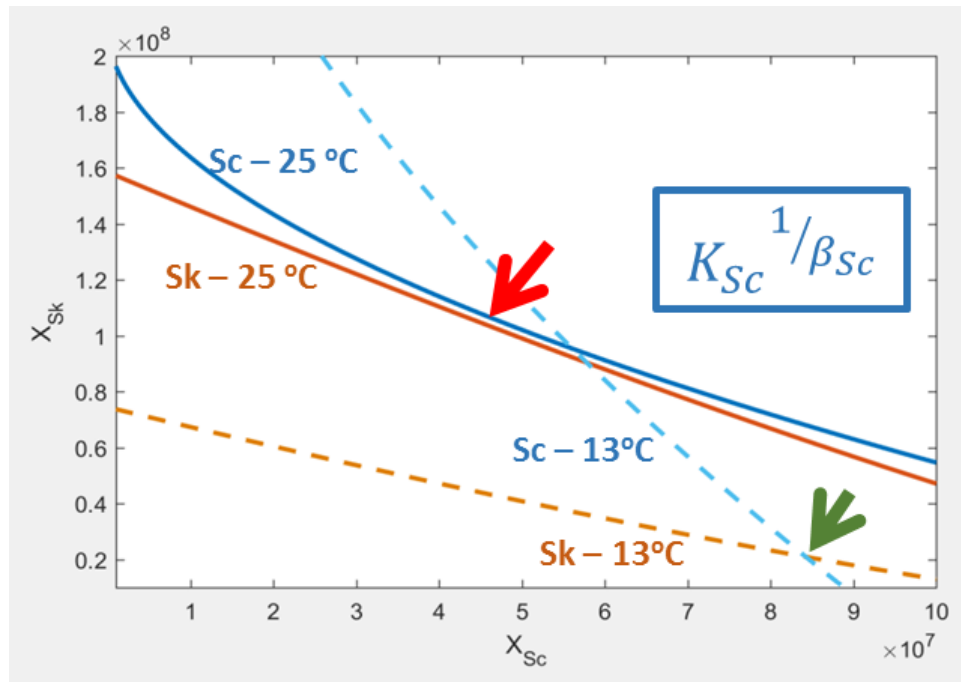
Modelado co-cultivos



- Dinámica de biomasa

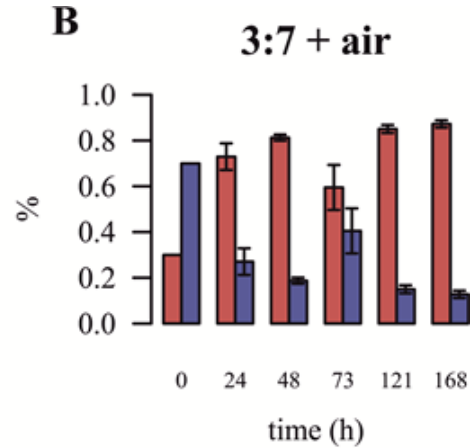
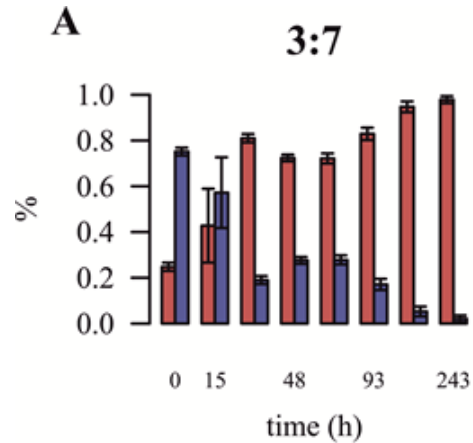


Modelado co-cultivos

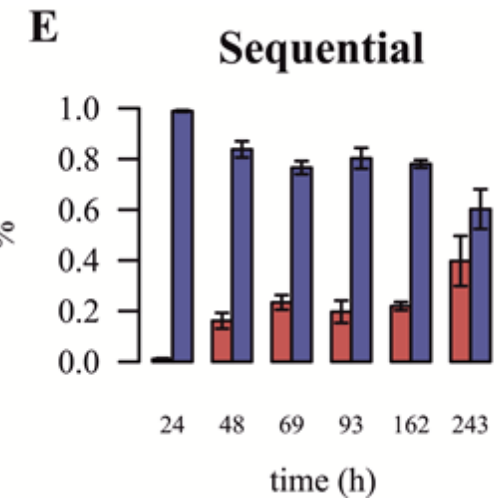
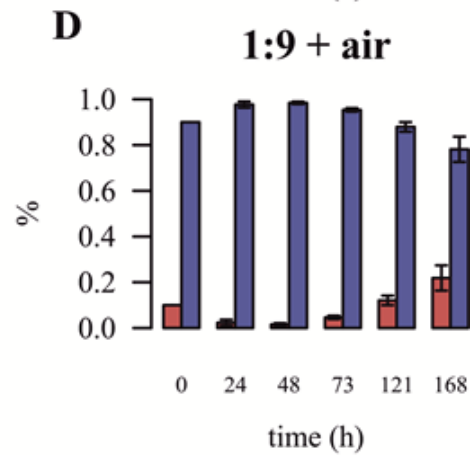
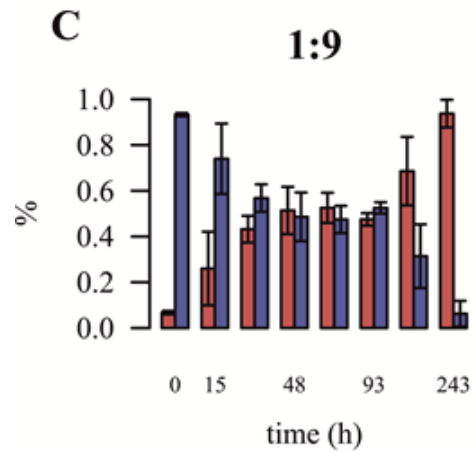


- Análisis de co-existencia y exclusión de especies
- Posibilidades:
- Diseño de nuevos procesos: especies en co-cultivo + T + inoculación (Cuánto? Cuándo?)

Estudios de competencias y microoxigenación

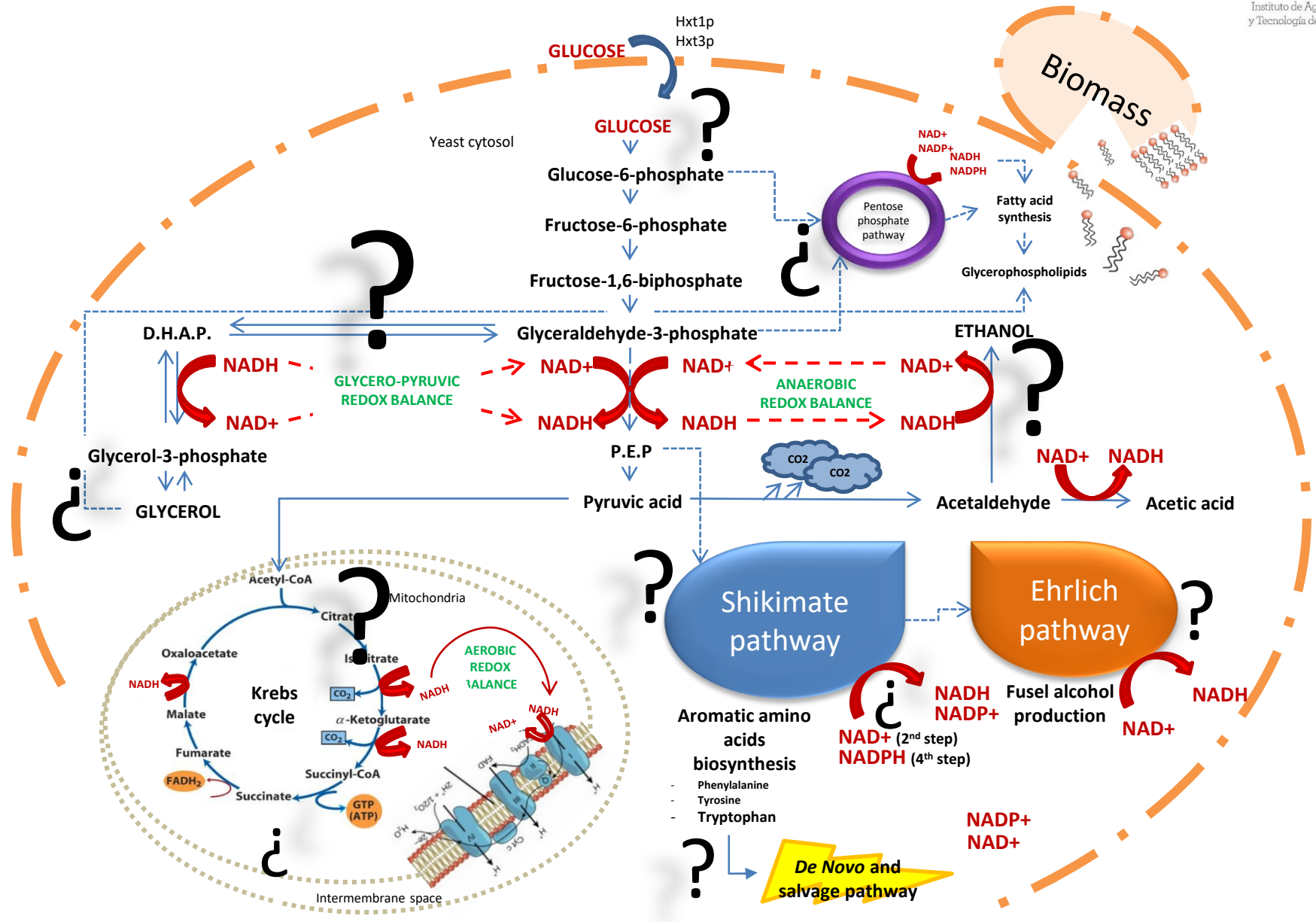


S. cerevisiae
S. kudriavzevii



Estudios de competencias y microoxigenación

	Glucose (g/L)	Fructose (g/L)	Glicerol (g/L)	Ethanol (%)	Acetic acid (g/L)
<i>S. cerevisiae</i>	0.00±0.00	0.12±0.03	5.86±0.11	13.13±0.09	1.05±0.01
<i>S. kudriavzevii</i>	0.02±0.03	4.11±2.34	7.73±0.46	12.50±0.26	1.27±0.03
1:1	0.00±0.00	0.00±0.00	6.24±0.29	13.27±0.50	1.16±0.13
1:3	0.00±0.00	0.15±0.10	6.13±0.09	13.04±0.05	1.15±0.03
1:9	0.00±0.00	0.78±0.75	6.53±0.12	13.00±0.16	1.22±0.01
Seq	0.00±0.00	1.63±0.18	7.47±0.21	12.46±0.08	1.13±0.05
1:1 + air	0.00±0.00	0.00±0.00	5.36±0.40	11.66±0.83	1.57±0.10
1:3 + air	0.00±0.00	0.00±0.00	6.24±0.55	12.09±0.18	1.61±0.23
1:9 + air	0.00±0.00	0.00±0.00	6.61±0.07	11.26±0.19	1.79±0.02



CONTROL DE PROCESOS

