

## ASPECTOS DE LA MICROBIOLOGIA DE LOS TAPONES DE CORCHO. CRITERIOS LEGALES

M. A. CALVO, L. AROSEMENA, C. ADELANTADO, M. PI

### RESUMEN

Se aportan y comentan las características del corcho y sus implicaciones en la Microbiología de los tapones elaborados con planchas de corcho. Asimismo se relacionan las condiciones de elaboración y acumulación de micotoxinas. Se indican y comentan las normas actuales que regulan y controlan la elaboración y control de calidad de los tapones de corcho.

### CARACTERÍSTICAS DEL CORCHO

El corcho se extrae del alcornoque (*Quercus suber*). La distribución de los bosques de alcornocales se da en clima mediterráneo y principalmente sobre suelos silicios. Los principales países productores son: Portugal, España, Marruecos, Algeria, Túnez, Francia e Italia.

El corcho es la capa externa de la corteza del árbol (*Quercus suber*) y se forma a través de una capa generadora (denominada felógeno o cambium suberógeno) que es parte de los tejidos meristemáticos que permiten el crecimiento en grosor de la planta. La actividad del felógeno no es continua sino que sigue variaciones estacionales en función de los cambios de humedad y de temperatura.

Las células formadas en la primavera y a principios de verano, período de crecimiento rápido, son más largas y de paredes más delgadas mientras que las células de otoño son más cortas y de paredes más gruesas. La alternancia de estas pequeñas diferencias estacionales delimita las líneas o venas que corresponden al crecimiento anual del súber. El grosor de las venas varía según la edad, el estado fisiológico de la planta y las condiciones climáticas. En general está comprendido entre 2 y 6 mm.

Existen numerosos poros cuya función es comunicar los tejidos vivos del árbol con el exterior para facilitar la respiración. Se deben a la presencia en el felógeno de lenticelas unas pequeñas áreas de de 0,2 a 8 mm de diámetro, en las que las células generatrices, en lugar de suber originan las células complementarias, poco impregna-

das de suberina y con abundantes espacios intercelulares para facilitar el intercambio de gases.

Las lenticelas son activas durante varios años y su rastro es visible en forma de canales lenticelares o poros que atraviesan radialmente el tejido. Cada centímetro cúbico de corcho contiene de treinta a cuarenta millones de pequeñas células suberosas íntimamente unidas por sus paredes sin dejar espacios intercelulares. Cuando las células han completado su maduración el contenido del citoplasma desaparece quedando únicamente las paredes impregnadas de suberina.

El tejido suber queda formado por pequeñas celdas impermeables de 30 a 40  $\mu\text{m}$  de diámetro llenas de aire solamente interrumpidas por la presencia de canales lenticelares, éstos son pequeños poros de forma elipsoidal casi cilíndrica ocupados por la llamadas células complementarias laxamente dispuestas y muy ricas en taninos que les dan una tonalidad oscura o marronácea.

El corcho, no se obtiene hasta que el árbol alcanza los 30 años y el primer corcho extraído, denominado bornizo, no es apto para la fabricación de tapones.

A partir de esta primera extracción, pasan como mínimo 9 años para poder realizar la segunda, y este corcho, se llama segundero, ya es apto para poder fabricar tapones, aunque el verdadero corcho de producción es el obtenido a partir de la tercera extracción, debe tenerse en cuenta que el alcornoque puede llegar a vivir unos 200 años.



*Obtención de planchas de corcho.*

Finalizada la extracción de las planchas de corcho, empieza el proceso para la elaboración de los tapones de corcho.

## 1.2. ELABORACIÓN DE TAPONES DE CORCHO



El primer proceso es la obtención de las planchas que se agrupan en pilas y por desecación al aire pierden parte de su contenido en agua, pasadas unas ocho semanas se procede a pesarlo. El corcho puede llegar a perder hasta un 30% de su peso.

Estas planchas se disponen en pilas rectangulares con la parte ancha de las planchas perpendicular al viento dominante, esta disposición, favorece el secado de las planchas que

deben permanecer apiladas a la intemperie como mínimo unos 6 meses, con lo que se consigue así su secado y su estabilización.

Pasado este tiempo el corcho es sometido a la operación del hervido con agua. Con este proceso quedan disueltos en agua algunos constituyentes del corcho, en especial, parte de las materias tánicas y ciertas sustancias minerales y también se eliminan microorganismos. Esta

operación hace que el corcho se vuelva flexible y blanco y que aumente su grosor.



El corcho se hierve en calderos, que son recipientes de acero inoxidable, donde se disponen las planchas de corcho, cuando el agua hierve, durante unos 90 minutos. El corcho hervido pierde entre un 12 y un 15% del su peso y gana alrededor de un 20% de grosor.

Después del hervido el corcho debe pasar un período de estabilización (de 2 a 4 semanas), donde se aplana la plancha y se seca hasta obtener la consistencia adecuada para cortarlo.

El reposo se efectúa en bodegas, que deben estar limpias, ventiladas y libres de olores que pueda absorber el corcho.

Seguidamente se procede al recortado del corcho, que consiste en eliminar los bordes irregulares de las planchas con una cuchilla, para dejar un corte liso que servirá para realizar el calibrado y selección del corcho.

Posteriormente este corcho se clasifica según calibres o espesor, separando:

- a) el corcho de rechazo. Presenta hendiduras extensas y profundas y es un corcho con excesiva porosidad.
- b) el corcho blando con un crecimiento anual excesivo.
- c) el corcho atacado por infecciones microbianas, por insectos, etc.

Del conjunto de corcho en bruto que se recolecta anualmente, el corcho de rechazo supera el 40%. La mayoría de este corcho de rechazo, se aprovecha para realizar granulados, que permitirán elaborar los tapones aglomerados. Después de separar el corcho de rechazo obtenemos el corcho en raza limpio o corcho enrazado.

El corcho enrazado se clasifica según calibres (grosor) y calidad. Los calibres se miden en líneas que equivalen a 2,25 mm. Así tenemos:

- a) corcho de menos de 11 líneas
- b) corcho de 11 a 13 líneas
- c) corcho de 13 a 15 líneas
- d) corcho de 15 a 19 líneas
- e) corcho de más de 19 líneas.

El corcho clasificado por líneas, se reclasifica posteriormente según calidad (clase visual). Podemos establecer las siguientes categorías:

- a) corcho Primera
- b) corcho Segunda
- c) corcho Tercera
- d) corcho Cuarta
- e) corcho Quinta
- f) corcho Sexta
- g) corcho Séptima
- h) corcho de Rechazo

Aunque la mayoría de las veces se agrupan las clases.

Después de la clasificación, las industrias preparadoras, prensan y enfardan las planchas, para facilitar el transporte a las industrias corcheras. Estos fardos son almacenados en lugares ventilados, evitando el contacto de las planchas con el suelo. No está permitido el uso de soportes (palets) de madera tratada para almacenar los fardos.



Los fardos prosiguen su proceso en la industria corchera.

En primer lugar, se vuelven a hervir durante unos 60 minutos a 100°C y se disponen en una bodega, como máximo durante una semana para evitar que haya una proliferación elevada de hongos en las planchas.

A partir de aquí empiezan diferentes procesos según se desee fabricar:

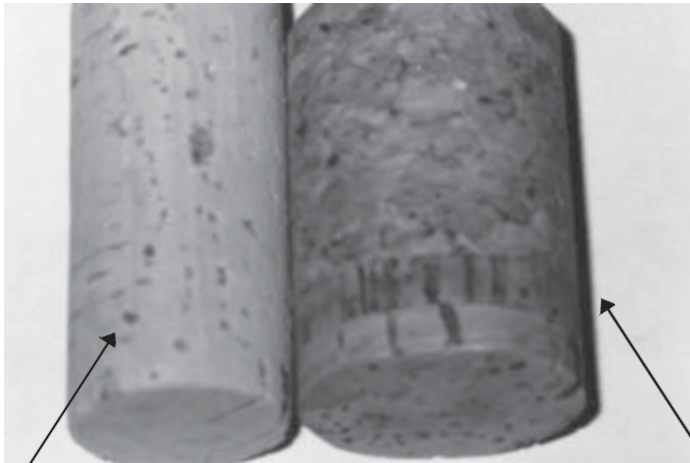
- a) **Tapones de corcho natural para vinos tranquilos.**
- b) **Arandelas de corcho natural**
- c) **Tapones o mangos aglomerados.**

#### a) **Tapones de corcho natural para vinos tranquilos**

Para la fabricación de tapones de corcho natural para vino tranquilo se procede de la siguiente manera:

Se sacan los fardos de la bodega y se desenfardan, seleccionando plancha a plancha y rebajando al grosor adecuado para poder fabricar tapones de las siguientes longitudes: 54 mm, 49 mm, 44 mm. y 39 mm.

Posteriormente, se disponen en silos hasta que se trasladan a las máquinas de perforar, las tiras de corcho o rebajadas se introducen una a una y por medio de la acción de las gubias, mediante el corte, se obtiene tapones semielaborados. En los tapones podemos diferenciar la gama de clases que se establecen, generalmente de forma visual, por tanto se procede a realizar la primera selección en la que se eliminan los trozos de corcho que no servirán para tapar botellas. A los restantes tapones se les clasifica entre 3 y 5 clases. Estos tapones presentan una humedad elevada y se llevan a un secador para obtener la humedad regulada por normativa 5-8%.



*Tapón de corcho para vino tranquilo.*

*Tapón para vino espumoso.*

Cuando los tapones alcanzan la humedad deseada, se procede a calibrarlos.

A continuación se esmerilan para conseguir la longitud adecuada, por ejemplo: un tapón de 49 mm por Norma tiene una tolerancia de  $\pm 0,5$  mm. Posteriormente se pulen, es decir que se rectifica su diámetro que normalmente suele ser de 24 mm. y por Norma la tolerancia es de  $\pm 0,4$  mm.

Cuando los tapones tienen las medidas adecuadas, se procede a su lavado que generalmente suele ser con peróxidos de hidrógeno, pasado el tiempo de estabilización establecido, los tapones son igualados, mediante la aplicación de un anticapilar, que precisa de un tiempo de estabilización o reposo para que se evaporen los disolventes.

Seguidamente se seleccionan los tapones a través de máquinas de visión artificial o también a través de selección manual.

A partir de este punto, podemos indicar que se han seleccionado las diferentes clases para los diferentes clientes.

Posteriormente, los tapones se personalizan con las diferentes marcas de las diferentes bodegas, estos marcajes se pueden realizar a tinta o a fuego.

Por último y en los tapones para botellas de vino tranquilo, se aplica una capa de silicona o parafina para que la operación de introducirlos y posterior descorchado cumpla la Normativa del sector.

Los tapones ya están a punto para su expedición, por lo que se procede a su recuento, se envasan en bolsas de polietileno, a las que se adiciona  $SO_2$ , se sueldan las bolsas y se depositan en cajas de cartón para poder ser enviadas a los diferentes clientes.

## **b) Arandelas o discos de corcho natural**

Para la fabricación de arandelas de corcho natural se procede de la siguiente manera:

Se obtienen de planchas de corcho natural que presentan un calibre inferior a 11 líneas corcheras (recordamos que una línea corchera son 2,25 mm.) y además tienen una clase visual comprendida entre la Primera y la Quinta.

Seleccionadas las planchas se rebana el corcho, eliminándose *el vientre y la espalda* y se cortan unas láminas de unos 6 mm. de grosor (de cada rebanada se obtienen de 3 a 4 láminas de 6 mm).

Estas láminas se introducen en la máquina perforadora, donde a través de gúbias se perforan las láminas obteniendo las arandelas o discos de corcho natural. El resto de corcho y de láminas defectuosas se disponen para triturar.

Las arandelas se clasifican y se eliminan las que no están bien fabricadas o les falta un trozo.

Después, las arandelas se esmerilan para obtener unas caras planas y paralelas a los discos, con el fin de facilitar los procesos posteriores.

Hay industrias que lavan las arandelas, siguiendo los mismos métodos que los utilizados para lavar los tapones naturales para vinos tranquilos.

Posteriormente se realiza la clasificación de los discos (normalmente se seleccionan 5 clases o categorías).

Los discos de la primera y segunda clase son los que se sitúan en la cara exterior del tapón de cava y serán las que estarán en contacto con el vino espumoso, cava o champaña. En los discos casi siempre se diferencian las dos caras. Una máquina automática detecta la cara buena y marca la cara mala con un metal caliente, este proceso nos permite posteriormente adherir correctamente las arandelas a los mangos de aglomerados.

### c) **Fabricación de tapones aglomerados y/o mangos para tapones de cava.**

Para la fabricación de tapones aglomerados o mangos se procede de la siguiente manera:

No es adecuado cualquier tipo de corcho. El corcho que será válido para la fabricación de tapones de tapones aglomerados y/o mangos para tapones de cava, se obtiene de la siguiente materia prima: trozos cocidos, retales de preparación, lanas o virutas de corcho, rebanadas perforadas, retales de vientre y de espalda o leña fina.

Esta primera materia se dispone en molinos donde se tritura, obteniéndose serrín de diferentes medidas, posteriormente se clasifica en los tamices vibratorios donde hay mallas de diferentes *mesh*. Finalizada la clasificación en base a tamaño, se clasifica por densidad, obteniéndose el serrín con las características adecuadas para elaborar el aglomerado. Estos serrines se mantienen en sacos, con el fin de estabilizarlo hasta alcanzar una humedad entre el 5 y el 8%.

Cuando tenemos el serrín a la humedad indicada ya es apto para poderlo mezclar con las colas de poliuretano y parafina, evitando la adherencia de los aglomerados a los moldes.

Para fabricar los mangos se utilizan básicamente dos técnicas:

**A) Extrusión:** la mezcla de granulado, aglutinante y lubricante se dispone en una tolva que alimenta un cilindro sometido cíclicamente a la presión de un pistón. Por el extremo contrario del cilindro vamos obteniendo una barra de aglomerado en forma continua (llamada butifarra) que estará lista después de un periodo de estabilización. Pasado este tiempo se pule lateralmente toda la barra y se corta, obteniéndose los mangos.

**B) Moldeado individual:** la mezcla de granulado, cola y lubricante entra en un molde tubular que se compacta con la ayuda de un pistón, estos tubos se disponen en hornos para permitir la reticulación de la cola. Después se desmoldan y ya están listos para ser mecanizados. Se pulen los mangos uno a uno.

Cuando tenemos ya los mangos preparados, se les adhieren dos arandelas, (se coloca la arandela de más calidad en la parte exterior) con cola y con la ayuda de aire caliente para que la cola se seque.



Estos tapones deben almacenarse en recipientes ventilados para que se aireen y se estabilicen sus dimensiones. El período de reposo dura entre 7 y 14 días.

Finalizado el período de reposo, se procede a pulir los tapones para obtener los diámetros con una precisión de  $\pm 0,5$  mm., exigida por la Norma y se esmerilan para obtener la longitud correcta.

Posteriormente se bisela la parte del mango para que las máquinas de tapar puedan situar los tapones de manera correcta y las arandelas estén en contacto con el cava.

Después se marca a fuego el logotipo o marca solicitado por cada cliente. A continuación se suavizan con silicona o parafina para facilitar el tapado y aumentar la estanqueidad y finalmente se seleccionan, se recuentan y se empaquetan.

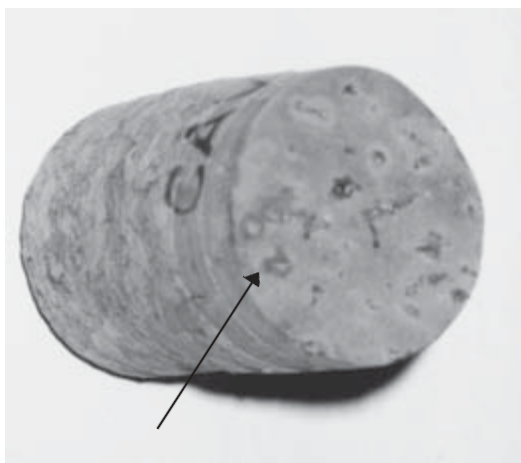
### 1.3. MICROBIOLOGIA DEL CORCHO

#### 1.3.1. Microorganismos aislados del corcho

El corcho es un sustrato natural y de origen vegetal que constituye un buen hábitat para la proliferación de microorganismos, como consecuencia de ello es primordial realizar un control de la calidad microbiológica.

En las empresas del sector corchero se realiza un control microbiológico que consiste en el recuento de hongos y bacterias.

No existe ninguna Norma que determine los recuentos de cada especie particular de hongos filamentosos o de levaduras admitidas por tapón.



*Presencia de micelio en el tapón de corcho.*

Otro aspecto a considerar es la posibilidad de que los hongos miceliares desarrollados elaboren y acumulen micotoxinas que puedan difundir y acumular en el sustrato (corcho).

Diversos autores han identificado las especies de hongos filamentosos, levaduras y bacterias más frecuentemente detectadas como constituyentes de la microbiota del corcho tanto como corteza del árbol como elaborado como tapón, en todas sus variantes.

En las Tablas siguientes se resumen los principales hongos filamentosos y levaduras aislados e identificados en tapones y arandelas de corcho.



TABLA 1. Relación de hongos filamentosos, levaduras y bacterias que se han identificado en el corcho.

---

**HONGOS FILAMENTOSOS**

<i>Alternaria alternata</i>	<i>Penicillium brevi-compactum</i>
<i>Armillaria mellea</i>	<i>Penicillium citrinum</i>
<i>Aspergillus conicus</i>	<i>Penicillium citro-viride</i>
<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Penicillium corylophilum</i>
<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Penicillium chrysogenum</i>
<i>Aspergillus glaucus</i>	<i>Penicillium decumbens</i>
<i>Aspergillus nidulans</i>	<i>Penicillium echinulatum</i>
<i>Aspergillus niger</i>	<i>Penicillium expansum</i>
<i>Aspergillus ruber</i>	<i>Penicillium fellutanum</i>
<i>Aspergillus sydowii</i>	<i>Penicillium frequentans</i>
<i>Aspergillus versicolor</i>	<i>Penicillium granulatum</i>
<i>Aureobasidium pullulans</i>	<i>Penicillium lilacinum</i>
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	<i>Penicillium multicolor</i>
<i>Cladosporium herbarum</i>	<i>Penicillium purpurescens</i>
<i>Chrysonilia sithophila</i>	<i>Penicillium roqueforti</i>
<i>Fusarium moniliforme</i>	<i>Penicillium simplicissimum</i>
<i>Fusarium solani</i>	<i>Rhizopus arrhizus</i>
<i>Monilia sitophila</i>	<i>Scopulariopsis candida</i>
<i>Mucor hiemalis</i>	<i>Trichoderma hamatum</i>
<i>Mucor plumbeus</i>	<i>Trichoderma longibranchiatum</i>
<i>Mucor racemosus</i>	<i>Trichoderma viride</i>
<i>Penicillium adametzi</i>	

**LEVADURAS**

<i>Candida cifferi</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Candida famata</i>	<i>Saccharomyces italicus</i>
<i>Kluyveromyces veronae</i>	<i>Saccharomyces heterogenicus</i>
<i>Rhodotorula candida</i>	<i>Saccharomyces rouxii</i>
<i>Rhodotorula glutinis</i>	<i>Saccharomyces ludwigii</i>
<i>Sporodiobolus johnsonii</i>	<i>Trichosporum pullulans</i>

**BACTERIAS**

<i>Bacillus cereus</i>	<i>Bacillus pantothenicus</i>
<i>Bacillus circulans</i>	<i>Nocardia sp</i>
<i>Bacillus lentus</i>	<i>Agrobacterium sp</i>
<i>Bacillus firmus</i>	<i>Micrococcus lylae</i>
<i>Bacillus sedentarius</i>	<i>Micrococcus luteus</i>
<i>Achromobacter</i>	<i>Corynebacterium sp</i>
<i>Aeromonas sp</i>	<i>Flavobacterium sp</i>
<i>Erwinia herbicola</i>	<i>Kurthia sp</i>
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	<i>Pseudomonas</i>
<i>Streptomyces sp</i>	<i>Listeria</i>

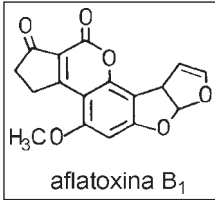
---

**1.3.2. Micotoxinas**

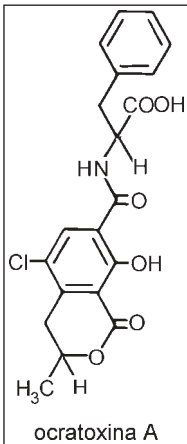
Las micotoxinas son metabolitos secundarios, elaborados y acumulados por especies de hongos filamentosos. La presencia de un hongo filamentosos no implica la producción de micotoxinas, ya que además de su capacidad intrínseca se deben dar

condiciones específicas para que se produzca la formación de estos metabolitos, pero un hecho aún más significativo, es que si el hongo ha sido capaz de producir la micotoxina, puede ser posteriormente inactivado y perder su viabilidad, sin que las micotoxinas ya elaboradas sean alterada ya que poseen una elevada resistencia a diferentes tratamientos químicos y a las altas temperaturas. Las micotoxinas, en general, son muy termoestables y sobreviven fácilmente a los tratamientos.

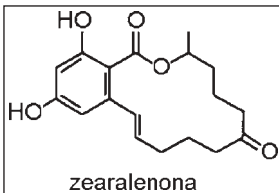
Las principales micotoxinas son:



**A) Aflatoxinas**, se producen en los frutos secos, los cereales y el arroz en condiciones de humedad y de temperaturas elevadas y constituyen un riesgo para la salud humana. Las dos especies más importantes de *Aspergillus*, productoras de aflatoxinas son: *A. flavus* que produce aflatoxina B y *A. parasiticus* que produce aflatoxinas B y G. Las aflatoxinas M<sub>1</sub> y M<sub>2</sub> son metabolitos oxidados de las aflatoxinas B1 y B2 producidos por animales que después de la ingestión aparecen en la leche materna (tanto animal como humana) en la orina y en los excrementos. El aflatoxicol es un metabolito reductivo de la aflatoxina B1. Las aflatoxinas son compuestos con efectos tóxicos inmediatos, además de inmunosupresoras, mutagénicas, teratogénicas y carcinogénicas. El principal órgano diana de los efectos tóxicos es el hígado.



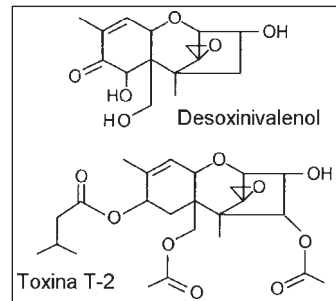
**B) Ocratoxinas**, son metabolitos secundarios de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* presentes en los cereales, café, pan, y también en todo tipo de productos alimentarios de origen animal en muchos países. La más frecuente es la ocratoxina A, que también es la más tóxica. Se ha comprobado que tiene efectos nefrotóxicos, inmunosupresores, carcinogénicos y teratogénicos en todos los animales de experimentación estudiados hasta el momento.



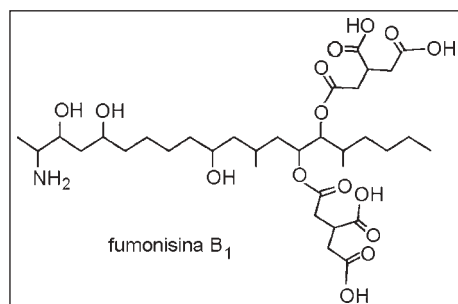
**C) Zearalenona**, elaborada y acumulada, principalmente por *Fusarium graminearum* y especies afines, fundamentalmente en trigo y maíz, pero también en sorgo, avena, y piensos compuestos. La zearalenona y sus derivados tienen efectos estrogénicos en varias especies animales (infertilidad, edema vulvar, prolapso vaginal e hipertrofia mamaria en hembras y feminización

en varones con atrofia testicular y aumento del tamaño de las mamas).

**D) Tricotecenos**, son micotoxinas producidas por hongos del género *Fusarium*, aunque también las sintetizan otros géneros, entre los que destacan: *Trichoderma*, *Trichothecium*, *Myrothecium* y *Stachybotrys*. Se ha conseguido aislar 148 tricotecenos. Los más estudiados y evaluados son: desoxinivalenol



(DON) conocido también como vomitoxina, nivalenol (NIV), diacetoxiscirpenol (DAS) y la toxina T-2 que es menos común. Las manifestaciones habituales de la intoxicación por tricotecenos consisten en inmunodepresión y náuseas con vómitos.



**E) Fumonisin**, son micotoxinas producidas en todo el mundo por *Fusarium moniliforme* y especies afines cuando crece en el maíz. Tienen importancia toxicológica las fumonisin B1 y B2, ya que las demás B3, B4, A1 y A2, aparecen en concentraciones muy bajas y son menos tóxicas.

Los principales factores condicionantes para el desarrollo de los hongos y la producción de micotoxinas son las siguientes:

### 1. Factores físicos

**1.1. Actividad del agua ( $a_w$ ).** Se define como la cantidad de agua libre o disponible para el desarrollo de los microorganismos. Es la relación existente entre la tensión de vapor de agua del sustrato y la del agua pura. Algunos ejemplos de valores de  $a_w$  que necesitan las diversas especies fúngicas y las que necesitan para producir las micotoxinas se resumen en la Tabla siguiente:

Especie	$a_w$	Producción micotoxina	$a_w$
<i>Aspergillus flavus</i>	0.78	Aflatoxinas	0.83
<i>Aspergillus parasiticus</i>	0.70	Aflatoxinas	0.80
<i>Aspergillus ochraceus</i>	0.77	Ocratoxinas	0.90
<i>Penicillium expansum</i>	0.85	Patulina	0.95
<i>Penicillium granulosum</i>	0.83	Ocratoxinas	0.90
<i>Penicillium citrinum</i>	0.80	Citrinina	0.88

Podemos indicar que los hongos filamentosos necesitan para su desarrollo un valor mínimo de actividad de agua de 0.70, mientras que las bacterias necesitan valores de como mínimo 0.90. La producción de micotoxinas se ha observado que es muy baja y casi nula a una actividad del agua inferior a 0.85, mientras que el desarrollo de hongos definidos como toxicogénicos puede detectarse en un intervalo de actividad de agua inicial de 0.70 a 0.85.

Según P. Chatonnet, el corcho presenta unos valores entre el 6 y el 8% de humedad relativa y en consecuencia su  $a_w$  se sitúa entre 0,50 y 0,60.

Cabe remarcar que en una de las fases del proceso de fabricación de los tapones de corcho, el corcho se hierve y se almacena en lugares cerrados y generalmente oscuros, en los que la humedad ambiental puede ser superior a 80% y la temperatura

superior a 25°C, en estas condiciones la  $a_w$  del corcho será superior a los valores citados que favorecen la formación de micotoxinas.

**1.2. Temperatura.** La temperatura óptima para el desarrollo de la mayoría de los hongos filamentosos oscila entre los 25°C y los 30°C, la mayoría de los hongos no se desarrollan a temperaturas inferiores a los 5°C ni superiores a los 45°C, mientras que en el caso de las micotoxinas la temperatura mínima necesaria para su producción varía según el tipo de micotoxinas:

Aflatoxinas 10°C	Ocratoxinas 0-24°C (12°C)
Zearalenona 10°C	Patulina 0-24°C (12°C)

**1.3. Condiciones climatológicas.** Según la estación del año, las condiciones que favorecen el desarrollo de la microbiota variarán.

## 2. Factores químicos

**2.1. pH.** Los hongos se desarrollan en condiciones óptimas en general en intervalos de pH del 2.5 al 7.5, por lo que crecer adecuadamente a pH ácido, en el que son capaces de elaborar y acumular micotoxinas.

**2.2. Composición del sustrato.** Los hongos no son exigentes desde el punto de vista nutricional y se desarrollan perfectamente a expensas de los elementos presentes en el sustrato, pero la producción de micotoxinas se favorece por la presencia de lípidos y aceites así como de determinadas sales minerales entre las que destacan, las de Fe, Zn, Cu y Mg. La producción de aflatoxinas es dependiente de sustratos ricos en Zn y de ciertos aminoácidos. En el caso de las ocratoxinas son fundamentales para su producción las sales de Zn y de Cu.

En determinados tapones de corcho se observa la presencia de manchas de colores grises y/o azules, que se han asociado siempre a las sales minerales. En el corcho se han identificado 13 elementos: Ca, Mg, Fe, Al, K, Na, Ba, Mn, Sr, Li, Cu, Cr y Ti (Barceló, 1939) estos elementos fueron confirmados en 1954 por el Marcos de Lanuza

**2.3. Potencial de oxidación-reducción.** La mayoría de los hongos son de respiración aeróbica y se ha comprobado que una atmósfera con un 20-40% de CO<sub>2</sub>, en combinación con una temperatura de unos 17°C disminuye la producción de aflatoxinas en sustratos idóneos como los cacahuets.

## 3. Factores biológicos

**3.1. Géneros específicos o productores de micotoxinas.** La presencia de hongos productores de micotoxinas es el factor limitante para la producción y acumulación de las micotoxinas.

**3.2. Presencia de otros organismos.** Fundamentalmente insectos que favorecen la diseminación de los hongos, el metabolismo del insecto incrementa la humedad del sustrato y favorece la entrada de hongos al interior del corcho por la producción de

rupturas. Se puede asociar a la detección de carcoma, de canales realizados por acción de hormigas, entre otros.

### 1.3.3. Relación Micotoxinas – Hongos miceliarios

Debe tenerse en cuenta que hasta el presente la capacidad de elaborar y acumular micotoxinas sólo se considera demostrada por parte de los hongos miceliarios.

En la tabla siguiente se relacionan las micotoxinas con los principales hongos productores y las especies de estos hongos aislados en el corcho.

TABLA 3. Relación de micotoxinas legisladas para algún producto, hongo que las produce y hongos aislados del corcho.

<i>Micotoxina</i>	<i>Hongo productor</i>	<i>Hongo aislado del corcho</i>
Aflatoxinas	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus parasiticus</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Aspergillus ostianus</i> <i>Aspergillus ruber</i> <i>Aspergillus wentii</i> <i>Penicillium citrinum</i> <i>Penicillium frequentans</i> <i>Penicillium puberulum</i> <i>Penicillium variabile</i>	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Aspergillus ruber</i> <i>Penicillium citrinum</i> <i>Penicillium frequentans</i>
Ocratoxina A	<i>Aspergillus ochraceus</i> (grupo) * <i>Aspergillus alliaceus</i> * <i>Aspergillus melleus</i> * <i>Aspergillus ostianus</i> * <i>Aspergillus petrakii</i> * <i>Aspergillus sclerotiorum</i> * <i>Aspergillus sulphureus</i> <i>Penicillium chrysogenum</i> <i>Penicillium commune</i> <i>Penicillium cyclopium</i> <i>Penicillium palitans</i> <i>Penicillium purpureescens</i> <i>Penicillium variabile</i> <i>Penicillium verruculosum</i> <i>Penicillium viridicatum</i>	<i>Penicillium chrysogenum</i> <i>Penicillium purpureescens</i>
Zearalenona = F-2 toxin	<i>Fusarium culmorum</i> <i>Fusarium equiseti</i> <i>Fusarium graminearum</i> (= <i>Fusarium roseum</i> = <i>Gibberella zeae</i> ) <i>Fusarium lateritium</i> <i>Fusarium moniliforme</i> (= <i>Fusarium verticilloides</i> ) <i>Fusarium nivale</i> <i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Fusarium moniliforme</i>

TABLA 3 (continuación). Relación de micotoxinas legisladas para algún producto, hongo que las produce y hongos aislados del corcho.

<i>Micotoxina</i>	<i>Hongo productor</i>	<i>Hongo aislado del corcho</i>
	<i>Fusarium sacchari</i> var. <i>subglutinans</i> (= <i>Fusarium moniliforme</i> var <i>subglutinans</i> ) <i>Fusarium sporotrichioides</i> <i>Fusarium tricinctum</i> <i>Nectria radiculicola</i>	
Patulina	<i>Aspergillus clavatus</i> <i>Aspergillus giganteus</i> <i>Aspergillus terreus</i> <i>Byssochlamys fulva</i> <i>Byssochlamys nivea</i> <i>Penicillium claviforme</i> <i>Penicillium cyaneofulvum</i> <i>Penicillium cyclopium</i> <i>Penicillium divergens</i> <i>Penicillium equinum</i> <i>Penicillium expansum</i> <i>Penicillium granulatum</i> <i>Penicillium griseofulvum</i> <i>Penicillium lanosum</i> <i>Penicillium lapidosum</i> <i>Penicillium leucopus</i> <i>Penicillium melinii</i> <i>Penicillium novae-zeelandiae</i> <i>Penicillium rivolii</i> <i>Penicillium roqueforti</i> <i>Penicillium urticae</i> (= <i>Penicillium patulum</i> )	<i>Penicillium granulatum</i> <i>Penicillium roqueforti</i>
Deoxinivalenol = vomitoxina	<i>Fusarium avenaceum</i> <i>Fusarium culmorum</i> <i>Fusarium equiseti</i> <i>Fusarium graminearum</i> (= <i>Fusarium roseum</i> ) <i>Fusarium moniliforme</i> <i>Fusarium nivale</i> <i>Fusarium poae</i>	<i>Fusarium moniliforme</i>
Toxina HT-2 = Toxina T-2	<i>Fusarium avenaceum</i> <i>Fusarium equiseti</i> <i>Fusarium graminearum</i> <i>Fusarium lateritium</i> <i>Fusarium nivale</i> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Fusarium poae</i> <i>Fusarium scirpi</i> <i>Fusarium solani</i> <i>Fusarium sporotrichioides</i> <i>Fusarium tricinctum</i> <i>Trichoderma lignorum</i>	
Estaquibotriotoxina	<i>Stachybotrys alternans</i>	

TABLA 3 (continuación). Relación de micotoxinas legisladas para algún producto, hongo que las produce y hongos aislados del corcho.

Micotoxina	Hongo productor	Hongo aislado del corcho
Quetomina	Chaetominum cochliodes Chaetominum globosum	
Diacetoxiscirpenol = Anguidin	<i>Fusarium anguioides</i> <i>Fusarium avenaceum</i> <i>Fusarium culmorum</i> <i>Fusarium diversisporum</i> <i>Fusarium equiseti</i> <i>Fusarium rigidiusculum</i> <i>Fusarium sambucinum</i> <i>Fusarium scirpi</i> <i>Fusarium solani</i> <i>Gibberella intricans</i>	
Fumonisinias	<i>Fusarium moniliforme</i>	<i>Fusarium moniliforme</i>

#### 1.3.4. Técnicas de detección de micotoxinas

Los métodos de análisis se basan en técnicas cromatográficas fundamentalmente, en Cromatografía en capa fina (TLC) y en cromatografía líquida de alta presión (HPLC), aunque pueden utilizarse técnicas ELISA y otros métodos para la detección rápida de micotoxinas.

Los pasos para la detección de micotoxinas son:

- Toma de muestras
- Extracción
- Concentración del sustrato
- Detección y cuantificación (TLC, HPLC)
- Confirmación

No existe ninguna legislación sobre micotoxinas en los tapones de corcho.

#### 1.4. NORMAS DEL SECTOR CORCHERO EN VIGOR QUE CONTEMPLAN LA MICROBIOLOGÍA DE LOS DIFERENTES TIPOS DE TAPONES

Las normativas existentes relacionadas con la Microbiología del tapón de corcho son:

**1. NCS 0.10/95 «Tapones de corcho aglomerado con discos de corcho natural para vinos espumosos»:** En el apartado 6.6 se especifica el método de ensayo para el recuento de bacterias y de hongos filamentosos y levaduras y los límites admitidos son de inferior a 30 UFC/tapón para las bacterias aerobias mesófilas revivificables y de inferior a 10 UFC/ tapón para los hongos filamentosos y levaduras.

**2. NCS 0.11/93 «Tapones de corcho aglomerado para vinos espumosos»:** En el apartado 7.4.5 se especifica el método de ensayo para el recuento de bacterias y



de hongos filamentosos y levaduras y los límites admitidos son inferior a 30 UFC/ tapón para las bacterias aerobias mesófilas revivificables e inferior a 10 UFC/ tapón para los hongos filamentosos y las levaduras.

**3. NCS 0.12/93 «Tapones de corcho aglomerado para vinos tranquilos»:** En el apartado 6.11 se especifica el método de ensayo para el recuento de bacterias y de hongos filamentosos y levaduras y los límites admitidos son inferior a 30 UFC/ tapón para las bacterias aerobias mesófilas revivificables y inferior a 10 UFC/ tapón para los hongos filamentosos y las levaduras.

**4. NCS 0.20/95 «Tapones de corcho natural para vinos tranquilos»:** En el apartado 6.8 se especifica el método de ensayo para el recuento de bacterias y de hongos filamentosos y hongos y los límites admitidos son: inferior a 30UFC/ tapón para las bacterias aerobias mesófilas revivificables e inferior a 10 UFC/ tapón para los hongos filamentosos y levaduras.

**5. NCS 0.21/94 «Tapones de corcho natural semielaborados para vinos tranquilos»:** En el apartado 5.4 se especifica el método de ensayo para el recuento de bacterias y de hongos filamentosos y levaduras y los límites admitidos son inferior a  $10^5$  UFC/ tapón para las bacterias aerobias mesófilas revivificables e inferior a  $10^6$  UFC/ tapón para los hongos filamentosos y levaduras.

**6. NCS 0.22/94 «Discos de corcho natural para tapones para vinos espumosos»:** En el apartado 5.4 se especifica el método de ensayo para el recuento de bacterias y de hongos filamentosos y levaduras y los límites admitidos son inferior a  $10^5$  UFC/ tapón para las bacterias aerobias mesófilas revivificables e inferior a  $10^6$  UFC/ tapón para los hongos filamentosos y levaduras.

**7. NCS 0.23/96 «Tapones de corcho colmatados para vinos tranquilos»:** En el apartado 6.8 se especifica el método de ensayo para el recuento de bacterias y de hongos filamentosos y levaduras y los límites admitidos son inferior a 30 UFC/ tapón para las bacterias aerobias mesófilas revivificables e inferior a 10 UFC/ tapón para los hongos filamentosos y levaduras.

**8. UNE 56921: 2003 «Tapones de corcho natural para vinos tranquilos. Métodos de ensayo y especificaciones.»:** En el apartado 5.10 se especifica el método que se utiliza para determinar el número de bacterias y de hongos filamentosos y levaduras admitidos por tapón. Para las bacterias aerobias mesófilas el límite esta fijado en inferior a 30 UFC /tapón mientras que para hongos y levaduras, el límite esta fijado en inferior a 10 UFC /tapón.

**9. UNE 56922: 1998 «Tapones de corcho aglomerado para vinos tranquilos. Métodos de ensayo y especificaciones.»:** En el apartado 4.9 se especifica el método de ensayo para el recuento de bacterias y de hongos filamentosos y levaduras y los límites admitidos son inferior a 30 UFC/ tapón para las bacterias aerobias mesófilas revivificables y inferior a 10 UFC/ tapón para los hongos filamentosos y las levaduras.

**10. UNE 56923: 1998 «Tapones de corcho aglomerado con discos de corcho natural para vinos espumosos. Métodos de ensayo y especificaciones «:** En el apartado 5.6 se especifica el método de ensayo para el recuento de bacterias y de

hongos filamentosos y levaduras y los límites admitidos son inferior a 30 UFC/ tapón para las bacterias aerobias mesófilas revivificables y inferior a 10 UFC/tapón para los hongos filamentosos y las levaduras.

**11. UNE 56924: 1998 «Tapones de corcho colmatados para vinos tranquilos, Métodos de ensayo y especificaciones»:** En el apartado 5.8 se especifica el método de ensayo para el recuento de bacterias y de hongos filamentosos y levaduras y los límites admitidos son inferior a 30 UFC/ tapón para bacterias aerobias mesófilas revivificables y inferior a 10 UFC/ tapón para hongos filamentosos y levaduras.

**12. UNE 56925:2000 «Tapones de corcho natural de dos piezas para vinos tranquilos. Métodos de ensayo y especificaciones»:** En el apartado 5.7 se especifica el método de ensayo para el recuento de bacterias y de hongos filamentosos y levaduras y los límites admitidos son: inferior a 30 UFC/tapón para las bacterias aerobias mesófilas revivificables e inferior a 10 UFC/ tapón para los hongos filamentosos y levaduras.

**13. UNE 56926: 2001 «Tapones de corcho de tres piezas. Métodos de ensayo y especificaciones»:** En el apartado 4.9 se especifica el método de ensayo para el recuento de las bacterias y de los hongos filamentosos y levaduras y los límites admitidos son inferior a 30 UFC/ tapón para las bacterias aerobias mesófilas revivificables y inferior a 10 UFC/ tapón para los hongos filamentosos y levaduras.

**14. ISO 10718/2002 Enumeration of colony-forming units of yeast, moulds and bacteria capable of growth in an alcoholic medium**

Esta legislación solo regula el recuento de microorganismos, no existen, por el momento, normativas respecto a la identificación de bacterias ni de hongos filamentosos ni levaduras ni tampoco a la detección y cuantificación de micotoxinas.

## BIBLIOGRAFIA

1. Adams M. R. and Moss M. O. 1997 Microbiología de los Alimentos. Editorial Acribia S.A. Spain. 464 pp.
2. Calvo M. A., Larrondo J. and Agut M. 1993 Microbiología de los tapones de corcho. *Aecork News* **12** 18-19.
3. Colagrande O. 1996. Problems relative to the use of cork in bottle closures. Proceedings of the 2<sup>nd</sup> International Symposium on Cork. Italy. 3-10
4. Danesh P., Caldas F. M., Figueiredo J. J. and San Romao M. V. 1997. Mycobiota in Portuguese «normal» and «green» cork throughout the manufacturing process of stoppers. *J. Appl. Microbiol.* **82** 689-694.
5. Domsch K. H., Grams W. and Anderson T. H. 1980. Compendium of soil fungi. Academic Press. USA. 859 pp.
6. Mossel D. A. A., Corry J. E. L., Stuijk C. B., and Baird R. M. 1995. Essentials of the microbiology of food. John Wiley & Sons. USA.
7. Parés R. and Juárez A. 1997. Bioquímica de los microorganismos. Editorial Reverté S.A. Spain. 380 pp.
8. Samson R. A., Hoekstra E. S., and Oorschot C. A. A. 1984. Introduction food-borne fungi. CBS. Netherlands.