

## Selección de levaduras para la elaboración de sidras naturales espumosas por el método tradicional o "Champenoise" (I)

Rosa Pando Bedriñana. Área de Tecnología de los Alimentos. rpando@serida.org



Las sidras naturales espumosas contienen, por su especial elaboración, abundante anhídrido carbónico de origen endógeno que produce la espuma y un desprendimiento continuo de burbujas. El gas carbónico puede provenir bien de la fermentación de los azúcares naturales del mosto de manzana o de los añadidos para realizar una segunda fermentación

en envases cerrados. Las sidras con segunda fermentación pueden clasificarse

- Sidras fermentadas en grandes envases: método de elaboración denominado "Charmat" o "Granvas", en el que la segunda fermentación tiene lugar en condiciones isobáricas en depósitos con cierre hermético.



- Sidras fermentadas en botella: método de elaboración tradicional o "Champenoise", en el que la segunda fermentación y la crianza se realiza en la misma botella que llega al consumidor. Siguiendo este método son elaborados los Cavas españoles y los Champanes franceses. En este trabajo se aborda la selección de levaduras autóctonas para la elaboración de sidras espumosas con segunda fermentación en botella.

La elaboración de sidras espumosas, por el método tradicional, tiene lugar en dos fases (Figura 1). En la primera, se

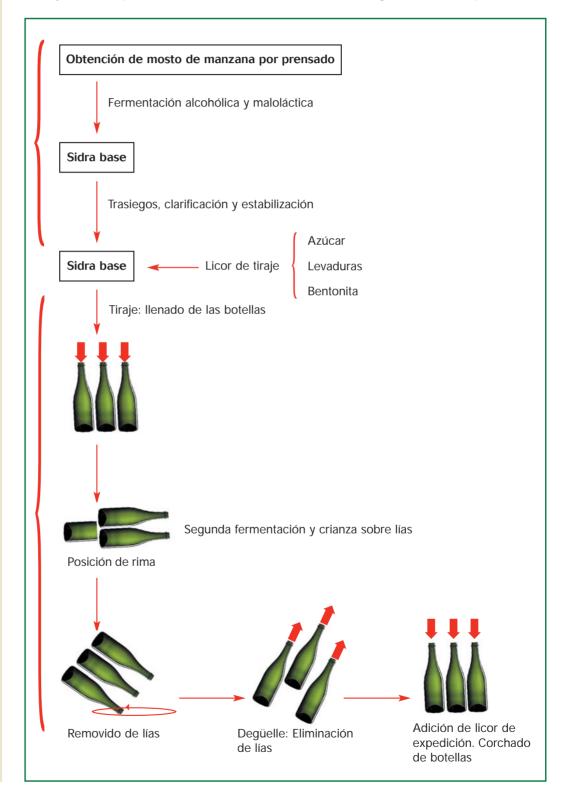


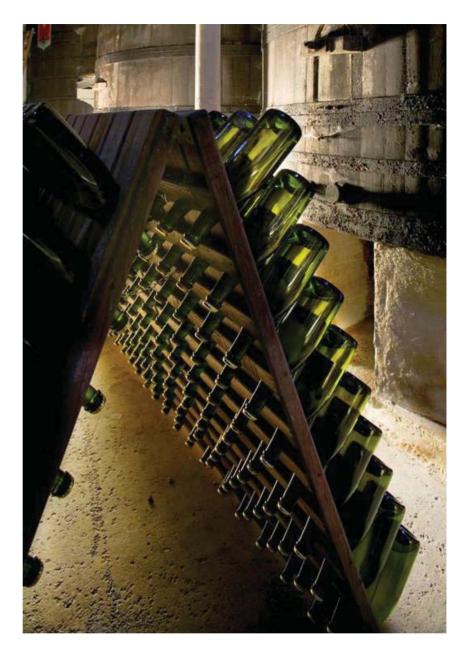
Figura 1.-Esquema de elaboración de sidras espumosas mediante el método tradicional "Champenoise".



parte de una sidra natural con buenas características sensoriales y que haya realizado la fermentación alcohólica y maloláctica. Antes de inducir la refermentación de la sidra base hay que reducir la turbidez y eliminar la carga microbiana residual que pudiera originar alteraciones. Para esta estabilización se puede recurrir a trasiegos, clarificaciones y filtraciones. La segunda fase comienza con el embotellado de la sidra base a la que se le ha adicionado el licor de tiraje; éste licor está compuesto por una solución azucarada, levaduras, activador de fermentación y clarificantes. Las botellas se cierran y son colocadas en posición horizontal "rima" para facilitar la máxima superficie de contacto levadura/sidra. En esta posición tiene lugar la toma de espuma (segunda fermentación) y la crianza sobre lías, que consiste en la autodegradación de las levaduras muertas (autolisis). El tiempo de crianza es variable (meses, años) y durante la lisis de las levaduras se liberan macromoléculas que mejoran las características organolépticas y espumantes de la sidra. Después de la crianza se realiza el removido de las lías hacia el bocal de la botella para ser eliminadas (degüelle). La operación de degüelle se suele hacer congelando el cuello de las botellas, lo que origina la formación de un bloque de hielo con las lías que es expulsado al descorchar la botella. Durante el degüelle se produce una pequeña pérdida de sidra que se repone con el licor de expedición. El licor o jarabe de expedición puede ser la propia sidra o una solución azucarada que, en último caso, determina el grado de dulzor de la sidra espumosa.

## Identificación y selección de levaduras

Las condiciones en las que tiene lugar la segunda fermentación afectan tanto a las características que deben reunir las levaduras como a la repercusión que éstas tienen sobre las características organolépticas de la bebida espumosa. La selección de las levaduras se lleva a cabo teniendo en cuenta las siguientes aptitudes fisiológicas y tecnológicas:

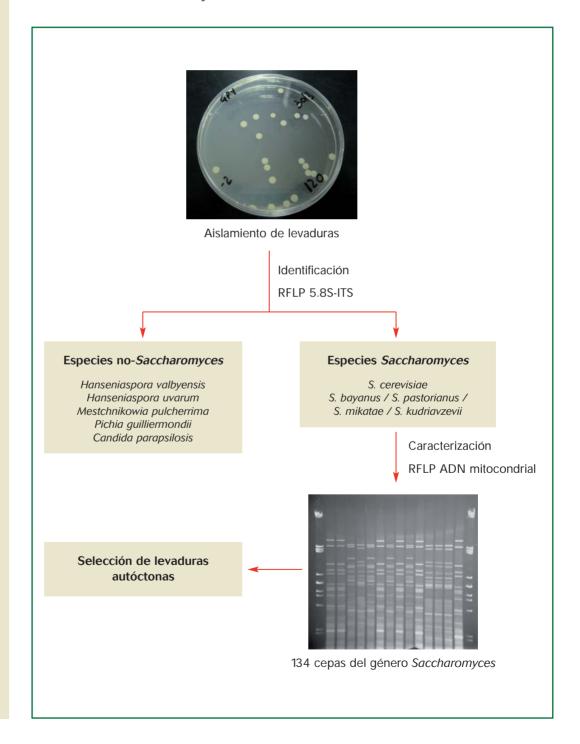


- Metabolismo correcto que evite la producción de elevada acidez volátil y aromas a reducido, tolerancia al anhídrido sulfuroso y viabilidad en medio alcohólico.
- Aptitud para el removido, facilitado por la no adherencia al vidrio y la capacidad de floculación, proceso que resulta de la agregación de las células en masas multicelulares (flóculos) que facilita su separación de la sidra.
- Capacidad de fermentar en condiciones adversas, ambientes reducidos y alcohólicos, con presiones elevadas y a bajas temperaturas.



- Liberación de compuestos intracelulares durante el proceso de autolisis que modifiquen positivamente las propiedades espumantes y sensoriales de los fermentados.
- Adecuados perfiles aromáticos.

El SERIDA, llevó a cabo una selección de levaduras a partir de un total de 600 cepas aisladas en la bodega Valle, Ballina y Fernández en fermentaciones espontáneas de mosto de manzana y en distintos estadíos de la fermentación alcohólica. La identificación de levaduras se realizó mediante métodos moleculares que analizan el genoma independientemente del estado fisiológico de la célula, lo que permitió su clasificación a nivel de especie. El protagonismo que poseen las levaduras Saccharomyces en los procesos fermentativos hizo que nuestro estudio se centrase en este grupo de levaduras. En este sentido, se realizó una caracterización molecular de 435 levaduras del



**Figura 2.-**Identificación y caracterización molecular de levaduras.



género Saccharomyces mediante el análisis de restricción del ADN mitocondrial. Esta técnica permitió diferenciar 134 cepas de levadura que fueron estudiadas para la obtención de cultivos iniciadores autóctonos (Figura 2).

Se realizó, en primer lugar, una preselección de levaduras mediante métodos rápidos de evaluación, (Figura 3) consistentes en medios sólidos selectivos, que permitieron observar de forma fiable, rápida y poco costosa determinados

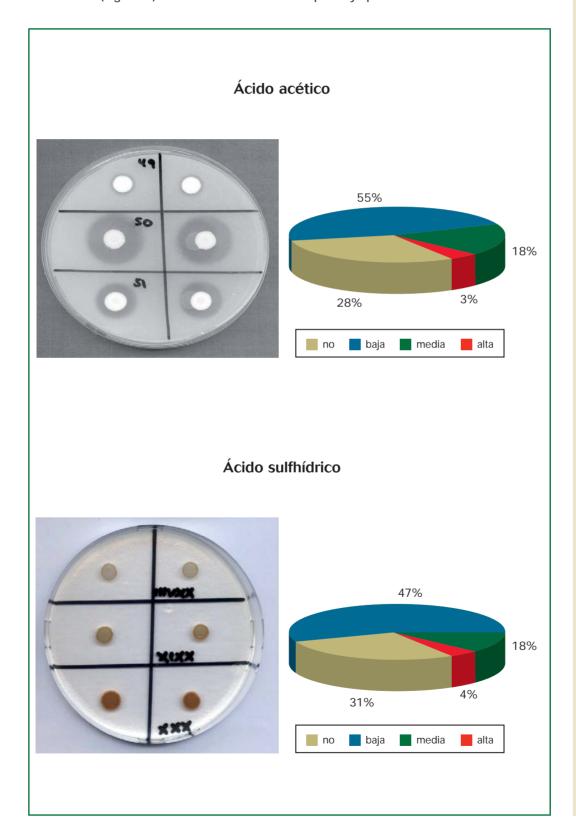


Figura 3.-Preselección de cepas en medios diferenciales en placa.



caracteres que juegan un papel fundamental en la elección de las cepas. Se eligieron como criterios discriminantes los siguientes:

- Producción de ácido acético. Las levaduras se clasificaron en cuatro grupos, entre no a muy productoras, en función del tamaño de los halos transparentes revelados por el carbonato cálcico en el medio "Chalk Agar". Se eliminaron 22 cepas clasificadas como medias y altas productoras de acidez volátil.
- Producción de ácido sulfhídrico. Las cepas se clasificaron, teniendo en cuenta su tonalidad en el medio "BiGGY Agar", en cuatro grupos entre no a muy productoras. Se eliminaron seis cepas clasificadas como muy productoras.
- Crecimiento en medio sólido en presencia de etanol (12%) y 75 mg/L de anhídrido sulfuroso. Todas las levaduras fueron capaces de desarrollarse en estas condiciones.

A continuación, se evalúo la capacidad de floculación de las 106 cepas pre-

seleccionadas. Esta propiedad se observó visualmente por inoculación en mosto de manzana estéril (25°C, 72 h) y posterior agitación. Se observó que 25 cepas pertenecientes a la especie *Saccharomyces cerevisiae* presentaron elevada capacidad para formar agregados celulares cuando el cultivo estaba en reposo y formaban flóculos después de la agitación. Todas ellas resultaron ser verdaderamente floculantes, ya que los agregados celulares desaparecían en presencia de un agente quelante (EDTA).

Como el carácter floculante de las levaduras es una propiedad biotecnológica de interés, por la mejora que supone en las operaciones de removido y degüelle, en las sidras elaboradas con segunda fermentación en botella se preseleccionaron 25 cepas floculantes (Figura 4).

## **Nota**

Este trabajo forma parte de la tesis doctoral titulada "Selección y caracterización de levaduras autóctonas de sidra", defendida en la Universidad de Oviedo en abril de 2010. ■

Figura 4.-Observación microscópica de levaduras floculantes.

