



Selección de levaduras para la elaboración de sidras naturales espumosas por el método tradicional o “Champenoise” (y II)

ROSA PANDO BEDRIÑANA. Área de Tecnología de los Alimentos. rpando@serida.org



Las sidras espumosas, elaboradas siguiendo el método tradicional o “Champenoise”, se caracterizan por poseer anhídrido carbónico de origen endógeno y porque tanto la segunda fermentación como la crianza sobre lías, se realizan en la misma botella que llega al consumidor.

Las condiciones en las que se desarrolla esta segunda fermentación afectan

tan tanto a las características que deben reunir las levaduras, como a su repercusión sobre los atributos sensoriales de las sidras. En la primera parte de este trabajo (Tecnología Agroalimentaria, 9) se describieron los criterios utilizados para la preselección de cepas con carácter floculante. En esta segunda parte se aborda la selección definitiva de las levaduras.



En las sidras espumosas, atributos como la efervescencia y la persistencia de la espuma condicionan su calidad. Entre otros, se valorarán positivamente: el tamaño pequeño de las burbujas, su desprendimiento continuo, la aparición de rosarios de burbujas y la presencia persistente de una corona de burbujas, tanto en la superficie de la copa como adherida a ella. Estas cualidades no son solo visuales sino que inciden en las sensaciones que son captadas por el paladar, al ser el anhídrido carbónico un estimulante de los sentidos, que potencia la sensación aromática.

Los compuestos que parecen jugar un papel decisivo sobre estas características son los aminoácidos, las proteínas y los polisacáridos. Todos ellos son liberados al medio durante la muerte y la autodegradación de las levaduras (autólisis) que se produce durante la etapa de crianza. Por este motivo, en la selección de levaduras para la segunda fermentación en botella, se han tenido en cuenta criterios para evaluar la autólisis de las levaduras y su relación con las propiedades espumantes.

Se parte de 25 cepas (*S.cerevisiae*) preseleccionadas por su capacidad floculante. En cada una de ellas se analizaron las siguientes características fisiológicas y tecnológicas: tolerancia al anhídrido sulfuroso, carácter *Killer*, poder fermentativo a bajas temperaturas, actividad enzimática β -glucosidasa, capacidad autolítica y propiedades espumantes de los autolisados, y composición química de las sidras experimentales elaboradas.

La tolerancia al anhídrido sulfuroso, aditivo alimentario antioxidante y antimicrobiano, se evaluó en caldo YPD.



→
Fotografía 1.-
Determinación de actividad β -glucosidasa en levaduras revelada por la pigmentación marrón del medio.

La producción de la toxina *Killer*, se realizó mediante siembra en medio MBM en presencia tanto de levaduras que producen la toxina *Killer* como de levaduras sensibles a la misma.

La capacidad de las levaduras para fermentar a bajas temperaturas se determinó mediante microfermentaciones a 12 °C, empleando como caldo de cultivo una sidra modelo con un contenido de etanol de 8% (v/v) y 25 g/L de sacarosa. Esta capacidad es una propiedad tecnológica de interés que contribuye a la finura y persistencia de las burbujas.

El análisis de estas características no permitió discriminar entre las cepas estudiadas, ya que todas:

- Mantuvieron su viabilidad a la máxima concentración de anhídrido sulfuroso permitido en sidra (200 mg/L).
- Mostraron un carácter *Killer* Neutro, al ser capaces de crecer en presencia de los dos tipos de levaduras (productoras de la toxina y sensibles a ésta).
- Metabolizaron toda la sacarosa obteniendo rendimientos alcohólicos superiores al 1,4% (v/v) en un periodo máximo de 47 días.

La evaluación de la actividad β -glucosidasa, que produce la liberación de aromas, se realizó mediante el análisis de la escisión de la arbutina (Fotografía 1). Esta actividad, no muy frecuente en el género *Saccharomyces*, se detectó en dos cepas (Referencia: 3' y 19').

El análisis de la autodegradación de las levaduras se realizó induciendo su lisis mediante agitación y a 28 °C, en un medio sintético con una composición similar a la sidra. En los ensayos se introdujeron como referencia dos levaduras, una comercial de origen vínico Levuline CHP (*S. cerevisiae*) y otra sidrera C6 (*S. bayanus*) perteneciente a la Colección de Cultivos Tipo del SERIDA. Se eligieron como indicadores de la capacidad de autólisis los aminoácidos (test de la ninhidrina) y proteínas (test de Bradford) liberados al medio.

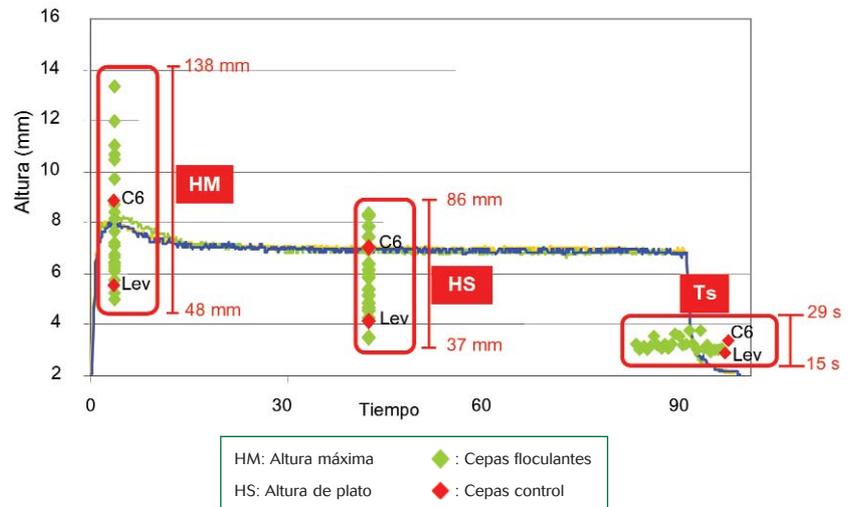
La evaluación de las propiedades espumantes en los autolisados de las levaduras se realizó con un equipo MOSALUX (Fotografía 2), usando una probeta de vidrio (42x2,2 cm) y las siguientes condiciones de ensayo: volumen de muestra, 25 mL; temperatura, 20 °C; flujo de CO₂, 200 mL/min y tiempo de medida, 900 s. Se cuantificaron los siguientes parámetros:

- La altura máxima (HM), espumosis o capacidad para producir espuma, que se asocia con la altura máxima a la que llega la espuma al servir la copa.
- La altura de plato (HS) o persistencia de la espuma, relacionada con la persistencia de la corona y/o estabilidad de la espuma y con la vida media de la burbuja mediante el coeficiente de Bickerman.
- El tiempo de permanencia de la espuma (Ts) que representa el tiempo medio de vida de las burbujas en la superficie del líquido.

Para las cepas ensayadas se observó una mayor variación en la capacidad para formar espuma (HM) que en la permanencia de la misma (HS) y una proporcionalidad entre ambas alturas. La levadura vínica Levuline mostró menor espumosis, menor estabilidad de la espuma y menor vida media de burbuja, que la mayoría de las cepas sidreras (Gráfico 1).

Respecto a los compuestos nitrogenados elegidos como indicadores de autólisis se encontró que existía una mayor relación entre las alturas máxima (HM) y de plato (HS) con la concentración de proteínas liberadas al medio que con la concentración de aminoácidos. En función de estos resultados, fueron eliminadas las cepas (Referencias: 32' y 40') que liberaron menores concentraciones de proteínas que la levadura de referencia Levuline (Gráfico 2).

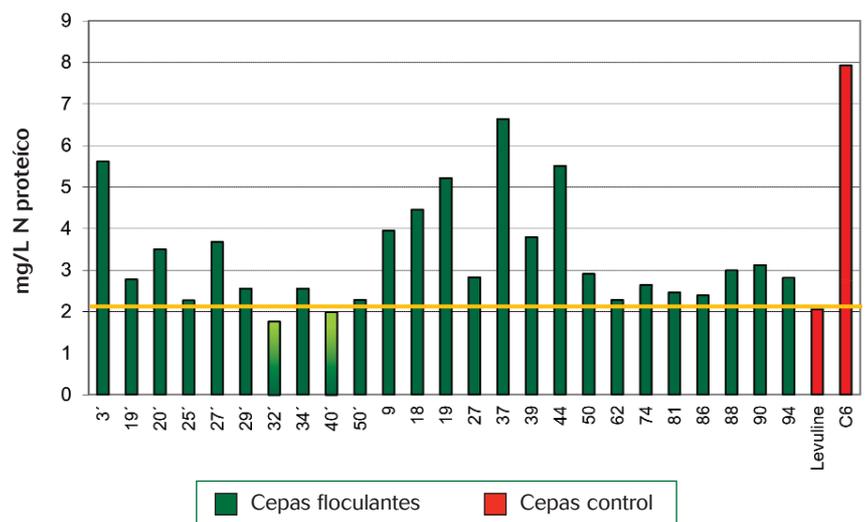
Finalmente, se evaluaron las características químicas de las sidras elaboradas con las cepas floculantes. Se realizaron fermentaciones a escala de laboratorio utilizando mosto de manzana esterilizado mediante filtración e inoculando las cepas a una concentración celular de 10⁶ ufc/ml. En todos los ensayos los azúcares residuales fueron inferiores a 5 g/L.



↑
Gráfico 1.-Propiedades espumantes de los autolisados de las 25 cepas *S. cerevisiae* floculantes y de las cepas de referencia Levuline (Lev) y C6.
 ↙
Fotografía 2.-Detalle del interior del equipo MOSALUX empleado en las medidas de las propiedades espumantes.
 ↓



↓
Gráfico 2.-Concentración de proteínas liberadas al medio de las 25 cepas *S. cerevisiae* floculantes y de las cepas de referencia Levuline y C6.



Cepas	Producción Ác. sulfhídrico	Actividad -glucosidasa	Etanol (%v/v)	Ácido acético (g/L)	Succínico (g/L)	Glicerol (g/L)	Acetaldehído (mg/L)	Acetato de etilo (mg/L)	Metanol (mg/L)	Propanol (mg/L)	Isobutanol (mg/L)	Alcoholes amilicos (mg/L)	2-feniletanol (mg/L)
3'	no	+	6,2	0,15	0,6	4,2	19	16	28	17	48	154	37
19'	media	+	6,3	0,26	0,3	4,3	21	17	33	32	83	125	21
20'	media	-	6,2	0,24	0,4	3,6	42	12	29	25	81	158	21
29'	media	-	6,3	n.d.	0,8	5,1	33	13	31	18	79	162	32
50'	media	-	6,3	0,15	0,5	4,2	36	18	38	24	68	124	18
39	no	-	6,2	0,36	0,4	4,6	19	7	45	24	99	173	19
50	no	-	5,9	0,26	0,8	4,3	26	5	54	22	65	190	24
86	baja	-	6,2	0,32	0,5	3,5	14	18	47	24	71	173	14
90	media	-	6,3	0,24	0,6	3,9	45	15	29	20	91	155	19
94	no	-	6,2	0,32	0,4	4,3	26	12	28	30	112	151	18

n.d. no detectado



Tabla 1.-Características de las 10 cepas *S. cerevisiae* floculantes seleccionadas.



Gráfico 3.-Concentración de alcoholes superiores de las sidras obtenidas.

se eligieron estos compuestos como discriminantes para la selección. Se eliminaron las cepas productoras de concentraciones de ácido acético mayores de 0,4 g/L (Referencia: 18, 37 y 88) y las cepas que formaron alcoholes superiores en concentraciones superiores a 300 mg/L (Gráfico 3). En virtud de todas estas evaluaciones, se seleccionaron diez cepas de levaduras con aptitudes tecnológicas para la elaboración de sidras espumosas de segunda fermentación en botella (Tabla 1).

Conclusión

La selección de cepas *Saccharomyces* para la elaboración de sidras por el método Champenoise, siguiendo criterios discriminantes, condujo a la elección de 10 cepas floculantes *S. cerevisiae*. Este tipo de cepas, que se encuentran a disposición del sector sidrero, suponen una mejora tecnológica en el proceso de elaboración por su carácter aglomerante y floculante que facilitan el removido y la eliminación de las lías.

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.

Más información

PANDO, R. (2011). Selección de levaduras para la elaboración de sidras naturales espumosas por el método tradicional o "Champenoise" (I). Tecnología Agroalimentaria Nº 9. Págs. 31-36. ■

