



PRINCIPADO DE ASTURIAS

CONSEJERIA DE AGRICULTURA
Y PESCA

INFORMACION
TÉCNICA

3 / 89

**LOS MICROORGANISMOS DE LA SIDRA NATURAL ASTURIANA.
AVANCES DE UN ESTUDIO MICROBIOLÓGICO.**

**Ana Suárez Díaz
Carmen Cabranes Benduero.**

**CENTRO DE EXPERIMENTACION AGRARIA
VILLAVICIOSA**



PRINCIPADO DE ASTURIAS

CONSEJERIA DE AGRICULTURA
Y PESCA

LOS MICROORGANISMOS DE LA SIDRA NATURAL ASTURIANA. AVANCES DE UN ESTUDIO MICROBIOLÓGICO.

ANA SUAREZ DIAZ
CARMEN CABRANES BENDUERO
Centro de Experimentación Agraria (1)

RESUMEN

Los resultados preliminares del estudio microbiológico sobre sidra natural asturiana realizado en el Centro de Experimentación Agraria de Villaviciosa muestran la influencia de diversos factores tecnológicos sobre la presencia y actividad de los microorganismos que intervienen en el proceso fermentativo. Así, en los mostos de manzana tradicionales existen un gran número de microorganismos contaminantes como es el caso de las levaduras oxidativas, que no resultan en absoluto beneficiosas para el proceso fermentativo y que compiten con especies más interesantes desde este punto de vista como Saccharomyces cerevisae: los géneros encontrados de levaduras oxidativas son Kloeckera, Pichia, Cryptococcus y Hansenula en mostos, y Kloeckera y Candida en la etapa final de control de embotellado. En la transformación maloláctica, proceso llevado a cabo por las bacterias lácticas, el género aislado con mayor frecuencia y que aparece como responsable del proceso es Leuconostoc. La conversión de ácido málico en ácido láctico supone una reducción de la acidez, al ser el láctico un ácido más débil que el málico. También se ha observado la presencia de bacterias acéticas representadas por los géneros Gluconobacter y Acetobacter tanto en mostos como en las sidras fermentadas, compitiendo con levaduras y bacterias lácticas y variando de forma característica las propiedades organolépticas del producto. Se ha evidenciado la estrecha relación entre el proceso tecnológico y actividad microbiana y se ve posible orientar la calidad del producto final mediante el adecuado control del proceso de elaboración.

PALABRAS CLAVE

Microbiología de la sidra, proceso tecnológico, mezcla de manzana, levaduras, bacterias lácticas, bacterias acéticas.

(1) Apartado 13, 33300 Villaviciosa (Asturias)

INTRODUCCION

El proceso de elaboración de la sidra natural tiene lugar en los lagares asturianos de forma totalmente artesanal., lo que conlleva la presencia en los mostos de una gran diversidad de microorganismos (tanto levaduras como bacterias) variables según las condiciones de elaboración (bodega, toneles y utillaje), materia prima, condiciones micro climáticas, etc., y que no siempre conducen a la obtención de un producto homogéneo, con adecuadas propiedades organolépticas y biológicamente estable.

Dentro de la actuación que la Administración Regional dirige hacia el estudio y fomento de los productos asturianos en el Centro de Experimentación Agraria de Villaviciosa se ha iniciado un programa sobre sidras en el que entre otros aspectos se estudia la evolución, tanto cuantitativa como cualitativa, de la microflora presente durante todo el proceso de elaboración y conservación de la sidra natural, como primer paso para llegar a conocer la implicación de estos microorganismos en la calidad final de la sidra.

El objetivo de esta publicación es el de facilitar a los interesados en el tema sidrícola un primer conocimiento del proceso de elaboración de la sidra natural desde el punto de vista microbiológico, así como lanzar los resultados encontrados hasta el momento en esta área en el Centro de Experimentación Agraria.

LOS MICROORGANISMOS EN EL PROCESO DE ELABORACION

El mosto de manzana se obtiene mediante una extracción mecánica que consiste en la trituración de los frutos frescos y el prensado de la pulpa resultante. Ello da lugar a un rendimiento en zumo del orden del 60--75%, variable según el estado de madurez de la manzana, su variedad, triturado, prensado y temperatura.

El mosto se trasiega a los toneles o tinas de fermentación y ésta es provocada por las levaduras que, de forma espontánea, han llegado al mosto durante las operaciones anteriores.

La fermentación del mosto tiene lugar en dos fases, una tumultuosa y otra lenta. La primera de ellas, con una duración variable en general no superior a veinte días, en condiciones normales se caracteriza por el desprendimiento de grandes cantidades de dióxido de carbono que, al llegar a la superficie libre del líquido, forma abundante espuma. Al mismo tiempo, las materias sólidas en suspensión son expulsadas por la boca del tonel a la vez que van depositándose en el fondo de los toneles formando las borras (proceso conocido como defecación y que produce la clarificación del mosto). Al finalizar la fermentación tumultuosa se suele trasegar el mosto para separar las borras y unificar el caldo de la bodega.

La fermentación lenta es un proceso que tiene una duración de cuatro a cinco meses en el que generalmente tiene lugar la llamada "fermentación maloláctica", producida por ciertas bacterias lácticas que transforman el ácido málico en ácido láctico, dando lugar a un efecto favorable sobre la sidra, mejorando sus propiedades organolépticas y aumentando su estabilidad biológica.

Sin embargo, no son éstas las únicas transformaciones que pueden ocurrir en los mostos de manzana. Tanto mostos como sidras son un excelente caldo de cultivo para un gran número de microorganismos que producen alteraciones indeseables, muy frecuentes aún en nuestras sidras: "picado acético" "picado láctico", "ahilado" o "file", etc.

Estos microorganismos proceden no sólo de la superficie de la manzana, sino también del suelo, de la bodega y de los utensilios utilizados para la extracción, trasiego y fermentación del jugo.

En el mosto sin fermentar se encuentran, fundamentalmente, levaduras oxidativas, bacterias lácticas (Lactobacillus, Leuconostoc, Pediococcus) y bacterias acéticas (Gluconobacter y Acetobacter).

En las primeras etapas, el crecimiento de las levaduras fermentativa; está favorecido por la aireación del mosto; las condiciones anaerobias favorecen luego la fermentación alcohólica realizada por estas levaduras, fundamentalmente del género Saccharomyces, que liberan dióxido de carbono y alcohol etílico como productos mayoritarios, lo que contribuye a inhibir el crecimiento de otros microorganismos. La atmósfera de dióxido de carbono sobre la superficie del mosto en fermentación, impide el crecimiento de los gérmenes aerobios que pudieran contaminarlo, como las bacterias acéticas y levaduras oxidativas. Por tanto, durante la fermentación tumultuosa la flora dominante la constituyen estas levaduras fermentativas ya que, mientras haya abundantes azúcares fermentables, el resto de los microorganismos presentes no pueden competir y permanecen en estado latente.

Tras la fermentación tumultuosa el número de levaduras fermentativas comienza a disminuir, a la vez que aumenta el de bacterias que se nutren de las sustancias liberadas en la lisis de las levaduras.

Durante la fermentación lenta, las bacterias lácticas heterofermentativas presentes en la sidra pueden realizar la transformación maloláctica, que reduce la acidez, ya que el ácido láctico es más débil que el málico.

A lo largo del proceso fermentativo y durante la maduración y conservación de la sidra se pueden producir alteraciones microbianas que son causadas fundamentalmente por levaduras salvajes, mohos y bacterias. A continuación se describen

las alteraciones más frecuentes producidas por estos microorganismos.

a) Bacterias acéticas.

La alteración más conocida producida por las bacterias acéticas es la oxidación del alcohol del mosto o de la sidra, transformándolo en ácido acético, proceso conocido con el nombre de "avinagramiento" o "acetificación" o "picado acético". También pueden oxidar la glucosa del mosto, dando lugar a ácido glucónico que produce un sabor agridulce. Por otra parte, pueden reducir la acidez de la sidra oxidando los ácidos cítrico y málico, aunque fundamentalmente estos microorganismos son conocidos por su papel como deteriorantes en sidras.

Las bacterias acéticas se han encontrado durante todo el proceso de elaboración de la sidra, aunque son más abundantes en mostos sin fermentar y primeras fases del proceso, donde se encuentra principalmente el género gluconobacter. En todas las etapas se encontraron diferentes especies de Acetobacter, siendo predominante este género durante la conservación y maduración de la sidra.

b) Levaduras

Algunas cepas de levaduras silvestres pueden ocasionar fermentaciones anormales que determinan un contenido alcohólico muy escaso, una acidez volátil excesiva, gustos extraños y enturbiamiento de la sidra- Estas levaduras, procedentes fundamentalmente de la manzana con la que se fabrica el mosto, son predominantemente de tipo apicular y su concentración disminuye notablemente si en el mosto hay suficiente cantidad de levaduras que produzcan una buena fermentación, por lo que en algunos casos sería aconsejable su inoculación

Las levaduras formadoras de velo pueden oxidar el alcohol, los ácidos y otros sustratos orgánicos. Crecen en la superficie de los mostos y sidras expuestos al aire y originan una gruesa película. Se reduce notablemente esta alteración si se evita el contacto con el aire.

Los hongos como Mucor, Penicillium, Aspergillus y algunos otros, son capaces de crecer en las paredes de las bodegas, barriles, prensas, etc. Una limpieza adecuada de las paredes y del equipo utilizado permite controlar su crecimiento.

Bacterias lácticas

Las bacterias lácticas constituyen la causa principal de alteraciones bacterianas en sidras y mostos. A estas distintas alteraciones se les ha aplicado nombres diversos, que han creado gran confusión, probablemente porque la misma alteración es producida por gérmenes de diversas clases, o porque el mismo microorganismo puede causar, bajo diferentes condiciones, transformaciones distintas. La más común es probable

mente el picado láctico, consistente en la formación de ácidos a partir de los azúcares del mosto (glucosa y fructosa), originada principalmente por especies de lactobacilos heterofermentativos, tales como *L. brevis*, *L. hilgardii*, *L. trichodes* y *L. huchneri*. El desarrollo de estos microorganismos produce turbidez sedosa, aumenta el contenido en ácido láctico y acético, libera dióxido de carbono, produciendo a veces un aroma o sabor desagradable. En ocasiones tiene lugar paralelamente una fermentación magnífica que es el resultado de la transformación de la fructosa en manitol con producción de un sabor agrí dulce.

La metabolización del glicerol de la sidra también produce sabor amargo al formarse aeroleína e interactuar con los compuestos fenólicos.

Se ha achacado a ciertas especies de *Leuconostoc* (especies dextranogénicas) y a ciertos micrococcos y lactobacilos la producción de viscosidad ("rutilado" o "file"), que suele ir acompañada de enturbiamiento y posible aumento de la acidez volátil.

Cualquier bacteria o levadura que crezca excesivamente en la sidra es probable que determine enturbiamientos, y las bacterias heterofermentativas que se desarrollan en la sidra pueden aumentar la acidez volátil hasta el punto de inutilizarla para la venta.

Habitualmente las bacterias reducen la acidez de la sidra al metabolizar con facilidad los ácidos orgánicos presentes en la misma. Así, las bacterias acéticas del género *Acetobacter* son capaces de oxidar entre otros los ácidos cítrico, mágico, DL- láctico, quínico y shiquínico y las bacterias lácticas pertenecientes a los géneros *Lactobacillus*, *Leuconostoc* y *Pediococcus*, los asimilan a través de diferentes rutas metabólicas (transformación maloláctica, etc.).

En general, la fermentación de los azúcares determina un aumento de la acidez por ácidos fijos si el germen es láctico homofermentativo, y por ácidos fijos y volátiles si se trata de un organismo heterofermentativo. La oxidación o fermentación de los ácidos orgánicos del mosto disminuye la acidez fija. Pero es importante saber que la susceptibilidad de las sidras a la alteración bacteriana depende fundamentalmente de su propia composición, así como de la temperatura de fabricación y conservación.

de penicilina y 100 ppm de estreptomina. Las placas fueron incubadas en periodos de 48-72 horas a 28° C.

Los recuentos de bacterias lácticas se realizaron sobre medio base de zumo de manzana y diversas sales minerales y factores de crecimiento. Se suplementó con 50 ppm de pimaricina. Las placas se incubaron en jarras de anaerobiosis en una atmósfera de H₂ + CO₂.

La determinación cuantitativa de bacterias acéticas se realizó sobre medio base de zumo de manzana, extracto de levadura y agar a pH 4.8 al que se había añadido 50 ppm de pimaricina y 25 ppm de penicilina. Las placas se incubaron como en el caso de las levaduras a 28-C.

Una vez realizados los recuentos en aquellas placas que presentaban entre 30-300 U.F.C /ml.* se procedió a la purificación y posterior conservación a -20° C en un medio líquido con un 40% de glicerol.

Las levaduras se identificaron basándose en caracteres morfológicos y bioquímicos, así como en las características de su reproducción sexual y asexual siguiendo los criterios de KREGER-VAN RIJ, (1984).

Las bacterias lácticas se identificaron por su aspecto morfológico, por su comportamiento homo-heterofermentativo respecto a la fermentación de la glucosa, y por los resultados obtenidos mediante las pruebas de identificación de las galerías Api 50 CHL.

Las bacterias acéticas se identificaron según LEY et al (1984), realizándose entre otras las siguientes pruebas de identificación: formación de pigmentos, oxidación del etanol, acetato, lactato, poder cetogénico,... etc.

*U.F.C. /ml = Unidades formadoras de colonias/ml.

RESULTADOS Y DISCUSION

a) Levaduras

La evolución de la flora levaduriforme en los toneles del C.E.A. sigue una curva en la cual se parte de niveles de 10^6 UFC/ml para alcanzar rápidamente sus valores máximos en 10^7 UFC/ml durante la fermentación tumultuosa. A partir de este momento, su número comienza a decrecer paulatinamente hasta llegar prácticamente a desaparecer en algunos toneles, mientras que en otros su representación se mantiene relativamente elevada.

Las levaduras llegan al mosto en su mayor parte a través de la superficie externa del fruto, lo que ha sido constatado en aquellos toneles en los que éste ha sido previamente lavado, ya que se ha encontrado un número inferior de microorganismos de partida en comparación a aquellos en los que el procesado del fruto no incluyó su lavado. Este parece tener no sólo influencia cuantitativa, sino también cualitativa pues la diversidad de géneros encontrados es también menor en los toneles en que la manzana ha sido lavada. Dado que la mayor parte de las especies aportadas por la epidermis del fruto son de tipo oxidativo, la disminución de su presencia tanto numérica como genérica no parece que afecte negativamente, sino todo lo contrario, al posterior proceso de fermentación. De hecho y aunque de forma espontánea, ya ocurre un desplazamiento de éstas por parte del género Saccharomyces durante la transformación de los azúcares del mosto a etanol, por lo que sería deseable la total eliminación de los géneros oxidativos, ya que no suponen ningún beneficio en el proceso de elaboración y representan una competencia por los sustratos.

Se ha observado que la mezcla dulce amarga presenta un número inferior de UFC/ml y una diversidad genérica menor que la mezcla ácida, lo que sin duda se explica por las diferencias existentes en la composición de la mezcla de manzana utilizada. Hay que unir los efectos del proceso tecnológico alternativo con un fruto cuya epidermis podría ser menos abundante en levaduras superficiales y un mosto cuya composición bioquímica es menos favorable para el crecimiento de Levaduras.

Las especies de levaduras encontradas en los mostos obtenidos con las distintas mezclas y los diferentes procesados pertenecen a los géneros Criptococcus, Hanseniospora, Kloeckera, Pichia", Citeromyces y Saccharomyces. En la fermentación tumultuosa, Saccharomyces se encuentra ya en más de un 50% en todos los toneles. Las condiciones de anaerobiosis y la abundancia de sustratos fermentables presentes en este momento favorecen de forma clara la proliferación de esta levadura que continúa aumentando su presencia hasta la fermentación maloláctica, donde alcanza niveles que oscilan entre el 90-100% en todos los toneles.

Únicamente en el control de embotellado, debido a una probable oxigenación y contaminación de la sidra, se observa de nuevo la presencia de algún género oxidativo representados por *Kloeckera* Y *Cándida*.

Dentro del género *Saccharomyces*, la especie encontrada de forma mayoritaria fue *Saccharomyces cerevisiae* de la que se consiguieron identificar distintas razas, aunque también apareció, sobre todo en las primeras etapas, *S. kluyveri*, especie de escaso interés desde un punto de vista tecnológico.

b) Bacterias lácticas

La población de bacterias lácticas, de igual manera que la levaduriforme, está notablemente influenciada por el proceso tecnológico seguido, así como por la mezcla de manzana utilizada. Se ha comprobado que el sistema de clarificación prefermentativa por defecación enzimática incide en el desarrollo de las bacterias haciendo que éstas crezcan mejor en los mostos en que no se realizó la clarificación prefermentativa.

Del examen de la identificación de bacterias lácticas a lo largo del proceso de fabricación de sidra en la bodega experimental del C. E. A. se deduce que los géneros que predominan son *Leuconostoc* Y *Lactobacillus*, encontrándose en menor proporción *Pediococcus*.

c) Bacterias acéticas

Se han encontrado Bacterias acéticas durante todo el proceso de elaboración de las sidras, naturales y, en algunos momentos, en cantidades relativamente elevadas.

Los niveles más altos aparecen en los mostos sin fermentar (10^4 -- 10^6 UFC/ml). Ya que las bacterias acéticas están presentes en la manzana y como además la operación de llenado del tonel puede llevar varios días, el mosto sufre una elevada aireación, lo que favorece el desarrollo de estos microorganismos. Por otra parte, en el mosto hay ya una pequeña cantidad de etanol que es utilizada por estas bacterias para producir ácido acético.

En el caso de que los niveles de bacterias acéticas sean muy elevados durante estas fases previas a la fermentación tumultuosa, puede producirse una inhibición de las levaduras que la llevan a cabo, dando lugar a un paro en la fermentación antes de que todos los azúcares hayan sido consumidos.

En estas primeras etapas, la especie predominante es *Gluconobacter oxydans*, que es un microorganismo que prefiere la glucosa como fuente de carbono y de energía.

Cuando los azúcares van desapareciendo, al ser fermentados por las levaduras, aparece el género *Acetobacter*, que

puede utilizar los ácidos orgánicos, el etanol y los azúcares residuales como suministro de carbono y energía

Finalizada la fermentación tumultuosa, vuelve a elevarse el nivel de bacterias acéticas hasta valores variables según las condiciones de fabricación y composición del mosto, después del considerable descenso experimentado durante dicha fermentación. Es en estos momentos, mientras aún existe azúcar residual en el mosto y se están liberando nutrientes al medio, consecuencia de la lisis de las levaduras, cuando se presenta una mayor diversidad de especies acéticas. En este periodo cae el número de levaduras y aumenta el de bacterias lácticas, siendo el de bacterias acéticas el que puede experimentar mayores variaciones de unos toneles a otros según las condiciones de fabricación.

Paulatinamente va desapareciendo Gluconobacter oxydans, mientras que Acetobacter aceti se constituye en especie dominante, aunque también encontramos diversas cepas de A. liquefaciens y A. pasteurianus.

El desarrollo de bacterias acéticas, previo a la transformación maloláctica, puede tener ciertas repercusiones sobre dicha transformación que se cree son beneficiosas al simular el desarrollo de las bacterias lácticas que la reducen.

Al final de la fermentación lenta, Aceti es prácticamente el único representante del grupo acético que sobrevive, dada la disminución experimentada por sustratos fácilmente asimilables como los azúcares y el gran desarrollo experimentado por las bacterias lácticas. Los niveles encontrados de bacterias acéticas durante este periodo son variables (0-10 UFC/ml), en función de las condiciones de conservación y almacenamiento.

En las Figuras 1, 2 y 3 se muestran gráficas representativas de la evolución cuantitativa de levaduras, bacterias lácticas y bacterias acéticas correspondientes a algunas de las variantes tecnológicas y mezclas de manzana ensayadas.

CONCLUSIONES

Del estudio microbiológico realizado en la bodega experimental del C. E. A. durante el proceso de fabricación de la sidra, se puede concluir.

1- En el mosto de manzana se encuentran un gran número de levaduras oxidativas que no resultan beneficiosas para la elaboración posterior de sidra- Su número parece poder reducirse mediante determinados procesos tecnológicos como el lavado de la fruta

2- La especie responsable de la transformación de los azúcares del mosto en etanol es *Saccharomyces cerevisiae*. Su presencia ha sido detectada de forma claramente predominante a partir de la fermentación alcohólica.

3- La transformación maloláctica es llevada a cabo fundamentalmente por bacterias lácticas del género *Leuconostoc*.

4- El nivel de bacterias acéticas es importante en las primeras fases del proceso fermentativo destacando la presencia del género *Gluconobacter*. Sin embargo en la fase de conservación y maduración de la sidra predomina Acetobacter.

5- Se ha evidenciado que la presencia y actividad de los microorganismos que intervienen en el proceso fermentativo de la sidra se ven afectados, por diversos factores tecnológicos, por lo que el control de estos se confirma como posible vía para dirigir adecuadamente la calidad final del producto-

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- BEECH, W. (1972). Cider making and cider research—a review. *J. Inst-Brew.* 78, 477-491
- BEECH, F. W., DAVENPORT, R.R., (1970). The role of yeast in Cider making. In The Yeast (A.H. Rose and J.S. Harrison, eds.) Academic Press, London, 3, 73-146
- CARR, G., C.C. (1971). Microbiological aspects of production and spoilage of cider. *J. AAA. Batter.* 34, 1, 81-93.
- CARR, J.G., DAVIES, P.A., (1970). Homofermentative lactobacilli of cider including *Lactobacillus mali* nov. spec. *ap. 1. Bact.* 33, 768-774
- DE LEY, J., GILLIS, M., SWINGS, J. (1984). Acetobacteraceae. In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology—Williams & Wilkins—Baltimore
- DRYSDALE, G.S., FLEET, C.H. (1985). Acetic acid bacteria in some Australian wines. *Food Technol. in Australia*, 37, 1, 1720
- GILLILATILL, R.B., LACEY, J.P. (1966). An Acetobacter lethal to yeast in bottled beer. *J. In Brew.* 72, 291-303
- JOYEUX, A., LAFON-LAFOURCADE, S. RIBEREAU-GAYON, P. (1984). Evolution of acetic acid bacteria during fermentation and storage of wine. Appl. and Environ. Microb. 48, 1, 153-156
- JOYEUX, A., LAFON-LAFOURCADE, S. RIBEREAU-GAYON, P. (1984). Metabolisme des bacteries acetiques dans le mout de raisin—Consequences a l'egard de la fermentation alcoolique et malolactique. Sci. Ex 14 QS des aliments, 4, 247-255
- RING, S.W., BEELMAN, R.B. (1986). Metabolic interactions between *Baccharomyces cerevisiae* and *Acetobacter aceti* in a model grape juice/wine system. Am. J. Enol. Vitic. 37, 1, 5360
- KREGER-VAN RIJ, N., JIW. (1984). The Yeast, a taxonomic study. Elsevier S. Amsterdam
- LAFON-LAFOURCADE, S. (1986). Applied microbiology. Scientia. 42, 904-914
- LAFON-LAFOURCADE, S. RIBEREAU-GAYON, P. (1984). Les alterations des vins par les bacteries acetiques et les bacteries lactiques. Conn. Vig. Vin. 18, 1, 67-82.
- LODER, J.(ed), (1970). The Yeast a taxonomic study. Elsevier, North-Holland Publishing co.. Amsterdam

- MAUGENET, J. (1962). Les acetobacter du cidre: identification de quelques souches. Ann Technol. Agr. c., 11, 1, 45-53

- PASSMORE, S.M. , CARR, J.G. (1975).The ecology of the acetic acid bacteria with particular reference to cider manufacture. J. Apul. Bact. 38, 151-158.

- RIBEREAU-GAYON, J., PEYNAUD, E., RIBEREAU-GAYON, P., SUDRAUD, P. (1975). Traite d'oenoloaie Sciences et techniquen du vin. Dunod.

- SALIR,A.G.,DRILLEAU,J.F.,DIVIES,C. , LENZI,P.,(1987). Factors contributing to control of malolactic fermentation in cider. Sciences des Aliments,_7 (2j, 205-221

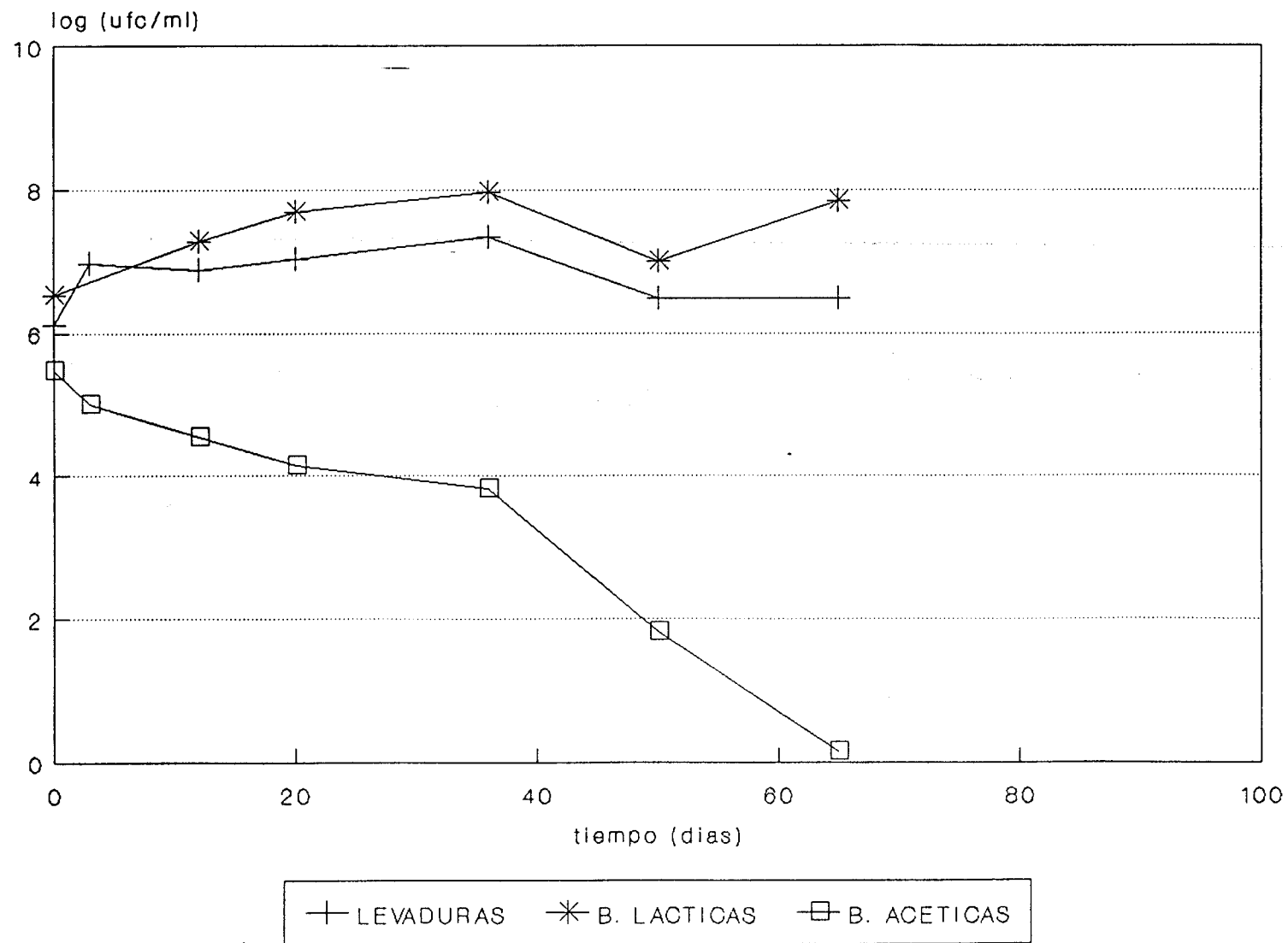
- SWINGS, J. and DE LEY, J. (1981). The Genera Gluconobacter and Acetobacter.In The ProliaryQ.t.es.z Springer-Verlag. Berlin

- WICKERHAN, L.J., FLICKINGER, M.H. Y BURTON, K.A. (1984) A modification of Henrici's vegetable-juice sporulation medium for yeasts- J.Bact. 52, 611.

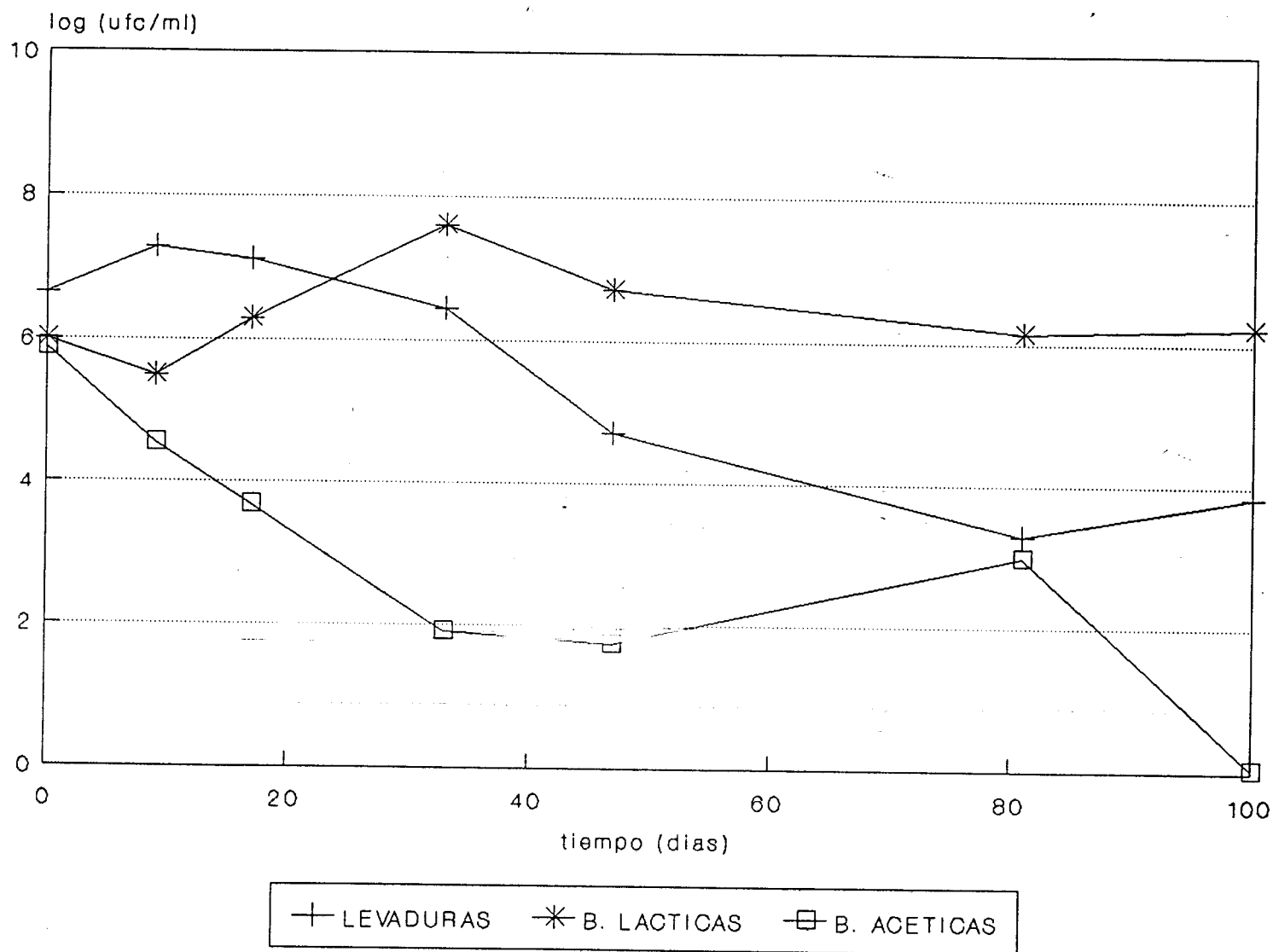
AGRADECIMIENTOS

- A Inma Fernández por el trabajo mecanográfico
- A Juan José Mangas, Juan Miguel Menéndez y Pedro Castro por sus aportaciones críticas en la elaboración del texto.
- A Javier Moreno por la elaboración de gráficas
- A Enrique Dapena por el diseño experimental de bodega
- A Ali Salih por su aportación en bacterias lácticas
- A Esteban Díaz por la gestión del proyecto en el que se incluye parte del estudio.
- A la Caja Rural Gijonesa por la beca financiada a la primera autora (En convenio con la Consejería de Agricultura y Pesca).

Gráfica 1.- Evolución de los microorganismos durante la fermentación del mosto de manzana. Corresponde a T₄ (mezcla ácida, tecnología alternativa, defecación enzimática).



Gráfica 2.- Evolución de los microorganismos durante la fermentación del mosto de manzana. Corresponde a T₆ (mezcla ácida, sistema tradicional, sin defecación enzimática).



Gráfica 3.- Evolución de los microorganismos durante la fermentación del mosto de manzana. Corresponde a T₁₀ (mezcla dulce-amarga, tecnología alternativa defecación enzimática).

