



# Fermentaciones de sidras de hielo: levadura autóctona vs levaduras comerciales

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

ANNA PICINELLI LOBO. Área de Tecnología de los Alimentos. apicinelli@serida.org

BELÉN SUÁREZ VALLES. Jefa del Área de Tecnología de los Alimentos. mbsuarez@serida.org

## Introducción

La elaboración de un producto diferenciado y de alta calidad como las sidras de hielo precisa el control de distintos factores tecnológicos que aseguren la obtención de sidras con la menor variabilidad posible entre cosechas o años (Picinelli Lobo y col., 2015; Pando Bedriñana y col., 2017).

En este sentido, la fermentación alcohólica conducida por las levaduras es una etapa que determinará la calidad y reproducibilidad de este tipo de sidras. El elevado contenido en sólidos solubles de los mostos (obtenidos por congelación) producirá en las levaduras un gran estrés os-

mótico. Bajo estas condiciones son habituales las ralentizaciones y/o las paradas de fermentación, así como los incrementos de acidez volátil. Una forma de controlar las fermentaciones es utilizar cepas de levaduras seleccionadas que, inoculadas al mosto en concentraciones superiores a las poblaciones indígenas, aseguren un buen desarrollo del proceso fermentativo. No obstante, a pesar de las ventajas que *a priori* tiene esta práctica, existe una cierta controversia sobre su utilización. El origen foráneo de las levaduras comercializadas en la actualidad, principalmente vínicas, puede producir un cambio en las características sensoriales de las sidras y por consiguiente una pérdida de singularidad.



Mezcla	M1		M2		M3	
	Durona de Tresali		Limón Montés + Perico		Verdialona + de la Riega+ Durona de Tresali + Raxao + Regona	
	Año	2014	2015	2014	2015	2014
Densidad (g/mL)	1,14811	1,14863	1,14804	1,14840	1,14782	1,14898
pH	3,42	3,43	3,30	3,25	3,22	3,24
AT (g sulfúrico/L)	12,07	12,20	14,85	12,87	14,77	15,59
PT (g tánico/L)	3,8	4,2	4,3	4,0	4,4	4,3

El SERIDA dispone de una Colección de Cultivos en la que se preservan microorganismos autóctonos aislados de sidras representativas de las localizaciones asturianas con mayor producción. Algunos de estos microorganismos han sido objeto de estudio en el marco de distintos proyectos de investigación. En este sentido, destaca la evaluación de la cepa autóctona *Saccharomyces bayanus* (C6) en la elaboración de distintos productos como la sidra natural, la sidra de segunda fermentación en botella o el aguardiente de magaya (Suárez y col. 2000; Pando Bedriñana, 2011; Rodríguez Madrera y col. 2016).

En este artículo se analiza el potencial de la levadura autóctona *S. bayanus* C6 para la obtención de sidras de hielo en comparación con dos cepas comerciales de origen vínico durante dos años consecutivos.

## Materiales y Métodos

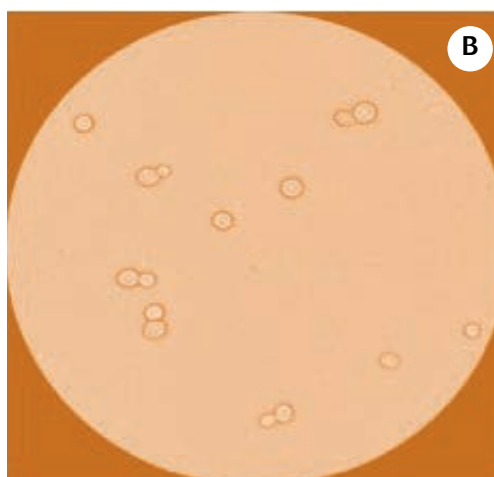
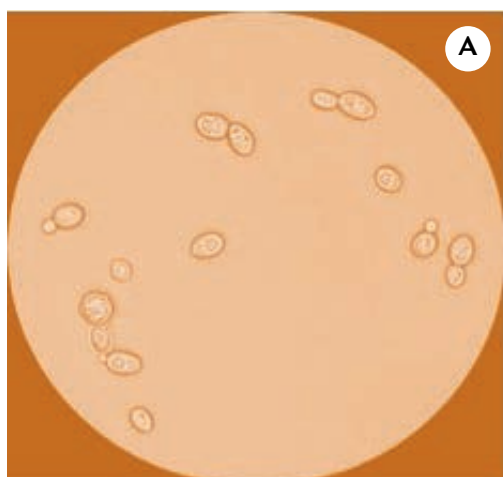
Cada año se fermentaron mostos enriquecidos en sólidos solubles mediante el

sistema de Agotamiento procedentes de la variedad Durona de Tresali y de dos mezclas de manzana (Pando y col. 2017). En la Tabla 1 se resumen sus características globales.

Las cepas de levadura utilizadas como iniciadoras de la fermentación fueron:

- *Saccharomyces bayanus* (C6), levadura autóctona perteneciente a la Colección de Microorganismos del SERIDA, baja productora de acidez volátil (Figura 1A).
- *Saccharomyces cerevisiae* (Levuline CHP, Oeno France), recomendada para la elaboración de vinos efervescentes.
- *Torulaspora delbrueckii* (Biodiva-TD291, Lallemand), indicada para la elaboración de vinos de hielo (Figura 1B).

Las fermentaciones se realizaron por duplicado en recipientes de 15L a 14 °C. En los mostos la cepa autóctona se inoculó a razón de 10 g de biomasa húmeda



↑  
**Tabla 1.**-Composición físico-química de los mostos enriquecidos.

AT: Acidez total, PT: Polifenoles totales (Folin)

←  
**Figura 1.**-Observación microscópica a 400X de cultivos puros de levaduras  
A: *S. bayanus* C6;  
B: *T. delbrueckii* (Biodiva-TD291).



por hectolitro ( $10^{10}$  ufc/mL), y las vínicas en la proporción de 25 g/hL.

Cuando las fermentaciones se dieron por finalizadas (grado alcohólico > 9% v/v) las sidras se mantuvieron en frío (2 °C, 72 h) para facilitar la decantación de las lías. Posteriormente, se clarificaron (10 g bentonita/hL, 10 días, 4 °C), estabilizaron (60 mg/L  $SO_2$  total/L), filtraron (1,2  $\mu$ m + filtro de membrana de 0,45  $\mu$ m), embotellaron y conservaron a 15 °C hasta su análisis físico-químico y sensorial que se realizó a los tres meses. Se determinaron los parámetros globales (densidad, pH, acidez total y volátil, y polifenoles totales), azúcares y volátiles mayoritarios según procedimientos acreditados (ENAC N° 430/LE 930) y métodos oficiales.

Los datos obtenidos fueron analizados mediante análisis de varianza, tomando como factores fijos, la mezcla de manzana y la cepa de levadura y como factor aleatorio el año de elaboración. Todos los resultados expuestos en este trabajo son el promedio de los duplicados.

## Resultados

### Etapa fermentativa y características físico-químicas de las sidras

En cada una de las 36 unidades experimentales se realizó un seguimiento quin-

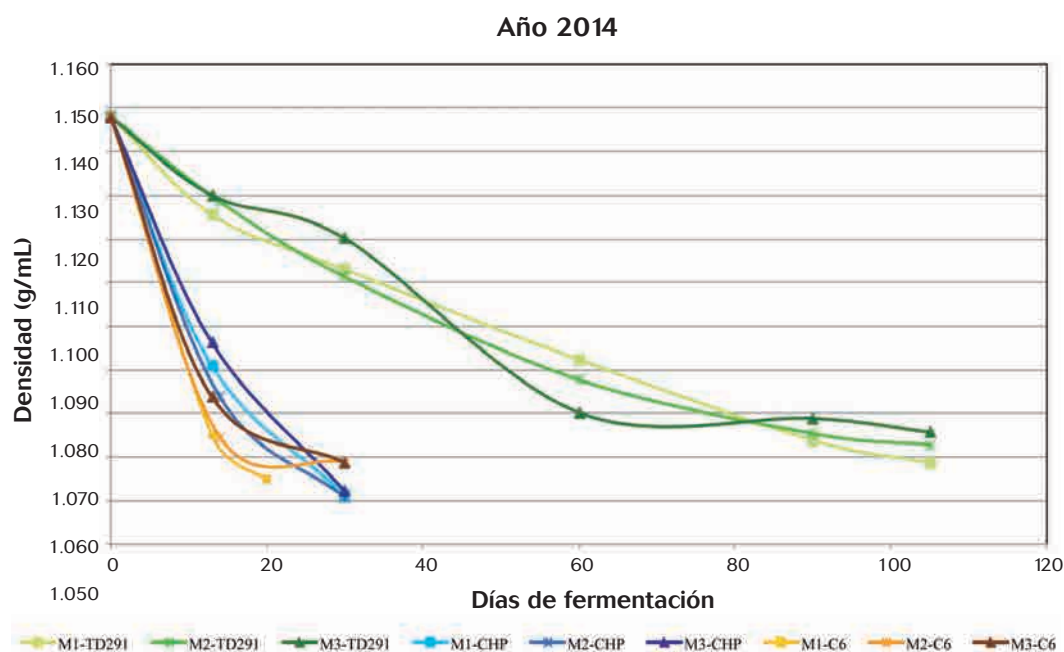
cenal de la concentración celular de levaduras, la velocidad para metabolizar azúcares y la capacidad para sintetizar etanol.

En todas las unidades experimentales se partió de un valor de densidad cercano a 1,150 g/mL, detectándose la máxima concentración de levaduras ( $10^7$ - $10^8$  ufc/mL) a los 15 días de fermentación. Conforme el proceso fermentativo avanzó se observó el declive de la población de levaduras, la cual disminuyó dos órdenes de magnitud, hasta el momento en el que se forzó la parada de la fermentación mediante aplicación de frío.

El consumo de azúcares por día de las cepas *Saccharomyces* fue prácticamente idéntico durante los primeros 15 días de fermentación (descenso entre 3 y 6 puntos de densidad). Mientras que, el ritmo de metabolización de los azúcares de *T. delbrueckii* fue menor, con variaciones máximas de densidad de 2 puntos diarios. Este hecho motivó que estas fermentaciones se prolongaran durante 105 días el primer año y 75 días el segundo. En la Figura 2 se recoge la evolución de la densidad de las fermentaciones inducidas en el año 2014.

Asimismo, en los primeros 15 días del proceso, la formación de etanol osciló entre 0,4 y 0,7 grados por día para las cepas *Saccharomyces*, y entre 0,2 y 0,3 pa-

→ **Figura 2.**-Consumo de azúcares de las cepas *S. bayanus* (C6), *S. cerevisiae* (CHP) y *T. delbrueckii* (TD291) en los mostos M1 (Durona de Tresali); M2 (Perico + Limón montes) y M3 (Verdialona + Durona de Tresali + de la Riega + Raxao + Regona).





ra la *T. delbrueckii*. A partir de dicho periodo, el poder fermentativo de la levadura autóctona y de *T. delbrueckii* fue de 0,1 grados por día, mientras que la cepa *S. cerevisiae* fue capaz de generar alrededor de 0,3 grados por día.

En la Tabla 2 y Figura 3 se recogen las características analíticas de las sidras de hielo de las dos campañas estudiadas. El análisis estadístico de los datos permitió establecer las variables significativas ( $p \leq 0,05$ ) en función de los factores estudiados.

La composición del mosto de partida (mezcla de variedades) resultó significativo para los parámetros pH, acidez volátil, azúcares, sorbitol, metanol y 1-butanol. Las sidras obtenidas de los mostos multivarietales (M3) presentaron la mayor acidez (menor pH), los niveles más altos de sorbitol y 1-butanol, y las menores concentraciones de metanol.

La cepa influyó significativamente en la formación del 2-feniletanol, destacando la mayor producción de la cepa autóctona C6, hecho característico de la especie *S. bayanus* a la que pertenece. Además, las sidras obtenidas con esta cepa presentaron la menor acidez volátil, valores bajos de acetato de etilo y elevada concentración en alcoholes superiores (Tabla 2).

Por el contrario la cepa vínica *S. cerevisiae* (CHP) dio lugar a sidras de hielo con menor densidad, mayor acidez volátil y mayor grado alcohólico. El alto poder fermentativo de esta cepa redujo la relación entre los azúcares residuales y la acidez total, aspecto relevante para alcanzar un buen equilibrio entre dulzor y acidez.

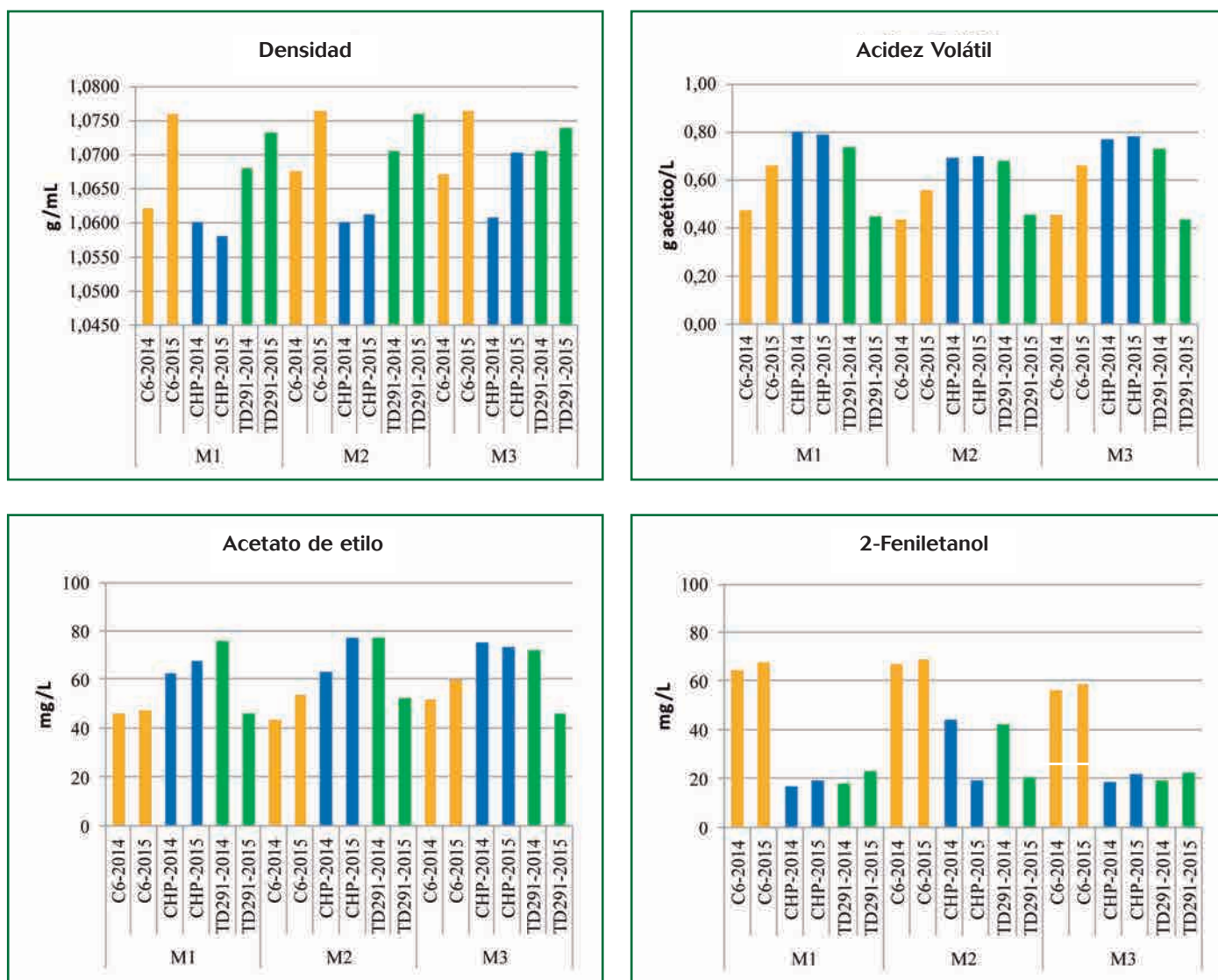
La cepa *T. delbrueckii* se mostró bajo productora de glicerina, acidez volátil y acetato de etilo.

↓  
**Tabla 2.**-Caracterización físico-química de las sidras de hielo elaboradas con las cepas *S. bayanus* (C6), *S. cerevisiae* (CHP) y *T. delbrueckii* (TD291).  
 PT: Polifenoles Totales (Folin);  
 AT: Acidez Total;  
 Alcoholes superiores (suma de 1-propanol, iso-butanol y amilicos);  
 M1: Durona de Tresali;  
 M2: Perico + Limón montes;  
 M3: Verdialona + Durona de Tresali + de la Riega + Raxao + Regona.

Parámetros analíticos	Mezcla Cepa	M1			M2			M3		
		C6	CHP	TD291	C6	CHP	TD291	C6	CHP	TD291
pH	2014	3,73	3,70	3,68	3,62	3,61	3,59	3,54	3,51	3,51
	2015	3,63	3,68	3,66	3,51	3,56	3,49	3,50	3,50	3,45
Grado alcohólico (% v/v)	2014	11,15	11,77	10,74	10,48	11,79	10,39	10,40	11,58	10,31
	2015	9,52	12,06	10,13	9,29	11,67	9,81	9,27	11,26	9,81
PT (Folin: g tánico/L)	2014	3,5	3,5	3,4	4,0	4,4	4,2	3,5	3,8	3,7
	2015	3,4	3,8	3,6	3,6	3,9	3,7	3,8	3,4	3,5
AZ/AT	2014	10,3	9,5	10,7	9,4	8,0	9,1	9,0	7,7	9,0
	2015	11,9	9,4	11,2	11,8	9,6	10,7	9,5	7,9	8,7
Glicerina (g/L)	2014	9,54	8,33	8,02	8,35	7,68	7,63	8,54	8,00	7,32
	2015	6,96	7,75	5,42	6,88	7,24	5,26	7,11	7,75	5,68
Sorbitol (g/L)	2014	26,5	25,9	25,9	20,8	20,5	20,5	26,7	26,8	26,2
	2015	19,7	20,1	19,8	16,8	16,5	16,9	20,3	20,5	20,4
Metanol (mg/L)	2014	53	51	52	55	53	54	42	40	41
	2015	40	41	40	43	44	43	30	29	27
1-butanol (mg/L)	2014	3	3	3	3	3	3	6	5	6
	2015	3	4	4	3	3	3	6	6	6
Alcoholes superiores (mg/L)	2014	378	274	284	372	281	291	384	278	285
	2015	260	278	256	282	265	249	278	274	252







↑  
**Figura 3.-**Densidad, acidez volátil, acetato de etilo y 2-feniletanol en las sidras de hielo elaboradas con las cepas *S. bayanus* (C6), *S. cerevisiae* (CHP) y *T. delbrueckii* (TD291).  
 M1: Duroña de Tresali;  
 M2: Perico + Limón montes;  
 M3: Verdialona + Duroña de Tresali + de la Riega + Raxao + Regona.

### Características sensoriales de las sidras

Las sidras fueron evaluadas sensorialmente por un grupo de cata integrado por 9 personas. Las muestras se sirvieron a una temperatura de 10-12 °C; se identificó la presencia de 8 atributos de olor y sabor (caramelo, manzana/frutal, floral, mantequilla, frescor, dulzor, amargor y astringencia) y se puntuó la valoración global o calidad de las sidras con una escala de cinco puntos, de acuerdo con la metodología descrita por Pando Bedriñana y col. (2017). La evaluación de los datos obtenidos se realizó mediante un test Chi-cuadrado, tomando como factores la mezcla de manzana y la cepa de levadura.

La cepa de levadura utilizada como inóculo influye en la percepción de los

atributos floral, manzana, y mantequilla, y las sensaciones de frescor, amargor y astringencia. Las sidras elaboradas con la cepa vínica *S. cerevisiae* fueron significativamente peor valoradas que las obtenidas con las levaduras *S. bayanus* y *T. delbrueckii*.

En la Figura 4 se representa la proyección sobre el plano de las dos primeras componentes principales de los 18 tipos de sidras elaboradas en este estudio y 10 variables sensoriales y analíticas (amargor, manzana, caramelo, frescor, valoración global, grado alcohólico, acidez volátil, relación azúcares residuales/acidez total, acetato de etilo y 2-feniletanol).

En la parte izquierda de la primera componente principal se agrupan todas

las sidras obtenidas utilizando la cepa vínica *S. cerevisiae*, las cuales están asociadas con valores mayores de grado alcohólico, acidez volátil y concentración de acetato de etilo. Estas sidras fueron las peor valoradas, debido a su gran amargor. En el lado opuesto de este eje se sitúan todas las sidras obtenidas con la cepa autóctona y la comercial *T. delbrueckii* en el año 2015, asociadas con aromas a manzana y caramelo, la percepción de frescor, una alta valoración global, y un mayor valor de la relación entre azúcares y acidez total, relación cuya relevancia en la valoración de la calidad sensorial ya había sido destacada por consumidores en sidras de hielo elaboradas por el método de Crioextracción (Picinelli Lobo y col., 2017).

### Conclusiones

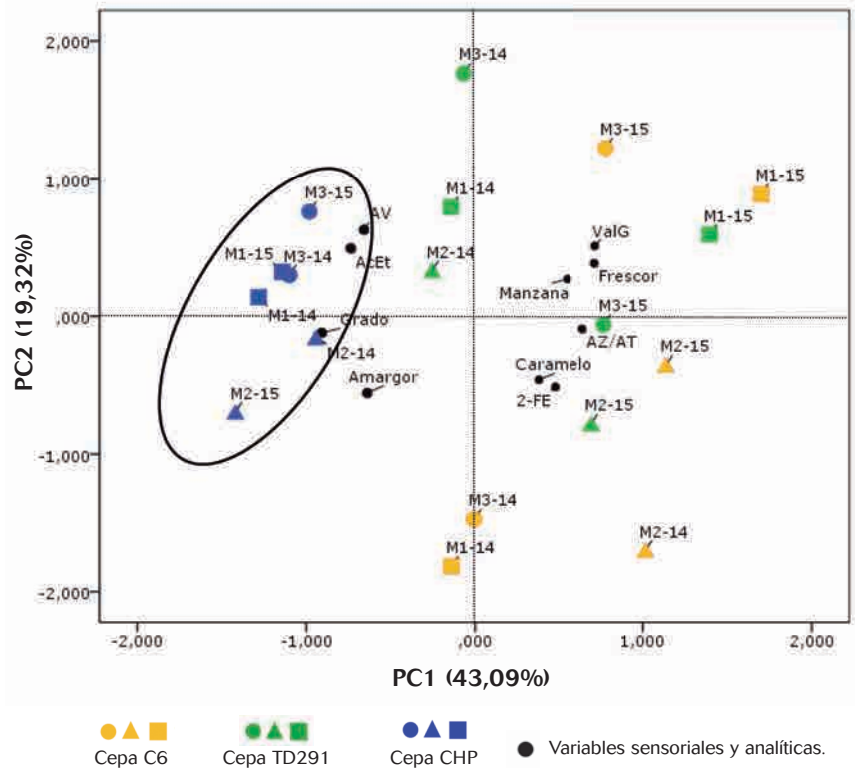
La levadura autóctona *S. bayanus* C6, debido a su muy baja producción de acidez volátil, tolerancia al choque osmótico y tipicidad aromática, está particularmente adaptada para la elaboración de sidras de hielo de calidad.

La levadura vínica *T. delbrueckii* TD291, indicada para obtener vinos de hielo, mostró velocidad de fermentación muy lenta y baja producción de acidez volátil y acetato de etilo.

La levadura vínica *S. cerevisiae* CHP, seleccionada para la obtención de vinos efervescentes, presentó una rápida cinética fermentativa, dando lugar a las sidras sensorialmente peor valoradas, con menor dulzor, mayor grado alcohólico y los niveles más elevados de acidez volátil y acetato de etilo.

### Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA RTA2012-00075) y cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional. Proyecto en colaboración con la empresa Valle, Ballina y Fernández.



### Referencias bibliográficas

PANDO BEDRIÑANA, R. (2011). Selección de levaduras para la elaboración de sidras naturales espumosas por el método tradicional o "Champenoise" II. *Tecnología Agroalimentaria* N° 10, 29-32.

PANDO BEDRIÑANA, R.; PICINELLI LOBO, A., & SUÁREZ VALLES, B. (2017). Evaluación de métodos para la elaboración de sidras de hielo. *Tecnología Agroalimentaria* N° 19, 36-42.

PICINELLI LOBO, A.; ANTÓN DÍAZ, M. J.; HORTAL GARCÍA, R.; PANDO BEDRIÑANA, R. & SUÁREZ VALLES, B. (2015). Evaluación analítica y sensorial de mostos de variedades asturianas enriquecidos por congelación. *Tecnología Agroalimentaria* N° 16, 36-40.

PICINELLI LOBO, A.; PANDO BEDRIÑANA, R. & SUÁREZ VALLES, B. (2017). Nuevos productos de la manzana de sidra: la voz de los consumidores, [www.serida.org](http://www.serida.org)

RODRÍGUEZ MADRERA, R.; PANDO BEDRIÑANA, R.; SUÁREZ VALLES, B. (2016). Enriquecimiento nutricional de la magaya con levaduras autóctonas. *Tecnología Agroalimentaria* N° 17, 46-50.

SUÁREZ, B.; RODRÍGUEZ, R.; PICINELLI, A.; MORENO, J.; MANGAS, J. J. (2000). Elaboración de sidra en condiciones controladas. *Alimentaria*. Septiembre, 123-128. ■

↑  
**Figura 4.-**Representación variables sensoriales, analíticas y de sidras de hielo elaboradas en las dos campañas.  
 AcEt: Acetato de etilo, AV: acidez volátil, AZ/AT: relación azúcares residuales/acidez total; ValG: valoración global; M1: Duroña de Tresali; M2: Perico + Limón montes; M3: Verdialona + Duroña de Tresali + de la Riega + Raxao + Regona, 14-Campaña 2014, 15-Campaña 2015.