



La fermentación maloláctica y la estabilidad microbiana de la sidra

FOTO: MIKEL ARRAZOLA

La industria sidrera en el País Vasco es un sector de importancia económica creciente en los últimos años con una producción actual estimada del orden de 10 millones de litros anuales. En la actualidad, el sector sidrero se encuentra en proceso de transformación, para adecuarse a las exigencias de la normativa sanitaria y para ofrecer un producto con características mejoradas en cuanto a la estabilidad fisicoquímica y microbiológica.

TEXTO: GAIZKA GARAI, IDOIA IBARBURU, SUSANA VELASCO, MAITE DUEÑAS Y ANA IRASTORZA (FACULTAD DE QUÍMICA, SAN SEBASTIÁN).

Este proceso ha repercutido en una mejora general de sus instalaciones, con el uso de recipientes de acero inoxidable con sistemas de refrigeración, instalación de túneles de lavado de manzana, y utilización de prensas de tipo neumático para una extracción más rápida y eficaz de los mostos.

Manzana local

Paralelamente, es cada vez mayor la cantidad de manzana sidrera local, gracias al esfuerzo realizado por la Diputación de Gipuzkoa para incentivar la plantación de manzanos de sidra. Las asociaciones de sidreros han promovido además la realización de proyectos de investigación en torno a la caracterización de la materia prima y de la influencia de diversas variantes tecnológicas en las características

fisicoquímicas, microbiológicas y organolépticas de la sidra, proyectos en los que nuestro grupo ha participado. Junto a ello, el sector sidrero viene persiguiendo en los últimos años la obtención de un distintivo de calidad (Denominación de Origen, EuskoLabel u otro distintivo protegido).

Como ocurre en la elaboración de otras bebidas alcohólicas, el principal proceso que tiene lugar en la producción de las sidras es la

fermentación alcohólica, que como es bien conocido, consiste en la transformación de los azúcares del mosto (principalmente glucosa y fructosa) en etanol.

Doble transformación

Junto con la fermentación alcohólica, ocurre otra transformación importante, que se denomina fermentación maloláctica. Esta consiste en la transformación del ácido L-málico de la manzana en ácido L-láctico

y es realizada por varias especies de bacterias lácticas. A diferencia de lo que ocurre en vinificación, el sidrero no controla generalmente el desarrollo de la fermentación maloláctica y ocurre espontáneamente en los mostos junto con la fermentación alcohólica. La realización de la fermentación maloláctica es fundamental para las características gustativas de las sidras.

Menos acidez

Disminuye su sensación ácida al paladar, debido que el ácido málico es más débil que el ácido láctico. Por otra parte, se consiguen sidras más estables desde un punto de vista microbiológico dado que desaparece el ácido málico, y por lo tanto una fuente carbonada consumible por las bacterias lácticas. Sin embargo, es importante destacar que la estabilidad microbiológica que sigue a la fermentación es relativa, debido a que la sidra contiene todavía nutrientes (glicerol, azúcares residuales, ácido láctico, etc) que pueden ser utilizados por las bacterias lácticas para su mantenimiento y permanen-



FOTO: MIKEL ARRAZOLA

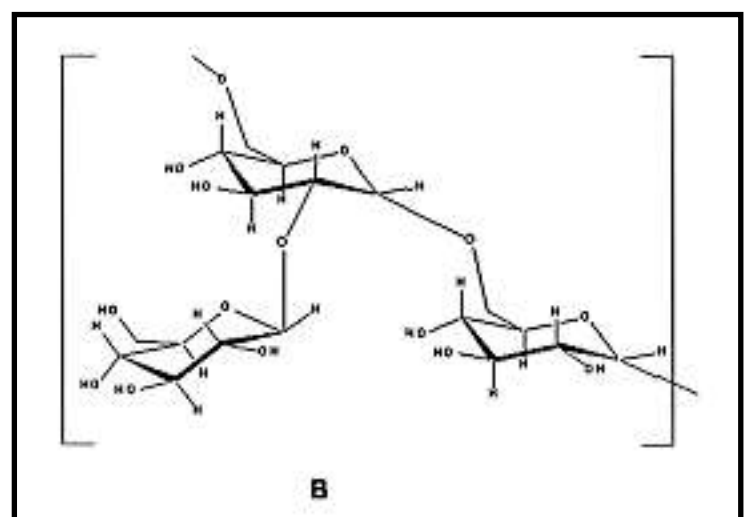
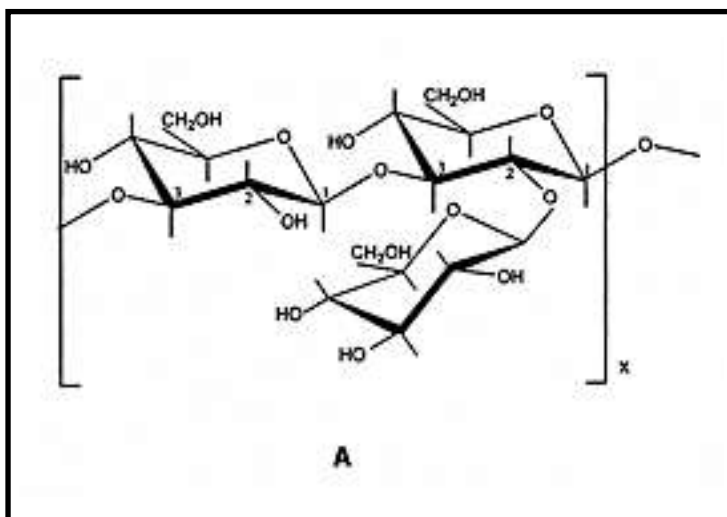
cia en las sidras en niveles elevados.

En la elaboración de sidras industriales, así como en vinificación se acostumbra a tomar las medidas apropiadas para estabilizar la bebida tras la fermentación maloláctica y antes del embotellado. Estas medidas generalmente incluyen tra-

siegos, clarificaciones, filtración, sulfitado, adición de enzimas y almacenamiento en condiciones controladas. Estas técnicas no son habituales en la elaboración de nuestra sidra natural, por lo que en ocasiones pueden sufrir diversas alteraciones de tipo microbiano, cuyos microorganismos responsa-

bles son fundamentalmente las bacterias lácticas. Una de las alteraciones que más preocupa al sector sidrero es la acetificación, que consiste en un aumento del contenido en ácido acético y que puede ser producido por levaduras, bacterias acéticas y lácticas. En la sidra natural el aumento en la acidez volátil se debe principalmente a las bacterias lácticas, que consumen los azúcares residuales de los mostos produciendo ácido acético. Este problema está bastante controlado en la actualidad, dadas las mejoras introducidas en la elaboración comentadas anteriormente y así en los últimos años se viene observando un claro descenso de este parámetro en las sidras ya comercializadas.

En segundo lugar aparece la alteración denominada como aceitado o grasa y que es debida a la síntesis y secreción por ciertas estirpes de bacterias lácticas de polisacáridos extracelulares. Estos provocan un aumento de la viscosidad de la sidra, la cual pierde su "txinparta" característica y la sidra cae pesada y con aspecto aceitoso si la alteración está muy



UNIDAD ESTRUCTURAL DE LOS GLUCANOS.

La fermentación maloláctica consiste en la transformación del ácido L-málico de la manzana en ácido L-láctico y es realizada por varias especies de bacterias lácticas.

avanzada. Nuestro grupo ha estudiado esta alteración en los últimos años y ha encontrado que las estirpes productoras pertenecen a las especies *Lactobacillus diolivorans*, *Lactobacillus suevoicus*, *Lactobacillus collinoides*, *Pediococcus parvulus* y *Oenococcus oeni*.

Hemos estudiado también la estructura de algunos de los polisacáridos que producen estas estirpes de bacterias lácticas. El conocimiento de su estructura química es importante porque nos proporciona información sobre el tipo de enzimas hidrolíticas que podrían utilizarse para degradar los polisacáridos. En este sentido pretendemos ensayar varias enzimas comerciales con el fin de evaluar su posible uso en sidrería y prevenir el desarrollo de esta alteración.

Todas las estirpes que hemos estudiado parecen coincidir en la síntesis de un mismo tipo de homopolisacárido, el cual lo hemos caracterizado como un glucano, constituido exclusivamente por glucosa y cuya unidad estructural se indica en la figura 2 A. Además, una estirpe de *Lactobacillus diolivorans*, es capaz también de producir otro homopolisacárido, que consiste en un glucano, con la estructura indicada en la figura 2 B. Además, nuestro grupo en colaboración con el Centro de Investigaciones Biológicas del CSIC y el Dpto de Bioquímica de la Universidad de Cantabria ha desarrollado un método rápido para la detección de bacterias lácticas productoras de los glucanos alterantes, mediante el uso de la PCR. Este método se basa en la detección del gen de la

enzima glicosiltransferasa implicada en la síntesis de los glucanos.

En el futuro pretendemos realizar una validación del método de detección a pie de bodega, con el fin de proporcionar a la industria sidrera una herramienta molecular de diagnóstico rápido de la presencia de estas bacterias indeseables. Este conocimiento les permitirá prevenir el desarrollo de esta alteración mediante el uso de la tecnología apropiada para eliminar estas bacterias contaminantes.

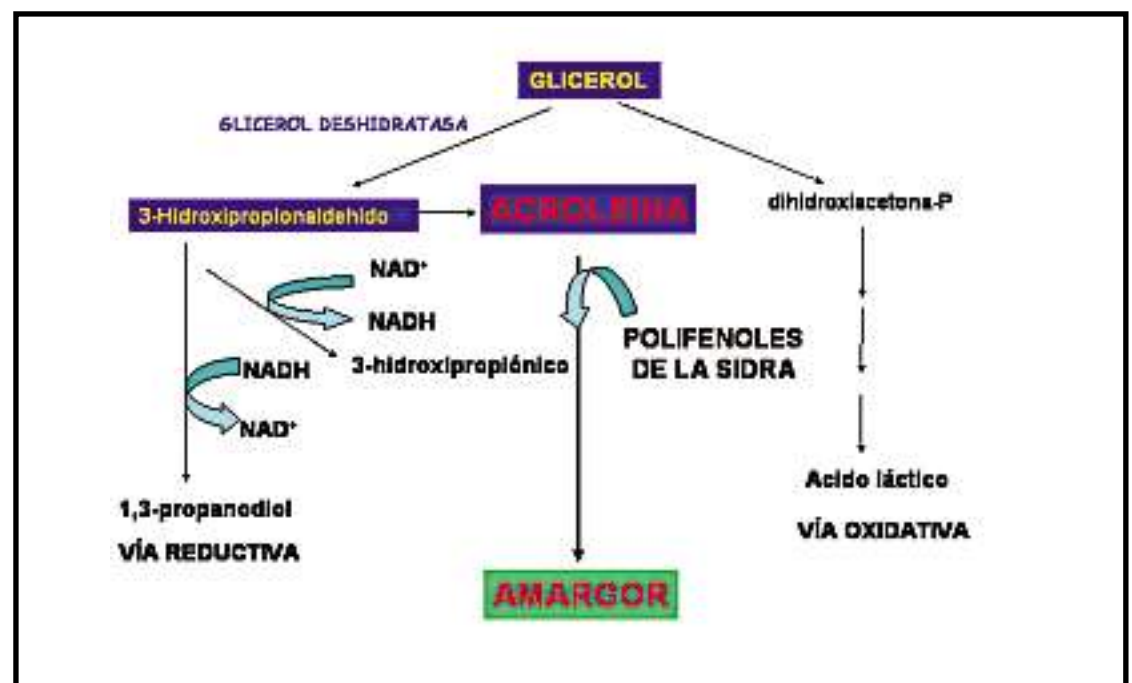
Finalmente, en las sidras del País Vasco están apareciendo algunos casos de la alteración denominada "amargor" o "picado acreoleico". El glicerol es producido en la sidra por las levaduras durante la fermentación alcohólica y juega un papel importante en las características sensoriales de la bebida, ya que contribuye a dar cuerpo y untuosidad a las sidras. Esta alteración es también

producida por ciertas especies de bacterias lácticas que consumen el glicerol y lo transforman por deshidratación en el compuesto 3-hidroxi-proprionaldehído (3-HPA). En la siguiente etapa, las bacterias lácticas reducen gran parte de este compuesto formando 1,3-propanodiol que se acumula en la sidra. El gusto amargo característico de esta alteración aparece cuando una pequeña proporción del 3-HPA es transformado espontáneamente en acroleína, que al reaccionar con los polifenoles de la sidra da lugar a compuestos de sabor amargo, que hacen a la sidra imbebible. Nuestro grupo ha aislado e identificado las bacterias lácticas responsables y ha encontrado que la especie predominante es *Lactobacillus collinoides*.

Las bacterias indeseables pueden ser detectadas por métodos de PCR usando cebadores específicos para el gen glicerol deshi-

dratasa que cataliza la deshidratación del glicerol a 3-HPA. En estos momentos estamos poniendo a punto este método, que servirá al sector sidrero, al igual que en el caso del aceitado, para la detección temprana de estas bacterias. Además y con el fin de minimizar la producción de 3-HPA, se están estudiando la influencia de factores tales como el pH, concentración y tipo de azúcares en el medio, adición de diferentes concentraciones de anti-sépticos sobre la acumulación de este compuesto.

Estos estudios han sido posibles gracias a la colaboración y financiación prestada por las Asociaciones de Sidreros de Gipuzkoa y Bizkaia y a la realización de proyectos de investigación financiados por la Diputación de Gipuzkoa, y por el Departamento de Agricultura y Pesca del Gobierno Vasco, que ha concedido una beca de formación a Gaizka Garai.



EL "AMARGOR" ES UNA ALTERACIÓN PRODUCIDA POR CIERTAS ESPECIES DE BACTERIAS LÁCTICAS QUE CONSUMEN EL GLICEROL Y LO TRANSFORMAN POR DESHIDRATACIÓN EN EL COMPUESTO 3-HIDROXI-PROPRIONALDEHÍDO (3-HPA).