

MICROORGANISMOS QUE APARECEN EN LA SIDRA

Los microorganismos más importantes que aparecen en la sidra y que a continuación desarrollaremos son las levaduras, las bacterias y los mohos.

La mayoría de los microorganismos que se encuentran en la sidra son resistentes a pH bajos y al alcohol, lo cual es importante en lo relacionado con la higiene, ya que la mayor parte de los gérmenes tóxicos para el hombre son poco resistentes a este pH y al alcohol.

Sin embargo, durante el desarrollo de algunos microorganismos se pueden producir productos indeseables desde el punto de vista toxicológico. Dando, algunos de ellos, durante la fermentación, sustancias como la histamina, etc.

LEVADURAS

Levaduras enológicas más importantes

La clasificación de las levaduras con base en sus caracteres morfológicos: reproducción vegetativa, gemación y bipartición, morfología celular en medio líquido y sólido, morfología de colonias, agrupaciones celulares y reproducción sexual, formación de ascosporas.

Y con base en sus caracteres fisiológicos: poder fermentativo, fermentación y asimilación de azúcares, hidrólisis de la arbutina, desarrollo en presencia de etanol, asimilación de ácidos orgánicos, asimilación de nitratos.

Levaduras apiculadas:

Kloeckera:

- ❖ Es una levadura apiculada del inicio de la fermentación
- ❖ Arranca fermentaciones muy grandes pero solo a los 3° ó 4° de alcohol
- ❖ Aguanta muy poco el SO₂
- ❖ Produce mucho ácido acético

Hanseniospora:

- ❖ Género dotado de actividad fermentativa muy escasa ya que necesita mucha cantidad de azúcar para producir 1° alcohólico
- ❖ Forma esporas y tiene la capacidad de crecer a 37 °C
- ❖ Aguanta poco el SO₂ al igual que la Kloeckera, siendo también levaduras de principio de fermentación.

Estas levaduras aciculares se identifican fácilmente en mostos y pueden alcanzar poblaciones superiores a las 10⁶ unidades/ml en los primeros días de fermentación.

Levaduras contaminantes

Brettanomyces:

- ❖ Tiene forma redonda, esférica o elíptica, reproduciéndose por gemación
- ❖ Produce mucho ácido acético
- ❖ A veces forman unas pseudohifas limitadas por abajo, células hijas alargadas que se aparecen a pequeñas hifas de mohos. Este es un rasgo compartido por algunas levaduras nativas como puede ser el acetobacter.
- ❖ Suele crecer en los velos

Shizosaccharomyces pombe:

- ❖ Es la única levadura enológica que se produce por excisión, formando un tabique celular que divide su citoplasma por fisión binaria, como en una bacteria.
- ❖ Tiene forma elíptica o cilíndrica y con “septos” (separaciones)
- ❖ Aparece sobre todo en zonas cálidas y en años de sequía
- ❖ No asimila los nitratos
- ❖ Esta levadura produce la fermentación maloalcohólica, la cual no es muy conveniente ya que transforma el alcohol en ácido málico

Hansenula anomala:

- ❖ Tiene forma esférica o cilíndrica
- ❖ Se reproduce por gemación multipolar
- ❖ Es una levadura que asimila los nitratos en forma de nitrógeno nítrico
- ❖ Da el olor a picado en el vino formándose en los velos del mismo

Levaduras que forman velos

Candida famata:

- ❖ Levadura de forma redonda, cilíndrica o alargada dependiendo si aparece en un medio líquido o sólido
- ❖ Se multiplica por gemación multipolar
- ❖ Las especies candida que forman velo son en su mayoría aeróbicas oxidando el alcohol en dióxido de carbono y agua
- ❖ Es poco o nada fermentativa

Pichia fermentans:

- ❖ Se reproducen por gemación multipolar, a pesar de que aparecen algunas cadenas rectilíneas, formándose en ocasiones un extenso pseudomicelo
- ❖ Dentro de la especie pichia podemos destacar a la levadura pichia membraeformis
- ❖ Colonias blancas o ligeramente verdes a los días, cambiando a un color grisáceo y marrón con el tiempo
- ❖ Estas colonias producen ácido, son de aspecto arrugado o verrugoso y con márgenes dentados e irregulares
- ❖ Viven a expensas del etanol (CO₂ y agua) y de ácidos orgánicos
- ❖ Esta levadura produce una cata neutra ya que no desprende ningún olor

Rhodotorula:

- ❖ Tiene forma redondeada y no tiene poder fermentativo
- ❖ Tiene pigmentos carotenoides, es decir, rosados-rojizos
- ❖ Es una levadura que no forma velo pero aparece cuando este se encuentra presente en el vino

Levaduras fermentativas

Torulasporea delbrueckii:

- ❖ Las células son esféricas o elipsoidales y tiene de 1 a 4 esporas
- ❖ Las pseudohifas parecen grupos de células con múltiples gemas unidas a una célula madre
- ❖ Se reproduce por gemación multipolar y resisten bien a los antisépticos como puede ser el SO₂

- ❖ Tiene una importante actividad fermentativa ya que es capaz de fermentar hasta 10° de alcohol porque es una rápida fermentadora de la glucosa
- ❖ Estas levaduras son utilizadas en fermentaciones con asociación escalar con otras levaduras de poder fermentativo elevado

Saccharomyces cerevisiae:

- ❖ Son bastante variables en su morfología celular y colonial
- ❖ Las células son generalmente ovoidales, esféricas, puede que ligeramente poligonales y de gemación multipolar formando de 1 a 4 esporas

Levaduras beneficiosas y perjudiciales para la sidra

Como conclusión podemos hacer un resumen clasificando las levaduras perjudiciales y beneficiosas para la sidra. Las levaduras beneficiosas para la sidra serían del género kloeckera, hanseniospora, torulaspora delbrueckii y saccharomyces cerevisiae ya que son levaduras fermentativas, siendo esenciales para la transformación del mosto en sidra. Hay una excepción como es el schizosaccharomyces pombe que, aunque también es una levadura fermentativa ya que produce la fermentación maloalcohólica, no es muy conveniente para la sidra ya que transforma el alcohol en ácido málico.

Las levaduras perjudiciales para la sidra serían la brettanomyces, la cual comunica a la sidra gustos desagradables como es el sudor u olor a cuadra saccharomyces ludwigii, hansenula anomala, dando el olor a picado en las sidras, zygosaccharomyces bailii, candida famata, pichia fermentans y rhodotorula, estas tres últimas forman velos en la sidra. La mayoría de estas levaduras son resistentes al alcohol, al anhídrido sulfuroso, a la ausencia de aire, permanecen vivas en la sidra, en estado latente durante meses. Es muy importante saber en qué medida pueden los diversos tratamientos de clarificación eliminar las levaduras y cuales son las especies mas dañinas.

Levaduras seleccionadas y levaduras indígenas

La fermentación de la manzana no puede ser una fermentación pura. No solo no es conducida, desde el principio al fin, por una sola especie de levaduras, sino que, la intervención de las bacterias lácticas es, en muchos casos, deseable. Es mucho mas complicado de lo que se imaginaban a principios de siglo, cuando se propuso el empleo de levaduras puras, llamadas seleccionadas, para la vinificación. Las llamadas levaduras seleccionadas no son, en realidad, selectas siempre. Se trata, por lo general, de levaduras cultivadas, aisladas en una región y designadas de acuerdo con su origen.

También tenemos que destacar que un mal empleo de las levaduras convierte, casi siempre, el tratamiento en una operación inútil. Para que este tratamiento sea eficaz, la siembra debe hacerse después de haber eliminado las levaduras indígenas, las que ya se encuentran en la manzana. Esto no es fácil de conseguir ya que no es posible esterilizar la vendimia, y las levaduras indígenas, mejor adaptadas, pueden incluso predominar sobre las levaduras introducidas pudiendo provocar paradas de fermentación.

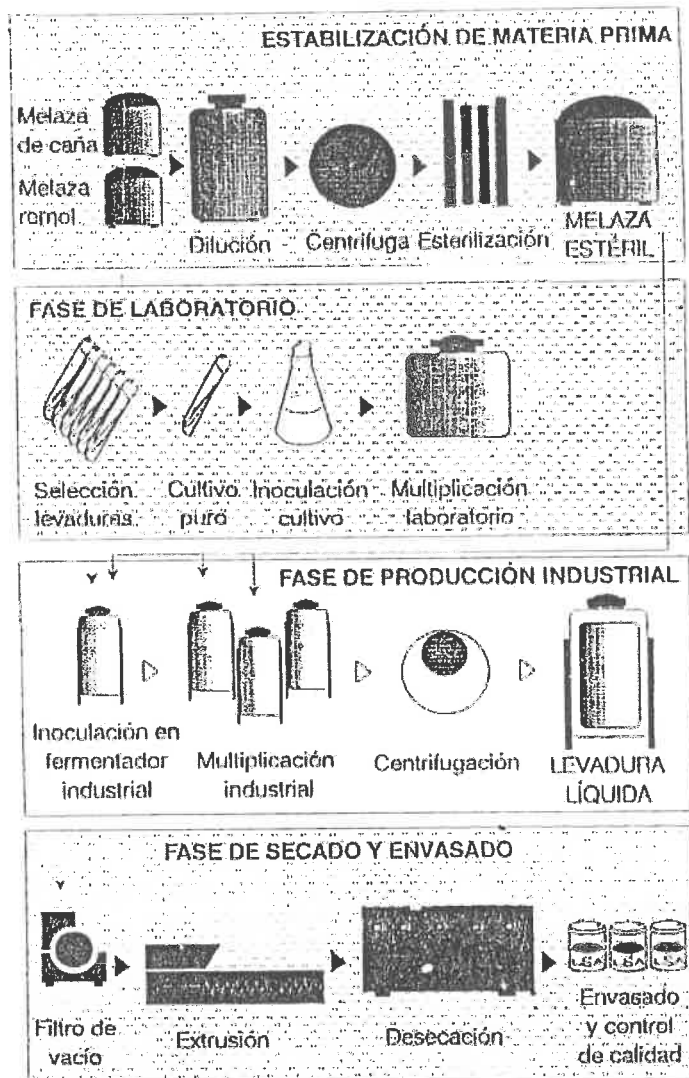
En este apartado habría que mencionar también a las levaduras Killer. El fenómeno Killer consiste en la liberación de toxinas, por parte de ciertas levaduras, cuando hay un aumento de temperatura o se producen pH ácidos, entre otros factores. Las toxinas killer actúan sobre las levaduras sensibles provocando alteraciones a nivel de la membrana plasmática, que originan la salida de sustancias de bajo peso molecular (nucleótidos, ATP; aminoácidos e iones) y que en definitiva provocan una alteración del gradiente electroquímico de la célula con la consiguiente muerte celular, es decir, provoca una salida de potasio al medio extracelular y una entrada de sodio al medio intracelular produciendo una acidificación del citoplasma lo que provoca la muerte celular.

Las paradas de fermentación suceden por varias causas, entre las cuales podemos destacar las que atañen a las levaduras como puede ser un choque térmico de temperatura superior a 10 °C, la cual es letal para las levaduras, la competencia entre levaduras o entre bacterias y levaduras por nutrientes, también un desfangado excesivo provoca la pérdida de levaduras, etc. Para prevenir estas paradas de fermentación, una de las acciones sería la utilización de levaduras seleccionadas consiguiendo un mejor resultado con cepas resistentes al alcohol, cepas *saccharomyces bayanus*, levaduras de segunda fermentación en botella, etc. Cada día se innova más en la mejora de las levaduras seleccionadas, una de las innovaciones es la mejora genética de las mismas. Primero se realiza un cruzamiento entre dos esporas de *saccharomyces cerevisiae*, a continuación se realiza la purificación de los caracteres seleccionados por cruzamientos excesivos. La utilización de estas levaduras produce una disminución de acidez volátil, un incremento en la producción de glicerol y lactato y una mejora de la destreza fermentativa. Las levaduras seleccionadas se suelen aplicar con la realización de un pie de cuba.

Los criterios de la selección de las levaduras enológicas son los siguientes:

- ❖ Bajas exigencias nutricionales con mayor competitividad en mostos muy desfangados con bajos niveles de nitrógeno fácilmente asimilable.
- ❖ Producción de polisacáridos solubles: coloides protectores frente a la estabilidad tartárica y proteica, fijación de aromas y soporte de bacterias malolácticas.
- ❖ Resistencia al secado y a la rehidratación.
- ❖ Buena actividad glicolítica: esta actividad se consigue con cepas frutófilas.
- ❖ Buena actividad enzimática: esto se consigue con levaduras resistentes a situaciones de estrés.
- ❖ Carácter POF: las cepas de levaduras POF-, hacen que la cinamato descarboxilasa no tenga actividad y no pueda formar vinil fenoles. Estos últimos por la acción del género *brettanomyces* puede originar etil-fenoles volátiles que son los que productores de aromas desagradables en la sidra. Este punto se explicará con más detalle cuando se desarrolle la enfermedad que producen las *brettanomyces* en un capítulo posterior.
- ❖ Obtención de los índices máximos característicos y genuinos de la sidra de la zona considerada.
- ❖ Máximo rendimiento en etanol por unidad de azúcar metabolizado, aunque actualmente es un concepto invertido.
- ❖ Producción mínima de acidez volátil.
- ❖ Regularidad en la actividad fermentativa: esto se consigue con una curva termodinámica adecuada, tratando de paliar el problema térmico en las distintas unidades fermentadoras.

PRODUCCIÓN DE LEVADURAS



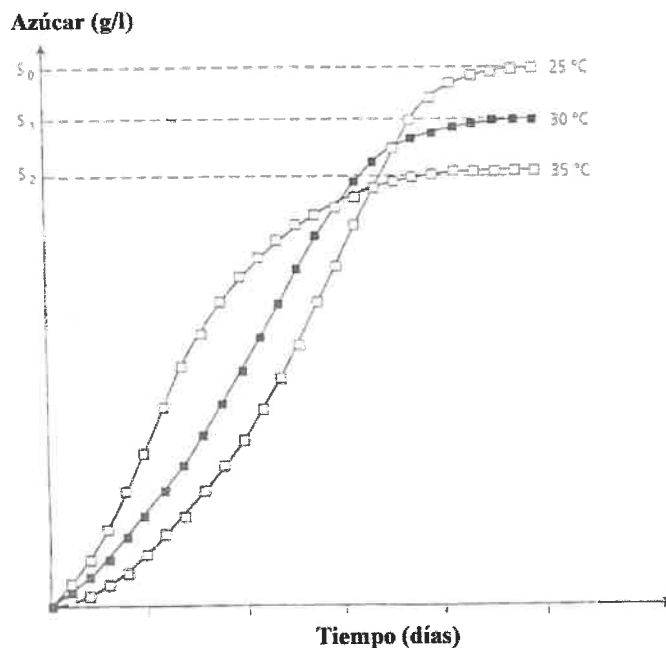
Condiciones del desarrollo de las levaduras

Influencia de la temperatura

Las levaduras pertenecen al grupo de los mesófilos, es decir, se desarrollan entre temperaturas de 20 y 40 °C, aunque su temperatura óptima de fermentación está entre 25 °C y 30 °C. A 40 °C o a temperaturas menores de 20° también se produce la fermentación pero transcurriendo muy lentamente. Aunque existen levaduras conocidas con el nombre de baja temperatura, formadas por cultivos de *saccharomyces*, estas levaduras se desarrollan con temperaturas de 15 a 20 °C y se utilizan, sobre todo, en la industria cervecera. En la industria enológica se utilizan las mismas

para la sidra, ya que la temperatura recomendada para esta vinificación es mas baja, de unos 20 °C.

Por debajo de 0 °C conseguimos inhibir a las levaduras pero no eliminarlas y con temperaturas superiores a 40 °C, como pueden ser 50 o 60 °C conseguimos eliminar a la mayor parte de las levaduras.



Influencia del oxígeno

Las levaduras necesitan oxígeno para multiplicarse. En ausencia completa de aire, en un mosto de manzana, se producen solo algunas generaciones y su reproducción se detiene. Si el estado sin aire se prolonga la mayoría de las células mueren.

Influencia del ph

El ph óptimo para una levadura se encuentra entre 5 y 6. Los ph altos, mayores de 4, favorecen la vida de las levaduras pero también de otros microorganismos que pueden ser perjudiciales para el mosto o la sidra. En los ph menores, de 2'9, la eficacia de las células se reduce pero viene eliminada toda la población microbiana mas sensible al ph. Es decir, permiten una vida más difícil para las levaduras pero una fermentación "más limpia".

Influencia de la limpidez del mosto

Influye sobre la producción coloidal por parte de las levaduras de fermentación:

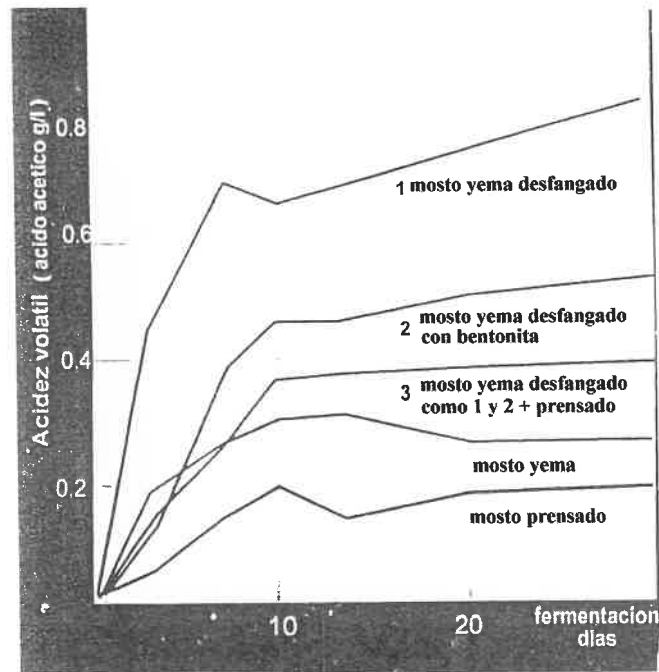
- ❖ Cuanto más límpido es el mosto mayormente viene estimulada la liberación de los coloides (manoproteínas) por parte de las levaduras.
- ❖ En cambio cuanto más cantidad de coloides de la manzana estén presentes en el mosto, es decir, cuando el mosto esté más turbio, las levaduras estarán menos estimuladas para producir estos coloides.

Influye sobre la fermentabilidad del mosto:

- ❖ Cuanto más empobrecido venga el mosto de sus coloides, es decir, cuando está más límpido, más lenta y difícil es la fermentación alcohólica.

Puede influir en la constitución de la sidra:

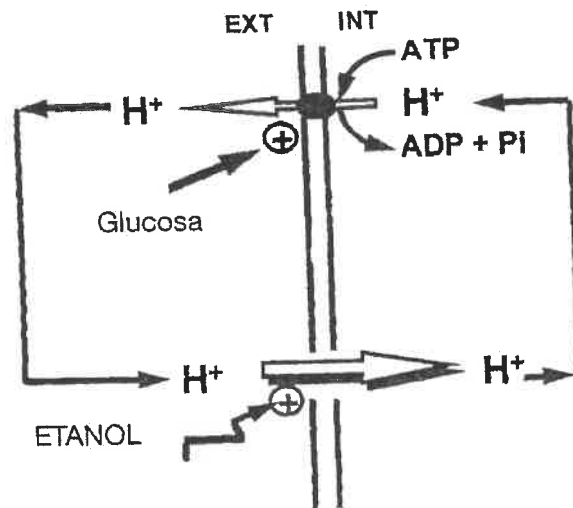
- ❖ Algunas veces durante la fermentación de mostos límpidos se ha observado un aumento anormal de acidez volátil. Esto puede deberse al estrés de las levaduras que puede ser producido por la falta de vitaminas, aminoácidos, nitrógeno inorgánico, etc., ya que en el mosto límpido se han eliminado una parte de estos elementos.
- ❖ Los mostos límpidos favorecen la producción de aromas fermentativos.



* En la gráfica anterior podemos observar que durante la fermentación del mosto se produce una mayor producción de acidez volátil cuando nos encontramos con mostos límpidos. Esto puede ser debido al estrés originado por las levaduras, ya antes mencionado.

Influencia del etanol

A veces el etanol puede provocar cambios sobre la fluidez de la membrana plasmática de la levadura y su permeabilidad a los protones. Estos cambios en la membrana de la levadura provocan paradas en la fermentación.



En la gráfica anterior se puede observar como se produce un deterioro de compuestos de membrana celular debido al incremento de etanol:

El etanol provoca cambios en la permeabilidad de la membrana. El etanol se une a lípidos de membrana incrementando su permeabilidad. Las células tienden a adaptarse al medio modificando la composición de la membrana, pero si disminuye su capacidad de respuesta: aceleración de la entrada pasiva de protones lo que implica una bajada de pH.

Supervivencia, mantenimiento del pH interno mediante el bombeo activo de H^+ mediante el sistema ATPasa de membrana. El sistema ATPasa depende de la energía disponible, presencia de glucosa y es sensible al etanol.

La difusión de H^+ debido al aumento de permeabilidad implica la extorsión de H^+ debido a la bomba de protones de membrana (ATPasa), es decir, un incremento de la permeabilidad interfiere con los sistemas de transporte y conduce a pérdida de viabilidad y a la acidificación interna.

Para evitar el efecto tóxico del etanol hay que evitar las altas temperaturas durante la fermentación y realizar una adicción de oxígeno durante la fase de crecimiento celular para facilitar la síntesis de esteroides y ácidos grasos insaturados de membrana.

Necesidades nutritivas de las levaduras

Compuestos de nitrógeno

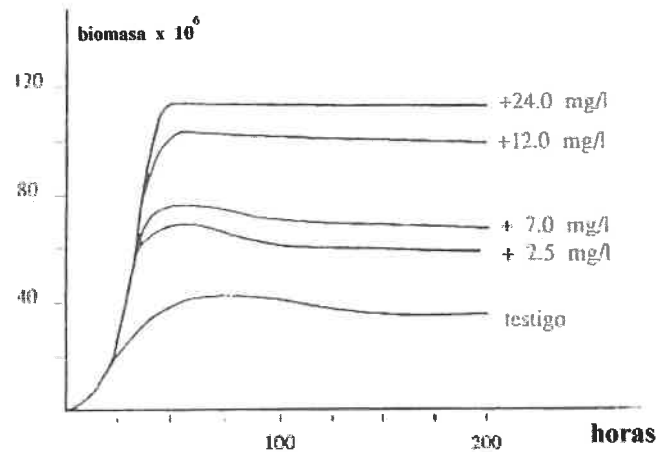
El nitrógeno fácilmente asimilable (NFA) es la fracción de nitrógeno del mosto que puede ser asimilado por las levaduras. Este nitrógeno es absorbido por las levaduras en forma amoniacal y en forma de aminoácidos excepto la prolina. El nitrógeno se encuentra en los mostos alrededor de 100 ó 150 mg de nitrógeno por litro. Este nitrógeno asimilable disminuye en condición de alta producción del manzanal, madurez avanzada de la manzana, clima cálido durante la maduración y no riego del manzanal. Según la dosis de nitrógeno asimilable nos podemos encontrar distintos casos:

- ❖ Sidras herbáceos y con aromas de reducción cuando el nitrógeno asimilable es superior a 300 mgN/L
- ❖ Buena cinética fermentativa con nitrógeno asimilable de 100 a 300 mgN/L.
- ❖ Problemas de fermentación cuando el nitrógeno asimilable es inferior a 50 mgN/L.
- ❖ Evitaremos fermentaciones lentas o paradas de fermentación con 140-150 mgN/L como mínimo.
- ❖ Reduiremos los riesgos de formación de H_2S con 200mgN/L.
- ❖ Incrementaremos la producción de ésteres con 250 mgN/L.

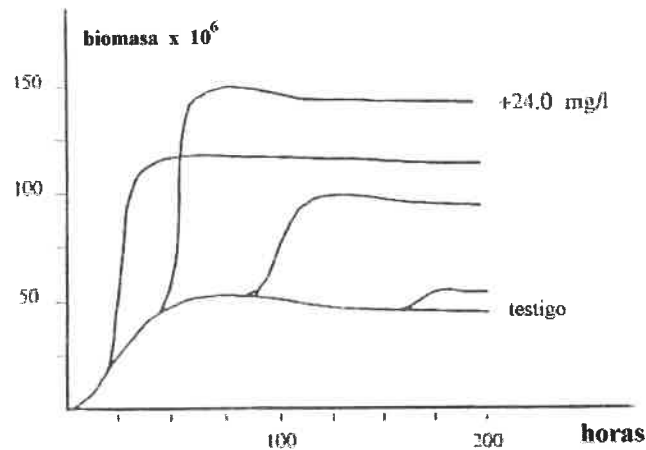
Oxígeno

El oxígeno es necesario al principio de la fermentación para la obtención de una cantidad importante de células, la síntesis de esteroides y ácidos grasos insaturados, además es requeridos por sistemas enzimáticos. Como activador importante de la fermentación podemos señalar a la combinación de oxígeno mas nitrógeno, siendo el momento más eficaz de adición de nitrógeno en la mitad de la fermentación y el momento óptimo de adición de oxígeno al final de la fase exponencial de crecimiento. La adición combinada de O₂ (5mg/l) al final de la fase de crecimiento y de nitrógeno (60 mg/l) en la mitad de la fermentación es mucho más eficaz que por separado. La adición del nitrógeno se realiza en forma de DAP (fosfato diamónico) y la del oxígeno mediante bombona.

EFECTO DE LA CANTIDAD AGREGADA



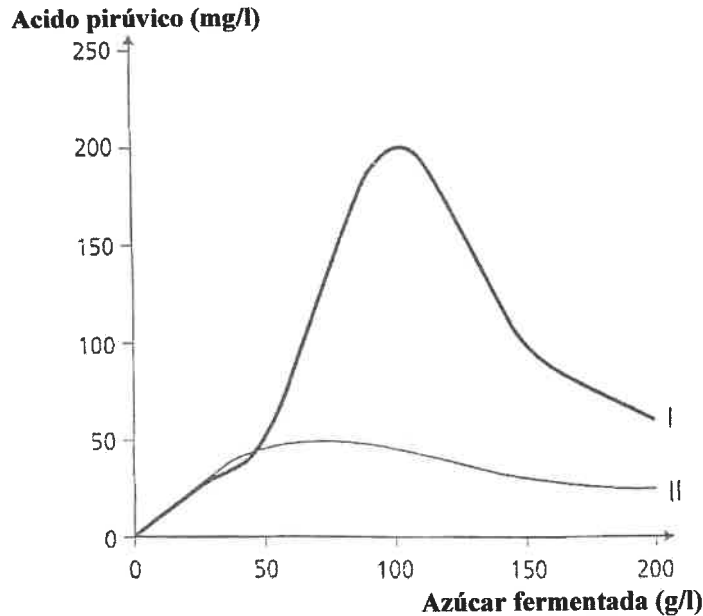
EFECTO DEL MOMENTO DE LA AGREGACIÓN



*En las gráficas anteriores podemos observar como una adición de oxígeno, sobre una muestra testigo, favorece a la biomasa celular, produciendo un agudo crecimiento en el momento de la agregación pero estabilizándose un poco mas tarde en cotas más bajas. Cuanto mayor es la adición de oxígeno mayor es el crecimiento de la biomasa y menos tiempo emplea en aparecer.

Vitaminas

Para las levaduras son factores de crecimiento ya que activan la multiplicación celular y aseguran una población inicial capaz de finalizar la fermentación alcohólica. En el mosto hay gran cantidad de vitaminas, entre las cuales se encuentran, como las más importantes, las del grupo B, el ácido pantoténico y el inositol. Entre las vitaminas del grupo B cabe destacar a la B₁ (tiamina), la cual es un activador de fermentación.



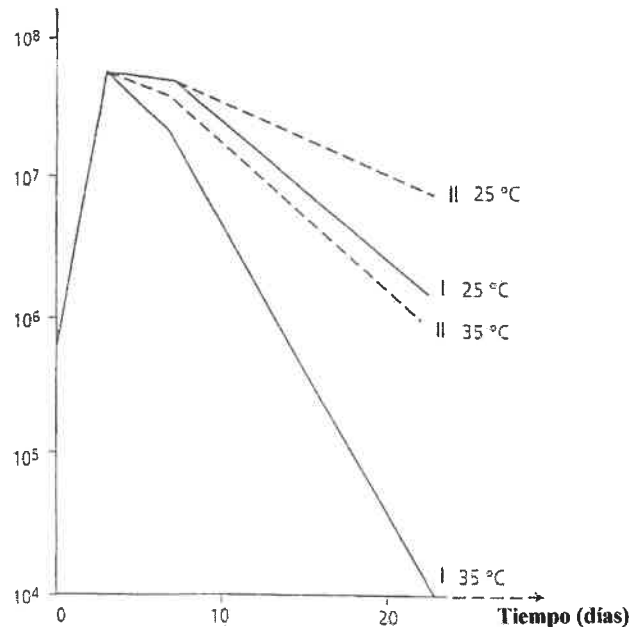
En la gráfica anterior se puede observar la influencia de la tiamina en la producción de ácido pirúvico durante la fermentación alcohólica, donde la línea I representa la muestra testigo y la línea II representa un suplemento de tiamina de 0'5 g/Hl.

Cuando se produce una adición de vitaminas al mosto, tenemos que tener en cuenta que pueden ser consumidas por la microflora salvaje, así, la tiamina es completamente usada por las levaduras en las primeras horas, la biotina es rápidamente utilizada por la *Kloeckera* y el pantotenato es rápidamente usado por los *Saccharomyces*. Además las vitaminas pueden ser inactivadas por el SO₂.

La biotina produce un incremento en la producción de ésteres y da una alta viabilidad a las levaduras al final de la fermentación alcohólica. La tiamina produce un mejor crecimiento celular y menos acetaldehído. El inositol es esencial en la síntesis de fosfolípidos de la membrana.

Esteroles y ácidos grasos insaturados

Son factores de supervivencia para prolongar la vida media. Una falta de estos compuestos en la sidra puede ser el origen de incrementos inusuales de acidez volátil. La disponibilidad de estos compuestos para las levaduras en completa anaerobiosis puede permitir una mejor eficiencia de la membrana celular.



En la gráfica anterior podemos observar la influencia de los esteroides como factores de supervivencia en la fase de declive a diferentes temperaturas, donde la línea continua I representa a la muestra testigo y la línea discontinua II a la adición de ergosterol. (Lafón-Lafourcade, 1983).

BACTERIAS

Las bacterias se pueden dividir en bacterias lácticas y bacterias acéticas, las cuales forman los dos grupos bacterianos de mayor interés en enología.

BACTERIAS LÁCTICAS

Características morfológicas

Estas bacterias pueden observarse al microscopio, de 900 a 1500 aumentos con formas variadas. Se pueden distinguir los cocos que son de forma redondeada u oval y los bacilos o bastones en forma de trazos mas o menos largos. Los cocos tienen de 0,4 a 1 micra de diámetro y los bacilos tienen 0,5 micras de espesor y de 2 a 5 micras de longitud. Aunque la mayoría de estas bacterias no se distinguen al microscopio porque sufren desarrollos debido a los agentes de enfermedades de la sidra.

La frecuencia de las bacterias lácticas, mayor en las sidras jóvenes que en los mostos, demuestra la función desarrollada por la microflora de los recipientes de la sidrería y por las manipulaciones de la vinificación en la contaminación bacteriana.

Características reproductoras

Las bacterias lácticas se reproducen por gemación o blastogamia, en la que la célula madre se fragmenta en dos o más células hijas, perdiendo su identidad original. Se trata de una escisión en la que las dos partes, en principio, son muy desiguales, pero la descendencia obtenida es idéntica al organismo que la ha originado, tratándose de un proceso asexual amiótico.

Características fisiológicas

Son capaces de descomponer el ácido málico y de atacar a los azúcares y ácido cítrico. Provocan la fermentación del ácido málico y la transformación de los azúcares en ácido láctico produciendo la fermentación maloláctica. Hay otras bacterias que son capaces de descomponer el ácido tártrico y el glicerol, siendo los agentes de alteración más importantes.

Las bacterias que provocan alteraciones o enfermedades trabajan en medios ácidos más bajos, atacando con más facilidad a los azúcares y componentes esenciales de la sidra, elevando, además, la acidez volátil. Son fermentadores obligados y son capaces de crecer en presencia de oxígeno, son desde anaerobios facultativos, es decir, se pueden desarrollar en presencia y ausencia de O₂, hasta microaerófilos, es decir, se desarrollan cuando la presión parcial de O₂ es menor que en el aire.

Bacterias lácticas más importantes en enología

En enología podemos destacar el *Pediococcus*, homofermentativo en el metabolismo de los azúcares y el *Leuconostoc* y *Oenococcus* como heterofermentativos. No podemos dejar atrás al *Lactobacillus* siendo homofermentativo y heterofermentativo. Entendemos como homofermentativo que el único producto resultante de la fermentación maloláctica es el ácido láctico y por heterofermentativo que además del ácido láctico, se produce el etanol y el ácido acético principalmente.

Oenococcus oeni

Tienen forma de cocos y son un poco alargados, dividiéndose, bajo condiciones favorables, transversalmente para producir largas cadenas. Algunas cepas forman cadenas de células casi redondas, pero la mayoría producen células rectangulares y de formas más alargadas. Las células se encuentran entre las más pequeñas que pueden crecer en la sidra, con diámetros aproximados de 1 a 3 micrómetros, pero pueden llegar a ser mucho más largas. Tiene la particularidad de que puede desarrollarse en pH bajos.

Pediococcus

Son cocos agrupados en parejas o tetradas pero nunca forman cadenas. Para conseguir estas tetradas o parejas se dividen en todos los planos. Las células varían considerablemente de tamaño de unas cepas a otras, pero se encuentran generalmente alrededor de 1 micrómetro de diámetro. Además estas células tienden a ser refractantes con brillo al microscopio de contraste de fases. Son bacterias Gram positivas y su pH óptimo está entre 5 y 6, siendo su temperatura óptima entre 25 y 40 °C, no forman esporas.

Leuconostoc

Son cocos agrupados en parejas y se encuentran más frecuentemente formando cadenas. Producen gas, CO₂, y ácido láctico. Reducen la catalasa y no forman esporas. Son bacterias Gram positiva, su pH óptimo varía entre 4,2 y 4,8 y la temperatura se encuentra entre 20 y 30 °C.

Lactobacillus

Este género tiene forma de bastoncillo y se puede encuadrar dentro de tres grupos.

- ❖ Grupo I; en este grupo se encuentran los homofermentativos estrictos como puede ser el *Lactobacillus mali* y el *Lactobacillus yamanashiensis*.
- ❖ Grupo II; lo forman los que son heterofermentativos facultativos destacando al *Lactobacillus plantarum* y al *Lactobacillus casei*.

- ❖ Grupo III; en este grupo se encuentran las heterofermentativas destacando al *Lactobacillus brevis* y al *Lactobacillus fermentatum*.

Las células de *Lactobacillus* son largas y delgadas de distinta longitud pero de diámetro, en general casi constante. Normalmente tienen extremos bastante cuadrados o suavemente redondeados y a menudo refractan brillantemente al microscopio de fases al igual que el *Pediococcus*. Estas células bacterianas se encuentran habitualmente en la sidra de forma individual o en parejas. Tienen un diámetro aproximado entre 1 y 2 micrómetros. Son bacterias Gram positivas y no forman esporas. Su pH óptimo está entre 5.5 y 6.2 y la temperatura óptima entre 30 y 40 °C.

Factores que influyen en su desarrollo

Influencia del pH

La mayoría de las bacterias se desarrollan mejor cerca de la neutralidad ya que a medida que el pH desciende, las bacterias van siendo inhibidas y la fermentación maloláctica es más difícil. Los cocos metabolizan mejor el ácido málico que los azúcares a pH bajos, en cambio, los bacilos metabolizan mejor los azúcares que el ácido málico a pH bajos. El pH óptimo para la proliferación de las bacterias se sitúa entre 4.2 y 5, por encima del pH de las sidras.

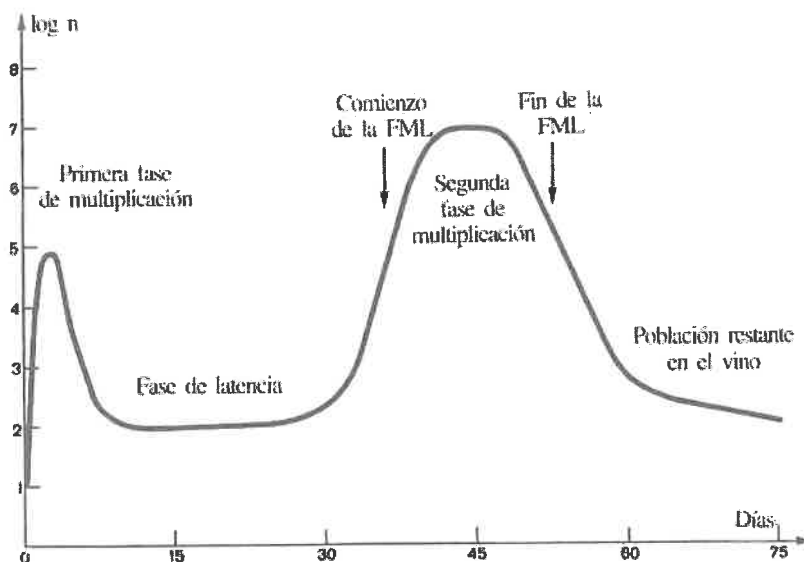
Entre pH 3 y 4, la fermentación maloláctica se inicia más rápidamente según el pH sea más elevado. El *Oenococcus* admite un pH menor que el *Lactobacillus*. El pH óptimo de la enzima maloláctica purificada es de 5.9, siendo el pH de 2.9, el valor límite para que se produzca la fermentación maloláctica, es decir, por debajo de este valor la fermentación láctica es, generalmente, imposible.

Cuando la manzana no está suficientemente madura y las sidras son ácidas, la fermentación maloláctica es más difícil de conseguir e interviene más tardíamente, aunque en este caso se desarrolla con menos riesgos de desviación. Las bacterias de las enfermedades se desarrollan mejor en las sidras de acidez baja. Por el contrario, éstos son precisamente las sidras más logradas, es decir, los más suaves y aterciopelados pero también los más expuestos a las alteraciones.

Influencia del crecimiento bacteriano espontáneo

La multiplicación bacteriana en el curso de la vinificación presenta dos ciclos. El primero empieza en las primeras horas del encubado, pero es interrumpido por la formación de alcohol, sufriendo esta multiplicación una fuerte regresión. Después de la fermentación alcohólica queda un número de bacterias vivientes muy variable, unas decenas de millares de bacterias por centímetro cúbico, produciéndose una fase de latencia.

La multiplicación se reanuda después de esta fase provocando la fermentación del ácido málico. Cuando la concentración bacteriana es demasiado débil no hay ataque del ácido málico, esta concentración debe superar un millón de células por centímetro cúbico. Después de la desaparición del ácido málico, permanece en la sidra una población bacteriana dependiendo del pH, sulfitado, procedimientos de clarificación, etc.



Esquema de la evolución de la población de bacterias lácticas y de la fermentación láctica en el curso de una elaboración.

Influencia de la temperatura

Las bacterias lácticas son mesófilas, es decir, su temperatura de desarrollo se encuentra entre los 15 y 45 °C. El crecimiento óptimo se sitúa entre 20 y 37 °C, aunque con el alcohol, la temperatura óptima disminuye a unos 20 ó 25 °C. Por encima de los 35 °C puede ser impedida la fermentación maloláctica y por debajo de los 15 °C se produce con gran lentitud. Las altas temperaturas multiplican las reacciones bioquímicas, metabólicas y la actividad celular. Las temperaturas mayores de 25 °C disminuyen el crecimiento y producen desviaciones metabólicas. En cuanto al desarrollo de la fermentación maloláctica, el frío del invierno constituye, en algunas zonas, un verdadero problema.

Influencia del oxígeno

Las bacterias lácticas toleran bien el oxígeno, pero no lo utilizan. Estas bacterias son microaerófilas y necesitan pequeñas cantidades de oxígeno pudiendo satisfacer estas necesidades con los trasiegos. Altas concentraciones de oxígeno son inhibitorias para su desarrollo. De todas formas, la influencia del aire depende de la especie bacteriana, ya que hay bacterias que se desarrollan mejor al resguardo del aire como pueden ser las anaerobias facultativas o por el contrario especies como puede ser el *Leuconostoc gracile*, que se ven favorecidas por un poco de aire.

Influencia del sulfuroso

El SO₂ molecular produce una acción inhibitoria sobre los enzimas citoplasmáticos, parando el crecimiento bacteriano. La acción del sulfitado depende del pH de la vendimia, ya que al anhídrido sulfuroso se le considera como un fijador de la acidez, y por supuesto del clima de la zona. Para pH=3 son necesarios 3 gramos de anhídrido sulfuroso/Hl, para pH=3'5 se necesitan 10 gramos de anhídrido sulfuroso/Hl y para pH=3'8, 20 gramos de anhídrido sulfuroso serán suficientes. En lo referido al clima, en las regiones septentrionales, un sulfitado de 5 gramos por hectolitro basta para anular a la fermentación maloláctica. El SO₂ combinado es de cinco a diez veces menos activo que el SO₂ libre, pero es preciso tener en cuenta que puede ser también de cinco a diez veces más abundante en la sidra. El *Pediococcus damnosus* es insensible al sulfuroso.

Influencia del grado alcohólico

Las bacterias aisladas de la sidra son resistentes al alcohol ya que se desarrollan y sobreviven en la sidra, pero su multiplicación se ve entorpecida por el mismo, sobre todo cuando el alcohol es superior a 8°. Aunque la resistencia al alcohol varía según géneros, especies y cepas, los cocos son más sensibles al alcohol que los bacilos.

Condiciones favorables para el desarrollo de la fermentación maloláctica

El desarrollo de la fermentación maloláctica depende del desarrollo de las bacterias lácticas, ya que si la concentración bacteriana existente en una sidra es muy baja, como ya hemos citado anteriormente, no se produce el ataque del ácido málico. También hay que destacar que la transformación maloláctica es muchas veces beneficiosa, en ciertos casos peligrosa y en otros contraproducente, de aquí la necesidad de estimular, moderar o impedir la actividad de las bacterias. A continuación, se mencionan factores favorables para el desarrollo de la misma.

- ❖ Mantenimiento de la temperatura sin variaciones de 15 a 22 °C.
- ❖ El pH debe de encontrarse entre valores de 3 y 4.
- ❖ Eliminar las bacterias lácticas una vez terminada la fermentación maloláctica mediante un trasiego con aireación y sulfitado homogéneo.???? Este proceso es necesario porque las bacterias lácticas cuando consumen el ácido málico continúan metabolizando cítrico y azúcares, incrementando la acidez volátil y produciendo violentos aromas lácticos. Además las sidras llegan a ser vulnerables a gérmenes causantes de enfermedades.
- ❖ Largas maceraciones con los posos crean un ambiente favorable para la fermentación maloláctica.
- ❖ El contenido volumétrico de alcohol no puede ser alto, ya que el alcohol destruye a las bacterias lácticas.
- ❖ El removido de las lías, células muertas de levaduras, favorece a la fermentación ya que actúan de micronutrientes para las bacterias.
- ❖ Las clarificaciones no deben de ser muy tempranas, al igual que las filtraciones, ya que se priva al mosto de un alto porcentaje de gérmenes necesarios para la transformación maloláctica.
- ❖ El anhídrido sulfuroso no debe de encontrarse en cantidades muy elevadas ya que las bacterias son muy sensibles al mismo.

BACTERIAS ACÉTICAS

Características morfológicas

Son células cilíndricas, frecuentemente en parejas cocobacilares cortas y algo gruesas, alineadas en forma de bastoncillo. Constituyen un grupo de morfología variable, polimorfo, que se presentan en forma elipsoidal o de bastoncillos, inmóviles o provistos de cilios. El tamaño de las células suele oscilar entre 0'6 y 3 milimicras. Muy importante resulta la agrupación celular que le confiere una gran importancia en el valor taxonómico. Podemos destacar la agrupación formada por dos cocos que forma el diplococo y si los cocos se sitúan en cadenas largas forman el estreptococo. Son bacilos Gram negativos.

Características reproductoras

Al igual que las bacterias lácticas se reproducen por gemación o blastogamia. Se trata de una escisión en la que las dos partes, en principio, son muy desiguales, tratándose de un proceso asexual amiótico.

Características fisiológicas

Ciertas especies producen pigmentos oscuros solubles en agua, otras pueden originar capas gruesas de composición similar a la celulosa de la célula vegetal. Tienen en común la posibilidad de producir ácidos por oxidación incompleta de azúcares o alcoholes, ácidos segregados temporalmente o productos finales sin valor en el medio de cultivo. Tienen un metabolismo aerobio estricto, son muy sensibles al SO₂ y además oxidan el etanol a ácido acético, incluso el acetobacter oxida el etanol a CO₂ y agua. El gluconobacter segrega toxinas

antilevaduras. En la superficie del vino forman un velo de diferente aspecto según la especie, casi transparente y adhesivo a las paredes. Su desarrollo es rápido y cubre toda la superficie del vino en poco tiempo, coloreándose de azul con yodo según la especie que lo forma.

Bacterias acéticas más importantes en enología

Los dos generos más importantes que aparecen en enología, clasificados sobre la base de la oxidación de algunas sustancias, son el acetobacter y gluconobacter.

Acetobacter

Las células son alargadas, de tamaño medio o grande, teniendo forma elíptica o bastonada y con extremos delgados y redondeados. Sus dimensiones se encuentran entre 0'6 y 0'8 micras de diámetro y de 1 a 6 micras de longitud. Son generalmente más grandes que las bacterias lácticas teniendo a menudo una forma irregular. Las células se distribuyen, en la sidra, en parejas, en forma individual o incluso formando cadenas, siendo aerobias obligadas, es decir, requieren la presencia de oxígeno para desarrollarse.

Oxida al lactato y al acetato a CO₂, siendo una bacteria móvil por flagelo peritrico o no móvil. Tiene un metabolismo respiratorio produciendo CO₂ + HO₂ y un metabolismo fermentativo oxidando el etanol a ácido acético y utilizando como fuentes de carbono al etanol, glicerina y lactato. La temperatura óptima de desarrollo para este género se sitúa entre 25 y 30°C, siendo también su pH óptimo entre 5'4 y 6'3. La especie mas conocida de este género es el acetobacter aceti.

Gluconobacter

Las células son elípticas o bastonadas la igual que las células del acetobacter, se distribuyen individualmente o en pareja pero rara vez lo hacen en cadenas. Sus dimensiones se encuentran entre 0'5 y 0'8 micras de diámetro y de 0'9 a 4'2 micras de longitud. Es una célula Gram positiva y aerobia obligada. Al contrario que el acetobacter no oxida a CO₂ el lactato y el acetato, teniendo un metabolismo estrictamente respiratorio. Es móvil por flagelo polar o no móvil. Su temperatura óptima de desarrollo se encuentra entre 25 y 30 °C, inhibiéndose con temperaturas superiores a los 37 °C. Su pH óptimo se encuentra entre 5'5 y 6. La especie más importante del género es el gluconobacter oxidans.

Factores que influyen en su desarrollo

Influencia del pH

El pH óptimo para el desarrollo de estas bacterias se encuentra entre 4'3 y 4'6. El pH mínimo para su desarrollo es del 2'8 y el máximo que aguantan es el 6'5 aproximadamente. Por esta razón las bacterias acéticas se desarrollan mejor en las sidras de acidez baja.

Influencia de la temperatura

La temperatura óptima de desarrollo se encuentra alrededor de los 30 °C siendo la temperatura máxima de desarrollo de 42 °C y la mínima de 5 °C. Consiguiendo así un intervalo de temperatura para su desarrollo un poco más amplio que el de las bacterias lácticas.

Influencia del oxígeno

Las bacterias acéticas, al contrario que las bacterias lácticas, necesitan el oxígeno para su desarrollo, es decir, son bacterias aerobias.

Influencia de la luz

La luz tiene un efecto pernicioso sobre las bacterias, exceptuando las dotadas de actividad fotosintética, ya que elimina todas las células expuestas a la luz.

Influencia del sulfuroso

Al igual que en las bacterias lácticas produce una acción inhibitoria, el SO₂ molecular, sobre las bacterias citoplasmáticas, parando el crecimiento bacteriano. Las bacterias se desarrollan con dificultad a partir de 100 mg/L de SO₂ total y a partir de 10 mg/L de SO₂ libre, aunque también

depende del pH y de la cepa bacteriana de la que se trata. Las bacterias metabolizan acetaldehído, por lo que el SO₂ combinada también es tóxico. Es de 5 a 10 veces menos activo que el SO₂ libre.

Otros factores

- ❖ Los compuestos fenólicos, generalmente inhiben el crecimiento, a excepción del ácido gálico y antocianos libres que estimulan este crecimiento.
- ❖ Los polifenoles mas inhibidores son los elagitaninos de las Kupelas (cuando son nuevas), las procianidinas de las pepitas.
- ❖ Los taninos enológicos actúan como antibacterianos
- ❖ Los pesticidas son altamente inhibitorios

Necesidades nutricionales

Las bacterias que realizan la fermentación acética de los vinagres de alcohol son capaces de desarrollarse en un medio mineral con dos fuentes de carbono, la glucosa y el etanol. Pero con los substratos utilizados en la industria, las necesidades nutricionales son mas complejas y las bacterias necesitan la adicción de extractos de levaduras. En condiciones industriales, el crecimiento a partir de glucosa es más ventajoso que el obtenido con etanol. En el vino se asegura un buen crecimiento de bacterias a veces con la adicción de fosfato amónico, cuando el amoniaco está en cantidad insuficiente.

ENFERMEDADES O ALTERACIONES OCASIONADAS EN LA SIDRA POR AGENTES MICROBIANOS

Durante la elaboración y conservación de la sidra, éste no se halla protegido de las acciones microbianas que puedan producirse ya que hay microorganismos diversos que se desarrollan en la sidra y en el mosto a expensas de sus componentes esenciales, modificándolos para dar lugar a cambios en la estructura organoléptica del mosto o de la sidra.

La alteración microbiana, entendida como un cambio en la composición química normal del vino por acción de ciertos microorganismos, tiene su origen en el primer concepto pasteuriano del fenómeno, al que también denominó enfermedad. Este último término, fue plenamente asimilado en el sector bodeguero ya que hay una complejidad que a veces entraña la alteración y es obra de la actividad microbiana.

También cabría destacar otras definiciones, en lo referido a vino enfermo: “Una sidra enferma es aquella, cuya normal constitución queda sensiblemente alterada como consecuencia de la vida activa en su seno de determinados microorganismos vivos”, y en lo referido a enfermedad de una sidra: “Desarrollo de microorganismos que crecen a partir de los ácidos orgánicos, restos de azúcares, aminoácidos, sales minerales, factores de crecimiento, provocando un cambio en la composición normal, sedimentos y pérdida del equilibrio organoléptico.”

La actividad de tales microorganismos causantes de enfermedades en la sidra, se traduce en los siguientes hechos:

- ❖ Alteración de la normal estructura de alguno de sus componentes.
- ❖ Aumento o disminución de la proporción normal en que se encuentran los componentes.
- ❖ Producción de cuerpos o sustancias extrañas que no se encuentran en las sidras sanas.

El estudio de las alteraciones microbianas de las sidras constituyen un proceso largo, dificultoso y en determinados casos da lugar a confusión, aunque hay tres maneras básicas de detectar una enfermedad en una sidra:

- ❖ Análisis sensorial: con este análisis podemos apreciar las alteraciones extremas producidas en una sidra, es decir, las modificaciones producidas en el aspecto, color, olor y sabor.

- ❖ **Análisis químico:** con este análisis podemos apreciar las modificaciones estructurales producidas en la composición de la sidra, es un análisis mas exacto para saber de que enfermedad se trata.
- ❖ **Análisis microbiológico:** es el método mas completo de todos, ya que nos pone de manifiesto cuales son los microorganismos que se encuentran en la sidra, permitiéndonos reconocer la naturaleza de la enfermedad. Además una vez determinado el número o proporción en que los microorganismos se encuentran, nos da una idea de la extensión y fuerza de la enfermedad.

Las tres maneras de detectar la enfermedad son complementarias unas de otras y debemos tomarlas, si es posible, en conjunto. Los resultados obtenidos en estos análisis varían en función de la composición de tales sidras, condicionada a su vez por factores ecológicos (suelo, clima, variedad de vid, etc.) y por los métodos aplicados en la elaboración del mosto de la manzana y la técnica de su fermentación; en definitiva, por la biotecnología de su vinificación.

Las alteraciones microbianas se pueden clasificar de varias formas, he aquí unos ejemplos:

❖ **Atendiendo a las condiciones:**

- Originadas por microorganismos aerobios: flores y picado acético.
- Originadas por microorganismos anaerobios: picado láctico, ahilado, agridulce, amargor, vuelta.

❖ **Atendiendo al componente mas afectado:**

- Etanol: flores, picado acético y avinagrado.
- Glicerina: amargor.
- Ácidos: amargor y vuelta atacando al ácido tartárico.
- Azúcares: ahilado, manita o agridulce y picado láctico.

❖ **Atendiendo al agente productor:**

- Originadas por levaduras: flores, refermentaciones y brettanomyces.
- Originadas por bacterias: picado láctico, picado acético, vuelta, amargor, ahilado.

La clasificación elegida para el desarrollo del siguiente capítulo ha sido precisamente el último ejemplo expuesto: Clasificación atendiendo al agente productor.

OCASIONADAS POR LEVADURAS

Las levaduras junto con los mohos son los que menos enfermedades producen. Los tres factores limitantes para el desarrollo producidos por estos agentes son: El grado alcohólico, ya que el etanol es un buen antiséptico, el pH bajo y las bajas temperaturas, que después de pasar la época de vinificación vienen en ayuda de su conservación, paralizando el crecimiento de un número grande de microbios. Los problemas microbiológicos en la sidra se pueden presentar durante el

almacenamiento en grandes recipientes o en las botellas, una vez envasado y puesto en el mercado. Las enfermedades producidas por las levaduras son las que a continuación se relatan.

BRETTANOMYCES

Brettanomyces es un género de levaduras que pertenecen al grupo de los ascomicetos. Este tipo de levadura forma un género con cuatro especies. De estas cuatro especies la que más destaca en el campo de la enología es su forma esporogénea *brettanomyces dekkera*.

Las secuelas que este microorganismo puede dejar en aquellos sidras en los que se desarrolla van desde el “olor a ratón” hasta aromas a “medicina” o incluso a “orín de caballo”. Es un tipo de levaduras muy complejo debido a que su eliminación es muy complicada y su desarrollo impredecible. El hábitat de las *brettanomyces* es muy variado y no difiere del de otras levaduras, principalmente está asociada a todo tipo de alimentos en fermentación. En aquellos medios que presenten azúcares fermentables, como es el mosto, su metabolismo se dirigirá a producir etanol y posteriormente grandes cantidades de ácido acético. Tiene capacidad filmógena, lo que significa que puede formar velo en la superficie del medio para realizar un metabolismo aerobio.

Esta levadura se ha hallado en la piel de la manzana de todo tipo de variedades pero no causa ningún tipo de enfermedad ni al fruto ni a la planta, simplemente se aprovecha de las secreciones azucaradas. En cambio, si la manzana esta tocada, hay más posibilidades de la aparición del género *brettanomyces*, ya que las levaduras de fermentación, como el *saccharomyces*, ven limitada su actividad por el empobrecimiento de materia nitrogenada asimilable producido por la manzana tocada, dejando así paso al género *brettanomyces*.

Cuando llega la época de la recogida de la manzana, la levadura llega al lagar adherida a la manzana, por lo que es la propia materia prima la que introduce la contaminación. Además, la mosca del vinagre, nombre científico *Drosophila melanogaster*, que es muy abundante en la época de la vendimia, se encarga de llevarla a todos los rincones de la sidrería.

La fermentación tampoco es una fase en la que se suelen causar dificultades. Si los mostos se encuentran poco sulfatados (normalmente no se sulfita en la sidra) puede comenzar a desarrollarse al comienzo de la fermentación, pero muy pronto es relegada a un segundo plano por la levadura *saccharomyces cerevisiae*, la levadura utilizada en los pies de cuba. Posteriormente, tras la fermentación, tumultuosa, es muy posible que entre la flora microbiana presente en la sidra comience a destacar el *brettanomyces*, sobre todo si las condiciones higiénicas durante la fermentación no han sido adecuadas.

Sin embargo el verdadero problema causado por el *brettanomyces* se suele manifestar después de un contacto prolongado, ya sea en depósito o en botella, ya que su poder destructivo no suele manifestarse tras cortos periodos de tiempo de desarrollo, pero no por esto las sidras jóvenes se encuentran exentos del ataque de esta enfermedad.

Las principales armas usadas por el *brettanomyces* para desarrollarse en la sidra son una gran habilidad para fermentar azúcares residuales y una extraordinaria adaptación a condiciones ambientales adversas como las que presenta la sidra: concentración de alcohol, pH ácido, etc. Tras la fermentación del mosto aun permanecen trazas de azúcares que pueden ser utilizadas por este tipo de levaduras para su desarrollo. Su crecimiento es lento y su metabolismo es bastante complejo.

En muchos casos la presencia de este contaminante no implica que la sidra vaya a enfermar, ni siquiera en un periodo prolongado. En otros, un depósito o una botella, pueden pasar de tener una sidra excelente a otro con una acidez volátil alta y unos aromas desagradables en cuestión de semanas. Si el desarrollo del *brettanomyces* no es excesivo, algunos sidras, en opinión de algunos expertos, pueden ganar en su complejidad organoléptica y en esos casos el aroma tipo “*brettanomyces*” es descrito como una mas entre sus cualidades.(Hoy por hoy está mal valorado)

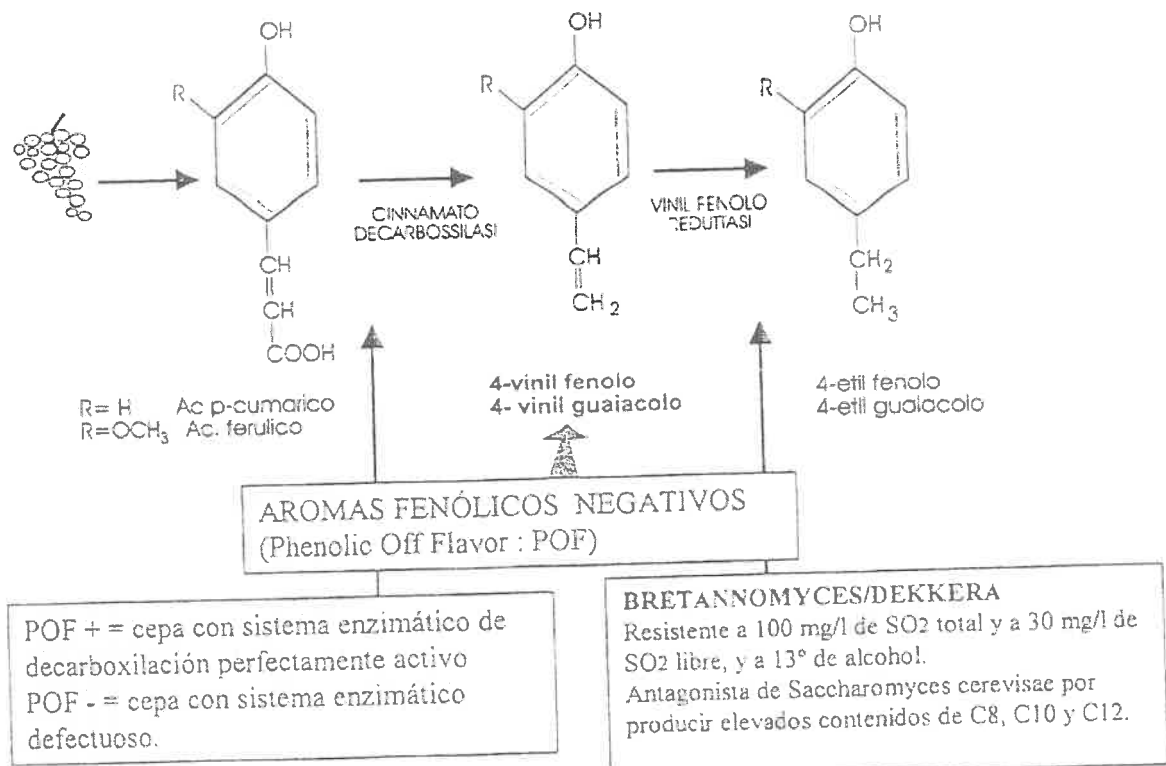
Además son cuatro los subproductos de esta levadura que pueden afectar a las características propias de una sidra:

- ❖ La producción de actividad esterasa que puede acelerar la pérdida del carácter frutal de una sidra.
- ❖ La producción de ácidos orgánicos y ácidos grasos volátiles entre los cuales podemos destacar al ácido acético o al ácido isobutírico.
- ❖ La producción de tetrahidropiridinas
- ❖ Compuestos fenólicos como 4-etilfenol y 4-etilguayacol que son los que confieren a la sidra contaminado aromas desagradables.

Forma de detectarla

La mejor forma de detectar esta enfermedad es mediante un análisis sensorial, basado sobre todo en el olor de la sidra enferma. Podemos percibir el olor a vinagre producido por el ácido acético, el cual contribuye a aumentar la acidez volátil, también producido por las bacterias acéticas, las cuales desarrollaremos un capítulo posterior.

También se pueden percibir fenoles volátiles que el *brettanomyces* produce a partir de polifenoles procedentes de la manzana como son el ácido cumárico o el ferúlico, dando aromas a “medicina” y a “madera húmeda quemada”, ya antes mencionados. Esto se produce con la descarboxilación de los ácidos hidroxicinámicos, la cual a continuación se representa.



Podemos apreciar, también, un “olor a ratón”, no solo causado por las *brettanomyces* sino causado también por bacterias lácticas, como veremos posteriormente con la enfermedad de la vuelta. Éstas actúan conjuntamente produciendo el olor a ratón o acetamida debido a la formación de derivados de la tetrahidropiridina a partir de lisina y etanol. Se aprecia, sobre todo, en boca debido a su escasa volatilidad y por la liberación de los ácidos salificados por acción de la saliva, por este motivo también podemos escuchar la frase “tiene gusto a ratón”.

Otra forma de detectarla sería observando si la levadura ha formado un velo en la superficie de la sidra, aunque se puede confundir con el velo formado por otras levaduras, por eso siempre hay que completarlo con el análisis sensorial antes mencionado.

También se puede detectar con un análisis exhaustivo de esta levadura en la sidrería o con técnicas de aislamiento, de hecho, en la actualidad, existen herramientas de biología molecular altamente específicas para detectar *brettanomyces* en la sidrería.

Forma de prevenirla

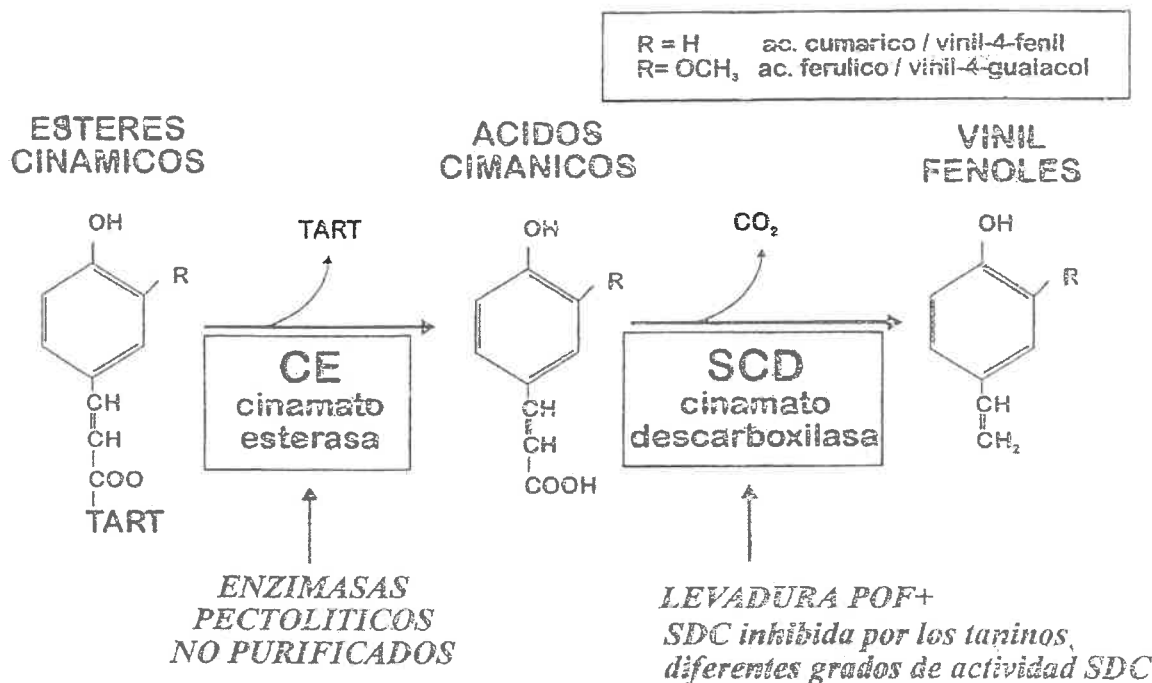
El anhídrido sulfuroso sigue siendo el principal antiséptico utilizado en la industria alimentaria. Este antiséptico, además de evitar el desarrollo de microorganismos indeseables como el *brettanomyces*, otras levaduras y bacterias, interviene positivamente en algunos de los complejos procesos que ocurren en el tiempo. Sin embargo, se han anulado las concentraciones de sulfito en la sidra ya que tiene una relativa toxicidad y en altas concentraciones frena el afinamiento y la polimerización fenólica. Como consecuencia, las sidrerías que han adoptado estos criterios para sus sidras son más vulnerables a contaminaciones por *brettanomyces*.

Algunos métodos para prevenir esta enfermedad son la desinfección de los depósitos mediante sosa cáustica, carbonatos alcalinos o agua caliente y el mantenimiento de las sidrerías a baja o media temperatura, sistemas que incrementan el coste de la producción. La limpieza de las kupelas habría que realizarla tratando a la madera, ya sea por medio de vapor, por agua hirviendo o manteniéndola un tiempo prolongado en agua ligeramente sulfitada. También existe una técnica de aislamiento que puede ser utilizada para el control de sidras antes de ser embotellada, evitando así la contaminación por *brettanomyces*.

Esto puede deberse a que cuando decae la actividad fermentativa de *saccharomyces cerevisiae* y aun quedan sustratos fermentables, la población de *brettanomyces* puede comenzar a aumentar, más aún si la sidra es oxigenada por un mal manejo en el momento del embotellado. Se podría sugerir que cuando la población de esta levadura es muy pequeña, el enriquecimiento puede ser no efectivo. Una de las variedades que no presentaba defectos organolépticos atribuibles al *brettanomyces*, nos indica que la población presente está aún por debajo del límite de detección sensorial.

Forma de combatirla

Las enzimas como la cinamilesterasa, la cual hidroliza los ésteres de los ácidos cinámicos como el ácido hidroxicinamil-tartárico son perjudiciales. La formación de los ácidos cinámicos, mediante la acción de la cinamato-descarboxilasa de las levaduras, llevan a la formación de vinil fenoles y éstas a su vez, por la acción de las *brettanomyces*, pueden dar lugar a la formación de etil-fenoles volátiles. Estos últimos son los que proporcionan a la sidra los aromas desagradables antes ya descritos. Las cinamilesterasas se pueden eliminar por ultrafiltración ya que tienen una masa molecular muy distinta a las pectinasas. Por esta razón, hay que utilizar cócteles enzimáticos en los que las pectinasas no tengan actividad cinamilesterasa.



En la imagen anterior se representa la formación de vinil fenoles en sidras donde POF⁺ es una cepa con sistema enzimático de descarboxilación perfectamente activo.

Otros métodos que se pueden aplicar para la eliminación de esta levadura consisten en la esterilización por filtración, que en capítulos posteriores desarrollaremos, o el empleo de dimetil dicarbonato, un conservante, el E-242. La agregación de este sulfito justo antes del envasado permite obtener la estabilidad biológica de la sidra que contiene azúcares susceptibles de fermentación. Ambas técnicas tienen, sin embargo, el inconveniente de las elevadas inversiones necesarias para su aplicación.

El corcho y los mohos

El corcho constituye un sustrato adecuado para gran número de microorganismos y la presencia de los mismos podría ocasionar alteraciones olfativas en la sidra embotellada. Los microorganismos asociados con el gusto a corcho son, en su mayoría, hongos filamentosos, aunque también se han encontrado levaduras y bacterias.

Se denomina gusto a corcho a la sensación producida por ciertos componentes volátiles que tienen su origen en el corcho. A medida que se han ido mejorando las técnicas y los análisis de componentes en una sidra, se ha ido descubriendo que los componentes volátiles que producen el fenómeno del "acorchado" son ciertos derivados clorados, más concretamente el 2,4,6-tricloroanisol, conocido como TCA.

Durante años el gusto a corcho fue algo a lo que los consumidores tuvieron que habituarse. El inicio de la investigación tuvo lugar estudiando la enfermedad de la mancha amarilla en la corteza del alcornoque, creyendo, en un primer momento, que ciertos mohos de los géneros *aspergillus* y *penicillium* podrían ser los responsables.

En 1981, un pequeño grupo de investigadores descubrieron que eran los compuestos organoclorados los que estaban detrás de los malos olores y sabores, descubriendo, a su vez, que el TCA tenía la característica de presentar el umbral más bajo perceptible en nariz por los humanos, siendo considerado, por lo tanto, el principal causante estos malos olores y sabores. Otra certeza lograda fue que, el corcho no era el único responsable del acorchado de las sidras, sino solamente lo eran aquellos corchos contaminados de TCA.

En 1997 se comprobó que el principal hongo, aunque no el único, causante de la aparición de TCA (2-4-6 tricloroanisol), el cual es un compuesto clorado volátil y organoclorado, era debido a la especie *armillaria mellea* (el hongo de la miel). Además se llegó a determinar que la mancha amarilla no era la única responsable, sino que había muchas otras fuentes de TCA y que los ambientes húmedos eran ideales para que habitaran mohos y bacterias con capacidad para generarlo. De hecho se cree que el TCA también puede originarse por degradación de bacterias y hongos o por generación de desechos cuando éstos interactúan con compuestos clorados.

Para conseguir tapones de corcho libres de TCA, la mayoría de los productores de corcho actuales emplean agua desclorada para lavado y vaporización y peróxido de hidrógeno y ozono para la desinfección y desodorización del corcho. Pero como la contaminación no solo procede del corcho, sino que también de cajones de madera, kupelas sin resina, paletas, etc.,

OCASIONADAS POR BACTERIAS

La mayoría de las infecciones importantes están relacionadas con el desarrollo de bacterias. La detección analítica de las mismas puede hacerse aparte de por los índices químicos, principalmente la elevación progresiva de acidez volátil, por el correspondiente control microbiológico.

Las bacterias productoras de alteraciones, excepto en casos muy aislados, no se encuentran solas, es decir, en cultivo puro, se suelen encontrar asociadas a otras bacterias o microorganismos. Además se ha comprobado que las bacterias son capaces de vivir bajo las más adversas condiciones, en presencia de otras bacterias, levaduras o mohos, permaneciendo vivas durante más tiempo que en ausencia de los mencionados microorganismos.

Dentro de las bacterias tenemos que destacar a dos grupos o divisiones: las bacterias lácticas y las bacterias acéticas.

OCASIONADAS POR BACTERIAS LÁCTICAS

Las bacterias lácticas se ven favorecidas con la presencia de las levaduras en la transformación del ácido málico en ácido láctico. Algunas especies de bacterias lácticas, las llamadas bacterias malolácticas, poseen el equipamiento enzimático necesario para la degradación del ácido málico. Aunque la fermentación maloláctica puede ocurrir en la sidra una vez embotellada, constituyendo, en este caso, una alteración que desmerece en su presentación al consumo. Las

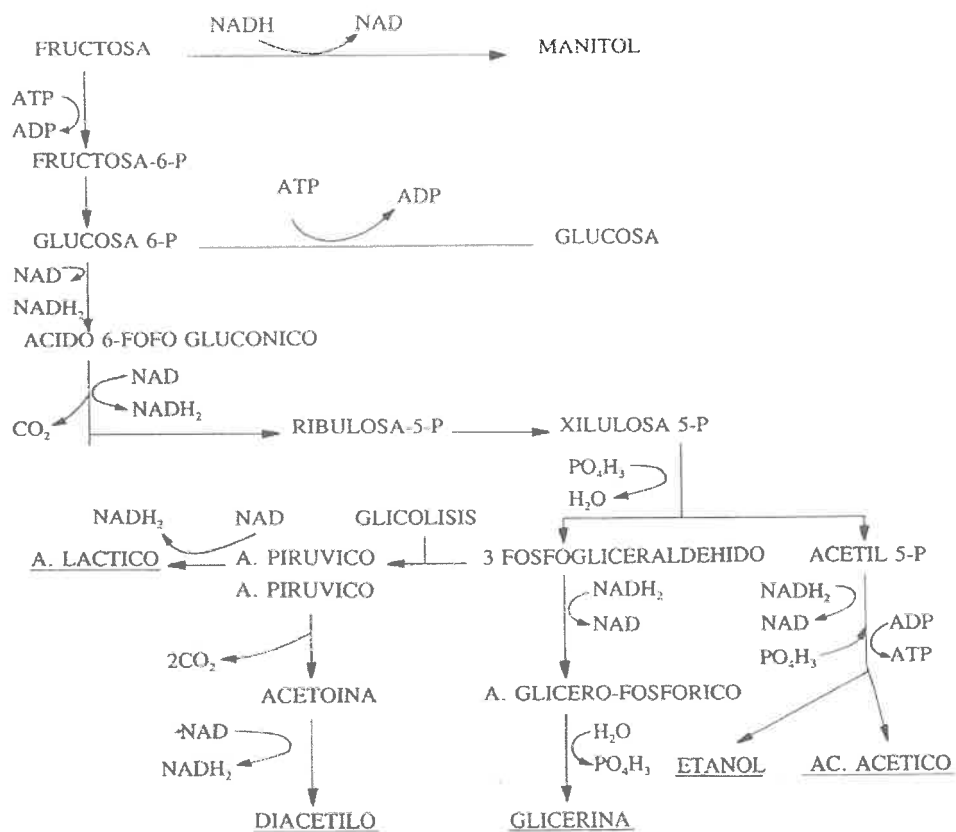
enfermedades mas importantes ocasionadas por las bacterias lácticas son las que a continuación se desarrollan.

FERMENTACIÓN LÁCTICA DE LOS AZÚCARES

Es una enfermedad producida por la transformación de los azúcares residuales presentes en la sidra en ácido láctico y ácido acético, por parte de las bacterias heterolácticas. Esta alteración puede manifestarse en situaciones diferentes: bien durante el curso de la vinificación, de forma simultanea a la fermentación alcohólica o con posterioridad a la fermentación maloláctica.

La degradación de las hexosas por bacterias homolácticas conduce a la formación de ácido láctico, siendo prácticamente despreciable la formación de productos secundarios. En cambio, en la degradación de hexosas a cargo de las bacterias heterolácticas, el ácido acético no es el único producto formado, originándose también ácido acético, glicerina, etanol y pequeñas cantidades de diacetilo que comunican el olor característico a sidra enferma.

En el esquema que a continuación se presenta se puede observar la fermentación heteroláctica de los azúcares.



En el metabolismo anaeróbico de los azúcares estas bacterias producen y acumulan cantidades de ácido láctico que pueden alcanzar los 7 gramos por litro y hasta 3 gramos por litro de ácido acético. Un caso particular es el ataque de bacterias lácticas a los azúcares de la sidra produciendo, a partir de la fructosa, manitol en cantidades importantes, por eso esta enfermedad también es conocida con el nombre de enfermedad del agridulce o manita, conocida a su vez también como fermentación manítica. Otro nombre asociado a la alteración es el de picado láctico, se le atribuye cuando la enfermedad presenta mayor gravedad.

El principal agente productor de esta enfermedad es el microorganismo anaerobio conocido como bacteria manítica, aunque también llamada bacteria de Gayón en honor a su descubridor. Su forma es cilíndrica, de unas 2 micras de diámetro por 4 micras de longitud, con sus extremos un poco redondeados. Las condiciones óptimas de desarrollo de la enfermedad son las que a continuación se relatan:

- ❖ Temperatura óptima entre 28 y 30 °C, aunque la bacteria de Gayón puede desarrollarse perfectamente entre los 30 y 40 °C de temperatura.
- ❖ El alcohol no es suficiente inhibidor.
- ❖ La ausencia de SO₂ y el pH elevado favorece su desarrollo.
- ❖ También favorece su desarrollo la presencia de materia nitrogenada asimilable, los trasiegos tardíos y las fermentaciones tumultuosas sin control térmico.

Forma de detectarla

El cambio más notable producido en la composición de la sidra, como consecuencia de la fermentación láctica de los azúcares, es un aumento de la acidez fija y de la acidez volátil. El metabolismo bacteriano suele inducir también en la producción de manitol a partir de la fructosa y en una discreta cantidad de nitrógeno amoniacal.

Las sidras atacadas por esta enfermedad presentan un aspecto turbio, observándose incluso nubes de aspecto sedoso mantenidas en suspensión. Por el olor se detecta también la enfermedad, ya que queda igualmente modificado. Tomando unas gotitas de sidra enferma en la palma de la mano y frotando éstas entre sí para provocar una rápida evaporación, se aprecia a la nariz un olor característico a grasa rancia o a leche agria.

Aunque el color y el olor no se alteran al principio, cuando la alteración esta avanzada da la sensación de gusto a fruta pasada y algo a vinagre, acentuándose este sabor a medida que prospera la enfermedad. Al mismo tiempo se detecta un sabor dulce marcado por el acético y el manitol, polialcohol de sabor dulce, produciéndose una sensación agridulce, lo queda origen al nombre de la alteración.

Las primeras manifestaciones de la enfermedad se producen en el transcurso de la primera fermentación tumultuosa, cuando la temperatura rebasa los 25 °C. con esta temperatura la actividad de las bacterias decrece, incluso tiende a desaparecer por completo, disminuyendo de la misma manera la producción de anhídrido carbónico.

También se puede detectar esta enfermedad, mediante su forma de intervención. Cuando la temperatura de un depósito en fermentación es demasiado elevada, el desarrollo de las levaduras se lentifica, incluso llegando a detenerse por completo, quedando la sidra azucarada. Si la fermentación alcohólica no se inicia rápidamente la acidez volátil aumenta, atacando las bacterias acéticas a los azúcares y produciendo en la sidra un sabor acético y azucarado a la vez, es decir, un sabor característico de esta enfermedad.

Forma de prevenirla

El empleo racional del anhídrido sulfuroso en la vinificación, hace difícil la presencia del manitol. Aunque algunas formas más benignas de la enfermedad dejan a la sidra con 0'7 ó 0'8 gramos de acidez volátil, después del primer trasiego, afectando principalmente a la sidra prensa, ya que son estas las últimas fracciones más desprotegidas.

La materia nitrogenada asimilable favorece el desarrollo de la enfermedad, más abundante en sidras maceradas y en los que sufren trasiegos tardíos. Adelantar estos trasiegos, separando las lías, antes de que dé lugar a la elevación de los índices de nitrógeno será práctica recomendable y preventiva de esta enfermedad.

Para evitar que se produzca este aumento de temperatura hay que evitar el recalentamiento de las manzanas antes de su encubado, huyendo de elaborar en recipientes de gran volumen, sobre todo, si éstos están expuestos a temperaturas altas y aplicando técnicas de refrigeración del mosto-sidra.

Forma de combatirla

Una vez producida esta enfermedad, sobre todo si se encuentra en un estado avanzado de la misma, es muy difícil, por no decir imposible, recuperar totalmente la sidra atacado. Por esta razón aquí radica la importancia de detectar el inicio de la enfermedad.

En cuanto observemos que la fermentación decrece por un aumento de la temperatura o bien que se nota la presencia de la enfermedad por el olfato y el paladar, debemos proceder inmediatamente al trasiego de esa sidra practicando en él un proceso de refermentación utilizando lías frescas o mezclándolo con mosto no fermentado o utilizando levaduras seleccionadas.

Aun así la sidra conservará un punto de “abocado” o blandura, proporcional al contenido de manita de la sidra regenerado, porque la manita no es fermentescible ya que se trata de un alcohol. Pero la aplicación de la enfermedad corre un importante riesgo ya que, aparte de la posibilidad de fracaso en la recuperación de la sidra enferma, puede producirse el deterioro de las lías frescas, el mosto o la vendimia que se pretenda usar para practicar esta refermentación, por eso es mejor el uso de un pie de cuba con levaduras seleccionadas.

AHILADO O ENFERMEDAD DE LA GRASA

Es una enfermedad anaerobia, frecuente en las sidras de baja acidez fija, algo dulces o, simplemente, con ligeros restos de azúcar sin desdoblar. De todas las enfermedades que la sidra padece, es la menos grave, ya que las modificaciones que origina, aunque aparatosas o alarmantes en apariencia, son fáciles de corregir.

Son varios los microorganismos a los que se atribuye la facultad de producir sidras hilantes, aunque la principal especie responsable de esta alteración es el streptococcus mucilaginosus. También destaca el género lactobacillus productor de mucílagos extracelulares con estructura de glucano y especies del género leuconostoc, las cuales también forman glucanos.

En algunas ocasiones gran cantidad de ácido málico transformado, ausencia completa de sulfitado en la elaboración, algunos leuconostoc de la fermentación maloláctica se rodean de una sustancia mucilaginosa, la dextrosa, que agrupa a las bacterias unas con otras y es lo que da a la sidra un aspecto aceitoso. En esta alteración hay producción de mucilagos y polisacáridos fácilmente oxidables por el O₂ como pueden ser los glucanos, polímeros de galactosa, manosa, arabinosa y ácido galacturónico.

La actividad de estas bacterias se ve muy favorecida por su asociación a otros microorganismos anaerobios ya que el desarrollo de especies de streptococcus y la producción de polisacáridos en sidra serían insignificantes en condiciones normales, sino fuera por la presencia de estos microorganismos. Esta acción se manifiesta en dos sentidos, exaltando la formación de mucílagos y dificultando la descomposición oxidativa de los polisacáridos producidos, ya que la flora asociada se compone de organismos que consumen el oxígeno del medio.

Un ejemplo claro de que esta alteración puede estar favorecida por la presencia simultánea en el medio de otros microorganismos la constituye el que ciertas levaduras de flor del género saccharomyces, que forman velo e impiden el intercambio de oxígeno entre la sidra y el ambiente disminuyendo el potencial de oxidación-reducción, favorecen la proliferación de bacterias microaerófilas y dificultan la demolición de los polímeros.

Es una alteración frecuente durante la conservación y/o embotellado de la sidra, además ha sido considerada como una manifestación particular de la fermentación maloláctica, pero se ha demostrado que, aunque muchas veces comienzan al mismo tiempo, rara vez terminan juntas.

Las condiciones óptimas de desarrollo de esta enfermedad son las siguientes. Favorece su desarrollo:

- ❖ La presencia de materias albuminoides.
- ❖ Grado alcohólico bajo.
- ❖ La existencia de azúcares residuales y acidez escasa, aunque también se han detectado sidras con 6 gramos/litro expresado en ácido tartárico, atacados por la enfermedad.
- ❖ Temperaturas ambientales, ya que la enfermedad no suele aparecer por debajo de los 8 °C.
- ❖ La escasez de taninos, por esta razón suele aparecer más en sidras débiles.
- ❖ La baja sulfitación en la vinificación.

Forma de detectarla

La detección de esta enfermedad está caracterizada fundamentalmente por el aspecto aceitoso o filante que presentan al ser trasvasados, perdiendo la sidra su natural fluidez, volviéndose espeso y viscoso a semejanza de las grasas líquidas.

Si la sidra alterada se vierte en chorro fino, forma un hilo compacto, sin ramificaciones y sin producir espuma al caer, tampoco hace ruido y las pocas burbujas que forma ascienden lentamente hacia la superficie.

Aunque el color no se altera, el aspecto de la sidra pierde brillantez y claridad, y se produce una sensación en el paladar, dada su viscosidad, bastante desagradable. La acidez volátil apenas si aumenta, permaneciendo relativamente limpios o con una ligera turbidez y además tampoco se suelen modificar otros parámetros analíticos.

El verdadero riesgo de un ahilado es que prosiga el desarrollo de otras bacterias capaces de atacar a otros constituyentes como puede ser el ácido tartárico o la glicerina. Se puede observar también la aparición de mucinas, las cuales son sustancias de constitución compleja resultantes de la unión del ácido glucorónico, amino-azúcares, grupos acetilos e iones sulfúricos, producidas por la acción sobre los azúcares de los agentes productores de la enfermedad.

Forma de prevenirla

El medio preventivo más eficaz, como en otras ocasiones hemos advertido, es el empleo racional de anhídrido sulfuroso en dosis que eviten la formación de mucílagos. La dosis a emplear de sulfuroso es de 2-3 gramos por hectolitro.

Tenemos que evitar, en la medida de lo posible, que la sidra nos quede muy dulce haciendo que la fermentación se produzca casi en su totalidad, ya que los azúcares residuales favorecen a la enfermedad.

También debemos corregir la baja acidez que pueda presentar el mosto, ya que la misma también favorece al desarrollo de la enfermedad. Las posibles actuaciones para aumentar esta acidez sería la adición de ácido tartárico en la elaboración consiguiendo aumentar la acidez en 1 gramo por litro cuando se emplean dosis de 125 gramos por hectolitro expresado en tartárico, ya que parte del tartárico añadido precipita tras la fermentación. Y antes del embotellado añadir unas dosis de 75 gramos por hectolitro de ácido cítrico, la cual aumenta la acidez 0,75 gramo por litro, aunque la sidra resultante no puede contener más de 1 gramo por litro de ácido cítrico.

Forma de combatirla

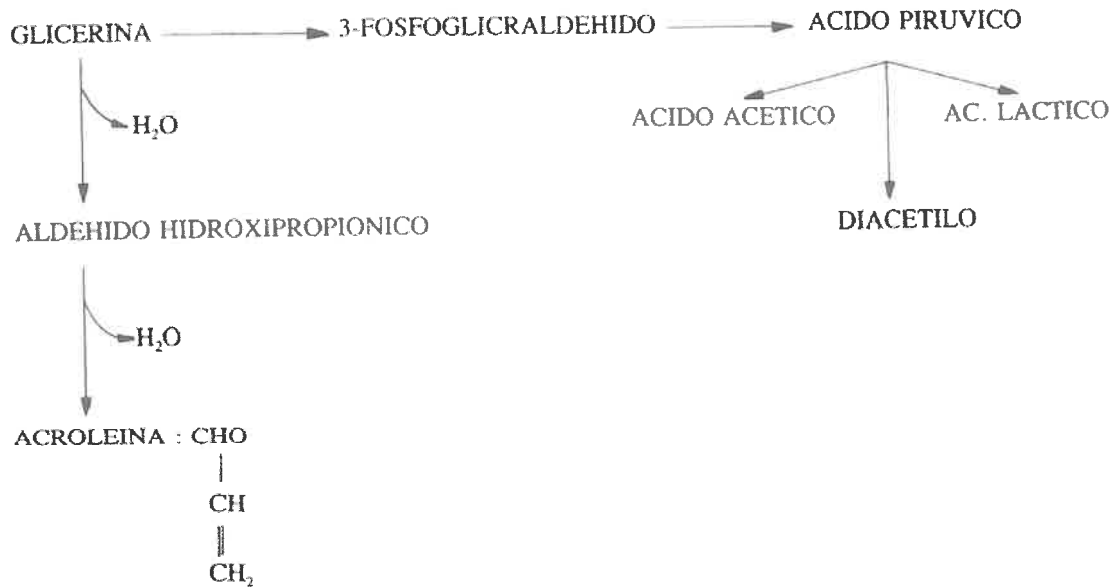
El tratamiento curativo más efectivo es un sulfitado de 2 a 3 gramos por hectolitro, seguido de un violento agitado mecánico de la sidra. Esta agitación se puede realizar con un trasiego, el cual rompe la trama que ahila a la sidra y, casi inmediatamente, le hace perder ese aspecto de ahilado.

Cuando la enfermedad ha hecho acto de presencia, a veces, su curación es espontánea, ya que la sustancia mucilaginosa se precipita en el fondo en forma de coágulos, recuperando la sidra su aspecto. Si esto no sucede, también se puede proceder a airear la sidra, realizando más de un trasiego pero esta vez con aireación para eliminar a las bacterias causantes de esta enfermedad, pero con esto podemos provocar el desarrollo de otras bacterias, como son las bacterias acéticas.

EL AMARGOR

No puede considerarse como una enfermedad única, sino varias enfermedades, cuyo denominador común es comunicar a la sidra enferma un desagradable y característico sabor amargo. Esta enfermedad afecta casi exclusivamente a las sidras con bajo grado alcohólico.

Pasteur atribuyó el sabor amargo a la descomposición de la glicerina, por la acción de bacilos anaerobios facultativos, aislados o reunidos en cadenas, y engrosadas por revestirse de materia colorante precipitada. Determinadas especies del género *Lactobacillus* destacando la especie *Lactobacillus casei*, son capaces de transformar parte de la glicerina de la sidra en ácido pirúvico y otra parte en acroleína, la acroleína, a su vez, se combina con polifenoles y el ácido pirúvico da lugar a ácido acético, diacetilo y ácido láctico.



La acroleína no es la responsable directa del sabor amargo que produce esta enfermedad, sino los productos de su combinación con los polifenoles. A veces las especies bacterianas pueden atacar simultáneamente a la glicerina y al ácido tartárico. Sin embargo, se ha apreciado en sidras ataques a la glicerina sin degradación apreciable del ácido tartárico.

Gracias a las mejoras alcanzadas en la elaboración se presenta muy raras veces en la actualidad. Sin embargo, puede encontrarse en las malas cosechas, cuando la manzana por falta de maduración, se altera en el mismo manzanal.

Las condiciones de desarrollo para esta enfermedad son:

- ❖ pH: La degradación de la glicerina a cargo de las bacterias lácticas se desarrolla a pH bajos, del orden de 3'2 ó 3'3, mientras que el ataque al ácido tartárico requiere al menos un pH del orden de 3'5 ó 3'6 unidades.
- ❖ Favorece el desarrollo de la enfermedad la acidez baja.

- ❖ También favorece esta enfermedad un gran contenido en la sidra de sustancias nitrogenadas.
- ❖ En cambio, una sulfitación adecuada no favorece el desarrollo de la misma.

Forma de detectarla

Sobre todo, aparece en sidras que llevan tiempo embotelladas o almacenadas, cuando son atacados por esta enfermedad, se puede observar una pérdida de aroma, con olor poco franco, a la vez que se aprecia un sabor insípido en la primera etapa de la enfermedad y amargo cuando ya la misma está avanzada.

A medida que el amargor avanza se va alterando el color de la sidra, va perdiendo intensidad adquiriendo un color desidra rancia y produciéndose un enturbiamiento y una precipitación de materia colorante con formación de un poso de laminillas o sedimentos de color pardo en el fondo de la botella.

Las sidras atacadas por esta enfermedad dan un destilado de olor picante. El enturbiamiento que se produce en estas sidras puede ser pasajero ya que si se deja la sidra en reposo se sedimenta recobrando la limpieza y la transparencia.

También se puede observar un aumento en los ácidos fijos y volátiles, disminuyendo al mismo tiempo la glicerina, transformándose la misma en acroleína y agua. La acroleína al polimerizarse da una resina que, a parte de producir el sabor amargo, antes mencionado, se le atribuye la insolubilización de la materia colorante.

De la transformación de la glicerina también se desprende ácido fórmico, acético, acrílico, etc., lo que hace que aumente la acidez volátil de la sidra. En cambio, el aumento de la acidez fija se puede deber a la transformación de la glicerina en ácido láctico. En las sidras jóvenes, en cambio, los componentes tánicos son atacados por cierta clase de hongos, que con ayuda del oxígeno, producen materias de intenso sabor amargo.

Forma de prevenirla

Las prácticas generales de elaboración de sidras suelen bastar para evitar la aparición de esta enfermedad, como puede ser la sulfitación, en las cantidades recomendadas y ya mencionadas, los trasiegos tempranos, las filtraciones, etc. Una vez embotellada la sidra, el mejor procedimiento para prevenir la enfermedad es la microfiltración.

Hay que evitar que las manzanas que vayamos a elaborar tengan una sanidad mala, es decir, que las manzanas estén atacadas, pero si esto no se pudiera evitar habría que reforzar la sulfitación y practicar el desfangado. También se debería trasegar lo más rápido posible sulfitando adecuadamente.

Forma de combatirla

El primer paso que habrá que dar será detener el avance de la enfermedad, impidiendo que los microorganismos que la producen se desarrollen. Uno de los métodos que puede practicarse para combatir esta enfermedad es la refermentación.

En los sidras, aparte de esta refermentación, se puede utilizar un tratamiento con carbón activo de propiedades absorbentes, seguido de una clarificación o de una filtración. Tiempos atrás, se utilizaba, para eliminar el sabor amargo de estas sidras enfermas, procesos oxidativos, utilizando agua oxigenada o permanganato potásico. Este proceso no es nada recomendable porque la acción oxidante no es selectiva, es decir, se pueden oxidar otros componentes necesarios de la sidra y además en la actualidad este proceso está prohibido.

OCASIONADAS POR BACTERIAS ACÉTICAS

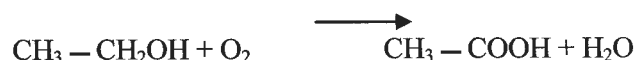
Las bacterias acéticas, o acetobacterias, constituyen un grupo heterogéneo de microorganismos antiguamente englobados en la denominación mycoderma aceti. Las características más comunes a todas ellas son el ser Gram positivas, catalasa positiva, presentar un metabolismo aerobio estricto y ser muy sensibles al SO₂.

Se encuentran muy extendidas en la naturaleza. El aspecto más destacable de su fisiología es la capacidad de oxidar el etanol a ácido acético, e incluso la oxidación parcial o total de este último a CO₂ y H₂O. La enfermedad o alteración producida por estas bacterias es el picado acético o avinagramiento de la sidra, el cual, a continuación desarrollaremos.

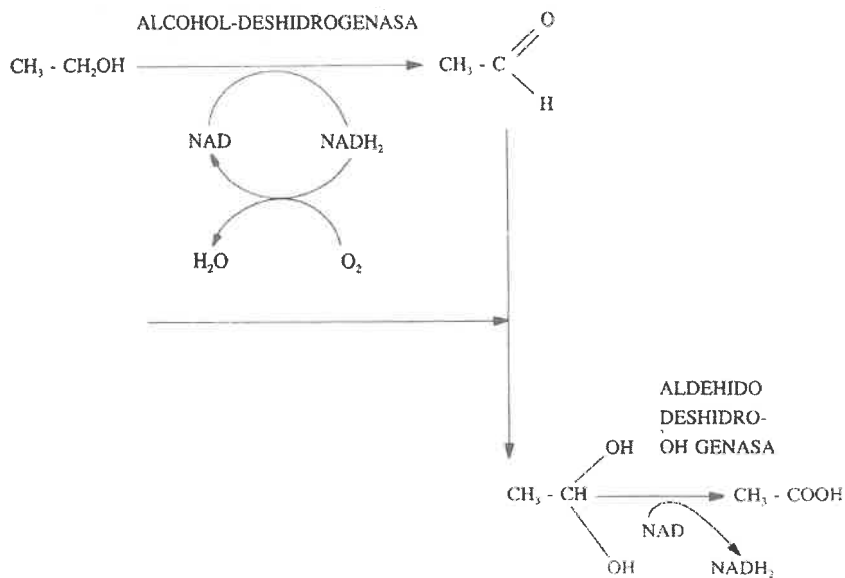
PICADO ACÉTICO

Todos las sidras son susceptibles de padecer esta enfermedad pero mayor predisposición cuanto menor es la graduación alcohólica y cuanto más corta es la acidez fija. La oxidación del alcohol etílico de la sidra,, por obra de microorganismos estrictamente aerobios, origina esta enfermedad que es la más difícil de corrección.

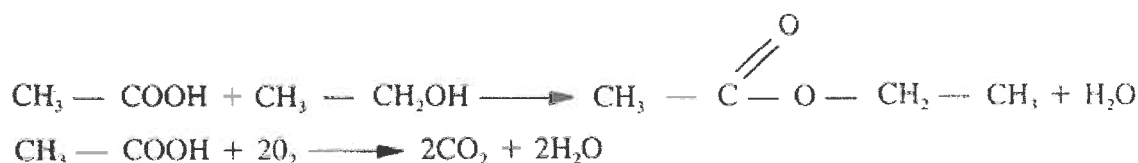
Las fases en el curso del desarrollo de la enfermedad se pueden expresar con dos términos o denominaciones distintas: picado, entendiéndose que la enfermedad está solamente iniciada y limitada a las capas superficiales y avinagramiento, entendiéndose que el desarrollo es más intenso y avanzado, alcanzando a mayor volumen de líquido. A veces, esta enfermedad se presenta en sidras no acabadas de hacer. Cuando las segundas fermentaciones se hacen largas, no es difícil observar procesos acetificantes traducidos en un aumento de la acidez volátil. La ecuación global de la fermentación acética es:



Implica, en primer lugar, una oxidación del etanol por acción de la alcoholdehidrogenasa bacteriana a acetaldehído, producto intermediario, que por acción de la aldehído deshidrogenasa, es oxidado, previa hidratación y transformado en ácido acético. El equilibrio entre NAD oxidado y reducido se efectúa a expensas del oxígeno del aire, con ayuda de una cadena respiratoria transportadora de electrones.



Otra ruta oxidativa, en la que también se obtiene acético a partir de etanol, con el mismo balance final, hace referencia a un sistema enzimático insoluble ligado a la membrana citoplasmática de las bacterias. La eventual oxidación posterior del ácido acético formado a expensas del etanol de la sidra puede ser parcial, cuando se forma acetato de etilo, o total si las distintas especies del género acetobacter oxidan totalmente el ácido acético a anhídrido carbónico y agua, a través del ciclo de Krebs.



El agente productor de esta enfermedad es un conjunto de bacterias de diferente especie, pero destaca, sobre todo, un género, el acetobacter. Este género presenta forma de bastoncillo con unos estrangulamientos en su parte media, agrupándose en cadenas y siendo bastante lábil. También destaca el género gluconobacter.

Las bacterias acéticas están presentes en todas las etapas de la elaboración y de la conservación, desde la vendimia hasta el embotellado. Además, las manzanas atacadas están parasitadas por grandes poblaciones acéticas del género gluconobacter (2 millones por mililitro), en cambio el mosto de las vendimias sanas contiene algunos millones.

A lo largo de la fermentación, después de la permanencia en kupelas o en depósitos, se nota la presencia en el fondo de la sidra, en las mejores condiciones, de algunos cientos de bacterias pertenecientes a las especies acetobacter pasteurianus y acetobacter aceti.

Todos ellos tienen la facultad de formar velos, telas o natas, en la superficie de la sidra, siempre en presencia del oxígeno del aire, dado su carácter aeróbico. Segregan una sustancia viscosa que envuelve a la célula y las aglomera entre sí, dando lugar a que el primitivo velo se transforma en una membrana espesa y gelatinosa.

Las acetobacter, al actuar selectivamente y con preferencia sobre el alcohol etílico para transformarlo en ácido acético, son utilizados industrialmente en la fabricación del vinagre. Las condiciones de desarrollo de esta enfermedad son las que a continuación se relatan:

- ❖ **Temperatura:** Está relacionada con la temperatura de desarrollo favorable del agente productor de la enfermedad. Las temperaturas más favorables para su desarrollo son las comprendidas entre 15 y 35 °C, ya que por debajo de los 15°C la proliferación se hace dificultosa y por debajo de los 10°C suele quedar paralizada su actividad. La temperatura óptima de desarrollo de la enfermedad en la sidra estaría por encima de los 25 °C.
- ❖ **Acidez:** Favorece a la enfermedad una baja acidez total y acidez fija con pH mayor a 3'5. Sin embargo se ha dado la circunstancia que ciertas sidras con acidez volátil elevada no se pican y pueden ser mantenidas en un estado satisfactorio, una vez bien estabilizados, mientras otras con una acidez volátil normal o baja corren el riesgo de picarse rápidamente.
- ❖ Favorece también a la enfermedad un grado alcohólico no muy alto, así como el contenido en azúcares residuales y materias nitrogenadas.

Forma de detectarla

Cuando la sidra comienza a picarse es posible que su aspecto no acuse cambios sensibles, al no alterarse el color y ser débil el enturbiamiento. Solamente el análisis sensorial y siendo más exactos, el olor, puede acusar el comienzo de la enfermedad, detectando la presencia de acetaldehído y acetato de etilo. La acidez volátil puede permanecer baja en los comienzos de esta fase, siendo la corrección de la alteración aun posible. La observación al microscopio del depósito de centrifugación de la muestra acusará la presencia de acetobacterias y, por tanto, el fenómeno microbiano del comienzo de la enfermedad.

Cuando la enfermedad se encuentra más avanzada, se aprecia enturbiamiento del líquido con aparición en la superficie de un velo, de aspecto liso, grisáceo, a diferencia del velo de las "flores", y después presenta largos y finos pliegues en forma de nervaduras, recordando el aspecto del papel de seda flotando y humedecido en la superficie de un líquido.

No todos los velos son iguales, sino que hay unos más consistentes que otros cayendo en trozos sin disgregarse, por lo que la sidra puede permanecer brillante, y los microorganismos del velo actuando especialmente en las capas superiores del mismo. En cambio, otras veces, los velos son pululentos y constantemente se desprenden de ellos masas de microorganismos que permanecen interpuestos enturbiando el líquido.

Cuando los velos van envejeciendo se hacen más gruesos y la superficie va presentando rugosidades más profundas y aglutinadas, su consistencia cambia a gelatinosa, llegando a formar, a veces, capas espesas que caen en forma de discos. Estos casos, son ya muy peligrosos, porque se salen de la fase de la enfermedad de la sidra, ya que su aparición acusa ya la transformación de la sidra en vinagre.

Otra manera de detectarla sería arrojando, al hueco vacío del depósito, una mecha o disco de azufre encendido, apagándose inmediatamente como consecuencia de la no existencia de oxígeno. También habría que observar si hay presencia, alrededor del borde del depósito o en sus alrededores, del mosquito del vinagre, en cuanto le sean las condiciones de temperatura favorables, siendo este mosquito un gran propagador de la enfermedad. Como modificación interna observada podemos decir el aumento de ácido acético producido expresado también en un aumento de la acidez volátil.

Forma de prevenirla

La mayoría de la prácticas normales de elaboración están dirigidas a evitar la contaminación de la sidra por las bacterias y, muy especialmente, evitar la presencia del acetobacter principal agente productor de esta enfermedad. Las prácticas normales de elaboración para prevenir esta enfermedad son las que a continuación se relatan:

- ❖ Hay que tener mucho cuidado en la limpieza de la bodega, esta tiene que ser absoluta.
- ❖ Selección de la vendimia, apartando aquellas manzanas averiadas o que presentan principios de acetificación.

- ❖ Sulfitación adecuada de los mostos en las dosis precisas y convenientes según el tipo de elaboración y temperatura de entrada de la manzana en la sidrería.
- ❖ Corrección del mosto, ajustando su acidez fija a un valor conveniente cuando se aprecia en el mosto un déficit de la misma.
- ❖ Vigilancia de la temperatura de fermentación, evitando que sobrepase los 25 °C.
- ❖ Prensado rápido de las manzanas.
- ❖ Primer trasiego en cuanto la segunda fermentación ha terminado.

- ❖ Evitar el contacto del aire mediante cierres herméticos, utilización de atmósferas inertes en los huecos vacíos de los depósitos, pudiendo ser las atmósferas de nitrógeno o anhídrido carbónico e incluso se puede usar sulfitación en los mismos huecos.
- ❖ Adición de anhídrido sulfuroso, no solo en los huecos vacíos del depósito, sino también adicción del mismo a la sidra.

Forma de combatirla

En los comienzos de la enfermedad, cuando aflora el acetato de etilo y se comprueba al microscopio la presencia de bacterias acéticas, se debe proceder rápidamente a la eliminación de las mismas. Esto se puede hacer combinando uno o varios procedimientos, como por ejemplo la filtración amicróbica o la pasterización.

En fase mas avanzada, cuando la acidez volátil es sensiblemente elevada, pero todavía en dosis tolerables, y se han eliminado los agentes microbianos con los procedimientos anteriormente citados, la corrección de las sidras afectados constituye un problema de difícil solución. Se puede intentar una refermentación con pie de cuba adecuado, si los azúcares están todavía presentes en dosis significativas, o la mezcla con sidras resistentes, de grado alcohólico elevado en proporciones que hagan insensibles la alteración inicial.

La sulfitación posterior, trasvasando las sidras a nuevos recipientes preparados con total limpieza y el aislamiento del aire, serán dos precauciones necesarias para observar. Un grado muy avanzado de la enfermedad hace prácticamente inútil intentar corregir la sidra, siendo lo más lógico, por lo tanto, destinar al mismo a la fabricación de vinagre o a la destilación.