

1FD97-1229-CO2-01. Caracterización y tipificación de la sidra natural asturiana

| Investigador responsable | Organismo |
|--|-----------------------------|
| Juan José Mangas Alonso | SERIDA |
| Equipo investigador | |
| Belén Suárez Valles | SERIDA |
| Anna Picinelli Lobo | " |
| Javier Moreno Fernández | " |
| Roberto Rodríguez Madrera | " |
| Lourdes M ^a Caso García | Becaria Post-doctoral INIA |
| Domingo Blanco Gomis | Univ. de Oviedo |
| M ^a Dolores Gutiérrez Álvarez | " |
| Pilar Arias Abrodo | " |
| Joana Tent Tetras | Univ. Autónoma de Barcelona |
| Gemma Rauret Galmau | " |

polialcoholes, polifenoles de baja masa molecular, volátiles mayoritarios y ácidos grasos. Se determinaron también los atributos que definen las características espumantes: altura máxima de la espuma (H_{max}), altura a la que se estabiliza la espuma ($H_{estable}$) y tiempo de desaparición de la espuma (t_s). La caracterización de las sidras, en función de la campaña de elaboración, se apoyó en el uso de diversas técnicas de análisis multivariante, entre las que destaca el método de modelado SIMCA (Soft Independent Modeling of Class Analogy).

Con el fin de maximizar la capacidad de clasificación del método SIMCA, se seleccionaron 34 variables pertenecientes a dos familias químicas bien diferenciadas:

Objetivos

- Evaluación química de la sidra natural. Tipificación.
- Análisis sensorial.
- Correlaciones entre evaluación sensorial y composición química
- Detección de fraudes.

Resultados

Evaluación química de la sidra natural. Tipificación

Se llevó a cabo un muestreo de 91 sidras naturales elaboradas en las campañas 1.999-2000 y 2000-2001; 49 de ellas correspondieron a la campaña 1999-2000 y 42 a la campaña 2000-2001. Se analizaron un total de 67 variables analíticas por cada muestra, entre las que se incluyeron: parámetros globales, ácidos orgánicos mayoritarios, azúcares residuales,

Compuestos fenólicos de baja masa molecular (25): desconocido [$_{max}$: 284,6 nm], desconocido [$_{max}$: 294,1 nm], catecol, ácido protocatequico, tirosol, ácido hidrocatequico, catequina, ácidos i-clorogénico, clorogénico e hidrocumárico, epicatequina, derivado cumárico, ferúlico, derivado ferúlico, fletín xiloglucósido, floricina, flavonol 1, flavonol 3, flavonol 4, quercetín, desconocido [$_{max}$: 313 nm], desconocido [$_{max}$: 322 nm], desconocido [$_{max}$: 279,9 nm], 4-etilguayacol y B2.

Compuestos volátiles mayoritarios (8): acetato de etilo, metanol, 1-propanol, i-butanol, alcoholes amílicos, lactato de etilo, 2,3-butanodiol y 2-feniletanol.

También fue seleccionada la variable que estima la concentración total de polifenoles (método de Folin-Ciocalteu).

La tabla 1, recoge los datos de sensibilidad, especificidad y éxitos de clasificación de los dos modelos SIMCA computados, modelo 2000 y modelo 2001.



Tabla 1.–Sensibilidad (S, %), Especificidad (E, %) y Éxitos de Clasificación (EC, %)

| Modelos | S % | E % | EC % |
|-------------|-------|--------|--------|
| 2000 (n=49) | 87,76 | 80,95 | 100,00 |
| 2001 (n=42) | 85,71 | 100,00 | 97,62 |
| Global | | | 98,90 |

De acuerdo con los datos recogidos en la tabla 1, se puede observar que el modelo SIMCA clasifica correctamente todas las muestras del año 2000, y sólo una muestra del año 2001 es clasificada de forma incorrecta. Tanto la sensibilidad (capacidad del modelo para reconocer a sus propias muestras), como la especificidad (capacidad del modelo para rechazar muestras no pertenecientes al mismo), fueron elevadas en ambos casos (clase 2000 y clase 2001).

Análisis sensorial

Se dispuso de un grupo de lagareros voluntarios (12), diferenciados en dos grupos (I y II) en función del grado de entrenamiento, con experiencia en la disciplina del análisis sensorial. Los catadores fueron convocados una vez a la semana, en sesiones de dos horas, en las que se trabajaba con un máximo de 8 muestras.

Las sidras fueron enfriadas dos horas antes de su evaluación en agua corriente hasta una temperatura de 13° C y se sirvieron en vasos de sidra utilizando un "escanciador" mecánico. Los atributos valorados fueron:

VISUAL: espalme, aguante, gas, pegue y vaso.

OLFATIVA: intensidad y calidad aromática.

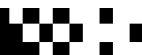
GUSTATIVA: intensidad y calidad de sabor, acidez, amargor, astringencia e intensidad y calidad de post-gusto.

Estudio de los catadores

De acuerdo con el análisis de varianza realizado, se observó una mayor compenetración entre los catadores más entrenados (Grupo I) que en el caso de los nuevos catadores incorporados durante el año 2000 (Grupo II). Así, las diferencias entre ambos grupos de catadores fueron significativas en la campaña 2000 para los atributos: acidez, amargor, "espalme" y calidad del sabor. Sin embargo, en el año 2001 sólo aparecen diferencias significativas para la valoración del amargor. Por su parte, los criterios de los participantes del Grupo I fueron concordantes entre sí ($\alpha=0.05$) excepto para la cuantificación del amargor y la calidad post-gusto, variables para las que se definieron dos subgrupos claramente diferenciados pero muy coherentes en el tiempo. Dentro del Grupo II, las evaluaciones de los atributos visuales fueron concordantes desde las primeras sesiones, a un nivel de confianza del 5 %, mientras que en el caso de las demás variables el efecto catador fue significativo. Como conclusión importante, cabe destacar que el Grupo I está perfectamente consolidado. Entre los nuevos participantes, cuatro han sido ya incorporados al panel habitual de cata y el resto requiere un mayor tiempo de entrenamiento.

Valoración de las sidras

Los dos años estudiados presentaron grandes diferencias, fundamentalmente, en el aspecto visual. El defecto visual más frecuente en ambas campañas fue la ausencia o el exceso de "pegue". En cuanto a la calidad aromática y gustativa, la campaña 2001 fue claramente superior a la campaña 2000, por el mayor porcentaje de muestras calificadas entre correctas y excelentes. En la figura 1, se muestran los resultados obtenidos del estudio comparativo entre las campañas 2000 y 2001 en cuanto a la valoración sensorial de atributos visuales ("espalme" y "comportamiento en vaso"), aroma y sabor.



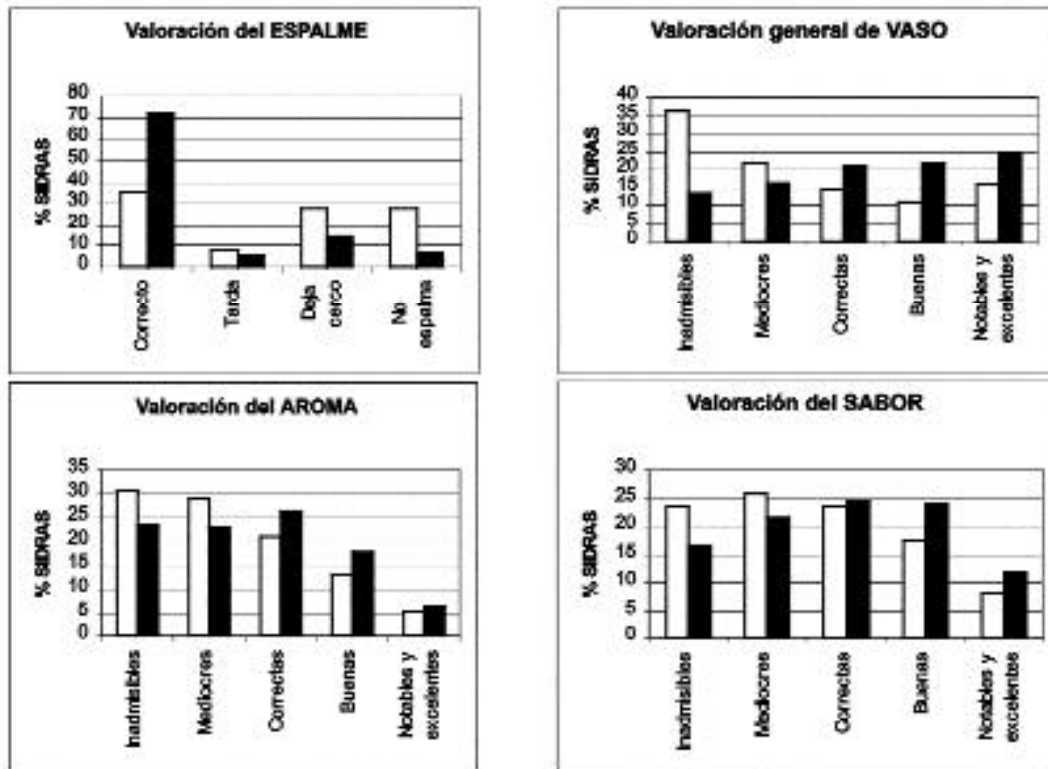
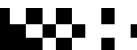


Figura 1.–Comparación de las evaluaciones sensoriales de las campañas 2000 □ y 2001 ■

Correlación entre evaluación sensorial y composición química de la sidra

Algunos atributos típicos de la evaluación sensorial de la sidra, es el caso del comportamiento en vaso, tienen una gran influencia en la valoración general de la calidad de esta bebida. De ahí el interés por conocer las relaciones existentes entre la valoración sensorial y la composición química de la sidra. Para ello, se utilizó un análisis de regresión lineal multivariante utilizando el algoritmo PLS-2; se definieron como variables criterio los atributos sensoriales: "espalme"; "aguante", "gas", "pegue", "comportamiento en vaso"; "calidad aromática"; "acidez"; "amargor"; "intensidad post-gusto"; "calidad post-gusto"; y "calidad sabor". Como variables predictoras, se utilizaron las variables químicas y los parámetros de espuma. Las variables criterio "espalme" y "comportamiento en vaso" fueron las que presentaron

los mejores coeficientes de correlación lineal múltiple. Las variables más relevantes para el modelo PLS-2 por orden decreciente de importancia fueron: ácido succínico > pentadecanoico > acético > cáprico > esteárico > 1-propanol > derivado ferúlico. Se constató el efecto positivo del 1-propanol y del ácido succínico sobre la "valoración del vaso", hecho que está de acuerdo con los resultados obtenidos por nuestro grupo de trabajo en estudios realizados anteriormente. Los ácidos grasos de mayor masa molecular (esteárico y pentadecanoico) afectaron negativamente a la evaluación del "espalme" y del "vaso", y por el contrario, ésta mejoró con la presencia del ácido cáprico. Estos resultados son razonables desde el punto de vista químico; los ácidos grasos de cadena larga (pentadecanoico, esteárico) tienen un papel estabilizador de la espuma, lo cual desde el punto de vista sensorial es indeseable (sidras con "espalme" defectuoso). Por el contrario, los ácidos grasos de cadena corta, como el cápri-



co, podrían contribuir a desestabilizar la espuma, siempre que estuviesen en una estructura micelar que provocase un efecto "spreading" sobre la burbuja.

Los llamados parámetros de espuma (t_s , H_{max} , $H_{estable}$) son variables medidas de manera sencilla en el laboratorio. Su interés radica en que su determinación es habitual en el campo de las bebidas espumosas y es posible su comparación entre diferentes laboratorios. Además, dada su sencillez y economía, sería de gran importancia encontrar una relación entre estos parámetros y los atributos sensoriales valorados por los expertos, lo que permitiría ahorrar tiempo y esfuerzo al grupo de cata.

Con este fin, se realizó un análisis de correlación canónica entre los parámetros de espuma y la composición química (Tabla 2), que puso en evidencia la correlación positiva

Tabla 2.-Correlaciones significativas (90% de confianza) de las dos funciones canónicas con las variables químicas y parámetros de espuma

| | Función canónica 1 | Función canónica 2 |
|--|--------------------|--------------------|
| Primer grupo de variables: Químicas | | |
| Ác. caprílico | 0.3250 | |
| Ác. cáprico | 0.3208 | |
| Ác. esteárico | -0.3463 | |
| Flavonol desconocido | | 0.3187 |
| Quercitrina | | 0.3223 |
| Flavanol | | -0.3185 |
| Ác. pentadecanoico | | 0.3405 |
| Segundo grupo de variables: espuma | | |
| Tiempo (t_s) | 0.8578 | |
| Altura máxima (H_{max}) | | 0.9499 |
| Altura estable ($H_{estable}$) | | 0.9128 |

existente entre los ácidos grasos de cadena media y el tiempo de estabilización de la espuma, así como la correlación negativa entre los ácidos grasos más pesados y éste. Sin embargo, estos resultados no son concordantes con las relaciones obtenidas (análisis PLS-2) entre las variables sensoriales ligadas a la espuma, valoradas por los catadores, y la composición en ácidos grasos, lo que pone en evidencia que las variables físicas que caracterizan la espuma, como el tiempo de estabilización (t_s), no se relacionan de forma sencilla con los atributos sensoriales de carácter visual evaluados por los grupos expertos de cata.

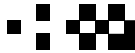
Detección de fraudes

La utilización de gas carbónico exógeno, el aguado y el uso de concentrado de manzana son prácticas consideradas fraudulentas en la legislación vigente de la sidra natural. Por ello, con el fin de controlar adecuadamente la calidad de la sidra y evitar que mediante el uso de estas prácticas se establezca una competencia desleal, es necesario disponer de técnicas de análisis que permitan controlar estos fraudes. El análisis de los isótopos estables del carbono y oxígeno mediante espectrometría de masas de relación isotópica (IRMS), es una herramienta analítica habitualmente utilizada en el control de calidad de otras bebidas alcohólicas como los vinos espumosos.

Caracterización isotópica de la sidra natural

Para conocer el potencial analítico de la técnica IRMS en la detección de estos fraudes en la sidra natural, se creó, en primer lugar, una base de datos formada por 48 muestras de sidra natural donde se analizaron los contenidos de ^{13}C y ^{18}O , expresados en partes por mil (‰) del CO_2 endógeno de las sidras, ($^{13}\text{C}_{\text{PDB-CO}_2}$ y $^{18}\text{O}_{\text{PDB-CO}_2}$). También se evaluó el contenido de ^{18}O , expresado en partes por mil (‰) $^{18}\text{O}_{\text{SMOW}}$, del agua de las sidras naturales, una vez eliminado el gas carbónico. Los valores obtenidos para las 48 muestras fueron los siguientes:





$$\begin{aligned}^{13}\text{C}_{\text{PDB-CO}_2} &: -21,6\text{‰} \pm 0,6\text{‰} \\ ^{18}\text{O}_{\text{PDB-CO}_2} &: 7,1\text{‰} \pm 0,5\text{‰} \\ ^{18}\text{O}_{\text{SMOW}} &: -3,6\text{‰} \pm 0,2\text{‰}\end{aligned}$$

Los contenidos isotópicos estudiados presentaron una distribución normal, siendo su intervalo de variación pequeño. Se observó una correlación positiva significativa entre $^{18}\text{O}_{\text{PDB-CO}_2}$ y $^{18}\text{O}_{\text{SMOW}}$ (Coef. Correlación de Pearson = 0.761, $p=0.01$), lo cual es una consecuencia de la reacción de intercambio isotópico que se produce entre el CO_2 y H_2O de la sidra.

Paralelamente, se estudió el efecto del tipo de recipiente (madera, acero y fibra) en el que se fermentó la sidra, sobre los contenidos isotópicos del ^{13}C y ^{18}O . De acuerdo con los tests de Duncan y de Scheffé efectuados, no se observaron diferencias significativas ($p=0.05$), por lo que cabe concluir que el tipo de recipiente donde se elabora y almacena la sidra no afecta a las relaciones isotópicas potencialmente utilizables en la detección de prácticas fraudulentas.

Estudio isotópico de sidras naturales adulteradas y de sidras

La práctica fraudulenta que se consideró en este estudio, consistió en el aguado del mosto fresco y posterior corrección de la densidad mediante adición de concentrado de manzana antes de la biotransformación del mosto de manzana en sidra. Para ello, se fermentó por triplicado, utilizando un iniciador seleccionado de *S. cerevisiae* perteneciente a la colección de microorganismos del SERIDA, un mosto fresco de manzana puro y mosto resultante de mezclar el mosto fresco con un mosto concentrado reconstituido en dos proporciones diferentes. Así, se dispuso de muestras de sidra natural y de sidra adulterada con porcentajes variables de concentrado. También, se realizaron mezclas en distintas proporciones de sidras naturales y sidras elaboradas exclusivamente con concentrado de manzana. Asimismo, se analizaron 17 sidras comerciales sobre las que se tenía información del proceso tecnológico de elaboración empleado. Las muestras procedían de mosto fresco fermentado, de concentrado

de manzana y de mezcla de ambas materias primas.

Como se recoge en la figura 2, el análisis IRMS de los isótopos estables del carbono y oxígeno de la sidra permite diferenciar las muestras adulteradas de sidra natural de las muestras de sidra y sidra natural sin adulterar. Por otra parte, se observaron diferencias significativas en $^{13}\text{C}_{\text{PDB-CO}_2}$ entre las sidras gasificadas con CO_2 industrial ($-38,5\text{‰} \pm 2,5\text{‰}$, $n=17$) y las sidras naturales ($-21,6\text{‰} \pm 0,6\text{‰}$, $n=48$).

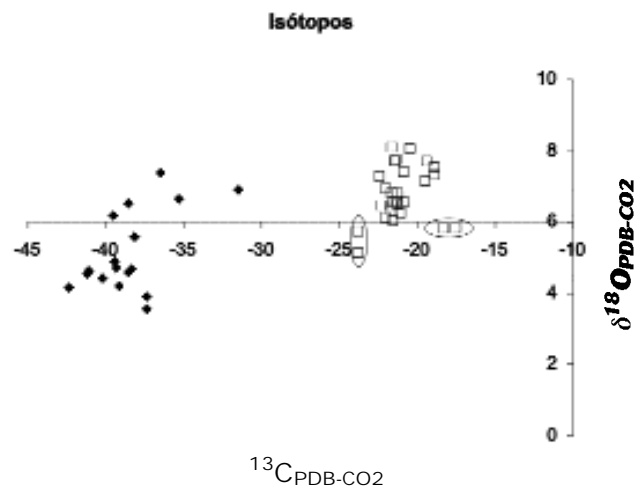


Figura. 2.—Proyección en el plano formado por las variables $^{13}\text{C}_{\text{PDB-CO}_2}$ y $^{18}\text{O}_{\text{PDB-CO}_2}$: sidra con CO_2 añadido (\bullet), sidra natural (\square) y sidra natural adulterada ($\square\bullet$).

Por todo ello, cabe concluir que:

- ❖ 1-El análisis del contenido isotópico del ^{13}C y ^{18}O del CO_2 y del $^{18}\text{O}_{\text{SMOW}}$ de la sidra es una herramienta útil en la detección del aguado y uso del concentrado de manzana en la elaboración de la sidra natural.
- ❖ 2-El análisis del ^{13}C por espectrometría de relación isotópica es una buena técnica para distinguir el CO_2 endógeno de la sidra.