# ALGUNOS PARÁMETROS A CONSIDERAR EN LAS FERMENTACIONES LAGER

### REMEDIOS MANCEBO, S. A. DAMM

#### **RESUMEN**

En mayoría de fábricas de cerveza actuales, la capacidad de los fermentadores es mayor que la capacidad de la sala de cocción, por lo que para completar un tanque de fermentación se necesitan varios cocimientos de mosto, con lo que el proceso se completa en un periodo largo de horas.

Saccharomyces carlbergensis, la levadura cervecera tipo "Lager" realiza un buen trabajo en ausencia de estrés, por lo que considerar algunos de los parámetros que pueden afectar a su buen funcionamiento nos puede ayudar a la hora de favorecer las condiciones de trabajo de nuestra levadura.

En el llenado del fermentador, la aireación del mosto, la concentración de zinc, la dosificación de la levadura, el tiempo en completar un fermentador y la Tª de fermentación, son algunas de las variables que hay que tener en cuenta ya que influyen en el resultado final de las fermentaciones.

En esta rápida revisión podemos ver algunos de los parámetros que tenemos que considerar en la fermentación.

Palabras clave: Levadura, mosto, oxígeno, estrés, temperatura, fermentación.

#### **ABSTRACT**

In most of the existing breweries, the capacity of the fermentation tanks is greater than the capacity of the brewhouse; this is the reason why several batches of wort are needed to fill up a fermentation tank, so the process is completed in a period of hours.

Saccharomyces carlbergensis, "Lager" type brewer's yeast performs a good work in the absence of estrés, so taking into consideration the parameters that may affect its proper functioning can help us-providing the working conditions of our yeast.

In the filling of the fermentation tank wort aeration zinc concentration, the dosage of yeast, the time to complete the tank and the temperature of fermentation, are some of the parameters that must be taken into account as they influence the final result of fermentation.

In this quick review we can see some of the parameters that have to be considered during fermentation.

**Keywords:** yeast, wort, oxigen, estrés, temperature, fermentation

#### 1. AIREACIÓN DEL MOSTO

El oxígeno es necesario para la síntesis de esteroles y ácidos grasos insaturados; estos lípidos son esenciales para la estructura y función de las membranas celulares, su formación tiene lugar durante la fase aeróbica de la fermentación.

La cantidad de esteroles insaturados formados por cada levadura durante la fase aeróbica está condicionado por el inóculo y la concentración de oxígeno disuelto en el mosto.

La levadura al inicio de la fermentación debe acostumbrarse a un nuevo ambiente, se encuentra con otra temperatura, otro pH y una elevada concentración de azúcares. Toma inicialmente sustancias de reserva almacenadas, de las cuales obtiene la primera energía, pero además en el mosto es necesario que estén presentes aminoácidos para la formación de nuevas sustancias celulares, fosfatos para el enlace ATP y formación de membranas celulares, ácidos grasos para la formación de membranas, azúcar para la constitución de azúcares de reserva (glicógeno y trehalosa), sales y oligoelementos (4). Con la gran oferta de azúcares fermentables presentes en el mosto, la levadura comienza rápidamente a degradar el azúcar, también se absorbe el oxígeno del aire disuelto en el mosto y se inicia la respiración, de esta forma obtiene gran cantidad de energía en las mitocondrias y del mosto toma la materia necesaria para la formación de nuevas sustancias celulares.

En la fase exponencial fig. (1), en el momento que se ha consumido el oxígeno por respiración, la levadura debe restringir nuevamente su administración energética en forma de glicólisis anaeróbica y debe vivir con una ganancia mínima de energía, mediante la fermentación de azúcar en  $\mathrm{CO}_2$  y etanol (4).

Una vez consumidos los azúcares la levadura desciende lentamente hacia el fondo del tanque donde se puede cosechar, la floculación también se ve favorecida por que las condiciones se van haciendo menos turbulentas, particularmente en lo que se refiere al desprendimiento de CO<sub>2</sub>. Esto hace que las células de levadura floculen y sedimenten a mayor velocidad.

En esta fase la levadura tiene déficit energético, comienza ha utilizar sus propias reservas, a excretar productos

metabólicos y enzimas, por eso es importante cosechar la levadura inmediatamente después de la fermentación, para evitar las sustancias de deshecho (4).La levadura debe ser almacenada en frío y resembrada en el menor tiempo posible.

En resumen el suministro de oxígeno en el mosto es importante ya que sino la levadura se empobrece en ácidos grasos, la propagación se detiene prematuramente, se prolongan las horas de fermentación y la porción de células muertas aumenta.

Se considera que los niveles óptimos mínimos de oxígeno son de 8 a 10 ppm (4). En "high gravity" los requerimientos de oxígeno son mayores de 12-20mg/l. (7)(16).

Las bajas concentraciones de oxígeno provocan fermentaciones lentas, bajo crecimiento de la levadura, bajo contenido de alcoholes superiores y alto contenido en ésteres.

#### 2. MINERALES DEL MOSTO (ZN)

Mientras que el manganeso, el calcio y el magnesio se sabe que son nutrientes esenciales para la levadura de cerveza, hay publicaciones (14) en las que se describe como variando las cantidades presentes de estos iones en el mosto no se produce ningún efecto, lo que puede indicar que el propio mosto ya contiene cantidades suficientes de estos elementos. El caso del zinc, es diferente ya que la adición de éste mejora el rendimiento, las concentraciones de zinc por debajo de 0,1 mg/litro dan como resultado fermentaciones más lentas, el efecto puede ser negativo si la concentración supera los 0,6 mg/litro (6), convirtiéndose en este caso en un tóxico para la levadura. La presencia de zinc a una concentración óptima, está en el rango de 0,1 a 0,15 mg/litro (14)(15)(7) y su efecto maximiza la actividad específica de fermentación de cada célula de levadura.

#### 3. DOSIFICACIÓN DE LEVADURA

## 3.1 ¿CUANDO SE DEBE AÑADIR LA LEVADURA EN EL FERMENTADOR?

Es recomendable añadir la levadura al mosto tan rápidamente como sea posible con la finalidad de inducir un rápido inicio de la fermentación y para que la totalidad de la levadura haga la transición al mismo tiempo, pasando de una situación de almacenaje a una suspensión en un mosto rico en oxígeno.

Con la finalidad de evitar refermentaciones lo mejor es inocular toda levadura con el primer llenado de mosto.

Cuando la levadura entra en contacto con el mosto necesita una fase de adaptación a las nuevas condiciones de exceso de nutrientes, esta fase llamada "lag" fig(1), suele durar más o menos dependiendo de las condiciones previas de almacenamiento.

En condiciones normales con levadura recién cosechada y guardada en frío (0°-4°C), la fase "lag" de algunas especies de levadura no suele durar mas de 3-4 h. Una vez ha pasado esta fase de adaptación la levadura empieza a gemar o duplicarse fig. (2) y (3), entrando en fase exponencial.

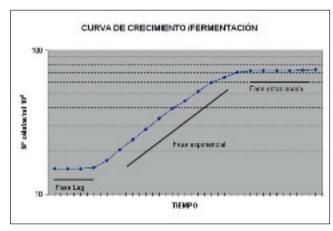


Figura 1. Curva de crecimiento de la levadura durante la fermentación

Si añadimos toda la levadura en la primera porción de mosto nos encontramos que toda la población de levadura es homogénea y se encuentra en la misma fase de crecimiento y con las mismas divisiones al final de la fermentación.

Si se realiza una dosificación de la levadura proporcional con cada cocimiento, nos encontramos al final de la fermentación con una población heterogénea donde se generan distintas subpoblaciones de levaduras en el tanque de fermentación con fases de crecimiento distintas, las primeras levaduras tienen más ciclos que las últimas levaduras dosificadas. (2)(10).

La levadura crece menos en situaciones extremas, con poco inóculo y con mucho inóculo. Estos extremos producen flavores desfavorables que hay que evitar. Cantidades bajas de levadura provocan un inicio lento de la fermentación con el peligro de contaminación microbiológica. La tasa de reproducción de la levadura lager es de 3 -5 veces (16).

Altas cantidades de levadura provocan una fermentación rápida, supresión del crecimiento bacteriano, riesgo de off-flavour en cerveza, autólisis y pueden dar problemas de filtración. La cantidad de inóculo depende de la densidad inicial del mosto, el valor promedio al que podemos ajustar el inóculo en "high-gravity" está entorno a los 20 mill células /ml (7).

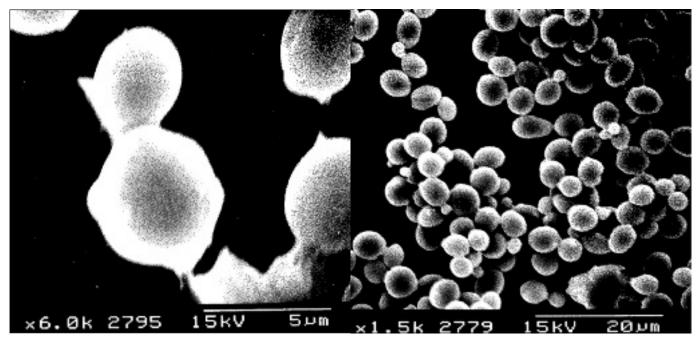
#### 3.2 ¿CÓMO SETIENE QUE DOSIFICAR LA LEVADURA?

Podemos dosificar la levadura de cono a cono, o en línea procedente de un tanque de almacenamiento.

#### 3.2.1 DOSIFICACIÓN EN LÍNEA:

La dosificación en línea tiene la ventaja de favorecer el rápido contacto del mosto con la levadura; una vez que llega al tanque de fermentación está bien resuspendida en el mosto sin formación de grumos, que pueden dificultar el contacto de las membranas celulares con el mosto.

La levadura dosificada en línea por lo general proviene de un tanque de almacenamiento, en el cual la levadura debe permanecer en unas condiciones de Tª fría entre



Figuras 2 y 3. Imágenes con microscopio electrónico de levadura gemando.

(0°-4°C) y el menor tiempo posible. Aunque el tiempo de almacenaje de la levadura se define como el tiempo entre el momento de la cosecha y el momento de su nueva utilización, en realidad el almacenaje se inicia en el fermentador cuando las levaduras se van al fondo y dejan de tener acceso a los nutrientes.(17)

#### 3.2.2 DOSIFICACIÓN CONO A CONO:

La siembra de cono a cono, tiene la ventaja de que estas levaduras están en buenas condiciones ya que no han tenido oportunidad de deteriorarse con una guarda prolongada y no están expuestas a atmósfera de oxígeno.

En esta operación se deben tomar precauciones ya que la levadura del cono de fermentación es heterogénea, por lo que se tiene que hacer una selección en el trasvase.

#### 4. COSECHA DE LEVADURA:

La levadura se ha de cosechar lo antes posible (17), una vez que ha finalizado la fermentación para evitar que los productos de la autólisis de levadura queden en la cerveza generando un efecto negativo. En los tanques grandes, durante la fermentación activa, la levadura está sujeta a cambios de presión hidrostática. Cuando las turbulencias de la fase activa cesan por completarse la fermentación la levadura sedimenta y en este momento está expuesta a elevada presión hidrostática, elevado ambiente de CO<sub>2</sub> y temperatura poco adecuada, lo que genera estrés en la levadura y la induce a utilizar sus reservas de glucógeno fig( 4). Además, las condiciones ambientales dentro del cono generan gradientes de temperatura, pH, gravedad, y etanol (18).

También es importante hacer una pequeña selección de la levadura que se va a cosechar ya que el cono de levadura de un fermentador está formado por tres capas, capa superior, capa intermedia y capa inferior (5).

La capa superior está formada por partículas de espuma colapsada y células de levadura que han sedimentado tarde.

La capa intermedia está formada por levadura sana y de fermentación activa o vital, su aspecto debe ser lo más claro posible.

La capa inferior es levadura que ha sedimentado primero, células muertas, resinas de lúpulo y partículas de furbio. Las partículas de furbio procedentes del mosto son sustancias insolubles, que al entrar en el tanque se depositan en el fondo en un tiempo aproximado de 24h. En este furbio van sustancias insolubles del mosto que no se separaron y resinas del lúpulo que precipitan con el enfriamiento, además también sedimentan muy pronto las células muertas o débiles para la fermentación, por lo que esta pequeña porción se puede evacuar a las 24h del inicio de la fermentación, evitando que esté presente durante el tiempo de fermentación y al final en la cosecha de levadura.

Los compuestos de proteína y taninos que constituyen el furbio frío (trub fino) son de pequeño tamaño (0,5 micrómetros), estos sedimentan con dificultad y pueden depositarse sobre la levadura, lo que reduce la superficie de contacto de esta con el medio, esto puede afectar la velocidad de la fermentación y se ve agravado cuando se reutiliza la levadura. Si se retira todo el furbio frío nos encontramos con cervezas vacías de sabor, por este motivo se ha de encontrar una reducción de compromiso del furbio, de forma que unos valores recomendables podrían estar entre 120-160 mg/l m.s. Con estos valores se puede obtener estabilidad del sabor, sobre todo en lo referente al amargo, estabilidad de la espuma y fermentaciones mas activas.

La capa que se debe aprovechar es la intermedia y tomar la precaución de realizar el trasvase una vez finalizada la fermentación ,cuanto mas tiempo permanezcan en el cono después de acabar la fermentación más se debilitan las células y tan pronto como se han consumido las sustancias de reserva empieza la metabolización

CERVEZA Y MALTA – 40 – XLVIII (2), 190, 2011, 38-43

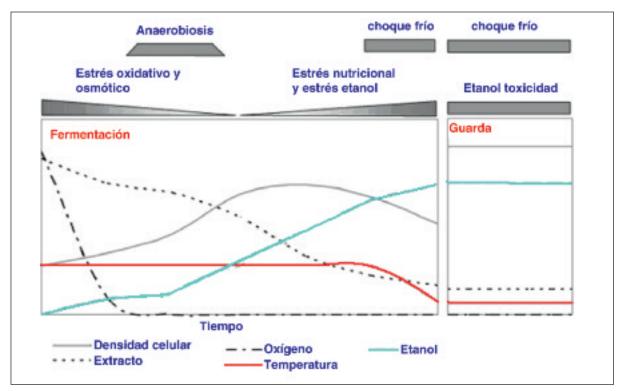
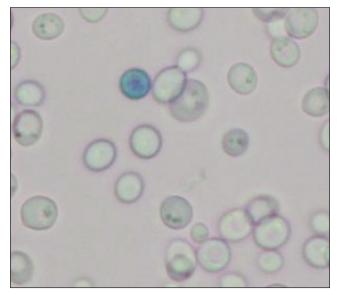


Figura 4. Representación esquemática de la secuencia de los factores de estrés que sufre la levadura durante la fermentación y la guarda.

de sus componentes celulares. En este proceso de autólisis las enzimas de secreción interna disuelven las membranas de dentro y de alrededor de la célula y son excretados, aminoácidos, ácidos grasos y enzimas. Todas estas sustancias tienen un efecto negativo en la calidad de cerveza (4).

#### 5. CONSERVACIÓN DE LA LEVADURA

Una vez cosechada se mantendrá a Tª fría (0°-4°C) y se utilizará lo antes posible, para evitar que la levadura consuma



Figuras 5. Tinción con azul de metileno, levaduras muertas teñidas de azul

sus sustancias de reserva y empiece a perder vitalidad y a generar células muertas y productos de deshecho fig. (5). Estas condiciones de frío también evitan la proliferación de contaminantes.

#### 6. PERÍODO DE TIEMPO ENTRE COCIMIENTO Y COCI-MIENTO

Las células de levadura, dependiendo de las condiciones previas de conservación, y de su generación, presentan más o menos fase de latencia.

En condiciones normales, la levadura puede comenzar a generar gemas a partir de las 4-5 horas de entrar en contacto con el mosto, por lo que ese seria el tiempo máximo entre cocimientos; inferior a 4h (7).

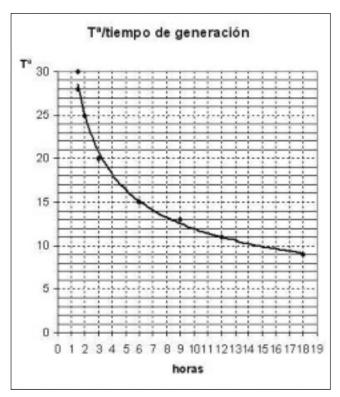
#### 7. TIEMPO MÁXIMO DE LLENADO DE UN TANQUE

Según la bibliografía se mencionan distintos tiempos máximos de llenado, según distintas experiencias:

- 1- No superior a 12 h. (2)(4)
- 2- No superior a 20h. (2).
- 3- No superior a 24h. (2)(7).

Una de las anomalías observada cuando un tanque se llena en 24 h es el aumento de VDK, comparado con uno llenado en 4 horas. (7).

También se ha de tener en cuenta que la dosis de siembra debería de ajustarse cuando el llenado del tanque es muy prolongado. Cuanto mayor es el tiempo de llenado de un tanque la dosis de siembra tiene que estar en el valor inferior del intervalo recomendado.



Figuras 6. Tiempo de generación de la levadura Lager.

#### 8. TEMPERATURA DE FERMENTACIÓN

Es necesario definir la temperatura de fermentación, ya que de ella depende la velocidad de crecimiento de la levadura y el progreso equivalente de las fermentaciones.

El tiempo de generación de la levadura no es lineal, depende de la temperatura y puede presentar una curva similar a la siguiente fig. (6).

Algunos compuestos como el diacetilo presentan mayor formación a alta temperatura. Los compuestos volátiles en general se ven afectados con la temperatura.

#### 9. CONCLUSIÓN

El hecho de poder considerar algunos de los parámetros que pueden tener influencia en el proceso de fermentación, nos permite decidir sobre cuales son aquellas actuaciones que resultan positivas o negativas para la levadura y el proceso de fermentación.

Las levaduras cerveceras, en este caso las levaduras "Lager" realizan un buen trabajo en condiciones de poco estrés.

Evitar todos aquellos factores que pueden generarles estrés y optimizar las condiciones favorece la calidad de su trabajo.

Niveles óptimos de oxígeno (8-10ppm) para mejorar las características de la fermentación y la calidad de la cerveza, introducir la dosis de levadura de una sola vez en el mosto para obtener poblaciones homogéneas y de esta forma minimizar las fases de adaptación secuen-

ciales; suplementar el mosto con niveles adecuados de zinc (0,1-0,15ppm); retirarles lo antes posible todos los compuestos de deshecho que se han generado, así como conservarlas en frío (0-4°C).

#### 10. BIBLIOGRAFÍA

- 1. Priest F.G, Gram., Stewart. "Hanbook of Brewing". 2006.
- 2. Yokoyama and Ingledew WM, "The effect of filling procedures on multi-fill fermentations". Technical Quarterly. vol 34(1) 320-327.1997
- **3.** Unterstein,K. "Cylindroconical fermenters" Brauwelt International **12**:316 1994.
- Kunze W. "Tecnología para cerveceros y Malteros" VLB 2006.
- **5.** 4º Congreso "Brewing Yeast Performance" Oxford 2003.
- **6.** K.Smart "Brewing Yeast Performance", ed Blackwell Science 2000.
- 7. Chris Boulton & D.Quain. "Brewing Yeast &Fermentation". ed Blackwell 2006.
- **8.** Monograph V EBC "Fermentation and Storage Symposium", Nov1978.
- 9. Fermentation Symposium, MBAA TQ 1985.
- **10.** "Handle with care!" *Brewer's Guardian, pg 20-25 Nov 2007.*
- **11.** J.Carvell. "Improved control of yeast pitching rate using Aber Yeast Monitor financial implications". Brauwelt International 2006/II, p (98-100).
- **12.** O'Rourke. T. "The role of oxygen in brewing" *The brewer International, March 2002.*
- **13.** D.E.Briggs, C.A Boulton, P.A.Brooks and R.Stevens. "Brewing Science and Practice". CRC Press 2004.
- **14.** Bromberg, S.K., Bower, P.A., Duncombe, G.R., Fehring, J., Gerber, L., Lau, V.K. and Tata, M "Requirements for zinc, manganese, calcium and magnesium in wort". J. Am. Soc. Brew. Chem., 1997, **55(3)**, 123-128.
- **15.** Werner Back, "Ausgewählte Kapitel der Brauereitechnologie". Facheverlag Hans Carl GmbH, 2005.
- **16.** Stewart, GG and Russell, I., "Brewer's Yeast" .Institute of Brewing, London. 1998.
- 17. Thiele F, Hartwig A y Back Werner, "Calidad de la levadura en el cono de tanques cilindro cónicos". Brauwelt en español /2009/IV.
- **18.** Powell Chris D., "The Impact of Sedimentation on Cone Yeast Heterogeneity". J. Am. Soc. Brew. Chem. **62(1):** 8-17, 2004.

#### 11. CURRICULUM VITAE



Licenciada en Ciencias Biológicas, especialidad Fundamental, por la Universidad de Barcelona (UB) (1984-1990.)

Máster en Tecnología Cervecera por la Escuela Superior de Cerveza y Malta (Universidad Politécnica de Madrid) (2009). Formación en Control

Microbiológico y técnicas de detección rápida realizados en distintos Institutos y Universidades, destacando entre ellos Instituto Pasteur de Lille, UPC, UAB, BRi etc..

Desde 1990 formando parte del equipo de Control Calidad de DAMM y a partir de 1998 Responsable de Microbiología del Grupo DAMM.

#### 12. AGRADECIMIENTOS

La autora quiere agradecer a la Dirección de S.A. DAMM las facilidades dadas para la redacción de este trabajo, fruto de su experiencia durante años como responsable de Microbiología.

No se es escritor por haber escogido decir ciertas cosas, sino por la forma en como se dicen.

Jean-Paul Sastre

Lo único que se conseguirá diciendo siempre la verdad es ser siempre descubierto.

Oscar Wilde

El destino baraja las cartas, y nosotros las jugamos.

Arthur Schopenhauer

