

TEST FPL - ANÁLISIS DE MALTA PARA PREDECIR PROBLEMAS EN FERMENTACIÓN

Autor: Heiko Woest, del Laboratorio de Biología del Instituto de Investigación de Agua y Biotecnología (FIBW) del VLB Berlin"

La agregación reversible de células de levadura se denomina floculación, e incluye la formación de agregados de tamaño considerable o flóculos que, en el caso de levaduras de fermentación baja, se depositan en el fondo de los tanques al final de la fermentación. La teoría más aceptada define la floculación de levadura como una interacción, facilitada por la presencia de iones calcio, entre restos de alfa-manosa de manoproteínas y proteínas tipo lectina de células adyacentes. Así como los mananos se encuentran siempre presentes en la pared celular, las proteínas tipo lectina (denominadas floculinas) son sintetizadas específicamente para el proceso de floculación. Las floculinas se unen a los azúcares de forma específica, y la floculación de la levadura es suprimida de forma reversible por la presencia de manosa, maltosa, glucosa y sucrosa en el mosto [1]. La formación de flóculos es una característica determinada genéticamente en las células de levadura, e influida por el efecto de mezclado que genera la liberación de CO₂ durante la fermentación. El nivel de mezcla depende, entre otros factores, de la geometría del fermentador, la velocidad tangencial y la viscosidad del fluido.

Al final de la fermentación, cuando la mayor parte de azúcares fermentables han sido transformados en etanol y dióxido de carbono, si la intensidad de la turbulencia es lo suficientemente baja, las células de levadura forman aglomerados y sedimentan en el fondo del fermentador, de donde pueden ser separadas para su utilización en siguientes fermentaciones. La capacidad de floculación de la levadura es una característica de gran importancia para los cerveceros ya que asegura la separación de las células sedimentadas del producto fermentado.

En ciertas ocasiones, puede ocurrir que las levaduras floculen antes de tiempo, cuando el medio de fermentación contiene aún concentraciones elevadas de azúcares. Este fenómeno solo se da en levaduras de fermentación baja, y se conoce como Fermentación Prematura de la Levadura o FPL. Aunque se ha registrado la ocurrencia de FPL a nivel mundial en distintas ocasiones como causa directa de alteraciones en los procesos de fermentación, la floculación prematura es un problema claramente subestimado, que hasta el momento no ha sido tratado en profundidad.

La Floculación Prematura de la Levadura origina altos porcentajes de extracto residual y bajos rendimientos de alcohol, así como perfiles sensoriales no deseados, debido a concentraciones elevadas de compuestos aromáticos como dicetonas o aldehídos. Los azúcares residuales son también responsables de alteraciones en las características organolépticas en la cerveza, y hacen al producto más susceptible a riesgos biológicos. Además de los problemas tecnológicos que implica, la FPL es también origen de costes añadidos debido al incremento en el tiempo de producción, la posible necesidad de mezcla de lotes, tareas de gestión y análisis de laboratorio adicionales.

El fenómeno de FPL parece depender tanto de la cepa utilizada como de la edad y estado de la levadura inoculada. Sin embargo la causa principal del desarrollo anómalo de la fermentación no es la levadura, sino que se atribuye al llamado factor FPL del mosto, que tiene su origen en la malta utilizada [2]. Este factor parece tratarse de un polisacárido presente en la cáscara de la malta, soluble en agua, y que es capaz de producir efectos no deseados incluso a bajas concentraciones.

Debido a que la aparición de FPL está frecuentemente asociada a condiciones climatológicas determinadas, como grados altos de humedad durante la cosecha, el estudio de la carga microbiana de la malta ha recibido una atención especial

durante los últimos años. En 2004, un grupo de investigadores de SAB Miller expuso la teoría de síntesis del factor PYF inducida por mohos [3]. Su hipótesis se basa en la segregación de enzimas por parte de los hongos, con la finalidad de generar nutrientes por asimilación, lo que implicaría la degradación de la cáscara del cereal. Los polisacáridos resultantes, de alto peso molecular, son ricos en arabinosa y xilosa, y están formados por compuestos ácidos y nitrogenados. La cáscara de la cebada está compuesta principalmente por arabinoxilanos y celulosa. La celulosa es resistente a la degradación enzimática; los arabinoxilanos ácidos son producto de la degradación de la cáscara de la cebada por xilanasas.

Estos polisacáridos de alto peso molecular, solubles en agua, permanecen en la superficie del grano y compiten con los azúcares fermentables por los sitios de unión en la superficie de las células de levadura. En el caso de que la levadura sintetice floculinas, los polisacáridos de alto peso molecular se combinan con las proteínas tipo lectina, dando lugar a la formación de flóculos.

Aunque todavía no se ha confirmado si existen otros factores que puedan originar floculación prematura, la investigación y el análisis de materias primas se centran cada vez más en características de la malta y/o el mosto resultante de la misma.

Es complicado identificar maltas FPL positivas mediante análisis rutinarios de materia prima ya que estas muestras cumplen normalmente todas las especificaciones de calidad. Además estas maltas muestran también un comportamiento normal durante los procesos de maceración y posterior filtrado, iniciándose el proceso de fermentación con todos los parámetros dentro del rango esperado. El problema comienza al inicio de la fase estacionaria, dentro del ciclo de crecimiento de la levadura, y se pone de manifiesto durante las etapas de fermentación secundaria / maduración, cuando es necesario un elevado número de células de levadura en suspensión para completar el proceso durante el que se

determinan el perfil sensorial de la cerveza y su estabilidad. Así, velocidades altas de sedimentación tras el inicio de la floculación, acompañadas siempre de un importante descenso en el número de células en suspensión, se considera un buen indicador de FPL.

Test de Laboratorio

Durante el análisis de diferentes lotes de malta, se detectaron muestras positivas tanto en Europa como en América del Norte. Aunque la frecuencia de aparición de malta FPL difiere entre empresas, se confirmó una tendencia de agrupación de un mayor número de maltas FPL positivas provenientes de ciertas compañías [4]. El proceso de malteado parece influir de forma importante en la capacidad de fermentación de la malta.

Existen diferentes métodos para evaluar el potencial FPL en muestras de malta pero, además de no ser comparables entre sí, la realización de los tests conlleva a menudo tiempos de análisis elevados. En el Laboratorio Biológico de VLB se ha probado como particularmente fiable uno de los tests de fermentación desarrollado por la cervecera japonesa Asahi Breweries Ltd. [4]. La metodología se inicia con la producción de un mosto Congreso a partir de la malta en estudio. Después de distintos pasos como autoclavado, adición de glucosa, filtración estéril y aireación, el mosto se transfiere a probetas de 50 mL y se inocula con la cepa de levadura SMA, de la colección de levaduras de VLB.

Se deja fermentar el lote a 20 °C y se toman muestras al inicio, y después de 24 y 40 horas (fig. 1). El número de células de levadura en suspensión se determina mediante registro de la densidad óptica a 600 nm. El llamado Índice de Levadura en Suspensión, calculado a partir de las medidas realizadas a las 24 y 40 horas, se

utiliza como parámetro principal para la evaluación. Si el número de células en suspensión después de 40 horas se ha reducido en más de un 70% en comparación con el número de células en suspensión a las 24 horas, se debe considerar floculación prematura a escala industrial. El grado de floculación dependerá del potencial FPL de las maltas analizadas.

Los controles cruzados y análisis de muestras comerciales realizados durante más de 9 años demuestran que el método Asahi es fiable y reproducible. Cada año se encuentra que un número aproximado del 20% de maltas analizadas no cumple con las especificaciones, y el resultado de estos tests ha ayudado a diferentes cerveceras a entender y/o prevenir posibles problemas en fermentación.

Experiencias Prácticas

Una reputada fábrica alemana experimentó un incremento en los tiempos de producción debido a la etapa de fermentación secundaria / maduración, con valores de diacetilo anormalmente altos, y velocidad de degradación del extracto residual por debajo de especificaciones. La cerveza se había producido a partir de una mezcla de maltas provenientes de seis malterías diferentes, todas ellas cumpliendo especificaciones analíticas. El problema no se pudo resolver mediante la alteración de parámetros de proceso, ni durante la producción de mosto ni durante la fermentación.

La mezcla de maltas obtuvo un Índice de Levadura en Suspensión del 69.6% (siendo el valor crítico acordado del 70%) y, por tanto, se decidió someter las diferentes maltas a análisis de forma individual. Como 3 de las 6 maltas mostraron potencial FPL, y no se pueden descartar posibles efectos de sinergia, la cervecera comenzó a utilizar una mezcla de maltas formada únicamente por las maltas FPL negativas (malta A en la fig. 2) en el proceso productivo de algunas de sus cervezas. Durante la fermentación primaria no se observaron diferencias

significativas en la utilización del extracto (fig. 3), sin embargo hubo una divergencia importante en la medida de células de levadura en suspensión: en el momento de transferir la cerveza desde el tanque principal de fermentación al tanque de maduración, la cantidad de células en suspensión en la cerveza producida a partir de la mezcla malta A era el doble de la contabilizada en el caso de la cerveza producida con la mezcla original de 6 maltas. El resultado fue un claro aumento de la velocidad de degradación del extracto residual (fig. 4), y una reasimilación del diacetilo también más rápida: en comparación con el lote producido con la mezcla malta A, el lote producido con la mezcla original de 6 maltas necesitó 6 días más para que el valor de diacetilo obtenido estuviese por debajo del límite marcado de 0.1 mg/L (fig. 5). Estos resultados muestran que incluso un pequeño valor de potencial FPL es capaz de alterar de forma significativa el proceso de fermentación. El análisis separado de maltas puede ayudar a identificar lotes críticos; y la sustitución de esta malta, suponer una mejora en el control del proceso de fermentación.

Actualmente, la investigación en relación a la FPL está enfocada a la determinación del origen del problema. Queda pendiente la evaluación de la influencia de la levadura en el desarrollo de este fenómeno, así como la identificación de los parámetros y condiciones del proceso de malteado que puedan afectar al potencial FPL de las maltas.

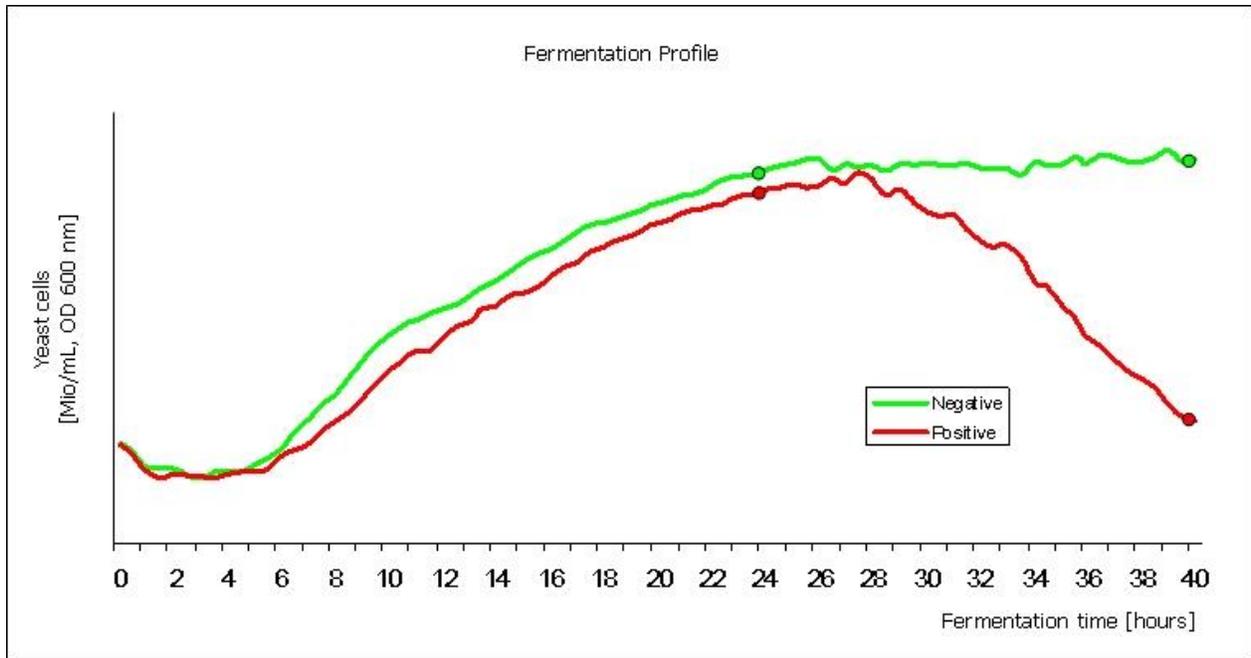


Fig. 1: Perfil de fermentación de maltas FPL positivas y FPL negativas

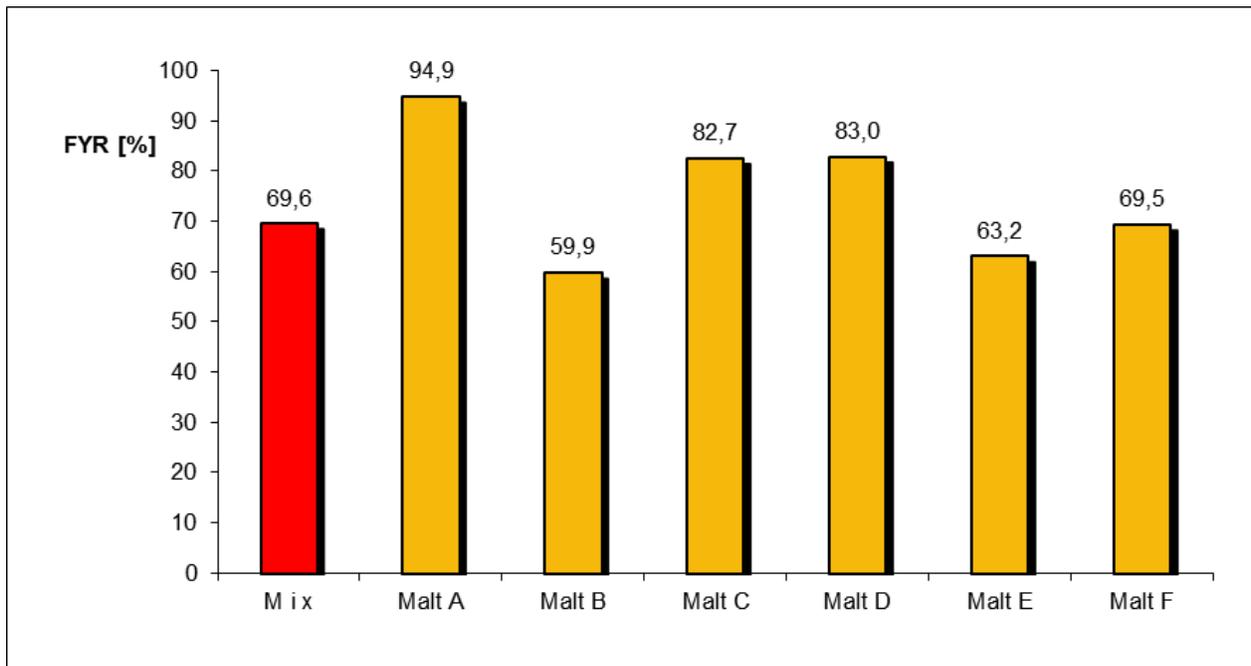


Fig. 2: Índice de Levadura en Suspensión de una mezcla de maltas y de las diferentes maltas de la mezcla

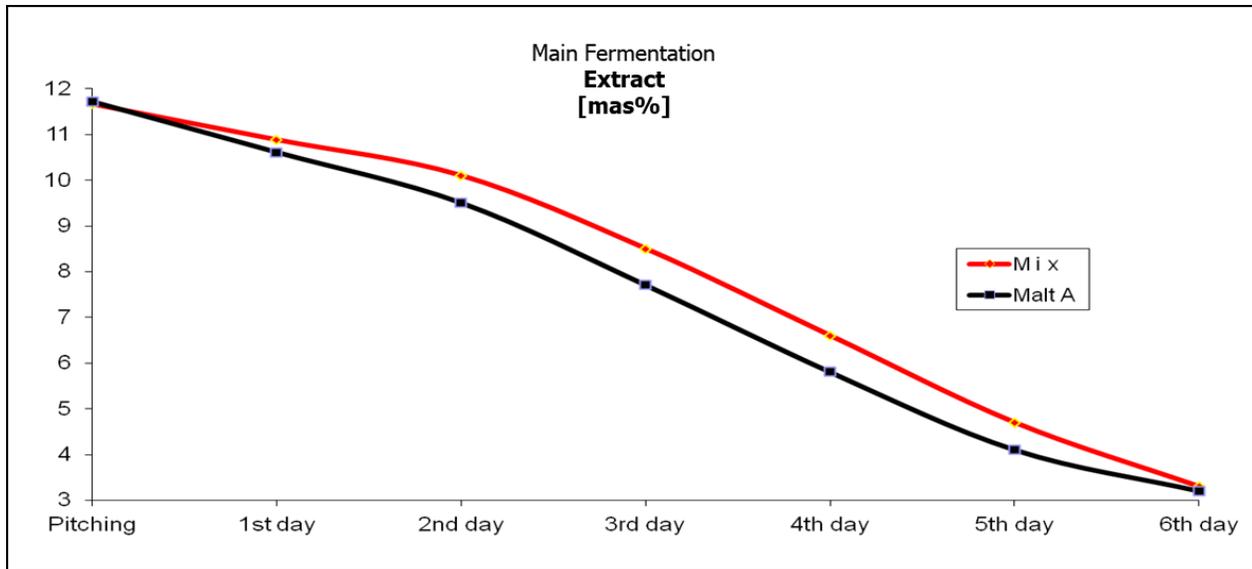


Fig. 3: Degradación del extracto durante la fermentación primaria

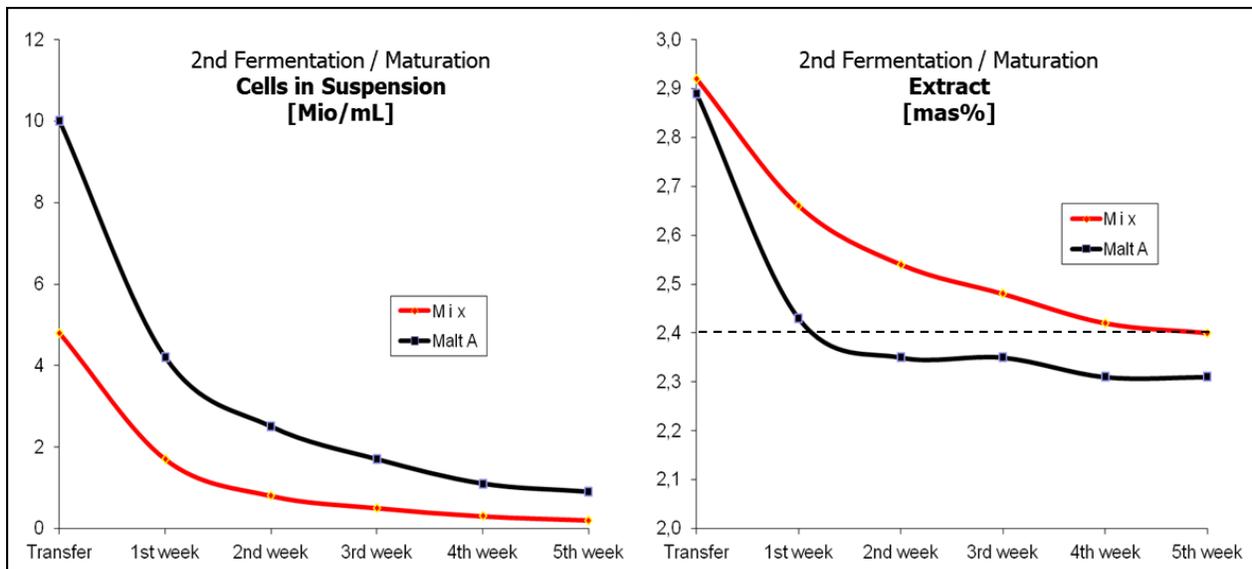


Fig. 4: Células en suspensión y degradación del extracto durante el proceso de maduración

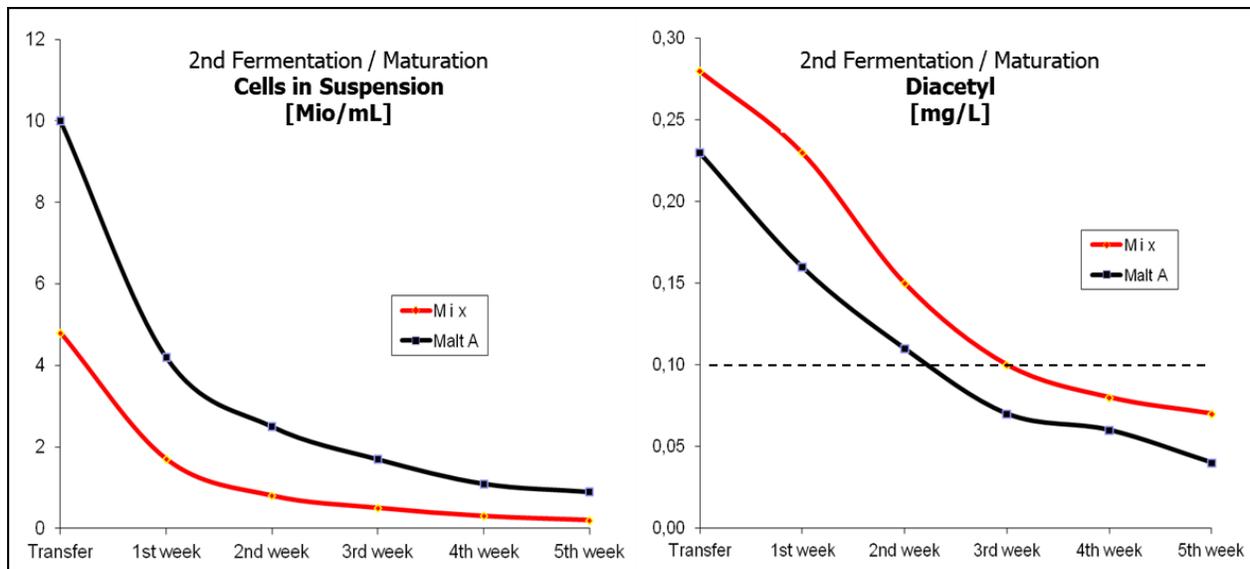


Fig. 5: Células en suspensión y degradación del diacetilo durante el proceso de maduración

Bibliografía

- [1] Stratford, M.:
Yeast flocculation: Reconciliation of Physiological and Genetic Viewpoints
Yeast 8: 25-38, 1992
- [2] Herrera, V. E., Axcell, B. C.:
Induction of Premature Yeast Flocculation by Polysaccharide Fraction
Isolated from Malt Husk
J. Inst. Brew. 97: 359-366, 1991
- [3] van Nierop, S. N. E., Cameron-Clarke, A., Axcell, B. C.:
Enzymatic generation of factors from malt responsible for premature yeast
flocculation
J. Am. Soc. Brew. Chem. 62: 108-116, 2004
- [4] Jibiki, M., Sasaki, K., Kagami, N., Kawatsura, K.:
Application of a Newly Developed Method for Estimating the Premature
Yeast Flocculation
Potential of Malt Samples
J. Am. Soc. Brew. Chem. 64: 79-85, 2006