

ELABORACIÓN DE UNA CERVEZA CON LEVADURA SALVAJE PARA EL MERCADO ASIÁTICO

Adrián Márquez Encinas / Juan Jesús Bonillo Sánchez / Juan Pascual Navarro /
Santiago Sánchez Martínez / Sara Pinto Teixeira Abreu Dos Santos

Alumnos de la 54ª promoción del Máster en Ciencia y Tecnología Cervecera impartido en la Universidad de Alcalá de Henares en colaboración con la Escuela Superior de Cerveza y Malta (ESCYM).

Este trabajo forma parte del trabajo fin del Máster tutorizado por la profesora de Teoría de las Transformaciones Cerveceras, Dª Ana García Martí.

Resumen

El mercado asiático es de gran interés para la industria cervecera en España, debido a que los consumidores muestran mucho aprecio por nuestra cultura gastronómica incluyendo las grandes marcas cerveceras. La propuesta de proyecto es el estudio de éste para generar una cerveza inspirada en sus costumbres, pero con una base sólida de nuestros estilos de cerveza.

Se usó una receta para una cerveza de trigo ya que es uno de los estilos más consumidos en Asia. Se complementó con la adición de algas para aproximar las dos culturas. Por otro lado, se realizó un estudio sobre la viabilidad de una levadura salvaje *No Saccharomyces* aislada en planta piloto.

De esta forma se evaluó su comportamiento en la fermentación de monosacáridos y algunos disacáridos, obteniendo una cerveza de bajo contenido en alcohol. Finalmente se realizó un *blend* con sake aportando un carácter más seco a nuestro producto final.

Palabras clave: *Asia, levadura salvaje, alga, blend, sake, trigo.*

Abstract

The Asian market is of great interest to the brewing industry in Spain, because consumers show great appreciation for our culinary culture including the big brewing brands. The project proposal is the study of this one to generate a beer inspired by its customs, but with a solid base of our beer styles.

A recipe for a wheat beer was chosen as it is one of the most consumed beer styles in Asia. It was complemented with the addition of algae to approximate the two cultures. On the other hand, a study was carried out on the viability of a wild yeast *No Saccharomyces* isolated in the AETCM pilot plant.

In this way, the behavior was evaluated in the fermentation of monosaccharides and some disaccharides, obtaining a beer with low alcohol content. Finally, a blend with sake was made, providing a drier character to our final product.

Keywords: *Asia, wild yeast, algae, blend, sake, wheat.*

1. Introducción

La idea principal fue diseñar una cerveza de trigo dirigida al mercado Asiático con un toque oriental especial, o sea, conseguir un perfil organoléptico de una cerveza europea añadiendo dos de los ingredientes muy consumidos en Asia, el Sake y las algas. Por otro lado, nos aventuramos a estudiar el comportamiento de levaduras salvajes. Esto necesitaría de estudios más intensivos.

Finalmente, juntamos las dos ideas y obtuvimos como resultado final una cerveza de trigo con características asiáticas elaborada con levaduras salvajes que nos aportan bajo contenido en alcohol, siendo un producto muy consumido en Asia.

Este producto aspira a captar nuevos consumidores, tanto en Europa como en Asia, además tenemos la ventaja de un bajo contenido alcohólico, que es tendencia en el mercado. Por otro lado, no nos podemos olvidar del factor económico, pues sería un producto para consumir en dos puntos importantes del mundo, además, tiene un valor añadido que aumenta los lazos entre nacionalidades distintas.

1.1 Levaduras salvajes

Las levaduras son hongos unicelulares, que se reproducen por gemación y que han perdido la capacidad de crecimiento filamentoso y la mayoría fermentan algún tipo de azúcar. Dentro de esta definición se encuentran las levaduras salvajes, que son aquellas que no son deliberadamente utilizadas o no están bajo control, o cualquier levadura no utilizada intencionadamente y con un control total.

Se realizó un aislamiento de levaduras salvajes obtenidas en la planta piloto. Se obtuvieron 7 cepas, las cuales se propagaron en medio Ym para realizarles diferentes análisis. Siendo estos: pruebas test azúcares, PCR y observación del proceso fermentativo. Descartándose 6 de ellas por no fermentar, por formación de velo o resultado negativo en PCR.

La levadura seleccionada es capaz de fermentar monosacáridos y algún disacárido, es POF +, la agitación favorece la fermentación y es floculante.

1.2 Estudio tipificación

Se realizó mediante una espectrofotometría de masas, MALDI TOF (desorción/ionización mediante láser asistida por Matriz), acoplada a un analizador TOF (tiempo de vuelo), es una

técnica de ionización suave utilizada en espectrometría de masas que permite el análisis de biomoléculas y moléculas orgánicas grandes que tienden a hacerse frágiles y fragmentarse cuando son ionizadas por métodos más convencionales.

El análisis de proteínas ha sido determinado siguiendo el protocolo recomendado por *Bruker Daltonics* mediante la extracción etanol/ácido fórmico. La técnica MALDI-TOF MS se realizó mediante un espectrómetro de masas *Reflex IV (Bruker Daltonics)* equipado con un láser N₂. El programa utilizado para el procesamiento de datos fue el *BioTyper 1.1 (Bruker Daltonics)* tal y como se describe en *Maier et al (2006)*.

Este análisis nos dio el perfil proteico de la cepa, obteniendo un correcto índice de identificación (1.83) con la especie *Wickerhamomyces anomalus* (cepa tipo DSM 6766). Son sinónimos de esta especie, las especies *Saccharomyces anomalus*, *Hansenula anomala* y *Pichia anomala*, entre otras.

Para concluir, se identificó la cepa por los siguientes métodos moleculares:

- Amplificación y secuenciación (con lecturas en las dos direcciones) de la zona del DNA ribosómico que comprende los espacios intergénicos ITS1 e ITS2 y que incluye el gen 5,8S rRNA (en adelante región ITS) con los cebadores *its1* e *its4* (*White et al, 1990*) (*Schoch et al 2012*).
- Amplificación y posterior secuenciación (con lecturas en las dos direcciones) de los dominios D1/D2 del extremo 5' del gen que codifica el 28S rRNA con los cebadores *n1* y *n4* (*Kurtzman, et al., 1998; O'Donnell et al., 1998*).

Los resultados obtenidos fueron:

Región ITS (se ha empleado para la comparación el subconjunto de secuencias de referencia RefSeq):

- 99.84% (617/618pb) con la secuencia MK394130 (cepa tipo CBS 5759) perteneciente a la especie *Wickerhamomyces anomalus*.
- 93% (564/609pb) con la secuencia HM461651 (cepa tipo NRRL Y-7130; CBS 5995) perteneciente a la especie *Wickerhamomyces sydowiorum*.

Dominios D1/D2 28SrRNA:

- 100% (61/616pb) con la secuencia MK394130 (cepa tipo CBS 5759) perteneciente a la especie *Wickerhamomyces anomalus*.
- 99% (614/616pb) con la secuencia KY108896 (cepa tipo CBS 9786) perteneciente a la especie *Pichia myanmarensis*.
- 98% (604/616pb) con la secuencia KY110146 (cepa tipo NRRL Y-7130; CBS 5995) perteneciente a la especie *Wickerhamomyces sydowiorum*.
- El análisis *Blast*, combinando ambas regiones ribosómicas en la base de datos pública *MycoBank* (<http://www.mycobank.org>), refleja los siguientes porcentajes de similitud:
 - 99.94% con la especie *Wickerhamomyces anomalus*.
 - 94.42% con la especie *Wickerhamomyces sydowiorum*.

Se concluyó que la cepa pertenecía a la especie *Wickerhamomyces anomalus*.

1.3 Algas

Las algas son un atractivo para el mercado asiático como producto común en su cultura (FAO, 2002; Ramírez & Olvera, 2006) y tienen propiedades beneficiosas para la salud (*Belay et al.*, 1993; *Capelli & Cysewski*, 2010), son nutricionales (Noda, 1993; Rajapakse & Kim, 2011) y antioxidantes (*Sunda et al.*, 2002; *Kuda et al.*, 2005; *Turmo*, 2016). Además, proporcionan el sabor umami (Temussi, 2009), que sería algo novedoso en una cerveza

Se eligió la *Spirulina* que es una cianobacteria, *Arthrospira platensis*, que se compone mayormente de una proteína; la c-ficocianina con capacidad antioxidante ya que secuestra radicales oxidados y metales pesados.

Se realizaron test organolépticos, de filtrabilidad, oxidativos, cromatografía del Trans-2-Nonenal y los resultados obtenidos fueron no concluyentes. Se decidió añadirla en cocimiento debido a su uso como clarificante y posible mejorante de la filtrabilidad, debido a los análisis realizados. Su capacidad antioxidante no fue demostrada (las concentraciones de trans-2-nonenal tras la adición y no adición del alga en cervezas embotelladas en presencia de oxígeno no arrojaron diferencias significativas) debiéndose realizar más estudios. Su capacidad como mejorante de la filtrabilidad del mosto

tampoco resultó probada, aunque la filtración de la cerveza se llevó a cabo en 6 minutos con el filtro de placas de celulosa, siendo el tiempo de filtración habitual para un volumen similar unos 30 minutos.

1.4 Sake

Se decidió realizar un *blend* con sake ya que es un producto oriental muy característico, además de aumentar el grado alcohólico, su función principal es aportar sequedad al producto y así equilibrar el gusto dulce de la cerveza.

Para la elección de este, se realizó una cata el día 21 de mayo a las 17 horas (hora local) en "Sake Forest", local ubicado en Bangkok (Tailandia).

Acudieron un total de 5 catadores. La cata fue dirigida por una experta poseedora del máximo nivel posible como Sake Sommelier. Estos procedían de España (2 catadores), Filipinas (1 catadora), Canadá (1 catadora), Tailandia (1 catadora) y Japón (1 catadora).

Las premisas para poder encontrar el Sake con el perfil adecuado fueron:

- Debía ser seco para evitar proporcionar dulzor añadido en la cerveza final.
- Preferiblemente con aromas frutales, a fruta con hueso (melocotón, mango) que acompañaría perfectamente a los ésteres proporcionados por la levadura seleccionada.
- El grado alcohólico era menos importante, ya que se pretendía hacer un guiño al mercado oriental y no perder el grado alcohólico bajo que proporciona nuestra levadura en el proceso fermentativo.

Se escogieron dos estilos diferentes como finalistas, por unanimidad. Se tuvo también en cuenta la disponibilidad, la viabilidad económica y sus cualidades organolépticas. Fueron los siguientes (ilustración 1):

- **Sake TokuseiGold Daiginjo:** Aspecto cristalino, aromas anisados, seco, acidez media, cuerpo ligero. Precio en España: 52,37 euros/litro.
- **Yaegaki Junmai:** Aspecto cristalino, aromas a vino blanco añejo, seco, acidez media, cuerpo ligero. Precio en España: 16,50 euros/litro.



Ilustración 1- Sakes elegidos en la cata.

Finalmente se eligió el Sake Yaegaki Junmai, ya que se consideró que aportaba aromas vinosos que pudieran asociarse al vino español y su viabilidad económica era mayor para la elaboración de este proyecto. A su vez, otorgaría al producto una sensación más ligera en el cuerpo y un toque alcohólico suave, equilibrando así la cerveza final.

2. Fabricación:

2.1 Molienda

La molienda de la malta fue realizada mediante un molino de martillos con un tamiz de 2 mm de luz para optimizar su rendimiento en el filtro prensa (tabla 1).

MALTA	USO%	H%	Rto %
Pilsen	50	4,5	82,2
Malta de trigo blando	50	5,2	84,5

Tabla 1- Proporción de cereales en la receta.

2.2 Premaceración y maceración

El empaste de las maltas se realizó con un volumen de 36 litros de agua a una temperatura de 55°C con una relación de empaste de 3.2L a 1kg.

El tiempo de empaste fue de 20 min y se añadió al inicio 6g de Spirulina más 7,2 g de CaCl₂. En los primeros minutos de la maceración, se añadió 22g de H₃PO₄ para ajustar el pH de 5,81 hasta los 5,41 para optimizar el rango de trabajo de las enzimas. La curva de maceración elegida fue la representada en la gráfica 1, dirigiendo el proceso a conseguir una cantidad considerable de maltosas y monosacáridos fomentando la actuación de la β-amilasa.



Gráfica 1- Diagrama del proceso de maceración.

2.3 Filtración y dilución del mosto

El objetivo era elaborar un mosto de 10/10,5 °P para el inicio de la fermentación. Para conseguirlo, se tomó la decisión de trabajar en el filtro con la carga de malta equivalente de diseño y posteriormente hacer una dilución. Así se aseguraba el correcto funcionamiento y evitar posibles desmoronamientos de la torta.

Se obtuvo un primer mosto denso de 19,8°P. El riego se llevó a cabo con una cantidad de 60 litros de agua hasta obtener unas últimas aguas de 4,6°P. El extracto del mosto filtrado fue de un valor de 11,2°P. ~~Desde el tanque de espera se trasegaron 70 litros de mosto a la olla de ebullición donde se diluyó con agua caliente hasta un volumen de 70 litros a 9,5°P.~~

2.4 Ebullición y Whirlpool

La ebullición se prolongó durante 60 minutos a una temperatura de 98°C para no evaporar mucho mosto. Al inicio se adicionó lúpulo Northern Brewer y se abrió la tapa de la caldera para liberar los volátiles indeseables (tabla 2).

Lúpulo	gr	% AA	IBU
Northern Brewer	76	8,5%	27

Tabla 2- Cantidad de lúpulo adicionado.

Una vez terminada la etapa de ebullición, se transfirió el mosto caliente al Whirlpool para separar las partículas sólidas en suspensión, formando el trub caliente en el fondo y centro del tanque. Al inicio de este proceso se añadió CaCl₂ y ZnSO₄ para favorecer el rendimiento de la levadura durante la fermentación. Se obtuvo un volumen de 64 litros de mosto con extracto de 10,2°P.

2.5 Enfriamiento, fermentación y guarda

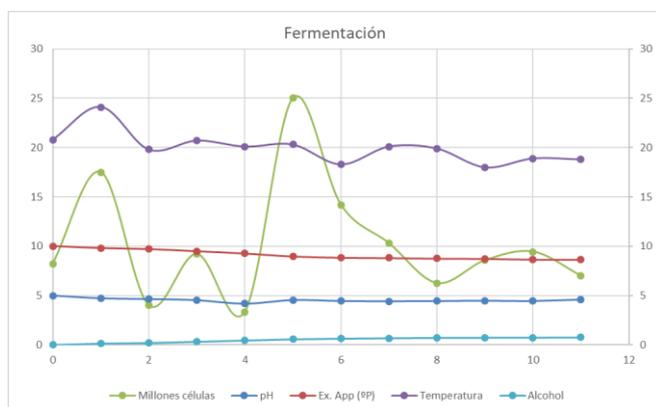
Tras el *Whirlpool* se hizo el trasiego a los fermentadores por los intercambiadores de placas. La estación está dividida en dos fases, una con agua de red y otra con agua glicolada a 15 °C, consiguiendo enfriar el mosto hasta los 20 °C. a la vez se oxigenó en línea con oxígeno alimentario.

Se inoculó levadura salvaje de la sexta generación con un recuento total inicial de 8 millones de células por mililitro de mosto. Se mantuvo la fermentación a 20°C debido a las características de la levadura salvaje. Se hizo un seguimiento diario de la fermentación, que tuvo una duración de 11 días y después se bajó a 0°C para realizar una guarda de 7 días.

En las siguientes gráficas se muestra la evolución de la cerveza y levaduras durante la fermentación.

Análisis / Días	23-may 0	24-may 1	25-may 2	26-may 3	27-may 4	28-may 5	29-may 6	30-may 7	31-may 8	01-jun 9	02-jun 10	03-jun 11
pH	4,97	4,7	4,63	4,52	4,18	4,53	4,44	4,42	4,43	4,47	4,44	4,58
Temperatura	20,8	24,1	19,8	20,7	20,1	20,3	18,3	20,1	19,9	18	18,9	18,8
Ex. App (°P)	10	9,802	9,705	9,49	9,268	8,97	8,85	8,81	8,756	8,731	8,658	8,658
Millones células	8,22	17,5	4	9,2	3,35	25	14,2	10,3	6,25	8,56	9,44	7
% Viabilidad	99,35	97,96	97,75	96,8	99,8	95,6	98,5	96,64	93	94,16	88,24	88,58
Alcohol	0	0,14	0,2	0,32	0,45	0,57	0,64	0,68	0,72	0,73	0,74	0,76

Tabla 3- Proceso de fermentación.



Gráfica 2 - Variación de parámetros durante la fermentación.

Se observó una reducción muy lenta y escasa del extracto, aparente, debido a la poca cantidad de monosacáridos en el mosto, ya que la levadura consume mayormente este tipo de azúcares. Esto se observó en un estudio paralelo de concentraciones de estos azúcares en mosto y cerveza final. El pH se redujo sin ningún punto a destacar.

El número de células varió. Se fue comprobando a medida que se estudiaba la

levadura salvaje que ésta funciona mejor en agitación. En ausencia de agitación, sedimentaba en el fondo, teniendo la torta de levadura una viabilidad del 98%. Por eso, se decidió re-suspender la levadura con un golpe de CO₂, obteniendo como resultado un aumento considerable de células en el día 5º de la fermentación.

2.6 Filtración y carbonatación

Antes de proceder al envasado, se hizo el *blending* con 2,3L de sake y 0,4g de extracto de iso-alfa-ácidos para ajustar los IBUs a 24. Para ello, se añadieron ambos a un fermentador diferente y se hicieron varios trasiegos de la cerveza (con una purga de levadura previa) de uno a otro para homogeneizar lo máximo posible.

Partimos de 3,6 millones de células por mililitro para la filtración. Se utilizó un filtro de placas de celulosa con un diámetro de poro de 15 µm. Al mismo tiempo la cerveza se carbonató en línea por medio de una piedra porosa a 2 bares de presión. La filtración fue muy rápida, 6 minutos en su totalidad. No se pudo concluir si fue debido a la presencia de las algas, o el reducido tamaño de las células de la levadura.

2.7 Envasado y cerveza final

Desde el BBT se realizó el envasado en botellas de 33 cl mediante una llenadora neumática con una única cánula. El cerrado de las botellas se realizó con una cerradora manual y tapón corona de 26 mm. Para evitar problemas de contaminación microbiológica, las botellas fueron esterilizadas previamente y los tapones se introdujeron en un baño con un limpiador higiénico con oxígeno activo.

Los parámetros medidos en la cerveza final envasada se muestran en la siguiente tabla (tabla 4).

Análisis Cerveza Final	
Color EBC	4.14
pH	4.5
Nitrogeno Total mg/L	12,7
FAN mg/L	141,20
Polifenoles Totales mg/L	94.42
Amargor μ A	18
Espuma	N10= 129
	N20=229
	N30= 311
Turbio	90° = 0,171; 25°= 0,061
TAF	33.7
Diacetilo	18.2
Pentanodiona	5.8
Sulfuroso	0.1626
Alcohol %v/v	1.62
Alcohol %w/w	1.2415
Extracto Original %w/w	11.009
Extracto Real %w/w	8.589
Extracto Aparente %w/w	7.997
Densidad Original SG20/20	1.03175
CO ₂	3.54
Calorias kJ/100 mL	169.76

Tabla 4- Datos cerveza final.

Cabe destacar la calidad de la espuma de la cerveza y también el poco consumo de FAN de la levadura, esto se pudo deber a la fermentación tan lenta y sosegada que realizó la levadura.

3 Prueba de mosto con enzimas

Debido a las pruebas de azúcares obtenidas, se demostró que la levadura consume monosacáridos en la fermentación. Por eso para poder avanzar en su estudio, se decidió realizar una segunda receta aplicando enzimas comerciales, concretamente: Amilogucosidasa AMIGASE® MEGA L.

Para ello se repitió el mismo proceso de elaboración que el realizado en el proyecto. Añadiendo las enzimas al principio de maceración. La dosis recomendada es de 0,8 a 3,2 kg por tonelada de extracto, siendo de 1,2 kg la empleada.

Se sometió a una prueba de atenuación límite (tabla 5).

CERVEZA	CERVEZA + ENZIMAS	CERVEZA PROYECTO
ALCOHOL (% V/V)	1.91	0.56
EO (GR/GR)	9.918	9.9509
ER (GR/GR)	7.022	8.669
EA (GR/GR)	6.318	8.462
SG 20/20 G/ML	1.02494	1.03366
ALCOHOL (% W/W)	1.477	0.427
RDF %	30.30	9.25
ADF%	36.3	11.01
CALORÍAS KJ/100ML	151.59	146.96

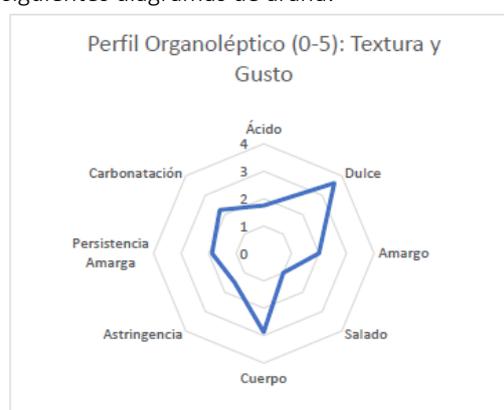
Tabla 5- Análisis atenuación límite.

Se vio la reducción del extracto, demostrándose que la adición de enzimas tiene un efecto positivo para la levadura comparándose con la cerveza del proyecto.

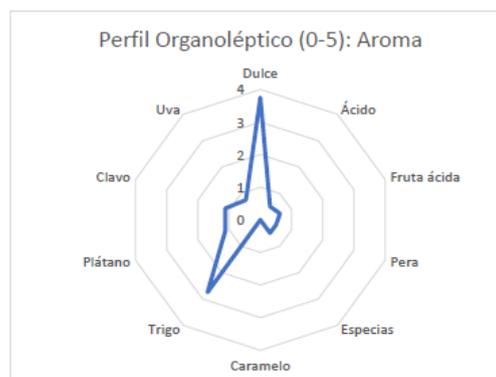
4 Evaluación sensorial

Se realizó un análisis sensorial con 8 catadores voluntarios, ninguno percibió *off-flavours*. El dulce predomina sobre los demás sabores ya que, al ser una cerveza de bajo contenido en alcohol es característico de estas.

El trigo también destaca ya que la levadura es POF + y genera 4-vinil-guayacol, compuesto fenólico característico de las cervezas con esta materia prima. Se destacó el perfil en los siguientes diagramas de araña:



Gráfica 3- Perfil organoléptico de textura y gusto.



Gráfica 4- Perfil organoléptico de aromas.

Los resultados dieron una valoración positiva, los comentarios más comunes recibidos fueron: Ligera, refrescante, bebestible, poco carbonatada, dulce, buen aroma y equilibrada.

5 Etiquetado

Se quiso realizar un diseño que combinara simbología asiática, algas y tranquilidad, ya que, la cerveza se combinó con alimentos tradicionales, además de no contener un grado alcohólico muy elevado, debido a la tendencia de disminuir el consumo de este en Asia.

La etiqueta se diseñó en inglés debido a la gran cantidad de lenguas asiáticas y se incorporó el castellano ya que se produjo en España.



Ilustración 2- Etiqueta de la cerveza.

Se siguió el Reglamento UE Nº 1169/2011 para añadir todas las menciones obligatorias en la correspondiente etiqueta. Siendo la más característica la denominación de Cerveza con Sake ya que no se pudo denominar solamente cerveza debido a la adición de otro producto que no proviene de la misma elaboración de la cerveza.

6 Conclusiones

En primer lugar, se pudo aislar, propagar y utilizar una levadura salvaje captada en el entorno de la planta piloto de la AETCM, partiendo de placas Petri en menos de 5 meses, y conseguir resultados óptimos, obteniendo su identificación como *Wickerhamomyces anomalus*.

Se comprobó que la levadura salvaje utilizaba mayormente en su ruta fermentativa azúcares simples por lo que la adición de Amiloglucosidasas (AMG) se considera óptimo para obtener un grado de alcohol más elevado.

Se comprobó que el proceso fermentativo es lento, estimando el final de fermentación en aproximadamente 10-15 días, según los ensayos realizados. Además, la agitación favorece este proceso, reduciendo el periodo de tiempo.

Se observó que las células de levadura salvaje poseían un tamaño inferior a las células *Saccharomyces*, distinguiendo dos comportamientos distintos en fermentación, ya que algunas células floculaban con normalidad mientras otras tendían a subir a la parte superior

del tanque formando una especie de velo blanquecino.

Se pudo constatar que la adición de Spirulina no aportaba beneficio antioxidante alguno. Y las demás pruebas realizadas fueron inconcluyentes, por lo tanto, debería profundizarse más en su estudio para posibles mejoras en el proceso.

Añadiendo un 4% de Sake en producto final se encontró el equilibrio perfecto, provocando un mayor descenso en la percepción del cuerpo de la cerveza, un toque más seco, rebajando el dulzor levemente, sin incidir negativamente en los *flavours* de la misma, otorgando total protagonismo a los ésteres producidos por la levadura salvaje. Debido a ese 4% de Sake se pasó de un 0,8% de volumen de alcohol a un 1,6%. Se pretendió ofrecer una cerveza elegante, por lo que se decidió filtrar para conseguir un color amarillo brillante, que expresaba sensación de ligereza, bebestibilidad y finura. Por otro lado, esta decisión ayudó a eliminar posibles *off-flavours* de la levadura en cerveza final antes de su consumo.

Por último, se consiguió el objetivo planteado al principio del proyecto de realizar una cerveza de bajo contenido en alcohol, estilo en alza a nivel mundial, con ingredientes utilizados en el mundo *craft*, sin adjuntos y con un toque oriental, base fundamental del estudio realizado.

7 Agradecimientos

Queremos agradecer a todos los profesores de la UAH y ESCYM por haber compartido todas sus experiencias y conocimientos en el sector cervecero. Mención especial para los profesores: María Felisa Bartolomé, Ana García, Antonio Fumanal, Virginia Rojano y Marta García.

En segundo lugar, agradecer a los miembros de la planta piloto, Esther y Lola, por su disponibilidad y apoyo en esta aventura de elaborar nuestra propia cerveza.

Mención especial merece también el Laboratorio central de Damm y su responsable Iván Anaya, que hicieron de soporte analítico al proyecto con su departamento de Cromatografía de la fábrica de El Prat; así como el laboratorio de control de calidad de Estrella de Levante y el de Heineken-Sevilla, con la siempre inestimable ayuda de Virginia Rojano.

Por otro lado agradecer a nuestros compañeros de máster por hacernos pasar grandes momentos que nunca olvidaremos.

De igual manera agradecer a todas las empresas colaboradoras por abrirnos sus puertas en cada visita, así como contribuyendo en nuestro enriquecimiento personal.

Reconocer el esfuerzo de nuestras empresas, Estrella de Levante y FontSalem, ambas del grupo Damm, por la inversión realizada en nuestra formación y la gran oportunidad de haber podido realizar el Máster de Cervecería.

Por último, y no por ello menos importante, agradecer a nuestras familias por su apoyo y paciencia en esta andadura.

8 Bibliografía

Capelli, B., & Cysewski, G. R. (2010). Potential health benefits of spirulina microalgae. A review of the existing literature. *Nutra Foods*, 9(2), 19–26. <https://doi.org/10.1007/BF03223332>

Food and Agriculture Organization of the United Nations. (n.d.). FAO fisheries and aquaculture circular. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Retrieved from <http://www.fao.org/3/y3550s/Y3550S00.htm>

Glass, N.L., Donaldson, G.C. (1995). Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. *Appl Environ Microb* 61:1323–1330

Kuda, T., Tsunekawa, M., Goto, H., & Araki, Y. (2005). Antioxidant properties of four edible algae harvested in the Noto Peninsula, Japan. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18(7), 625–

Kunze, W. (2006). Wolfcanc Kunze. Retrieved from www.ame-kulessa.de

Kurtzman, C.P., & Robnett, C.J. (1998). Identification and phylogeny of ascomycetous yeasts from analysis of nuclear large subunit (26S) ribosomal DNA partial sequences. *Antonie van Leeuwenhoek* 73: 331–371.

Maier et al., (2006). T. Maier, S. Klepel, U. Renner and M. Kostrzewa, Fast and reliable MALDI-TOF MS-based microorganism identification, *Nat Methods* 22 (2006).

Noda, H. (1993). Health benefits and nutritional properties of nori. *Journal of Applied Phycology*, 5(2), 255–258. <https://doi.org/10.1007/BF00004027>

Olvera-Ramírez, L., & Ramírez-Moreno, R. (2006). Uso tradicional y actual de Spirulina. *Interciencia*, 31(April), 657–663.

Rajapakse, N., & Kim, S. K. (2011). Nutritional and digestive health benefits of seaweed. *Advances in Food and Nutrition Research* (1st ed., Vol. 64). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387669-0.00002-8>

Schoch CL, Seifert KA, Huhndorf A et al. (2012) Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109, 6241–6246.

Shimamatsu, H., Belay, A., Ota, Y., & Miyakawa, K. (1993). Current knowledge on potential health benefits of Spirulina. *Journal of Applied Phycology*, 5(2), 235–241. <https://doi.org/10.1007/BF00004024>

Sunda, W., Kieber, D. J., Kiene, R. P., & Huntsman, S. (2002). 51673 301..352, 1–5. <https://doi.org/10.1038/nature00851>

Temussi, P. A. (2009). Sweet, bitter and umami receptors: a complex relationship. *Trends in Biochemical Sciences*,

Turmo Ibarz, A. (2016). Capacidad antioxidante y cuantificación de polifenoles extractables in vitro en algas de consumo alimentario. Retrieved from <https://repositori.udl.cat/bitstream/handle/10459.1/59629/aturmoi.pdf?sequence=1>

White, T. J., T. Bruns, S. Lee, and J. Taylor. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics, p. 315–322. In M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, and T. J. White (ed.), *PCR protocols. A guide to methods and applications*. Academic Press, San Diego, Cali.