

Ácido Sulfhídrico y Cerveza

Traducción del whitepaper *Hydrogen Sulfide and Beer*, de Lallemand Brewing 2021, por Joan Montasell, MSc, Dipl. Brew, Technical Sales Manager - Spain & Portugal

Introducción

No hay ninguna duda de que el clásico olor a huevos podridos en cerveza es indicativo de la presencia de ácido sulfhídrico (H_2S). La formación de este compuesto es controlable, aunque puede ser parte del perfil organoléptico para ciertos estilos de cerveza.

La presencia de H_2S , u otros volátiles derivados del mismo, podría significar la no conformidad de un lote entero de cerveza. Sin embargo, si se conoce y entiende la naturaleza de este compuesto, nos permitirá obtener un mayor control sobre el mismo.

El presente artículo tiene por objetivo aportar información sobre:

- La composición del H_2S
- Cómo se produce durante la elaboración
- Cómo la presencia del H_2S puede resultar en la formación de otros compuestos de azufre más estables
- Métodos para su detección
- Consejos para la prevención
- Técnicas para la eliminación

¡EL H_2S NO SIEMPRE ES MALO!

A baja concentración, el H_2S contribuye al perfil típico de las cervezas tipo lager. Incluso a mayores concentraciones, el H_2S se considera aceptable en ciertos estilos ingleses como las Pale Ale de Burton-on-Trent.

¿QUÉ ES EL ÁCIDO SULFHÍDRICO?

Desde el 1898, hay escritos donde se menciona que los cerveceros ya eran conocedores de la presencia de compuestos azufrados en la elaboración de cerveza. Hoy en día, sabemos que el H_2S es un compuesto muy volátil con un umbral de detección bajo, entre 0.01 y 0.02 mg/L, siendo detectable para la mayoría de la población.

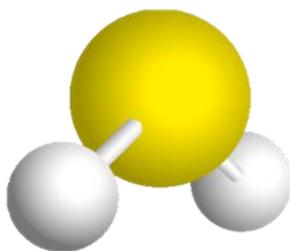


Figura 1. Estructura molecular del H_2S
(amarillo=azufre / blanco=hidrógeno)

La concentración de H_2S producido por la levadura durante la fermentación depende de varios factores, tales como la composición del mosto, los parámetros de fermentación y la genética de la levadura seleccionada.

Los orígenes del H₂S pueden proceder de:

- Una levadura cervecera o bien por contaminación de una levadura salvaje
- Una contaminación por bacterias
- La fermentación o la maduración

Uno de los muchos compuestos de azufre volátiles.

El H₂S es uno de los muchos compuestos de azufre presentes en la cerveza, y cada uno de ellos tiene su propio perfil aromático. El sulfito (SO₂) tiene un aroma similar a los fósforos quemados, mientras que el sulfuro de di metilo (DMS) tiene un aroma de maíz en lata o verduras hervidas. Los mercaptanos se caracterizan por un olor fétido, y que recuerda a una alcantarilla, caucho quemado o vegetal en descomposición.

El H₂S se convierte en otros compuestos.

El H₂S puede convertirse fácilmente en otros compuestos azufrados debido a cambios de pH, temperatura y reacciones de oxidación, lo que dificulta la detección mediante métodos analíticos. Por ejemplo, el H₂S puede reaccionar con carbonilos para producir mercaptanos no deseables, que son muy estables y difíciles de eliminar de la cerveza una vez producidos.

La cantidad producida de H₂S está determinada por varios factores:

- Cepa de levadura
- Temperatura de fermentación
- Composición de nitrógeno del mosto
- Manipulación de levadura

¿POR QUÉ SE PRODUCE EL ÁCIDO SULFHÍDRICO?

El H₂S es producido a partir del metabolismo habitual de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces pastorianus*, cuando los iones sulfato se reducen para su transformación a aminoácidos. Debido al metabolismo altamente reductivo de la fermentación alcohólica, se produce la acumulación de una gran cantidad de iones de hidrógeno (H⁺) dentro de la levadura. Esto crea un ambiente ácido en el citoplasma, que es estresante para la propia célula.

Si la levadura no fuera capaz de eliminar estos iones de hidrógeno, su supervivencia durante la fermentación no sería posible. El H₂S se produce a partir de la transformación del azufre mediante la reducción enzimática de los sulfatos (sulfato reductasa) con el fin de eliminar el exceso de iones de hidrógeno de la célula.

La producción elevada de H₂S puede ocurrir especialmente durante fermentaciones alcohólicas con una notable deficiencia de nitrógeno o bien con temperaturas de fermentación demasiado bajas.

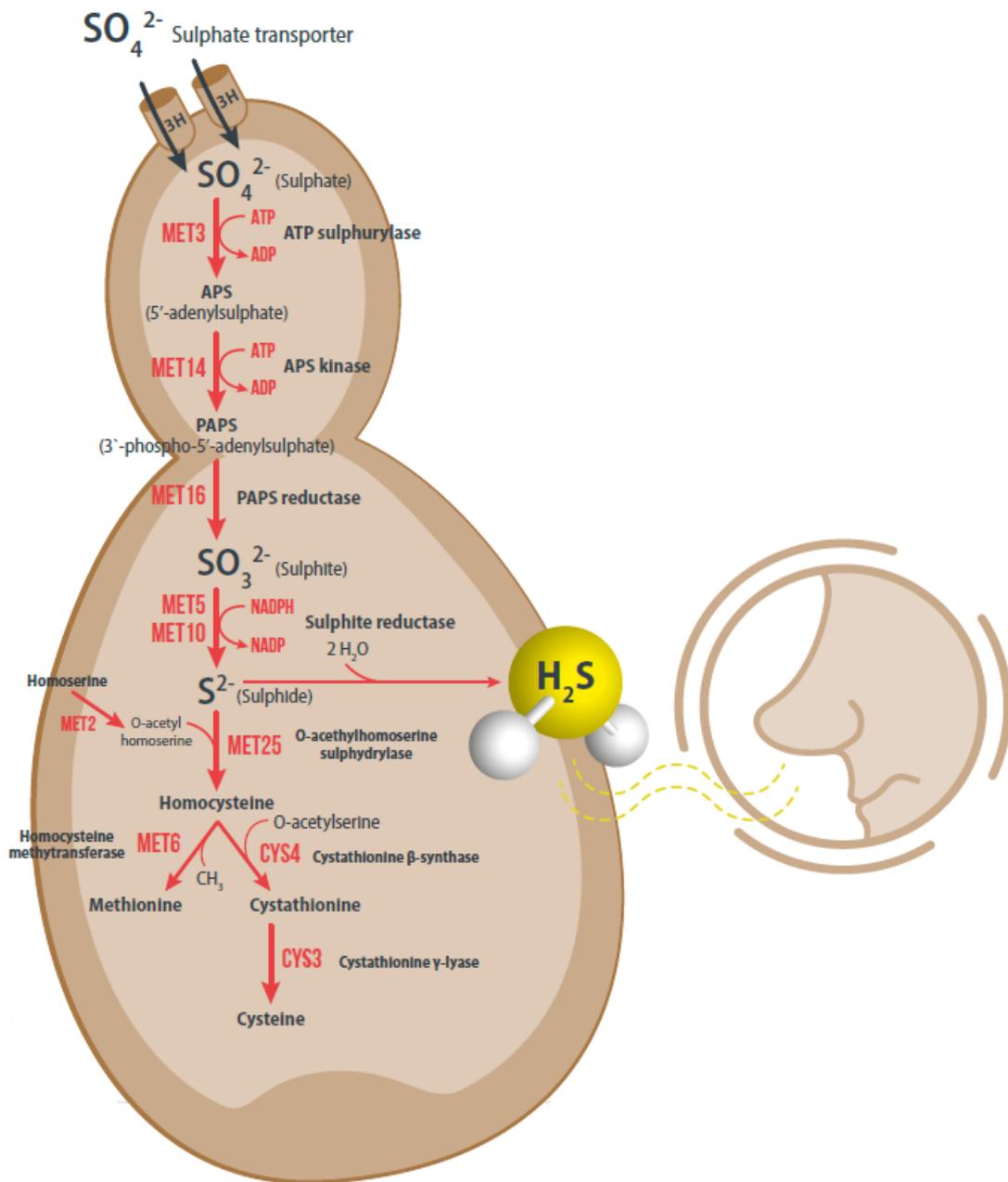


Figura 2. Metabolismo de la cisteína y formación del H₂S en *Saccharomyces cerevisiae*

El rol del nitrógeno y los aminoácidos

El H₂S se produce como un subproducto de la síntesis de los aminoácidos cisteína y metionina, y que es facilitado por las enzimas de secuencia de reducción del azufre (SRS). Cuando hay suficiente nitrógeno presente en el medio, los precursores O-acetil serina y O-acetilhomoserina secuestrarán el H₂S durante la formación de metionina y cisteína, respectivamente.

La liberación de H₂S se puede inducir en los cultivos de levadura de *S. cerevisiae* a través de la falta de nitrógeno asimilable (FAN) en el medio [1]. Si el nitrógeno es un factor limitante, no hay suficientes precursores disponibles y el H₂S libre puede acumularse en la célula y liberarse durante la fermentación.

Otros aminoácidos presentes en el mosto pueden también influir en la producción de H₂S. Los aminoácidos comunes en el mosto que pueden favorecer la producción de H₂S son: cisteína, homocisteína, ácido aspártico, ácido glutámico, glicina, histidina, homoserina, lisina, ornitina, treonina y serina. La levadura también puede producir otros compuestos de azufre a partir de estos mismos aminoácidos.

La carencia de vitaminas también puede resultar en niveles altos de H₂S. Las vitaminas actúan como cofactores enzimáticos SRS implicados en el metabolismo de los aminoácidos. El bajo contenido de vitaminas en la fermentación puede resultar en una disminución de los niveles de metionina, lo que lleva a un aumento de los niveles de H₂S.

Tabla 1. Condiciones que influyen los niveles de H₂S en cerveza.

Incrementa H ₂ S	Reduce H ₂ S
Bajos niveles de nitrógeno	Nivel adecuado de nitrógeno
Estrés de la levadura y autólisis	Fermentaciones vigorosas
Levadura lager	Concentraciones altas de cobre

Tabla 2. Condiciones para la formación o reducción de H₂S.

Formación de H ₂ S	Reducción de H ₂ S
Durante la fermentación primaria cuando la biomasa de levadura alcanza su máximo	Durante la división celular
En la etapa final del metabolismo de azúcares	Durante la fermentación activa
	Después de alcanzar la atenuación límite
	Durante la maduración de la cerveza, cuando la levadura está en suspensión

Factores ambientales que afectan a la formación de H₂S

El metabolismo del azufre es un proceso dinámico, por lo que los niveles de H₂S aumentan y disminuyen durante el transcurso de la fermentación [2].

Durante la primera etapa de la fermentación, la levadura absorbe el sulfato, seguidamente lo reduce a sulfito (SO₃²⁻) y finalmente a sulfuro (S²⁻), el cual se utiliza para la síntesis de los

aminoácidos que contienen azufre, y que favorecen la división celular de la levadura y su crecimiento. En el momento en que la célula se divide, el H_2S presente en la fermentación disminuye con rapidez, probablemente a través de la absorción por parte de la misma levadura.

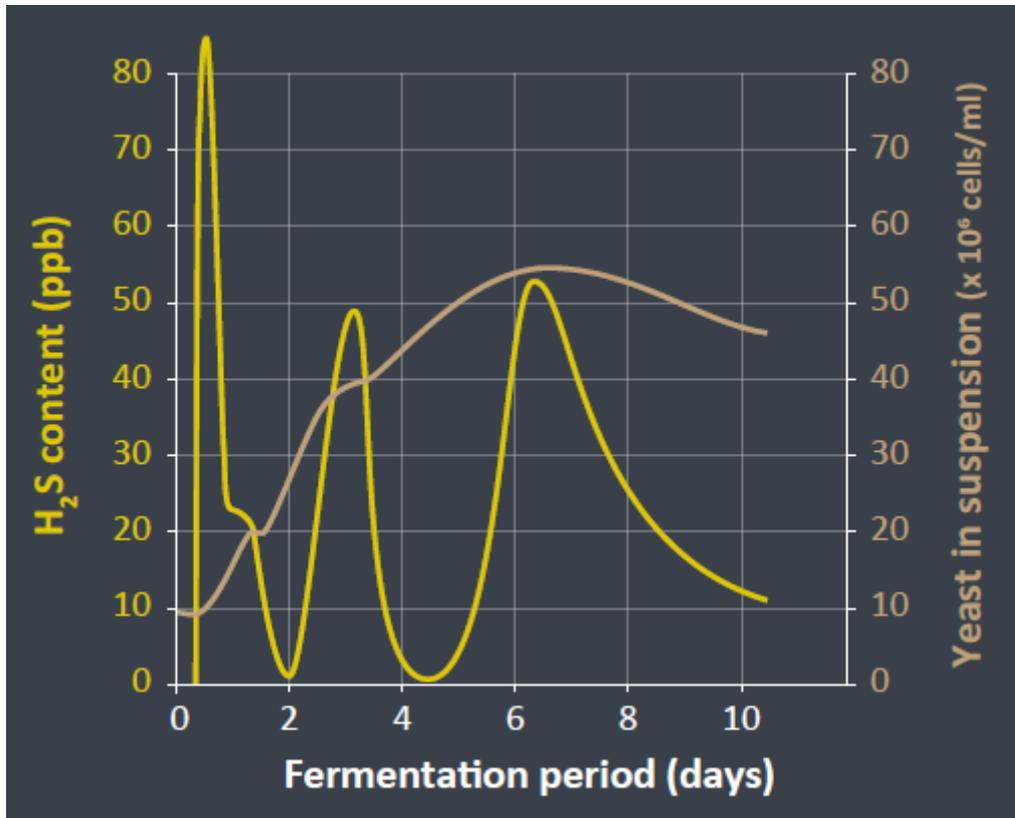


Figura 3. Patrón típico de comportamiento de H_2S y levadura en suspensión durante la fermentación [2]

Cuando el metabolismo se ralentiza, las células de levadura liberan sulfito (SO_3^{2-}) y sulfuro (S^{2-}). En las etapas finales de la fermentación, justo después del punto máximo de biomasa de levadura, se dice que la disminución en la concentración de H_2S se atribuye principalmente a la purga de CO_2 . A medida que la actividad fermentativa y la producción de CO_2 disminuyen, otros factores comienzan a contribuir en la disminución de los niveles de H_2S en cerveza [3].

Existe una relación entre las tasas de asimilación de los azúcares fermentables (glucosa, maltosa y maltotriosa) y la rápida disminución de H_2S al final de la fermentación. Una vez que la tasa de asimilación del azúcar fermentable cae por debajo de 0.05% p/p/h, se observa una rápida disminución de H_2S , lo que sugiere que la falta de dichos azúcares desencadena la caída de concentración de H_2S .

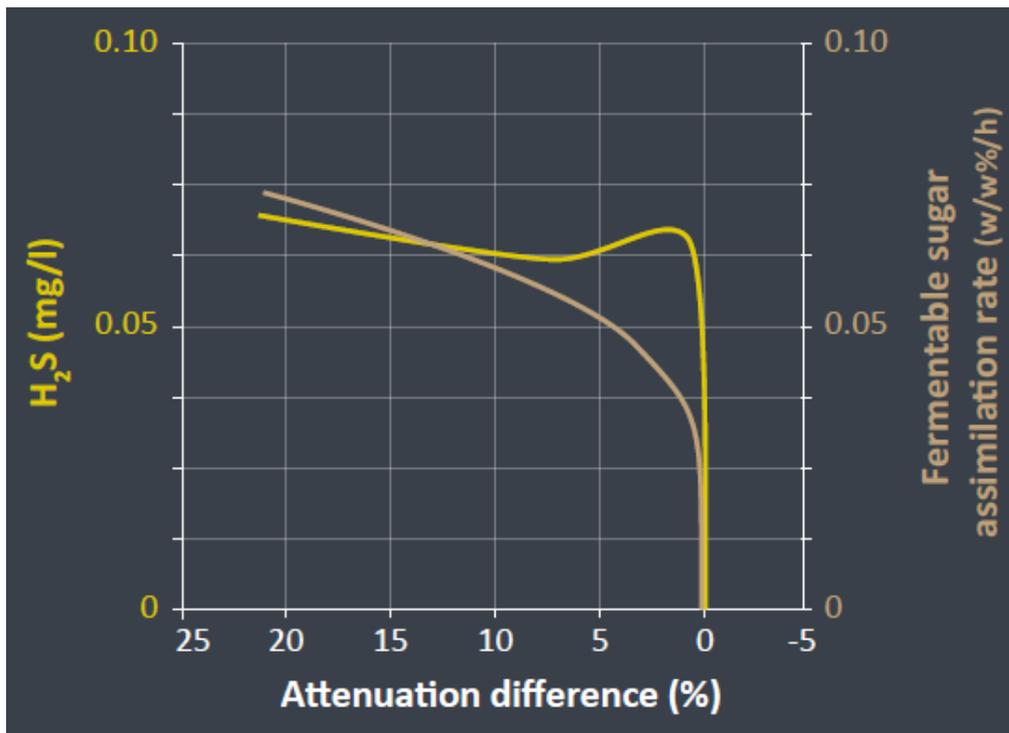


Figura 4. Comportamiento del H₂S y tasa de asimilación de azúcares fermentables [3]

Por lo tanto, se asocia la fase final de la fermentación con el momento donde se produce la mayor disminución de H₂S. En esta fase, la levadura reabsorberá el H₂S, provocando así una disminución de dicho compuesto en la cerveza [3].

La tasa de reabsorción del H₂S por parte de la levadura está relacionada con el número de células de levadura aún en suspensión al final de la fermentación. Extender el tiempo de fermentación antes de transferir la cerveza a otro tanque proporcionará más tiempo de contacto con la levadura y así una mayor disminución general del H₂S [3].

Oxígeno

La incorporación no intencionada de oxígeno al final de la fermentación ya sea durante la transferencia de la cerveza o bien en el envasado, podría representar un aumento de los niveles de H₂S en el producto final [2]. El oxígeno presente en dichas etapas puede estimular y reactivar el metabolismo la levadura en un ambiente sin nutrientes, provocando así la producción de H₂S.

Cepas de levadura

Los equipos de acero inoxidable de una cervecería pueden estar aumentando la prevalencia de la producción de H₂S.

Los equipos tradicionales se fabricaban a base de cobre, que aportaba iones a la fermentación de la cerveza, los cuales reducían los niveles de H₂S. No obstante, los equipos más modernos, que suelen estar hechos de acero inoxidable, pueden resultar concentraciones menores de cobre dando lugar a una mayor prevalencia del H₂S.

El cobre es incorporado a través de múltiples ingredientes en el proceso de elaboración de la cerveza, incluidos el agua, la malta, el lúpulo y/o la levadura.

Las diferentes cepas de levadura responden distintamente a los factores fisiológicos y ambientales durante la producción y reabsorción de sulfuro reducido. Por este motivo, es importante conocer las características de la cepa seleccionada para la producción de cerveza, específicamente en la producción y posterior eliminación del H₂S.

Respuesta al estrés

La formación de H₂S también depende de las respuestas al estrés por parte de una célula de levadura. Una nutrición inadecuada (bajos niveles de nitrógeno o vitaminas), una tasa de inoculación insuficiente y una temperatura de fermentación inadecuada pueden dar como resultado una producción excesiva de H₂S durante la fermentación, o incluso una eliminación insuficiente. Es probable que el estrés de la levadura y la autólisis ocurran en paralelo, dando como resultado un perfil complejo de sabores no deseados.

Iones de cobre

Los iones de cobre en la cerveza pueden reaccionar con las moléculas de H₂S para formar sulfuro de cobre, un compuesto insoluble y no volátil, el cual precipita. Las bajas concentraciones de cobre pueden significar cantidades más notables de H₂S [4].

¿CÓMO DETECTAR EL ÁCIDO SULFÚDRICO?

Existen algunos métodos en el laboratorio para detectar el H₂S, tales como la reacción con acetato de plomo, pero no son métodos cuantitativos y, por lo general, no son lo suficientemente sensibles para detectar trazas de H₂S en la cerveza final, siendo de poco interés y utilidad para las cervecerías.

Los seres humanos han desarrollado una hipersensibilidad a los compuestos de azufre, entre ellos el H₂S y los mercaptanos. La presencia de iones de cobre en el moco nasal aumenta la afinidad de unión de los compuestos de azufre a los receptores de la nariz y aumenta el umbral sensorial hasta 1000 veces. Los compuestos de azufre, en comparación con otros sabores o defectos típicos en cerveza, son mucho más fáciles de detectar. Por ejemplo, el promedio de los umbrales sensoriales para el diacetilo (0.15 mg/L), el ácido acético (90 mg/L) y el ácido láctico (140 mg/L) son mucho más altos en comparación con el del H₂S (0.01 a 0.02 mg/L).

Entrena tu nariz y paladar de sabores

Un panel sensorial entrenado es la herramienta más efectiva para detectar H₂S en una cervecería. Los elaboradores pueden entrenar sus paladares para que sean más sensibles a ciertos sabores no deseados y otros aromas. Hay disponibles cursos de formación y kits comerciales para la gestión de paneles sensoriales, que permiten a los cerveceros "añadir" ciertos compuestos químicamente puros en su propia cerveza para realizar el análisis sensorial.

Con este enfoque, se puede entrenar a un panel sensorial para que se vuelva cada vez más y más sensible al H₂S, a los mercaptanos y a otros compuestos de azufre entre muchos otros. Un panel entrenado permite una detección a tiempo del H₂S para que el cervecero tome las medidas correctivas en caso de que así sea necesario.

PREVENIR LA PRODUCCIÓN DE H₂S

Tal y como se muestra a continuación, existen varios métodos para evitar la producción de H₂S durante la fermentación.

Selección de la cepa de levadura

La mayoría de las cepas ale producen niveles muy bajos de H₂S, mientras que las cepas lager tienden a producir concentraciones superiores.

Recientemente, se han seleccionado híbridos de levadura específicos para producir niveles más bajos de H₂S. Estas cepas sobre expresan el gen MET10, que codifica una sulfhidrilasa (SHLasa) capaz de usar O-acetil serina u O-acetilhomoserina, demostrando así una reducción drástica de la producción de H₂S ya sea en condiciones altas y bajas en nitrógeno [6].

Elige una cepa de levadura adecuada. Algunas cepas lager son simplemente más sulfurosas que otras y requieren tiempos de maduración más largos. Es mucho más fácil evitar la producción de sulfuro de hidrógeno (H₂S) mediante la correcta selección de una levadura que no después de elaborar la cerveza.

Gianmaria Ricciardi

Technical Sales Manager - Italia y Eslovenia

Nutrientes para levadura

Generalmente, el mosto de malta contiene todo lo que una célula de levadura necesita para una fermentación saludable. Dependiendo de la calidad de la malta utilizada y perfil iónico del agua, el mosto puede presentar deficiencias de nitrógeno, vitaminas o minerales. En este sentido, la adición de nutrientes podría ayudar a reducir la formación de H_2S . El tipo de nutriente y el momento de la adición son importantes. Los nutrientes normalmente contienen una fuente de nitrógeno mineral (ej.: amonio), una fuente de nitrógeno orgánico (ej.: derivado de levadura) o una combinación de ambos. Las fuentes de nitrógeno mineral, como el amonio, dan como resultado fermentaciones muy rápidas que agotan rápidamente los aminoácidos presentes causando su deficiencia, lo que puede desencadenar la formación de H_2S . Las fuentes de nitrógeno orgánico se metabolizan más lentamente, lo que da como resultado niveles de aminoácidos más estables durante la fermentación y, por lo tanto, menor formación de H_2S .

El nitrógeno no es el único factor nutricional que influye en la producción de H_2S , por lo que un nutriente más complejo que incluya también vitaminas y minerales reducirá la posibilidad de que haya H_2S en el producto final. Lallemand Brewing ofrece una gama de soluciones de nutrientes para levadura, tales como el *YeastLife Extra™*, formulado específicamente para proporcionar una mezcla equilibrada de todos los elementos esenciales necesarios para una fermentación saludable, un seguro contra la producción de H_2S durante la fermentación.



Largos tiempos de maduración con mínima incorporación de O_2

Proporcionar más tiempo de maduración a una cerveza con presencia de levadura puede ayudar a reducir la concentración de H_2S mediante su reabsorción. Los períodos de maduración más largos pueden presentar otras consecuencias sobre el perfil organoléptico, llegando a ser positivas (reducción del diacetilo) pero también negativas (reducción del aroma a lúpulo). Un período de maduración más largo es particularmente importante en las cervezas estilo lager, donde el metabolismo de las *S. pastorianus* es más lento debido a las temperaturas más frías.

Figura 5. Nutriente para levadura *YeastLife Extra™*.

MÉTODOS PARA ELIMINAR LA PRESENCIA DE H₂S

Purgas con CO₂

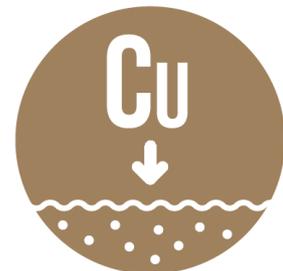


La purga con CO₂ es el proceso de añadir CO₂ lentamente por la parte inferior del tanque a una cerveza terminada. La purga de CO₂ es eficaz para eliminar el azufre en forma de H₂S. Si el H₂S ha reaccionado para producir mercaptanos con aromas como ajo, cebolla, col cocida, judías verdes, paño de cocina, etc., esta técnica no será efectiva, al tratarse de compuestos menos volátiles y estables. Si hay alguna entrada de oxígeno además del CO₂, entonces este método puede incluso ser contraproducente y resultar en una mayor formación de sulfuros y disulfuros con aromas muy desagradables y umbrales sensoriales muy bajos. La purga de CO₂ también puede reducir otras características sensoriales positivas, como por ejemplo el aroma a lúpulo.

Aplicación de derivados del cobre

Las técnicas más efectivas para la eliminación del H₂S en una cerveza recién fermentada, se basan en la aplicación de cobre, lo que resulta en una reacción redox con los compuestos de azufre.

Por ejemplo, el sulfato de cobre elimina de manera rápida y eficiente la presencia del H₂S mediante la formación de sulfuro de cobre insoluble (CuS), el cual precipita. Como alternativa, la cerveza también se puede pasar por tuberías de cobre o tratarse con un sistema de electrólisis de cobre para eliminar el H₂S. La aplicación de cobre también puede eliminar los posibles aromas de mercaptano presentes en la cerveza.

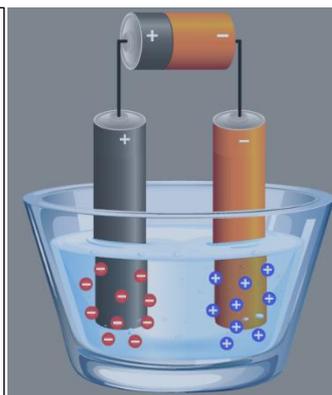


El tratamiento con cobre es muy efectivo y usado habitualmente, pero también presenta algunos inconvenientes. El más importante de ellos es que deja una gran cantidad de iones de cobre presentes en el medio. El cobre reacciona rápidamente con los compuestos fenólicos provocando modificaciones sensoriales, tratándose principalmente de cambios en la textura de los taninos, los cuales se perciben como cierta sequedad en boca, sensaciones metálicas y astringencia. El cobre también es un catalizador de los procesos oxidativos, lo que puede acortar la vida útil de las cervezas.

SISTEMAS DE ELECTRÓLISIS DE COBRE

Investigadores del sector cervecero han diseñado un sistema de electrólisis de cobre que puede eliminar el H₂S en cerveza. La unidad consiste en dos electrodos en una carcasa de acero inoxidable.

Una fuente de alimentación permite el ajuste de la corriente cambiando el voltaje para precipitar el H₂S en forma de sulfuro de cobre insoluble (CuS). Este sistema permite adiciones mínimas de cobre a la cerveza en el rango de 30 µg/L o incluso menos [4].



CONCLUSIÓN

Mantener las concentraciones de H₂S por debajo del umbral detectable es un objetivo importante para producir cervezas de alta calidad. La forma más sencilla de eliminar el H₂S de las cervezas es, en primer lugar, evitar su formación. Esto se logra seleccionando una cepa de levadura adecuada, proporcionando una nutrición adecuada durante la fermentación y evitando el estrés de la levadura. Si se detecta H₂S a tiempo, hay medidas correctivas disponibles para salvar el lote producido de cerveza, mediante la reducción o eliminación de dicho compuesto, antes de que reaccione para formar otros sabores sulfurosos no deseables y mucho más estables y difíciles de eliminar.

REFERENCIAS

- [1]. Jiranek, V., Langridge, P., & Henschke, P.A. (1995) *Regulation of hydrogen sulfide liberation in wine-producing Saccharomyces cerevisiae strains by assimilable nitrogen*. Applied and Environmental Microbiology, 61 (2) 461-467.
- [2]. Nagami, K., Takahashi, T., Nakatani, K. & Kumada, J. (1980) *Hydrogen sulphide in brewing*. MBAA TQ, 17(4), 64-68.
- [3]. Oka, K., Hayashi, T., Matsumoto, N., and Yanase, H. *Decrease in hydrogen sulfide content during the final stage of beer fermentation due to involvement of yeast and not carbon dioxide gas purging*. J Biosci Bioeng. 2008 Sep;106(3):253-7.
- [4]. Pfisterer, E., Richardson, I., & Soti, A. (2004) *Control of Hydrogen Sulfide in Beer with a Copper Electrolysis System*, 41;1:50-52.
- [5]. Osorio-Macías, D., Peñarrieta, J. M. & Nilsson, L. (2017). *Evaluation of copper content in beers obtained from retail in Sweden*. Journal of Brewing and Distilling, 7(1), 1-4.
- [6]. Spiropoulos, A., Bisson, L.F. (2000) *MET17 and hydrogen sulphide formation in Saccharomyces cerevisiae*. Appl Environ Microbiol 66:4421–4426.
- [7]. Edwards, C.G., Bohlscheid, J.C. (2007) *Impact of pantothenic acid addition on H₂S production by Saccharomyces under fermentative conditions*. Enzyme and Microbial Technology, 41;1–2:1-4.