

**Otras obras de Editorial ACRIBIA, S. A.
sobre CIENCIA Y TECNOLOGÍA
DE LOS ALIMENTOS**

- Adrian, J., y Frangne, R.
LA CIENCIA DE LOS ALIMENTOS DE LA A A LA Z
- Amerine, M. A., y Ough, C. S.
ANÁLISIS DE VINOS Y MOSTOS
- Belitz, H. D., y Grosch, W.
QUÍMICA DE LOS ALIMENTOS
- Board, R. G.
INTRODUCCIÓN A LA MICROBIOLOGÍA MODERNA DE LOS ALIMENTOS
- Cavazzani, N.
FABRICACIÓN DE VINOS ESPUMOSOS
- Coulter, T. P.
ALIMENTOS: QUÍMICA DE SUS COMPONENTES
- George, H.
ELABORACIÓN ARTESANAL DE LICORES
- Hart, F. L., y Fisher, H. J.
ANÁLISIS MODERNOS DE LOS ALIMENTOS
- Holdsworth, S. D.
CONSERVACIÓN DE FRUTAS Y HORTALIZAS
- Manley, J. R. D.
TECNOLOGÍA DE LA INDUSTRIA GALLETERA
- Multon, J. L.
ADITIVOS Y AUXILIARES DE FABRICACIÓN EN LAS INDUSTRIAS
AGROALIMENTARIAS
- Rheinheimer, G.
MICROBIOLOGÍA DE LAS AGUAS
- Vogt, E.
EL VINO: OBTENCIÓN, ELABORACIÓN Y ANÁLISIS
- Brown, C. M., y otros
INTRODUCCIÓN A LA BIOTECNOLOGÍA
- Gacesa, P., y Hubble, J.
TECNOLOGÍA DE LAS ENZIMAS
- Trevar, M. D., y otros
BIOTECNOLOGÍA: PRINCIPIOS BIOLÓGICOS

Editorial ACRIBIA, S. A. - Apartado 466 - 50080 ZARAGOZA (España)

BIOTECNOLOGIA DE LA CERVEZA Y DE LA MALTA

J. S. HOUGH

Biotechnología de la cerveza y de la malta

J. S. HOUGH

I.S.B.N.: 84-200-0681-5

13-6
9H-C1

Editorial ACRIBIA, S.A.

Contenido

Prólogo	pág.	xi
Lista de abreviaturas		xiii
1 Introducción		1
El misterio de la elaboración de cerveza		1
Tipos de cervezas		2
Historia reciente de la elaboración de cerveza		3
Organización de la industria		4
Legislación		4
Aspectos generales del malteado		5
Aspectos generales de la fabricación de cerveza		6
Gradación de la cerveza		7
Clasificación de las cervezas		7
2 La cebada. Materia prima esencial		9
¿Por qué utilizar cebada?		9
Crecimiento de la planta		10
El grano de cebada		13
La cebada desde el punto de vista del granjero		16
Las necesidades del malteador		17
Cebadas de dos y de seis filas		18
Selección de la cebada		19
Empleo de la cebada en la fabricación de cerveza		20
3 La malta. Un paquete de enzimas y sustancias nutritivas		23
Almacenamiento de la cebada		23
Selección de la cebada		24
Remojo		25
Germinación		27

Bioquímica de la germinación de la cebada	29	7	Levaduras y bacterias	109
Proteínas	31		Clasificación de las levaduras	109
Almidón	33		Diferenciación serológica	111
Paredes celulares del endospermo	38		Estructura de la célula de levadura	113
Grasas	40		La pared celular y la elaboración de cerveza	116
Fosfatos	40		Ciclo vital de las levaduras	116
Interacciones	41		Selección de cepas (razas) de levadura	118
Secado y tostado	41		Mantenimiento de los cultivos de levadura	119
Selección de la malta para la elaboración de cerveza	44		Levaduras salvajes	120
Acido giberélico	45		Aplicación de la genética de las levaduras a la producción de nuevas razas	122
La malta y los extractos de malta en industrias distintas de la de elaboración de cerveza	47		Bacterias que contaminan el mosto y la cerveza	126
			Control de la infección	129
4 El agua. Sus papeles en la elaboración de cerveza	49	8	Fermentación, fundamentos del proceso	133
El agua de las industrias cerveceras	49		El mosto, un medio de cultivo rico	133
Contaminación química y microbiana	52		Consumo de sustancias por la levadura	133
Ablandamiento y desionización	55		Metabolismo de la levadura	134
La importancia de los iones calcio y bicarbonato	56		Producción de compuestos aromáticos	138
Limpieza e higienización	57		Levaduras altas y bajas; su separación de la cerveza	140
Agua para la refrigeración y el calentamiento	58		Curso de las fermentaciones discontinuas	141
Tratamiento de efluentes	59		Fermentación continua	144
			Progresos recientes en el diseño de fermentadores	147
5 Producción del mosto dulce	65		Control de la fermentación	151
Recepción del grano	65		Otras fermentaciones	154
Molienda	67		Productos de levadura	156
Extracción por infusión	69			
Extracción por decocción	73	9	Tratamientos post-fermentativos	157
Doble extracción	76		Cerveza de barril tradicional (ale)	157
Programación de temperatura	77		Ictiocola	159
Sucedáneos sólidos	78		Fermentación secundaria en el barril	160
Sucedáneos líquidos	80		Aditivos empleados en el tanque de maduración	161
Elaboraciones de alta densidad	83		Capacidad espumante de la cerveza	162
Bagazo	84		Turbidez	163
			Filtración	167
6 El lúpulo y la ebullición del mosto	87		Pasterización	171
Cultivo del lúpulo	87		Envasado	175
Enfermedades del lúpulo	88		Estabilidad	177
Selección del lúpulo	89		Composición de la cerveza	177
Recolección y secado del lúpulo	91		La calidad de la cerveza	179
Química del lúpulo	92			
Derivados del lúpulo	95			
Cocción del mosto	100			
Enfriamiento y aireación	105			
Comparación entre los sustratos como medios de fermentación	107			
			Lecturas recomendadas	185
			Índice	187

Prólogo

La Biotecnología se ha definido como la aplicación de procesos sistemas y organismos biológicos a la industria manufacturera y de servicios. El malteado y la elaboración de cerveza son industrias que ejemplifican la Biotecnología tradicional, basada en un arte que ha ido refinándose a lo largo de miles de años y que implica, por ejemplo, la explotación de la germinación de la cebada y de la fermentación por levaduras. Parece, por tanto, adecuado que en una serie de volúmenes dedicados a la Biotecnología se incluya uno sobre el malteado y la elaboración de cerveza.

Aunque la mayor parte de este volumen se refiere exclusivamente al malteado y a la elaboración de cerveza, se ha aprovechado la oportunidad para describir otros aspectos conexos en la agricultura y otras tecnologías. Se incluye, por tanto, información sobre la producción de cebada y lúpulo, el uso industrial de enzimas, los subproductos de la industria cervecera, la tecnología del maíz y el tratamiento del agua y los efluentes. También se mencionan los modernos avances de la Biotecnología aplicados al malteado y a la elaboración de cerveza, como las técnicas de manipulación genética empleadas para mejorar la cebada y la levadura de cerveza. Se trata brevemente el paralelismo entre el malteado y la elaboración de cerveza y la producción de otras bebidas, como el vino, la sidra y el whisky. También se hace referencia al amplio significado biotecnológico de las bacterias que ordinariamente contaminan la cerveza y las cervcerías. No se ha intentado, en cambio, una descripción detallada de las etapas técnicas utilizadas por malteadores y cervceros o en la fabricación casera de cerveza. En un texto breve, como éste, resulta imposible; por el contrario, se subrayan los principios científicos en que se basan. Esto significa que se trata de un texto dirigido a los interesados en la bioquímica y la microbiología industrial y, desde luego, en los aspectos biotecnológicos. Se pre-

tende que sea útil a profesores de química y biología y a los estudiantes de determinadas disciplinas.

Deseo agradecer la ayuda que he recibido del personal del Departamento de Bioquímica de la Universidad de Birmingham, particularmente de mis colegas Dr. D. E. Briggs y Dr. T. W. Young, de Mrs. P. Hill, Mrs. S. Williams, Mr. J. Redfern y Mr. A. Wadson. Agradezco igualmente el permiso de Associated Book Publishers (Chapman & Hall) Londres, para reproducir las figuras del libro de J. S. Hough, D. E. Briggs, R. Stevens y T.W. Young, *Brewing Science* (1982) que aparecen en este volumen como 5.2-5.5, 5.7-5.8, 6.1, 6.12, 6.15, 7.1-7.5, 7.7, 8.4-8.6, 8.9-8.11, 9.1, 9.5, 9.10-9.11. Extiendo mi agradecimiento a Mr. J. Redfern por las fotografías 2.1 (b) 2.5 y 7.8 y a Mr. A. A. James de Swam Brewery, Perth, Australia, por la fotografía que aparece como Figura 4.1. La Figura 5.1 está basada parcialmente en esquema de Robert Morton D. G. Ltd. Burton on Trent; la 6.11 en información proporcionada W. G. Montgomery; la 6.13 me fue proporcionada por Anton Steinecker. Maschinenfabrik GmbH de Freising; la 6.14 está parcialmente basada en otra que apareció en *Practical Brewer* publicada por the Master Brewers Association of the Americas; la 7.6 lo está en información proporcionada por Dr. T. W. Young; la 9.12 se basa parcialmente en la información proporcionada por Mr. A. Duckworth y la 9.13 en material publicado por Dr. D. G. Brown y Dr. J. F. Clapperton, en el *Journal of the Institute of Brewing* 1978, 318.

Las siguientes tablas se basan en la información proporcionada o publicada por los organismos, personas o instituciones que se indican: 1.1 (Brewers' Society, Londres); 1.2 (Maltsters' Association of Great Britain); 3.2 (Enari, T-M, European Brewery Convention 1981, 69-80); 4.3 (World Health Organisation); 5.2 (Dr. R. D. Hall); 5.3 (Prof. R. H. Hopkins & Dr. B. Krause y Dr. P. Kolbach & Dr. G. W. Haase); 5.7 (Dr. D. Howling); 5.8 (Brewers' Grain Marketing Ltd., Burton-on-Trent); 6.2 (Dr. R. A. Neave y Hops Marketing Board Ltd.); 6.3 (*Malting and Brewing Science*); 6.4 (publicaciones del Dr. J. R. Hudson y del Dr. D. R. J. Laws); 7.1 (Dr. I. Campbell); 7.2 (R. W. Ricketts); 9.1 (Dr. T. W. Young) y 9.2 (Dr. J. C. Boudreau).

Abreviaturas

Número	M	millón
Temperatura	°C	grados centígrados
Pesos	pg	picogramo (10^{-12} g)
	ng	nanogramo (10^{-9} g)
	µg	microgramo (10^{-6} g)
	mg	miligramo (10^{-3} g)
	g	gramo
	kg	kilogramo (10^3 g)
	Mg	megagramo (10^6 g)
		tonelada megagramo (10^6 g)
Volumen	ml	mililitro (10^{-3} l)
	hl	hectolitro (10^2 l)
	m ³	metro cúbico (10^3 l)
	l	litro
Longitud	nm	nanómetro (10^{-9} m)
	µm	micrómetro o micra (10^{-6} m)
	mm	milímetro (10^{-3} m)
	cm	centímetro (10^{-2} m)
	m	metro
	km	kilómetro (10^3 m)
Area	ha	hectárea
Porcentajes	% p/v	g de soluto por 100 ml de disolvente
	% v/v	ml del componente por 100 ml totales
	% p/p	g de componente por 100 g totales
Energía	kJ	kilojulio (10^3 julios)
	MJ	megajulio (10^6 julios)
	cal	caloría
	kcal	kilocaloría (10^3 cal)
Presión	mbar	milibar
	bar	bar

Tiempo	s	segundo
	min	minuto
	h	hora
Densidad	SG	densidad
	OG	densidad original
Efluente	SS	sólidos en suspensión (mg l^{-1})
	COD	demanda química de oxígeno (mg l^{-1})
Limpieza	CIP	limpieza <i>in situ</i>
Química	R	radical
Dinero	\$	dólar americano
	£	libra esterlina
Concentración	ppm	partes por millón (habitualmente p/v)
	ppb	partes por 10^9 (habitualmente p/v)

Introducción

El misterio de la elaboración de cerveza

El arte de fabricar de cerveza y vino se ha ido desarrollando a lo largo de 5.000-8.000 años. Debieron producirse varios descubrimientos independientes de que exponiendo al aire los jugos de frutas, o los extractos de cereales, se obtenían bebidas fermentadas. Explicar cómo sucede la fermentación no fue posible hasta el siglo XIX, lo que no impidió que se fueran introduciendo sucesivas mejoras en las técnicas de elaboración. Existen ilustraciones de la elaboración de cerveza que pertenecen al apogeo de las civilizaciones Egipcia y Babilónica, de unos 4.300 años de antigüedad; durante la civilización griega y más tarde durante la romana, el dominio del vino se convirtió en una cuestión de importancia para el mercado internacional. Las bebidas alcohólicas resultaban particularmente atractivas para aquellos individuos de vida poco placentera, en cuanto que producían euforia alcohólica. Otras ventajas, inapreciadas en aquellos tiempos, eran la mejora relativa de la dudosa calidad microbiológica del agua, en virtud de su bajo pH y de su contenido alcohólico, y su valor nutritivo; además de su elevado valor calórico y de su riqueza en sustancias nitrogenadas asimilables, si contenían levaduras las bebidas en cuestión proporcionaban vitaminas del complejo B. En la Edad Media la elaboración de cerveza fue considerada un arte o un misterio, cuyos detalles eran celosamente guardados por los maestros cerveceros y sus gremios. Y ciertamente era un misterio, porque se desconocían las razones que justificaban las diversas etapas del proceso de elaboración, la mayor parte de los cuáles, como la fermentación, fueron descubiertas por casualidad. Así, el malteado consistía en la inmersión de la cebada en agua y en permitirle que germinara, pero no se conocía las razones por las que la cebada se ablandaba y se hacía dulce. De un mo-



Fig. 1.1 Bebiendo cerveza en la época de la civilización babilónica (2.400 antes de Cristo). Tomado de *100 Jahre Fakultät für Brauwesen Weihenstephan 1865-1965*, Verlag Hans Carl: Nuremberg.

do similar se desconocían por qué convenía secar la cebada germinada a temperaturas relativamente frías, a lo que se buscaban explicaciones esotéricas.

Tipos de cervezas

La mayor parte de las cervezas producidas hasta la segunda mitad del siglo XIX eran fermentadas por levaduras que al final del proceso ascendían a la superficie y podían «desnataarse» (esto es, levaduras altas). Es muy probable que muchos cerveceros de las primeras épocas de la historia de la elaboración de la cerveza no se percatasen del valor de la nata recogida y la descartaran. La fermentación de las partidas subsiguientes tenía, por ello, que depender de las levaduras que contaminarán las vasijas no suficientemente limpias, el resto del utillaje y las materias primas. Pero las malas condiciones higiénicas también facilitaban la presencia de levaduras y bacterias que producían turbideces y aromas no deseados. Por estas razones, hasta tiempos recientes ha sido muy variable la calidad de distintas partidas y muchos cerveceros obtenían vinagre, en lugar de cerveza, a causa de las infecciones con bacterias ácidoacéticas. El lúpulo se introdujo en Gran Bretaña desde Flandes en el siglo XVI, por inmigrantes de este origen. Entre los fabricantes de la cerveza tradicional, sin lúpulo, y los elaboradores de la nueva cerveza se estableció una dura competencia que generó algunos conflictos. Hoy, el término cerveza es una expresión genérica que abarca tanto lo que en Gran Bretaña se denomina «ale», una bebida

a la que se añade lúpulo, fabricada con levaduras altas, cómo a aquellas otras bebidas de malta a las que se añada lúpulo y son fermentadas con levaduras bajas. Las levaduras bajas son aquellas que al final de la fermentación se hunden y van al fondo; se emplearon por primera vez en Baviera. Rinden un producto de calidad superior al generado por la mayor parte de levaduras altas. No es, por tanto, sorprendente que a partir del momento en que los bávaros las difundieron en otras regiones, estas levaduras hayan ido reemplazando progresivamente a las levaduras altas en la mayor parte del mundo. Se utilizan para producir las cervezas llamadas «lagers», palabra alemana que significa guarda, o permanencia en bodega.

Historia reciente de la elaboración de cerveza

La elaboración de cerveza creció al mismo ritmo que lo hicieron las carreteras, los canales y los ferrocarriles. Este aserto es particularmente cierto en lo que se refiere a las grandes factorías elaboradoras de cerveza, capaces de sostener un mercado nacional e internacional en expansión, huellas del cual son marcas como «India Pale Ale», «Russian Stout», y «Export».

Las fábricas de cerveza que mayor éxito tuvieron fueron aquellas que contaban con un abastecimiento de agua natural adecuado al tipo de cervezas que estaban elaborando. Así, Pilsen dio su nombre a las lagers pálidas europeas como «Pils» o «Pilsner». Hoy, sin embargo, cualquier agua puede modificarse de manera que reproduzca la de Burton-on-Trent o Pilsen. Las grandes industrias cerveceras tienen en esta época otros problemas relacionados con el agua: especialmente los de si es o no adecuada para los generadores de vapor y los sistemas de lavado automático y si es o no posible verter grandes volúmenes de efluentes de la factoría a los desagües públicos.

El descubrimiento de las máquinas de vapor permitió aumentar mucho el tamaño de los equipos de las fábricas de cerveza que originalmente utilizaban la fuerza humana o la hidráulica para mover sus máquinas. El problema capital de las fábricas era la necesidad de operar a bajas temperaturas en ciertas etapas del malteado y la elaboración de cerveza. Por eso, las campañas de malteado y elaboración de cerveza se limitaban en los países de clima templado al otoño, el invierno y la primavera y tanto las malterías como las industrias cerveceras eran impropias de los climas tropicales. Al comienzo del siglo XX se dispuso de equipos de refrigeración basados en la compresión de amoníaco, lo que permitió que el malteado y la elaboración de cerveza pudieran llevarse a cabo durante to-

do el año, tanto en los países y regiones de clima templado como en los tropicales.

Organización de la industria

La elaboración de cerveza es una industria importante. La producción anual aproximada es de $9,5 \times 10^{10}$ l. El Reino Unido de la Gran Bretaña contribuye a esta cifra con 6×10^9 l. Si se exceptúan Dinamarca, Irlanda y los Países Bajos, sólo se exporta una pequeña proporción de la cerveza producida en cada país, aunque es bastante común la elaboración bajo franquicia (con licencia). Gran Bretaña es única, en cuanto que ha logrado una integración vertical de su industria cervecera, con varias empresas dedicadas al malteado, la producción de lúpulo, la elaboración de cerveza y su venta, tanto al por mayor como directamente al consumidor. Como en los Estados Unidos de América, en la Gran Bretaña se han dado numerosas absorciones y fusiones de compañías cerveceras, de tal modo que su número ha ido progresivamente descendiendo de forma muy acusada.

Legislación

En 1516, las autoridades bávaras introdujeron las leyes de pureza de la cerveza (Reinheitsgebot) que restringieron las materias pri-

Tabla 1.1 Producción y consumo de cerveza en 1981 por los países productores de más de 2×10^9 l

	Producción (1×10^9)	Consumo (l por cabeza)
USA	22.7	93
República Federal Alemana	9.3	147
URSS	6.3	23
Reino Unido de la Gran Bretaña	6.2	112
Japón	4.6	39
México	2.9	40
Brasil	2.4	24
Checoslovaquia	2.4	140
República Democrática Alemana	2.4	138
Canadá	2.3	86
Francia	2.2	44
España	2.1	55
Total Mundial	96.8	

mas aptas para su elaboración a cebada malteada, agua, lúpulo y levadura. Estas leyes se fueron gradualmente introduciendo en toda Alemania, de tal modo que en 1918 obligaban a todos los fabricantes de cerveza que pretendieran exportarla. En otros numerosos países europeos, como Noruega, Grecia y Suiza, se dictaron leyes similares. En el resto del mundo es habitual que entre las materias primas para la elaboración de la cerveza se incluyan fuentes baratas de almidón o azúcares, como cereales no malteados y jarabes de almidón de patata, de azúcar de caña o remolacha, o de cereales. También se utilizan en la elaboración de cerveza pequeñas cantidades de productos orgánicos e inorgánicos que actúan como conservadores (por ejemplo dióxido de azufre) o que se usan para eliminar la turbidez (por ejemplo papaína, un enzima proteolítico). En épocas recientes, son numerosos los países que han introducido controles estrictos de estos aditivos y se exige mencionar su empleo, en las etiquetas. Hace mucho años que se controla la tasa de ácido arsénico y plomo. Recientemente se han introducido también límites al contenido en nitrosaminas, tanto en la cebada malteada como en las cervezas. Las nitrosaminas son, en dosis elevadas, carcinogénicas para los animales de laboratorio, aunque todavía no se haya demostrado conclusivamente que sean peligrosas para el hombre.

Aspectos generales del malteado

La malta está constituida por granos de cereales, ordinariamente cebada, germinados primero, durante un período limitado de tiempo, y luego desecados. El malteador, por tanto, acumula una cebada adecuada; la almacena hasta que necesite utilizarla; remoja los granos; les permite que germinen y, en el momento que considera adecuado, detiene la germinación, desecando el grano en una corriente de aire caliente. El grano malteado representa para el cervecero una mercancía que debe mantener estable durante meses, o incluso años. Durante la germinación, la reserva de nutrientes, o endospermo, del grano es parcialmente degradada por los enzimas que atacan a las paredes celulares a los granos de almidón y la matriz

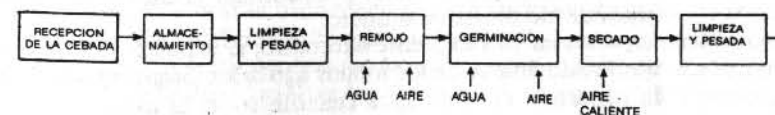


Fig. 1.2 Diagrama de flujo del malteado.

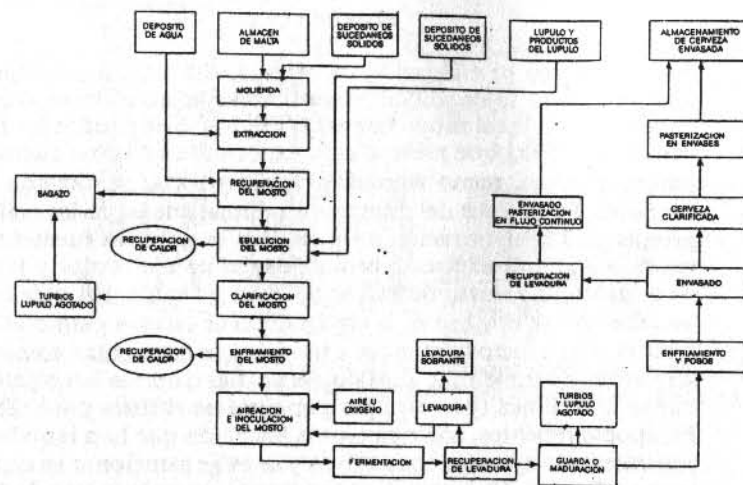


Fig. 1.3 Diagrama de flujo de la elaboración de cerveza.

proteica. Lo que el cervecero obtiene del malteador es, por tanto, un endospermo degradado y enzimas capaces de completar esa degradación.

Quando la deshidratación se efectúa con aire frío, la malta es de color pálido y muy rica en enzimas y cuanto más elevadas sean las temperaturas de deshidratación, especialmente en sus primeras etapas, tanto más oscura es la malta y tanto menor su contenido en enzimas. Algunas maltas utilizadas en pequeñas cantidades para colorear y aromatizar carecen de actividad enzimática detectable.

Aspectos generales de la fabricación de cerveza

La fabricación de cerveza en su forma más elemental (Fig. 1.3) supone:

- (a) Triturar la cebada malteada para obtener una harina muy grosera.
- (b) Añadir agua para formar una masa o papilla y estimular a los enzimas de la malta a solubilizar el endospermo degradado de la malta molida.
- (c) Separar, en un recipiente adecuado, el extracto acuoso, denominado mosto, de los sólidos agotados (bagazos) mediante la aspersión de más agua caliente sobre la masa.

- (d) Hervir el mosto con lúpulo, con lo que se detiene la acción enzimática, se esteriliza el mosto y se coagulan algunas proteínas. El lúpulo imparte al mosto sus características aromáticas propias.
- (e) Clarificar, enfriar y airear el mosto, de manera que se convierta en un medio ideal para el crecimiento de las levaduras y para la fermentación.
- (f) Fermentar el mosto con las levaduras de manera que gran parte de los hidratos de carbono se conviertan en alcohol y dióxido de carbono. Otros metabolitos de las levaduras contribuyen al aroma y al bouquet.
- (g) Madurar, guardar y clarificar la cerveza. Modificar el aroma y el bouquet y mantener la calidad de la cerveza.
- (h) Envasar la cerveza, generalmente tras haberla esterilizado por filtración, o pasteurizado. Alternativamente, envasada en recipientes de pequeño tamaño, como botellas o latas, y pasteurizarla después de envasada.

Gradación de la cerveza

La gradación de la cerveza se suele expresar en términos de densidad al comienzo de la fermentación, denominada Densidad Primitiva (OG). Sin embargo, dos mostos con idéntica densidad primitiva pueden ofrecer distintos contenidos en sustancias fermentescibles y también puede variar la cuantía en que las levaduras fermenten estas materias. Por tanto, la concentración alcohólica de la cerveza no es necesariamente proporcional al extracto primitivo. Son muy pocas las cervezas de densidad primitiva inferior a 1.030, por ser propensas a sufrir infecciones por mohos, bacterias y otras levaduras. Son numerosos los países en los que se sustituye la densidad primitiva por el porcentaje en peso de sacarosa en agua que ofrece la misma densidad que el mosto. Groseramente una densidad de 1.008 equivale a un 2 % y 1.040 a un 10 % (un 1 % de sacarosa equivale a 0.004 unidades de densidad). Estos valores porcentuales se expresan ordinariamente como °Balling, o °Plato (más exactos).

Clasificación de las cervezas

Cervezas fabricadas a partir de cebada malteada con o sin adición de otros carbohidratos, lúpulo, agua y levaduras.

- (a) «Ales» — fermentadas con levaduras altas.

- (i) «Pale», claras (OG 1032-48) — fabricadas a partir de maltas pálidas y fuertemente aromatizadas con lúpulo, habitualmente poco dulces; entre ellas se encuentran la cerveza Kolsch de Colonia y su distrito.
 - (ii) «Bitter», amargas (OG 1032-48) — es el término usado para las «pale ales» de barril.
 - (iii) «Brown», amargas (OG 1032-48) — fabricadas con maltas que proporcionan un color intenso, generalmente más dulce y menos cargadas de lúpulo que las pálidas.
 - (iv) «Mild», suaves (OG 1032-40) — habitualmente equivalentes, para la cerveza de barril, a las pardas; sin embargo, en algunas zonas se fabrican cervezas «mild» muy pálidos.
 - (v) «Stout» (densidad original 1032-55) — son las más oscuras; algunas intensamente amargas y otras, en cambio, dulces.
 - (vi) Vinos de cebada (OG 1065-1100) — ordinariamente muy pálidas.
- (b) «Lagers» — fermentadas con levaduras bajas (untergärige).
- (i) «Pale» (Hell o Pilsner) (OG 1032-48) — fabricadas con malta pálida, carentes de sabor dulce y aromatizadas con lúpulo.
 - (ii) «Dark» (Dunkel) (OG 1042-55) — fabricadas con maltas oscuras, algunas veces ligeramente dulces y más fuertes que las pálidas.
 - (iii) «Märzen, Bock» (OG 1050-5) — cervezas de gran fuerza fabricadas sólo en ciertas épocas del año.
- (c) «Weissbier, Weizenbier» (OG 1028-34) — fabricadas con una mezcla de cebada y centeno malteados, hirviendo el mosto sin añadirle lúpulo y fermentándolo con levaduras bajas; se suelen beber con rajas de limón o zumo de fruta.
- (d) Cervezas nativas africanas — fabricadas con sorgo malteado, o mijo malteado, a los que, en algunos casos, se añade cebada malteada; no se hierven los mostos; ni se aromatizan con lúpulo; se sirven sin clarificar y en pleno proceso fermentativo.

La cebada: materia prima esencial

¿Por qué utilizar cebada?

Aunque son varios los granos de cereal que pueden ser satisfactoriamente malteados, los de cebada son los que generalmente presentan menos problemas técnicos. El maíz se maltea muy raras veces, porque su grasa se enrancia. El trigo se maltea a escala comercial, especialmente para la elaboración de ciertos tipos de pan, pero el desarrollo de microorganismos durante la germinación en la superficie del grano plantea ciertos problemas. Para la producción de cervezas nativas africanas se maltean diversos cereales (especialmente sorgo).

En el transcurso de los años, se ha ido imponiendo, prácticamente en todo el mundo, el aroma de las cervezas elaboradas a partir de cebada malteada. Además, la cebada utilizada para la elaboración de malta destinada a la producción de cerveza es más rica en almidón, que es la sustancia que da origen al extracto fermentescible. También contiene proteínas, generalmente en cantidades más que suficientes para proporcionar los aminoácidos necesarios para el crecimiento de la levadura, y las sustancias nitrogenadas que desarrollan un papel importante en la formación de espuma.

Existen numerosas variedades de cebada. Difieren no sólo en la forma de la planta o en el aspecto de la espiga, sino también en sus características fisiológicas. Algunas crecen en los países templados y se siembran durante el otoño y el invierno, en tanto que otras son apropiadas para su siembra en primavera. Hay variedades que dan granos durmientes, lo que es ventajoso para el caso de que las espigas maduras se humedezcan antes de la recolección, de manera que se den condiciones favorables para que los granos germinen cuando todavía se encuentran en la espiga, pero constituye un inconveniente si obliga al malteador a recurrir a un tratamiento prolonga-

do y complejo para germinar los granos. Además de las variantes genéticas, se deben considerar los efectos del clima y el suelo sobre el crecimiento de la cebada. En el hemisferio norte, la cebada crece bien desde Escandinavia hasta los países norteafricanos que bordean el Mediterráneo. También crece bien en las altiplanicies tropicales, como en Kenia. Los principales países productores de cebada son la USSR, Canadá, los Estados Unidos, Francia y el Reino Unido de la Gran Bretaña. (Tabla 2.1).

Crecimiento de la planta

Si no se halla en estado durmiente, el grano germina cuando encuentra en la tierra humedad y oxígeno suficiente, a temperaturas por encima de 5 °C. El primer signo de la germinación es la protrusión de una gémula blanca. En realidad, se trata de una vaina que protege cinco raicillas seminales. (Fig. 2.1a,b). Cuando la vaina se abre, las raicillas se ramifican entre las partículas del suelo, desarrollan pelos radiculares y toman agua y sales minerales. Poco después, a partir del otro extremo del grano, surge la vaina de la hoja (coleóptilo) que se extiende rápidamente hacia la superficie. Luego se abre el coleóptilo, revelando las primeras hojas verdaderas y van apareciendo nuevas hojas en sucesivas uniones (nudos) del tallo, siendo posible determinar la edad fisiológica de la planta basándose en el número de hojas que han aparecido (Fig. 2.2), lo que resulta útil a la hora de proceder a la aplicación de fungicidas, insecticidas y fertilizantes.

Una característica común a numerosas variedades de cebada es la presencia de tallos secundarios o retoños, que surgen de la base de los tallos primarios. Cada retoño equivale a un tallo primario ya que genera una cabeza florescente. Antes de la floración, sin em-

Tabla 2.1 Producción de cebada en 1981

Distribución por continentes		Principales productores	
Africa	3.2	URSS	43.0
Asia	17.2	Canadá	13.4
Australia	3.6	USA	10.4
Europa	66.3	Francia	10.2
Norteamérica	24.4	Reino Unido de la	10.1
Suramérica	0.8	Gran Bretaña	
URSS	43.0		
Total Mundial	158.5		87.1

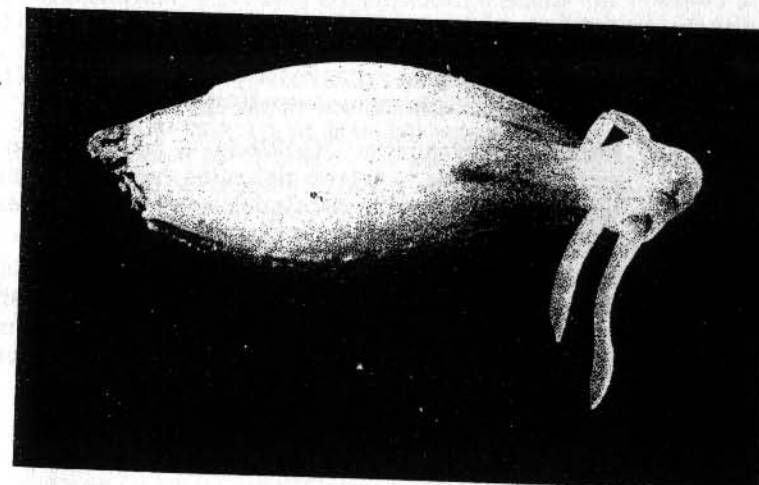
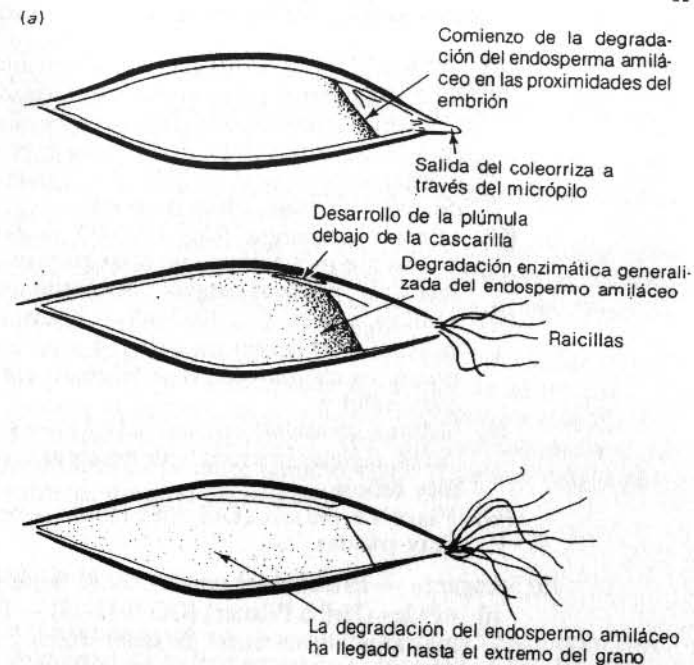


Fig. 2.1 a. Etapas en la germinación de la cebada.
b. Un grano de cebada en germinación. Se han desarrollado raicillas que han emergido de las capas protectoras.

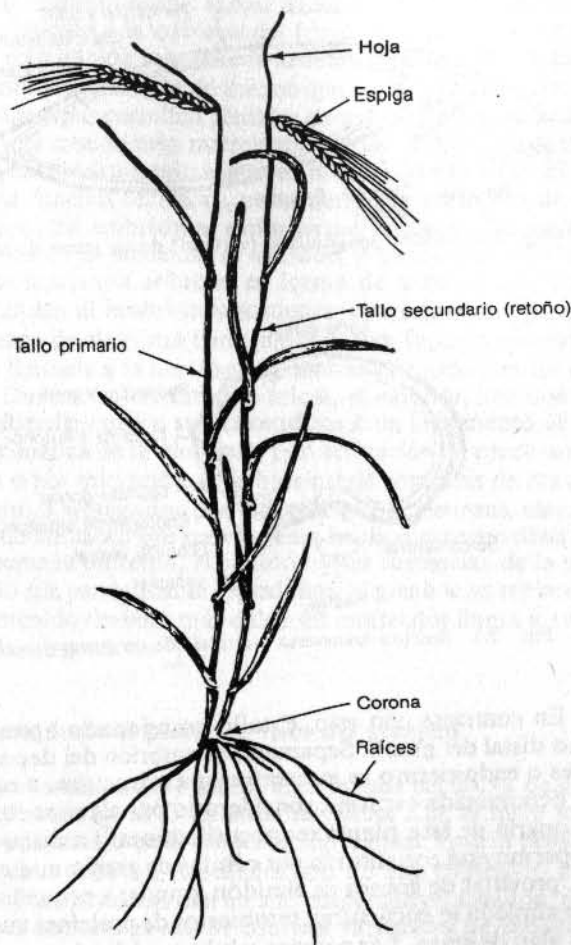


Fig. 2.2 Planta de cebada madura.

bargo, el tallo se alarga aumentando la longitud de los entrenudos. La cabeza florescente (inflorescencia) se pone finalmente de manifiesto, cuando la hoja más alta se enrolla. Durante este desarrollo en superficie, las raíces originales (seminales) se ramifican y crecen. El sistema radicular se ve complementado por raíces adventicias que se desarrollan en la base de los tallos. Esta extensión del sistema permite a la planta absorber agua y sales minerales en una zona

amplia, a una profundidad máxima de dos metros, además de proporcionar un excelente anclaje.

Las variedades modernas de cebada tienen tallos relativamente cortos (60-90 cm). Las cebadas de invierno suelen crecer de un modo limitado durante los meses más fríos y aumentar de longitud durante el verano. Cada inflorescencia tiene un eje, con espacios internodales cortos (Fig. 2.2). De cada nudo surgen tres flores simples agrupadas a un mismo lado del tallo. En el nudo siguiente el agrupamiento se produce al lado opuesto. Por tanto, si se mira verticalmente, de arriba a abajo, sobre el eje de la flor se ven seis filas de flores (Fig. 2.3). Sin embargo, aunque en algunas variedades todas las flores sean fértiles, en otras sólo genera fruto la flor que ocupa la posición central de las tres. Así, podemos distinguir entre cebadas de dos y de seis carreras, o filas. En el Reino Unido de la Gran Bretaña es raro utilizar variedades de seis carreras para el malteado pero en los Estados Unidos de América se siembran variedades de dos y seis carreras con destino a la elaboración de malta. En las de seis filas los frutos, o granos, tienen menor espacio disponible para su desarrollo que en las de dos; de aquí que la flor central tienda a producir granos normales y que las dos flores laterales (que son estériles en las variedades de dos carreras) den origen a granos delgados y deformados.

Aparentemente, la cebada está adaptada a la polinización por el viento, pero generalmente no se produce la polinización cruzada en más del 1 %. La alta incidencia de la autopolinización tiene un profundo efecto sobre las técnicas de cultivo y sobre la constitución genética de los granos. Cuando el huevo haploide del óvulo se funde con un núcleo del tubo polínico, la división celular y la diferenciación de las células triploides conducen a la formación de una nueva planta embrionaria. Un segundo núcleo del tubo polínico se funde con una célula diploide del óvulo para dar un tejido diploide que sirve de reserva alimenticia al grano (el endospermo). Para proteger y encapsular, tanto al embrión como al endospermo, las paredes de la semilla y el fruto se funden y, en la mayor parte de los casos, también participan en la fusión las dos brácteas, en forma de escama, de la flor. Esta capa protectora es lo que se denomina cascarilla. En algunas variedades, una de las brácteas de la flor se extiende formando la raspa o barba; alternatively puede plegarse dando origen a un apéndice en forma de caperuza.

El grano de cebada

En la Figura 2.4 y 2.5 se representa un corte longitudinal y otro transversal del grano de cebada.

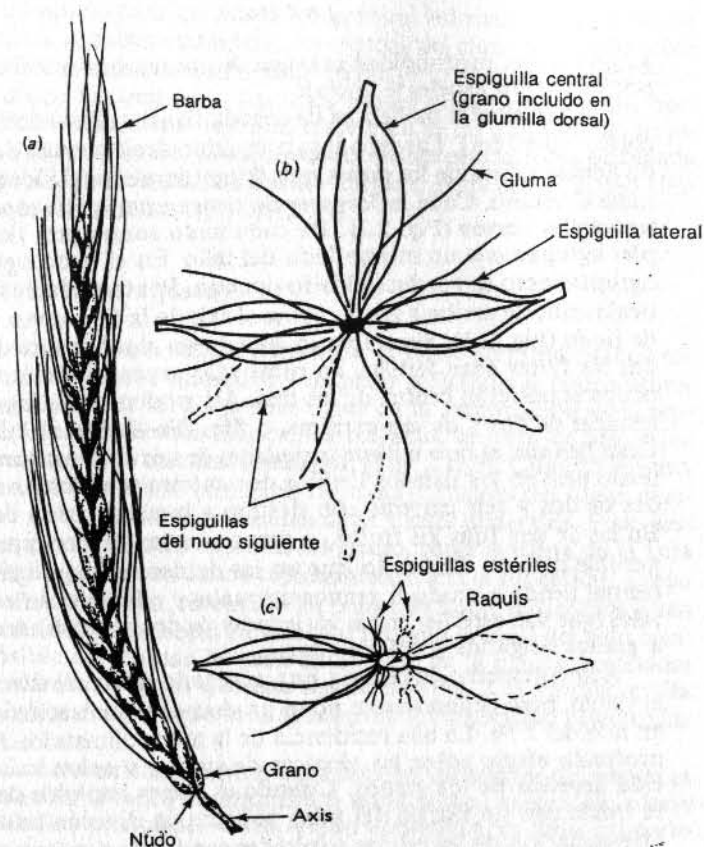


Fig. 2.3 Detalles de la espiga de cebada (a) espiga de una cebada de dos filas (b) espiga de una cebada de seis filas vista desde arriba y (c) espiga de una cebada de dos filas vista desde arriba. El trazo discontinuo representan las florecillas que están adheridas al nudo siguiente.

Pueden observarse las brácteas, denominadas glumilla dorsal y glumilla inferior, la primera se prolonga en una barba. En su base se encuentra la antigua unión de la flor a la planta madre, y, próxima a ella, una región llamada micrópilo a través del cual puede permear el aire y el agua a la planta embrionaria. El embrión se halla situado principalmente en la parte redondeada o dorsal del grano; su vaina radicular se encuentra próxima al micrópilo, de manera que pueda fácilmente atravesar esta región cuando se inicie la germina-

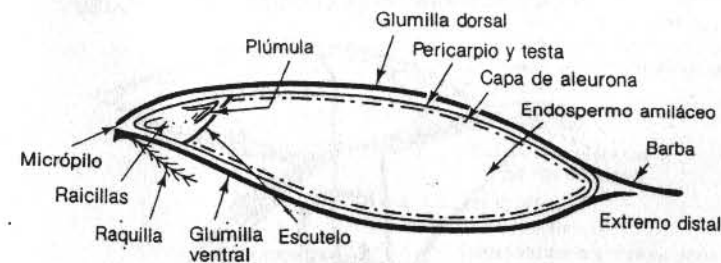


Fig. 2.4 Sección longitudinal (vertical) de un grano de cebada.

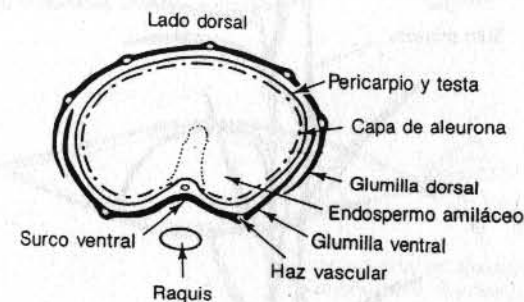


Fig. 2.5 Sección transversa (vertical) de un grano de cebada.

ción. En contraste con esto, el tallo embrionario apunta hacia el extremo distal del grano. Separando el embrión del depósito de nutrientes o endospermo se encuentra una estructura, a modo de escudo, denominada escutelo, considerado por algunos como la hoja embrionaria de esta planta monocotiledónea. La mayor parte del endospermo está constituido por células de gran tamaño, desvitalizadas, provistas de granos de almidón grandes y pequeños. Los granos de almidón se encuentran recubiertos de proteína; también contienen algo de grasa. Las paredes celulares, delgadas, contienen hemicelulosa y gomas (glucanos). En la periferia del endospermo se encuentra una capa constituida por células de pequeño tamaño, ricas en proteína y exentas de granos de almidón. A esta capa se la denomina aleurona; tiene un grosor de tres células y no alcanza al escutelo; en su lugar se sitúa una capa de células aplanadas y vacías. La cascarrilla y la cubierta del fruto tienen función protectora. También aseguran la distribución eficaz del agua por capilaridad, sobre la superficie del grano. El agua puede luego penetrar hasta el embrión, en parte a través del micrópilo y en parte por vía del

cualquier discontinuidad casual de la cascarilla. La cubierta de la semilla, fundida a la cubierta del fruto, es selectivamente permeable. No sólo impide la salida de azúcares y aminoácidos del grano, sino también la entrada de microorganismos. Las fracturas casuales de estas cepas permiten pérdidas de nutrientes y de resistencia mecánica, y el crecimiento microbiano en los tejidos. En casos extremos, pueden incluso evitar la germinación del embrión. El escutelo tiene una función secretora, permitiendo la liberación de enzimas hidrolíticos del embrión al endospermo amiláceo. La degradación enzimática de la proteína, el almidón y las paredes celulares proporciona nutrientes solubles en forma de aminoácidos y azúcares que difunden al embrión y sostienen el crecimiento.]

La capa de aleurona tiene también una función secretora, pero se halla limitada a la amilasa, un enzima que hidroliza los carbohidratos. Durante su crecimiento inicial, el embrión libera la fitohormona giberelina que a su vez conduce a un incremento de la dotación enzimática de la aleurona, por activación de precursores enzimáticos o por iniciación de la biosíntesis completa de los enzimas. [Los enzimas segregados por el escutelo y la aleurona atacan el endospermo amiláceo progresivamente hacia el extremo distal del grano. Aunque la proteína, el almidón y las sustancias de la pared celular sólo son parcialmente degradados, el grano se va reblandeciendo y su contenido deviene más dulce. El malteador llama a estos cambios «desagregación».]

La cebada desde el punto de vista del granjero

Para el malteado, se utiliza algo menos del 20 % de la cebada que se siembra en la Gran Bretaña (Tabla 2.2); el resto se emplea fundamentalmente en la alimentación animal. Podría pensarse, por tanto, que se cultivan variedades con un alto contenido en proteína, para pienso, y otras con un alto contenido en almidón, para maltear. Sólo en parte es así. Se cultivan variedades de cebada de gra-

Tabla 2.2 Empleo de la cebada en el Reino Unido de la Gran Bretaña (miles de toneladas)

	Años		
	1971/2	1976/7	1981/2
Malteado	1276	1396	1432
Pienso	7433	6252	4837

The UK Cereals Market, Ministry of Agriculture, Food and Fisheries.

nos ricos en proteína si se emplean fertilizantes de elevado contenido en nitrógeno, que ofrecen la ventaja adicional de proporcionar granos ricos en almidón si se utiliza un fertilizante distinto. Sucede así porque las variedades de cebada para maltear dan generalmente rendimientos, en términos de toneladas por hectárea, más bajos que las variedades de cebada utilizadas para pienso. El malteador no paga todo el sobreprecio que debiera por las variedades cultivadas especialmente para maltear; utiliza cebadas pienso que sabe que maltean bien; selecciona partidas relativamente ricas en almidón y pobres en proteína.

Lo que el granjero quiere es conseguir un alto rendimiento por hectárea. Para tener una probabilidad razonable de lograrlo no basta con que la cebada tenga una constitución genética adecuada para dar buenos rendimientos en condiciones ideales, sino que debe además ser resistente a las enfermedades ordinarias de la misma (por ejemplo, el oidium y la roya). Para resistir las condiciones climáticas adversas el tallo debe ser corto y firme. Si lo tumba el viento, la lluvia u otros agentes, debe ser capaz de recuperarse. Algunas viejas variedades son inadecuadas para los modernos sistemas mecánicos de recolección, por ejemplo porque las espigas se rompen y los granos se esparcen por el suelo.

Finalmente, el granjero que cosecha antes puede vender su grano a precios más altos; en relación con este aspecto conviene señalar que las variedades que se siembran en invierno suelen cosecharse antes que las que siembran en primavera.

Las necesidades del malteador

Los malteadores se ven en el El Reino Unido, favorecidos por el trabajo realizado por el Instituto Nacional de Botánica Agrícola, que ha estudiado las distintas variedades de cebada y ha establecido una clasificación de su aptitud para el malteado. El interés fundamental del malteador es obtener una cebada que germine fácil y uniformemente. La germinación uniforme o sincronizada es muy difícil si los granos no son de un tamaño uniforme, entre otras cosas porque los de mayor tamaño se humedecen a un ritmo más lento (es decir, toman menos cantidad de agua por unidad de peso en unidad de tiempo) que los más pequeños. Por otra parte, resulta necesario que la cebada que va a ser malteada no haya germinado antes de la recolección y que ninguno de los granos haya muerto a causa de haber secado el grano, tras la recolección, en circunstancias insatisfactorias. [Lo que el malteador necesita es que en más del 98 % de los granos se observe tras el remojado la emergencia la vaina de la raíz. De esa cebada se dice que ha «picado».]

El malteador quiere además, como ya se ha dicho, un contenido relativamente bajo en proteína, entre el 9 y el 11,5 %. Habitualmente lo que se determina es el contenido en nitrógeno total de los granos (1,55-1,85 %). Aunque no sea exacto, se calcula la proteína multiplicando el contenido en nitrógeno por 6,25. La idea de que cuanto menos proteína contenga una cebada mayor es su contenido en almidón puede extenderse también a la cascarilla; de aquí, que el malteador busque cebadas con un bajo contenido en proteína y con poca cascarilla. Desde hace algún tiempo se busca también que sea pobre en polifenoles (o taninos) que tienen escasa influencia sobre el contenido en almidón, pero que influyen en la vida útil de la cerveza producida.

El malteador también busca una cebada que, una vez malteada, se comporte bien en el proceso de fabricación de cerveza. Debe tener una dotación enzimática satisfactoria, de manera que la extracción no plantee problemas. Por otra parte, es preciso que el mosto se separe fácilmente del grano agotado y, en relación con esto, la cebada debe ser pobre en ciertas gomas (carbohidratos), los llamados β glucanos. Como puede apreciarse, la selección de nuevas variedades de cebada para el malteo es difícil. Las necesidades del malteador no acaban aquí; hay partidas que deben ser rechazadas por otras razones, por ejemplo por estar contaminadas con hongos o infestadas con insectos o roedores.

Cebadas de dos y de seis filas

En los Estados Unidos era corriente utilizar para el malteo sólo cebadas de seis filas. Daban rendimientos altos y malteaban bien, pero su contenido en proteína solía ser elevado, del orden del 11,5-12,5 %. Contenidos elevados de proteína tienen la ventaja de que suelen ir acompañados de complementos enzimáticos altos. Por tanto, las cebadas de seis filas producían una malta con un contenido en almidón bajo pero con una elevada dotación enzimática. El contenido en enzimas era tal que el fabricante de cerveza podía mezclar, en cantidades iguales, malta y almidón de cereales y lograr un mosto satisfactorio. Es más, estas maltas resultaban ideales para otras aplicaciones industriales que precisaban un elevado complemento enzimático más que un alto contenido en sólidos extractibles (por ejemplo en panadería, apresto de tejidos o elaboración de whisky de grano).

Recientemente han ganado importancia en los Estados Unidos las cebadas de dos filas. Tienen, en general, granos más grandes y más uniformes y contienen más almidón que las de seis carreras.

Aunque su dotación enzimática sea menor, las modernas variedades todavía permiten una mezcla a partes iguales con almidón de cereales. ¿Por qué no se han utilizado en el Reino Unido cebadas de seis filas para el malteado? De hecho, cebadas de seis filas se importan de los Estados Unidos para elaborar malta para las destilerías.

La respuesta a la pregunta formulada es la de que las variedades de seis filas han sido rechazadas por la escasa uniformidad de sus granos, por su elevado contenido en proteína, por su riqueza en cascarilla y por su pobreza en almidón. Sin embargo, hace unos cincuenta años, en las fábricas de cerveza del Reino Unido, se utilizaban maltas de seis filas procedentes de Norteamérica, en parte por su elevado contenido enzimático y en parte porque su cascarilla mejoraba el comportamiento filtrante del lecho de masa o «maisch» (malta molida y remojada en el interior de una caldera de maceración o braseado).

Selección de la cebada

En la mayor parte de los casos, las nuevas variedades de cebada se han obtenido cruzando artificialmente dos variedades preexistentes. El objetivo perseguido ha sido el de combinar en una sola planta características favorables de ambas, como la resistencia a las enfermedades y la maduración temprana. A veces, una de las variedades que se utilizan para el cruce se somete a mutación artificial. Se utiliza una variedad primitiva, o incluso salvaje, para obtener, por ejemplo, resistencia a los hongos de la roya.

El criador debe evitar que las plantas de cebada se autopolinizen. Por tanto, asigna a una planta el papel de «madre» y elimina de ella todos los estambres antes de que maduren. Luego transfiere el polen de la planta «padre» a los estigmas de la «madre» utilizando un cepillo. Protege después la inflorescencia de la madre con una bolsa, para evitar polinizaciones cruzadas accidentales por el viento o por los insectos. Y obtiene de este cruce unas pocas semillas híbridas que germina cuidadosamente.

Las plantas de cebada híbrida a que dan lugar son cuidadosamente vigiladas a lo largo de su desarrollo. Si resultan satisfactorias, pueden ser cruzadas de nuevo o puede permitírseles la autopolinización natural. En cada generación, se seleccionan cuidadosamente las plantas y por supuesto aumenta el número de granos a ser estudiados. No es frecuente que se tenga suficiente grano-semilla para proceder a su venta a los granjeros hasta la novena generación. Para entonces, pueden describirse bien los caracteres de la variedad.

Sin embargo, se suele desconocer su comportamiento en cada tipo de suelo y micro-clima. Así pues, producir una nueva variedad exige muchos años; se trata de un proceso que sólo puede ser acelerado enviando los granos, cada otoño, al otro hemisferio para ser sembrados, (en su primavera), en un suelo adecuado. Con las sucesivas generaciones, la heterocigocidad del híbrido original se va gradualmente perdiendo y se hace necesaria una reselección. Por tanto, las variedades tienen una vida limitada e incluso las realmente buenas terminan siendo superadas en 3-10 años por otras mejores.

Para ilustrar los caminos por los que puede discurrir la producción de nuevas variedades de cebada, bastará con señalar que se ha obtenido una en la que se ha bloqueado la biosíntesis de un grupo de taninos. A los compuestos de este grupo se les denomina antocianógenos y afectan al comportamiento de la cerveza durante el almacenamiento. Reaccionan con las proteínas para formar complejos que van gradualmente polimerizando hasta que pierden la solubilidad y enturbian la cerveza. El bajo nivel de antocianógenos de estas cebadas supone un nuevo procedimiento de combatir la turbidez. La cebada en cuestión es un mutante de la variedad *Foma*, llamada *ant-13*. Maltea con facilidad y se da una relación directa entre la aptitud para la conservación de las cervezas producidas y la proporción de malta *ant-13* utilizada. Por el momento, ofrece algunos inconvenientes, porque el rendimiento de la cebada en el campo tiende a ser bajo, particularmente si está infectada por el hongo del oidium. Aunque el sistema deba ser mejorado en varios aspectos, no hay razones para no poder disponer de cantidades considerables de estas cebadas dentro de unos pocos años.

Empleo de la cebada en la fabricación de cerveza

Algunas factorías utilizan una mezcla de cebada malteada y no malteada. Si la proporción de cebada no malteada en la mezcla es inferior al 30 %, los enzimas de la malta pueden bastar para degradar todo el almidón, las proteínas y las paredes celulares. Sin embargo, cuando se utiliza para la fermentación cebada no malteada, es frecuente suplementar la dotación de enzimas de la malta con enzimas industriales de origen microbiano, como la β glucanasa, la α amilasa y la proteasa neutra de *Bacillus subtilis*. Se seleccionan granos de cebada de gran tamaño con bajo contenido en proteína y escasa humedad; se molturan en seco o se someten a la molturación húmeda tras el remojo; se mezcla el producto de esta molienda con el de la molturación de la malta y con los enzimas industriales y se somete el conjunto a un amasado a temperatura programada antes de proceder a la recuperación del mosto. Aunque se

dice que el proceso es más barato que la producción de mosto por procedimientos convencionales (porque la cebada es más barata que la malta), todavía no se ha popularizado, por diversas razones, tales como los problemas que implica la molturación, las dificultades que impone la viscosidad, las diferencias de aroma y la resistencia a hacer público que la cerveza se ha fabricado con cebada y enzimas industriales. Los enzimas proteolíticos de la cebada en germinación y de la malta producen una mezcla de aminoácidos libres caracterizada por una elevada proporción del aminoácido prolina, no utilizado por la levadura de cerveza durante la fermentación (véase pág. 32). La cerveza fabricada a partir de cebada puede identificarse por su inferior contenido en prolina porque la proteína de la cebada no malteada se degrada más difícilmente que la proteína de la malta.

La malta. Un paquete de enzimas y sustancias nutritivas

Almacenamiento de la cebada

La cebada es más estable seca y mantenida a baja temperatura. Si ha sido recolectada por una cosechadora cuando su contenido en agua era superior al 15 % suele secarse en la granja o en las malterías. El proceso de secado tiene que llevarse a cabo de tal forma que permanezca viable la planta embrionaria contenida en cada grano; por consiguiente, es necesario evitar el uso de temperaturas demasiado altas y para acelerar la desecación debe recurrirse a aumentar la velocidad del flujo del aire y a un calentamiento gradual del mismo. En una operación de secado típica de dos horas de duración, el aire utilizado para la desecación debe hallarse inicialmente a 54 °C e ir elevando su temperatura hasta los 66 °C, pero la temperatura del grano nunca debe sobrepasar 52 °C. El calentamiento tiene habitualmente otro efecto ventajoso, el de reducir el tiempo necesario para finalizar el período durmiente (estado de reposo). Un tratamiento típico consiste en desecarla hasta un 12 % de agua y almacenarla luego a 25 °C durante 7-14 días. Es habitual reducir después la temperatura a 15 °C, mientras se efectúan las operaciones de limpieza y clasificación de los granos por tamaño. El movimiento del grano de un silo a otro contribuye a uniformizar la temperatura de grandes volúmenes de grano y a introducir oxígeno, necesario para que los embriones respiren.

Si está húmedo, el grano es fácilmente atacado por los insectos y los hongos causantes de su deterioro, especialmente si la temperatura supera los 15 °C. El metabolismo de los insectos y el de los hongos, cuando se establecen, produce agua y eleva localmente la temperatura, lo que favorece la extensión de la infestación. Bajo condiciones extremas, la elevación de la temperatura puede incluso causar el incendio del grano. Es, por tanto, conveniente tener en cada

silo varios elementos termosensibles; de este modo se puede detectar cualquier subida significativa de temperatura y tomar las medidas oportunas para evitar un deterioro grave.

Los insectos que habitualmente se encuentran en el malteado son el escarabajo de dientes de sierra, el gorgojo y el escarabajo plano. Algunos como el escarabajo Khapra pueden desarrollarse en el grano a contenidos de agua muy bajos, incluso en malta acabada con un 2 % de agua.

Hay microorganismos capaces de crecer en los granos de cebada, entre ellos, mohos, levaduras y bacterias. Los más importantes suelen ser los hongos filamentosos, como los del género *Aspergillus*. El grado de infestación es muy alto si la cebada madura está húmeda, es decir, si el grano maduro se moja. Estos hongos, sin embargo, son desplazados durante el almacenamiento por otros a los que con frecuencia se hace referencia con el término hongos del almacenamiento. Es preciso cuidar de que la cebada no sea contaminada por hongos como el *Aspergillus fumigatus*, cuyos esporos producen lesiones en el pulmón. También es preciso evitar la presencia de los hongos productores de aflatoxinas —por fortuna raros— y el cornezuelo (*Claviceps purpurea*), que al desarrollarse en los granos de cebada produce unos frutos negros ricos en ergotamina, una sustancia tóxica.

Selección de la cebada

La cebada llega a las malterías en grandes camiones, o en vagones del ferrocarril. Es necesario controlar su calidad, en la mayor parte de los casos de inmediato. El malteador inspecciona visualmente el grano, para comprobar si es de un tamaño uniforme, si está exento de materias extrañas, como otras semillas, si contiene granos rotos, heces de roedores, etc. La cebada con una carga microbiana muy alta emite un olor característico que el malteador detecta con facilidad. En el laboratorio se efectúan otras pruebas; entre ellas la determinación de agua, la viabilidad de los embriones y el contenido en nitrógeno. En las grandes malterías, la humedad se mide por conductividad eléctrica o por espectrometría de reflectancia en el infrarrojo. El contenido en proteína se mide, bien convirtiéndola en sulfato amónico y titulando el amoníaco, bien mediante técnicas de fijación de colorantes o por reflectancia en el infrarrojo. Finalmente, la viabilidad de los embriones se calcula seccionando longitudinalmente los granos y sumergiéndolos en una disolución de una sal de tetrazolio. Los embriones vivos tienen deshidrogenasas activas que reducen la sal a un colorante de formazano

que tinte los embriones. Esta prueba rápida suele confirmarse mediante pruebas de germinación a pequeña escala.

Hay dos tipos de estados durmientes, o de reposo, en la cebada, uno calificado de profundo y otro sensible al agua. El primero hace referencia a embriones de cebada temporalmente incapaces de germinar. Se trata una condición común tras la maduración de la espiga en condiciones húmedas y frías; evita la pregerminación de los embriones cuando los granos aún se encuentran en la espiga. Este estado puede romperse por almacenamiento a temperaturas templadas pero en el laboratorio también puede ser roto quitándole al grano la cascarilla y las cubiertas del fruto y la semilla. La sensibilidad al agua es una condición en virtud de la cual la cebada puede germinar en un volumen mínimo de agua pero no si se sumerge en ella, especialmente si el agua no está saturada de aire. Puede superarse mediante ducha o remojo en varias etapas de corta duración, o mediante saturación del agua de remojo con oxígeno. Las cebadas sensibles al agua parecen necesitar en los tejidos embrionarios concentraciones de oxígeno más elevadas que las no sensibles. Los malteadores deben, por consiguiente, seleccionar partidas de cebada que pierdan su estado durmiente en unas pocas semanas de almacenamiento. Si pueden, han de evitar cebadas sensibles al agua; de lo contrario, deben ajustar el sistema de remojo a las condiciones precisas para superar esta condición.

Remojo

El protocolo de remojo suele optimizarse basándose en los resultados obtenidos en pruebas a pequeña escala (ensayos de micro-malteado). Típicamente, las partidas de cebada limpia se dejan caer del silo a un tanque de remojo parcialmente lleno de agua, a unos 15 °C. Muchos tanques de remojo son simples cilindros verticales con base cónica (Fig. 3.1). El contenido del tanque se airea intensamente, insuflando aire a través del agua de remojo mediante el uso de tuberías perforadas o por succión. La mayor parte de los tanques de remojo de construcción reciente son cilindros verticales de pequeña altura y de fondo plano (Fig. 3.2). Permiten condiciones más aeróbicas en el agua de remojo. El contenido en agua de los granos aumenta rápidamente a partir de la inmersión, pero la velocidad del incremento del contenido en agua descende luego de un modo progresivo. La velocidad de la rehumidificación es función de las condiciones en que haya crecido la cebada, de la variedad de ésta, del tamaño de los granos y de la temperatura del agua. Está también considerablemente influida por el daño mecánico que

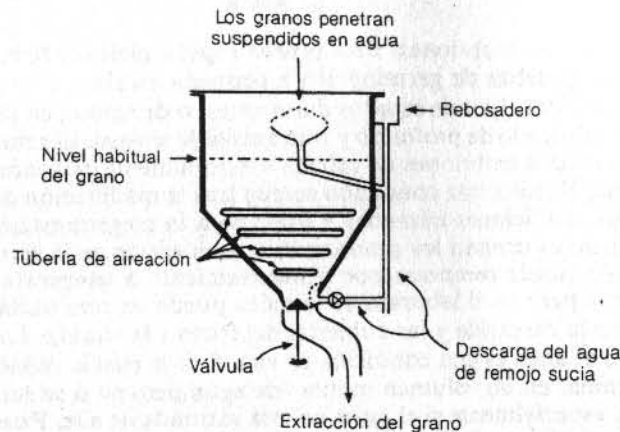


Fig. 3.1 Tanque de remojo cilindro cónico.

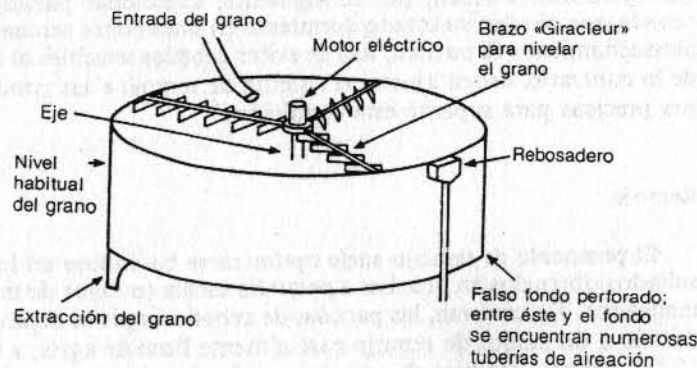


Fig. 3.2 Tanque de remojo moderno.

hayan podido sufrir los granos antes del remojo. De hecho, antes de proceder al remojo, el malteador somete a ciertas partidas de cebada a una operación de abrasión en una máquina que descascarella el extremo distal del grano (la porción del grano más alejada del embrión).

El remojo se interrumpe, por drenaje, a las 12-24 horas. Cada grano de cebada permanece recubierto de una película de agua, a través de la cual puede disolverse el oxígeno del aire del entorno.

A esta condición se le conoce como «descanso del aire». El agua de remojo que se desecha está contaminada con cierta cantidad de polvo de cebada y de endospermo de los granos dañados. Es, por tanto, rica en materia orgánica disuelta y constituye un efluente que requiere ser tratado antes de su vertido en ríos o lagos. Tras unas pocas horas de descanso al aire, la cebada se sumerge de nuevo en agua limpia; la alternancia de remojo y descanso al aire continúa, hasta que la cebada ha alcanzado una humedad de aproximadamente el 42 %. Para entonces, es probable que el grano haya comenzado a germinar (a revelar raicillas).

Cuando la cebada se ha remojado, el agua penetra rápidamente a través de la cascarilla y la cubierta del fruto y entra en el grano a través del micrópilo. El embrión toma rápidamente agua; el endospermo, en cambio, se hidrata más lentamente. Cualquier fractura sufrida por la cascarilla, o las cubiertas del fruto y la semilla, facilita el humedecimiento del endospermo o el embrión y, desde luego, la fuga de sustancias solubles del endospermo. Este constituye uno de los sumandos que dan cuenta de las pérdidas sufridas durante el malteado; otro es el representado por la respiración del embrión, que consume reservas de nutrientes, liberando energía, dióxido de carbono y agua. La respiración aumenta significativamente cuando el embrión se activa, lo que crea una demanda masiva de oxígeno en el agua de remojado (de aquí la necesidad de hacer borbotear aire y de los «descansos al aire» durante el remojo. En ausencia de oxígeno, el embrión puede metabolizar anaeróticamente las reservas, pero de un modo energéticamente poco eficaz, convirtiéndolas en dióxido de carbono y alcohol. A medida que la concentración de alcohol aumenta su toxicidad va creciendo.)

Germinación

El remojo suele completarse en un par de días; en las modernas técnicas de malteado los granos dan al término del mismo muestras claras de que han comenzado a germinar; se transfieren entonces (en forma de pasta o mejor en seco, que causa menos daño a los embriones) al equipo de germinación. En la mayor parte de los casos, el contenido en humedad se halla en torno al 42 % y permanece constante durante la etapa de germinación.

En los sistemas tradicionales, los granos remojados se extienden sobre un suelo de malteado, en una capa uniforme de unos 25 cm de profundidad. El material de recubrimiento del suelo es impermeable y las pérdidas de agua por evaporación se pueden compensar mediante ducha. Para voltear la partida de cebada en germina-

ción, se utiliza una pala de madera. Esta acción permite eliminar el dióxido de carbono producido por respiración; proporciona aire fresco a los embriones; iguala las temperaturas, que tienden a elevarse en virtud de la respiración y evita el «enraizamiento», es decir que las raicillas se entrelacen y formen una red. La velocidad de crecimiento de las raicillas, una vez que han comenzado a salir de la vaina de la raíz, es grande. La temperatura se mantiene en torno a los 15 °C, por lo que el malteado en verano exige aire acondicionado. El tiempo de malteado en el suelo de germinación se prolonga unos 4-6 días. Su avance se sigue tomando periódicamente muestras para su análisis en el laboratorio. Un método simple y útil para esto consiste en estudiar el crecimiento del tallo embrionario (llamado coleóptilo o acróspiro). Ordinariamente, el malteador prosigue la germinación hasta que esta estructura ha crecido hasta alcanzar un tamaño de aproximadamente dos tercios de la longitud del grano (Fig. 2.1). No es visible a menos que el grano se seccione longitudinalmente porque crece por debajo de las cubiertas de la semilla y el fruto.

Los modernos equipos permiten efectuar la germinación en 3 ó 4 días y lechos de malta más profundos. El tipo de germinador más frecuente es una caja de base rectangular o circular provista de un falso fondo perforado (Fig. 3.3). Sobre el falso fondo, se deposita un lecho de malta, con una profundidad de 1,0-1,5 metros. A través del lecho, y habitualmente de abajo a arriba, se hace pasar una corriente de aire saturado de agua, a unos 15 °C, con lo que se asegura la disponibilidad de oxígeno por parte de los embriones, la eliminación del dióxido de carbono y el mantenimiento de una temperatura constante en todo el lecho. Al objeto de evitar el enraizamiento, un volteador mecánico separa los granos en germinación, lo que ayuda también a airear y mantener una temperatura uniforme.

A veces se utiliza un recipiente único para el remojo y la germinación, evitando así la transferencia del grano. Sin embargo, con frecuencia, los tanques de remojo se sitúan inmediatamente por encima de los de germinación. En algunas malterías se utilizan ger-

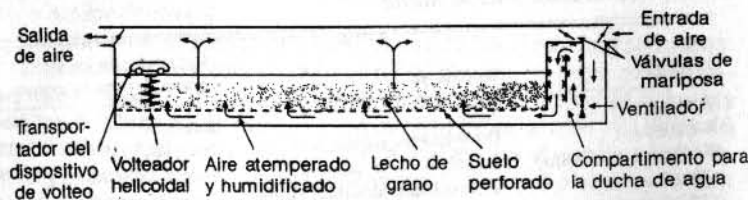


Fig. 3.3 Sección vertical de una caja de germinación neumática.

minadores de doble uso, que sirven también para el remojo, evitando procesos de transvase. Lo corriente, sin embargo, es que los tanques de remojo estén situados encima de los germinadores. La operación de secado o tostado deshidrata y esteriliza el recipiente, pero se plantean algunos problemas relacionados con el funcionamiento de la maquinaria a temperaturas muy distintas. Muchas malterías modernas poseen una torre con recipientes de remojo situados encima de los tanques de germinación y el deshidratador o tostador colocado en el piso inferior. Por este procedimiento, puede lograrse una alimentación por gravedad, de la primera a la última etapa.

Desde el punto de vista fisiológico, existe una continuidad entre el remojo y la germinación. El crecimiento embrionario se inicia durante el remojo y, como las reservas de nutrientes inmediatamente disponibles son limitadas, resulta necesario movilizar las del endospermo, mucho más abundantes, lo que se logra merced a la secreción por el embrión o el escutelo de enzimas que degradan las proteínas, el almidón y las paredes celulares del endospermo. Por sí sólo, todo esto resultaría insuficiente para satisfacer las necesidades del embrión en crecimiento rápido. Se subviene éstas mediante la movilización de la capa de aleurona, que produce enzimas, a partir bien de precursores complejos bien de los aminoácidos. Desencadenan esta movilización una o más hormonas vegetales, llamadas gibberelinas (Fig. 3.4) que son segregadas por el embrión y difunden a la aleurona. La degradación enzimática del endospermo avanza, por tanto, del extremo embrionario del grano al extremo distal del mismo y de las capas externas a las más internas. El debilitamiento físico de la estructura del endospermo y las degradaciones bioquímicas son conocidos en su conjunto con el término «desagregación». Los granos malteados pueden clasificarse, por tanto, en «subdesagregados», bien «desagregados» o «sobredesagregados», según hasta donde haya avanzado esta degradación enzimática. La malta insuficientemente desagregada suele tener una región, en el extremo distal, que no ha sufrido modificación alguna; se dice entonces que tiene la «punta dura».

Bioquímica de la germinación de la cebada

La microscopía electrónica permite observar uno de los cambios físicos más tempranos sufridos por el endospermo, durante la germinación. Al comienzo de la misma, resulta difícil ver los granos de almidón por la existencia de un velo o recubrimiento proteico que los envuelve. Este velo desaparece un día después de haber co-

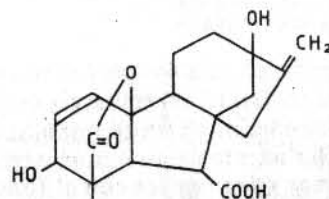


Fig. 3.4 Ácido giberélico.

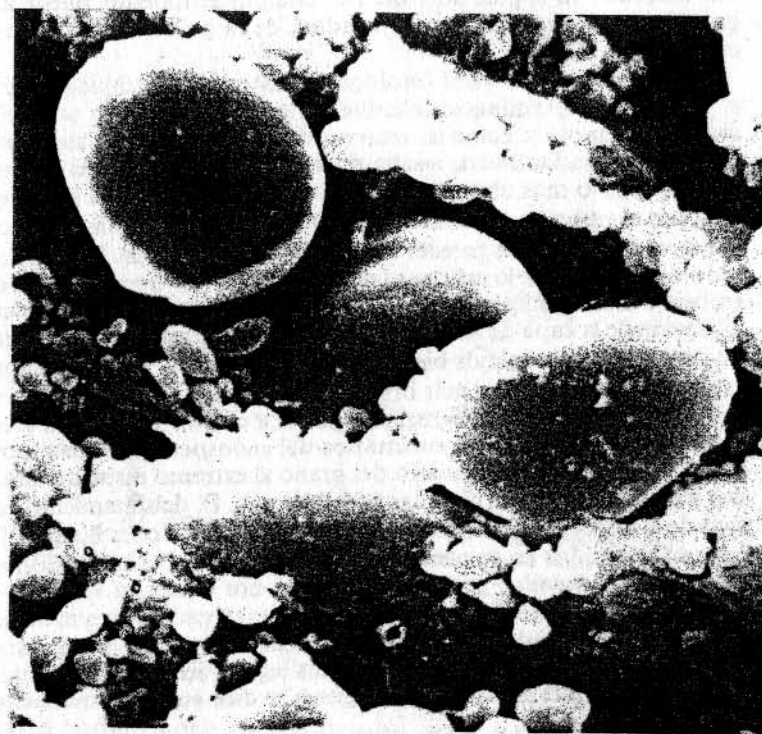


Fig. 3.5 Electronografía de células del endospermo amiláceo de cebada malteada. Pueden observarse gránulos de almidón grandes y pequeños y una porción de la pared celular.

menzado la germinación, revelándose así los granos de almidón y las paredes celulares (Fig. 3.5). Es probable que las paredes celulares sean atacadas también a lo largo de la germinación.

Proteínas

Las proteínas de la cebada en germinación no son una mezcla simple, de fácil caracterización. No se trata sólo de que las proteínas de la cebada constituyan, ya antes de la germinación, una mezcla muy compleja, sino que, además, el proceso degradativo genera una serie de nuevos compuestos más simples. Una vía tradicional, pero útil, de clasificar las proteínas de las cebadas es la basada en su solubilidad en diferentes disolventes (Tabla 3.1). Así pues, las proteínas solubles en disolución salina son las albúminas y las globulinas, relativamente simples; entre ellas se encuentran los enzimas. El material proteico insoluble en disolución salina, pero soluble en alcohol caliente, es más complejo; se le denomina hordeína. Finalmente el material proteico insoluble en alcohol caliente es denominado glutelina. La hordeína es fundamentalmente una proteína de reserva, una fuente de nitrógeno para el embrión, que es degradada a compuestos nitrogenados más simples, como las peptonas, las peptonas y los aminoácidos. La glutelina es primordialmente una proteína estructural, cuya cuantía apenas se modifica durante la germinación.

Durante la germinación, se consumen carbohidratos en procesos respiratorios, por lo que, expresado en términos de porcentaje, el grano entero parece incrementar su contenido en proteínas y sustancias nitrogenadas. Sin embargo, parte de los compuestos nitrogenados más simples se utilizan en la síntesis de las proteínas de las raicillas. Tras la deshidratación, hay que eliminar las raicillas de los granos, por lo que se produce un descenso aparente del contenido en proteína. Un parámetro importante, tanto para el malteador como para el fabricante de cerveza, es el contenido de la malta mo-

Tabla 3.1 Clasificación simple, basada en la solubilidad, de las proteínas de la cebada y de la malta

Proteína	Soluble en	Representada en el grano de cebada como
Albumina	Agua	Enzimas
Globulina	Disoluciones salinas diluidas	Enzimas
Prolamina (hordeína)	Etanol al 70 % caliente	Proteínas de reserva
Glutelina	Disoluciones alcalinas diluidas	Proteína estructural

lida en sustancias nitrogenadas extractibles en agua caliente (por ejemplo 65,5 °C). Es el llamado Nitrógeno Soluble Total. Este valor aumenta a lo largo del primero o los dos primeros días de germinación, pero finalmente alcanza un máximo a partir del cual declina progresivamente, porque está siendo utilizado para la síntesis de las proteínas del embrión. Otro parámetro importante es el «cociente de nitrógeno soluble» —es decir el nitrógeno soluble expresado como porcentaje del nitrógeno total del grano. Este valor indica cuánta proteína del grano se extrae y cuánta permanece en el grano agotado (bagazos). Así, si un malteador selecciona, a partir de una variedad de cebada, una serie de partidas que muestren un amplio rango de contenido proteico, o nitrógeno total, se observará que el cociente nitrógeno soluble tiende a descender a medida que el nitrógeno total aumenta. Esto demuestra que las sustancias nitrogenadas de las cebadas de alto contenido proteico son poco eficazmente utilizadas, algo bien distinto de lo que ocurre con su relativamente bajo contenido en hidratos de carbono. Un grano de cebada en germinación, contiene un arsenal sorprendente de proteasas. Al menos cinco, son endopeptidasas, es decir enzimas capaces de atacar cualquier enlace péptido, al azar, en la cadena de aminoácidos que componen la proteína. Su actividad se multiplica aproximadamente por veinte durante la germinación. Algunas de estas endopeptidasas tienen grupos tiol (es decir SH) en el centro activo de su molécula. Son inhibidas por las condiciones oxidantes, los metales pesados y los compuestos derivados del yodo (Tabla 3.2). Otras endopeptidasas son metaloenzimas, cuyas actividades pueden verse muy inhibidas por quelación del metal que forma parte de su molécula. La cebada en germinación también contiene peptidasas que escinden aminoácidos o péptidos simples de las proteínas. Las más importantes son las carboxipeptidasas que liberan aminoácidos. Se denominan así porque atacan a la cadena en el extremo en el que se encuentra un grupo carboxílico libre. Entre los aminoácidos liberados se halla la prolina (que es, estrictamente hablando, un iminoácido) (Fig. 3.6). Este iminoácido sólo puede ser utilizado por la levadura en condiciones aeróbicas y, por tanto, tras la fermentación, la cerveza es relativamente más rica en prolina que en otros aminoácidos.

La situación global puede describirse en los siguientes términos: Si comenzamos con una cebada con 100 partes, en peso, de sustancias nitrogenadas, en la malta producida puede haber 94 y en las raicillas 6. Cuando la malta se extrae con agua a 65,5 °C unas 40 partes se solubilizan y otras 54 permanecen en el grano agotado. De las 40 partes solubilizadas, aproximadamente 0,8 se encuentran en forma de aminoácidos. La mayoría de estas 40 partes, sin tener en cuenta las 0,3 de prolina, son utilizadas durante el crecimiento

Tabla 3.2 *Proteinasas y peptidasas de la malta*

		pH óptimo	Importante
Proteinasa 1 (con grupos tiol en el centro activo)		3.9	Si
Proteinasa 2 (con grupos tiol en el centro activo)		5.5	Mucho
Proteinasa 3 (con coenzima metálico)		5.5	Si
Proteinasa 4 (con coenzima metálico)		6.9	No mucho
Proteinasa 5 (con coenzima metálico)		8.5	No
Carboxipeptidasa 1	} difieren en la secuencia aminoacídica en el extremo de la cadena proteica que atacan	5.2	Mucho
Carboxipeptidasa 2		5.6	Mucho
Carboxipeptidasa 3		5.0	Mucho
Carboxipeptidasa 4.		4.8	Mucho
Peptidasa neutra 1	} difieren en la secuencia aminoacídica en el extremo de la cadena proteica a atacar	7.2	No mucho
Peptidasa neutra 2		7.2	No mucho
Peptidasa neutra 3		7.2	No mucho
Peptidasa neutra 4		c. 7.0	No mucho
Peptidasa alcalina 1	} difieren en la particular secuencia aminoacídica en el extremo de la cadena proteica susceptible a su ataque	8.0-10.0	No
Peptidasa alcalina 2		8.8	No

de la levadura. Algunos de los compuestos nitrogenados más complejos precipitan en caliente, formando el «turbio caliente» o más tarde, en frío, «turbio frío», o generando turbidez en las etapas finales. El resto permanece en disolución y juega un papel importante en la formación de espuma cuando la cerveza se vierte, en el vaso o jarra en que se sirve.

Almidón

El almidón (presente en forma de granos) es el más importante de los carbohidratos. En los casos en los, que para fines industriales, resulta preciso degradarlo enzimáticamente, es necesario, gela-

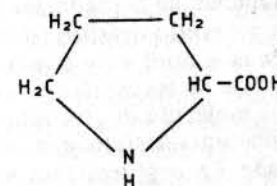


Fig. 3.6 Prolina.

tinizarlo previamente por la acción del calor o someterlo a un intenso trabajo mecánico. El almidón de cebada gelatiniza a 52-9 °C, pero durante la germinación la temperatura alcanzada es de sólo 15 °C. Las enzimas que degradan al almidón, las amilasas, operan por tanto, en el malteado, sin gelatinización previa.

Existen dos formas de almidón en los granos, la amilosa y la amilopectina (Fig. 3.7). La primera es un polímero de la glucosa que contiene de 1.000 a 4.000 unidades de glucosa; tiene por tanto un peso molecular de 200.000-800.000. Cada unidad de glucosa está unida a la próxima por lo que se denomina un enlace α 1,4 (la celulosa es una molécula semejante, pero sus enlaces son β 1,4). Este enlace determina el que el grupo reductor de la glucosa, situado en posición 1, pierda la funcionalidad. Una molécula de amilosa no tiene más poder reductor que el correspondiente a una sola molécula de glucosa, porque sólo tiene un grupo reductor funcional, situado en un extremo. A temperatura ambiente, la cadena de moléculas de glucosa adopta una conformación en espiral cuyas hélices permiten albergar en su interior una molécula de yodo. Cuando se trata la amilosa con yodo, disuelto en una disolución de yoduro potásico, el yodo se aloja en las hélices, formando un complejo amilosa-yodo que tiene un color azul negruzco. Si el complejo se calienta se desintegra transitoriamente la espiral de amilosa y el yodo deja de tñirla.

La amilopectina es también un polímero de glucosa, pero de mayor tamaño; tiene un peso molecular que sobrepasa los 500.000. La mayor parte de las unidades de glucosa están unidas por enlaces α 1,4, pero ocasionalmente se establecen también enlaces α 1,6. La consecuencia de estos enlaces es la formación de una molécula ramificada que, al igual que la amilosa, tiene un sólo grupo funcional. El yodo la tñe, pero de un color rojizo.

Durante el malteado, el almidón de la cebada se degrada fundamentalmente a una mezcla de moléculas de poliglucosa, algo menos complejas que las originales. Para los procesos respiratorios y biosintéticos embrionarios, sólo se libera una cantidad limitada de azúcares simples. La amilopectina es más fácilmente degradada que la amilosa. Los enzimas capaces de degradar en la cebada el almidón no gelatinizado parecen ser los siguientes: (i) fosforilasa, (ii) α glucosidasa, (iii) α amilasa, (iv) β amilasa y (v) enzimas desramificadores (Fig. 3.8). Durante la deshidratación de la malta, las actividades de estos enzimas se reducen de un modo drástico (si no se eliminan por completo) a excepción de la α amilasa y β amilasa. La fosforilasa ataca los extremos reductores de las moléculas de almidón, pero no se limita a eliminar una molécula de glucosa, sino que la fosforila, transformándola en glucosa-1-fosfato, que puede ser utilizada por el embrión de la cebada. La α glucosidasa ataca

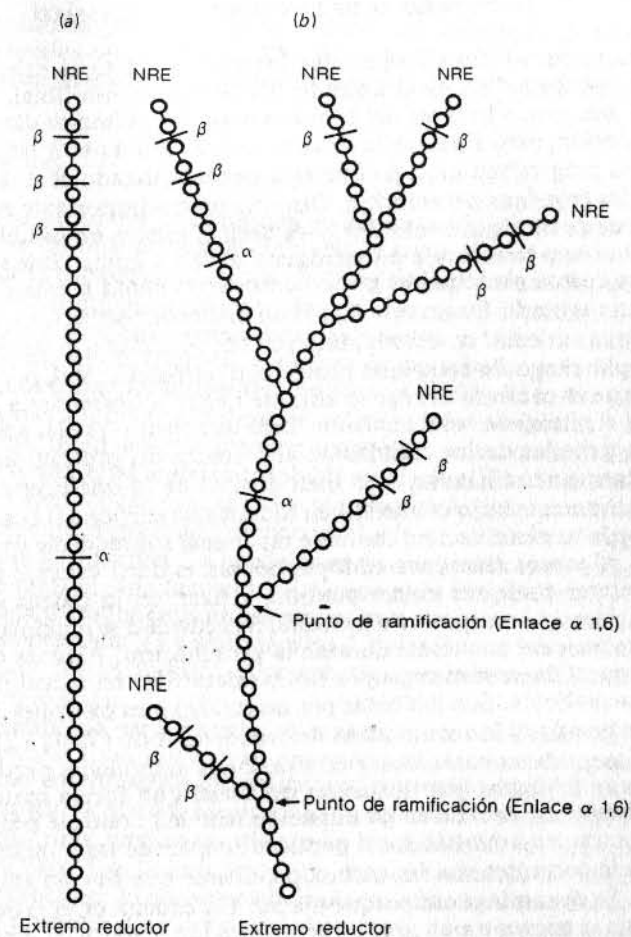


Fig. 3.7 Representación de las dos formas de almidón que se dan en la cebada (a) cadena lineal de amilosa y (b) amilopectina ramificada. Cada círculo representa una unidad de glucosa y posibles puntos de ataque para las amilasas α y β ; NRE indica un extremo no reductor.

los extremos no reductores de las moléculas de almidón, para dar glucosa. Se cree que la actividad glucosidasa facilita el trabajo de las amilasas α y β sobre el almidón crudo. Los enzimas ramificadores rompen los enlaces α 1-6 por lo que cobran importancia en la degradación de la amilopectina.

1. Fosforilasa (en el embrión) — Necesita fosfato inorgánico, ataca enlaces α 1-4 — acorta las cadenas de almidón a partir del extremo no reductor en una unidad a la que transforma en glucosa -1-fosfato
2. α glucosidasa (en el embrión) — Necesita agua para la hidrólisis, ataca enlaces α 1-4 o α 1-6 — acorta las cadenas de almidón en una unidad, a partir del extremo no reductor y libera glucosa
3. β amilasa (en el embrión y la aleurona) — Necesita agua para la hidrólisis, ataca enlaces α 1-4 — acorta las cadenas de almidón en dos unidades, a partir del extremo no reductor, a las que libera como β maltosa
4. α amilasa (en la aleurona) — Necesita agua para la hidrólisis, ataca enlaces α 1-4 — rompe las cadenas al azar rindiendo una mezcla de dextrinas y unos pocos azúcares
5. Enzima desramificador (en la aleurona) — Necesita agua para la hidrólisis, ataca enlaces α 1-4 — desramificación de la amilopectina rindiendo una mezcla de dextrinas y unos pocos azúcares

Fig. 3.8 Acción sobre el almidón de la fosforilasa, α glucosidasa, α amilasa, β amilasa y enzimas desramificadores.

Los enzimas más importantes en el malteado y en la elaboración de cerveza son las amilasas α y β (Tabla 3.3). Se denominan así, según la posición, α o β , respectivamente, del hidróxilo del carbono 1 del carbohidrato producido. Esta diferencia, sin embargo, se ve oscurecida por otras. La amilasa α es un metaloenzima y un endoenzima, en tanto que la β amilasa es un enzima tiólico y un exoenzima. Más importante aún es el hecho que la α amilasa ataca al azar, hidrolizando cualquier enlace α 1,4 excepto (i) aquellos próximos a un punto de ramificación y (ii) los situados en las proximidades del extremo de la molécula. Actuando sobre la amilosa, el enzima rinde, por consiguiente, moléculas de diversa longitud y de cadena lineal. Cuando ataca a la amilopectina, el producto que rinde es una mezcla de moléculas lineales y ramificadas. Como consecuencia de esta degradación de las moléculas originales de almidón, desciende muy acusadamente el tamaño de las moléculas originales del almidón lo que reduce su viscosidad de un modo significativo. Cada molécula de producto tiene un grupo reductor funcional y por tanto aumenta muy acusadamente la capacidad reductora.

En contraste con esto, la β amilasa ataca a las moléculas de almidón en sus extremos no reductores, rindiendo unidades de β maltosa, un disacárido reductor. Esta acción se ve dificultada por los puntos de ramificación, con enlaces α 1-6, de modo que la acción de la β amilasa deja como residuo moléculas ramificadas. La consecuencia más importante de la actividad β amilasa es sin embargo, la producción de maltosa, un carbohidrato fácilmente difusible susceptible de ser utilizado por el embrión de la cebada. Para el malteador, la maltosa es importante como responsable del sabor dulce

Tabla 3.3 Comparación de las amilasas α y β de la malta

	Amilasa α	Amilasa β
1. Ataque a la cadena de almidón	Al azar, excepto en las proximidades de los extremos y los puntos de ramificación; es un endoenzima	Separa maltosa de los extremos no reductores de las moléculas; un exo-coenzima
2. Enlace glucosídico atacado		α 1,4
3. Productos atacados	Principalmente dextrinas pocos azúcares	β maltosa
4. Producción de grupos reductores	Uno por ataque	Uno por ataque
5. Producción de extremos no reductores	Uno por ataque	Uno por ataque
6. Exigencias generales	Iones calcio	Condiciones reductoras para mantener grupos tiólicos Metales pesados y iodoacetato sódico
7. Inhibidores	Quelantes del calcio	
8. pH óptimo	5.5	5.2
9. Temperatura óptima para la velocidad máxima	70	60
10. Presencia antes de la germinación	No se halla en el grano maduro, comienza a formarse durante la germinación	Presente en el grano maduro, pero durante la germinación aumenta la actividad enzimática

de los extractos de malta utilizados como alimento. Para el fabricante de cerveza, se trata de un azúcar fácilmente fermentescible, el principal constituyente de su mosto.

Los productos de la α amilasa son fundamentalmente carbohidratos complejos denominados dextrinas, ramificadas y lineales. La β amilasa libera también dextrinas ramificadas, pero su principal producto es la maltosa. No es sorprendente, por tanto, que a la α amilasa se la denomine, con frecuencia, enzima dextrinizante y a la β amilasa enzima sacarificante. Los dos trabajan de un modo coordinado: la α amilasa proporcionando nuevos extremos no reductores, para facilitar el ataque de la β amilasa. Sin embargo, su actividad durante el malteado es sorprendentemente limitada; durante el malteado se solubiliza de un 15 a un 18 % del almidón del endospermo, del que difunde al embrión, para procesos respiratorios y biosintéticos, un 11-12 %. Sólo un 4-6 % se convierte en azúcares simples y en dextrinas. Sin embargo, las reservas de almidón se degradan; la malta es un paquete eficaz de enzimas y carbohidratos fácilmente degradables. La amilasa β se encuentra ya en la cebada antes de su germinación, aunque gran parte de ella está ligada, y es inactiva. Por el contrario la α amilasa se sintetiza cuando comienza la germinación, desencadenada por acción de las giberelinas. Du-

rante la germinación aumenta constantemente la relación amilasa α /amilasa β . Durante la deshidratación la α amilasa se muestra más termoestable que la β amilasa. La malta intensamente tostada puede, por ello, resultar deficitaria en amilasa β .

Paredes celulares del endospermo

Las paredes celulares del endospermo amiláceo constan fundamentalmente de amilcelulosas, insolubles en agua caliente, y gomas, que son solubles. Es posible que el conjunto represente un espectro virtualmente continuo de compuestos, más que una mezcla de sustancias claramente diferenciadas. Las sustancias de la pared celular dan cuenta de, aproximadamente, el 10 % del peso del grano de cebada y, también aproximadamente, 1/5 de estos compuestos son solubles en agua. Desde un punto de vista químico, algunas de las moléculas de las paredes son polímeros de pentosas (azúcares de cinco átomos de carbono), los llamados pentosanos (Fig. 3.9); otras son polímeros de la glucosa y algunas mezclas de pentosa y

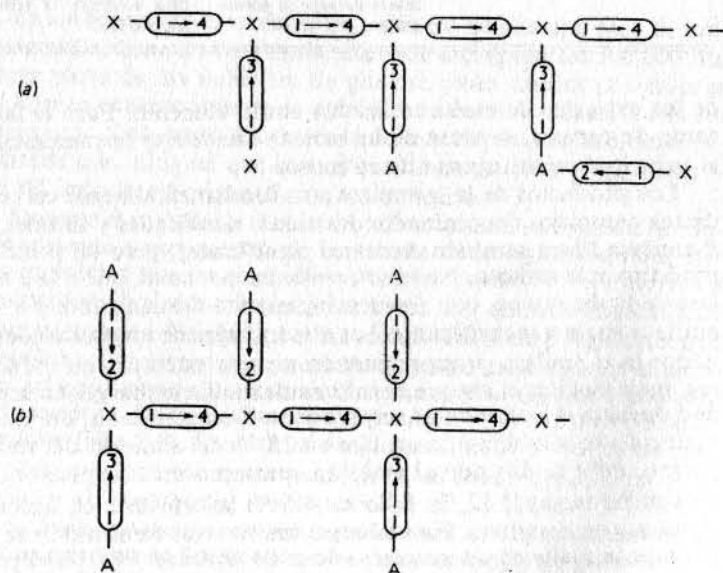


Fig. 3.9 Estructura de los pentosanos de (a) cascarilla de cebada y (b) endospermo. A: arabinosa; X: xilosa; cada elipse representa el enlace entre las pentosas.

glucosa (heteropolímeros). Los más importantes para malteadores y fabricantes de cerveza son los polímeros de la glucosa llamados β glucanos. De hecho, las variedades de cebada ricas en estos compuestos pueden resultar impropias para el malteado. Aproximadamente tres cuartas partes de los enlaces presentes en los β glucanos son β 1-4; el resto son fundamentalmente β 1-3 (Fig. 3.10). Se trata de gomas que se solubilizan durante la obtención del mosto y que pueden precipitar formando un gel durante la fermentación o en las etapas post-fermentativas. Existen, sin embargo, varios enzimas capaces de degradarlos; algunos de estos enzimas encuentran ya en la cebada cruda (como la celulasa, que ataca los enlaces β 1-4); otros aparecen durante la germinación (como la laminarinasa, que ataca enlaces β 1-3). Sobreviven, en cierta extensión, al malteado y al tostado de la malta. Las glucanasas son endoenzimas, como la celulasa y la laminarinasa, o exoenzimas, que separan unidades de glucosa. Lo importante es el hecho de que los β glucanos deben degradarse a productos solubles, tanto en agua fría como en agua caliente. No deberán precipitar en la cerveza; si en el proceso las glucanasas generan además algún azúcar fermentescible, tanto mejor.

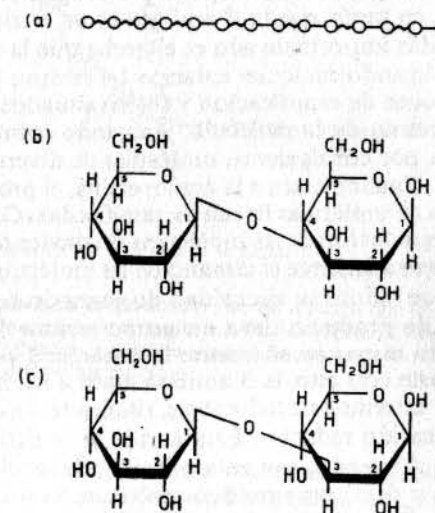


Fig. 3.10 Estructura del β glucano de la cebada (a) Parte de la molécula; ~ indica enlaces β 1-3 y — indica enlaces β 1-4. (b) Fórmula de la celobiosa (glucosa β 1-4 glucosa). (c) Laminaribosa (glucosa β 1-3 glucosa).

Grasas

Otro grupo de sustancias presentes en el endospermo es el constituido por los lípidos, o grasas. Representa aproximadamente un 3,5 % del peso del grano de cebada; alrededor de un 10 % se consumen en los procesos respiratorios del embrión. Las grasas se encuentran fundamentalmente en el embrión y en la capa de aleurona. Un poco más de 2/3 de los lípidos está constituido por grasas neutras (especialmente triacilglicerol) y aproximadamente 1/4 por fosfolípidos; el resto son glicolípidos (Fig. 3.11). Para el fabricante de cerveza, tienen particular interés los ácidos grasos presentes en algunos de los lípidos neutros. Son importantes para la síntesis de la membrana de la levadura y participan en el envejecimiento y desarrollo de sabor a «vieja» de la cerveza. Los tres grupos son degradados por esterasas, fosfatasa y glicosilasas, respectivamente, en tanto que los ácidos grasos son oxidados por peroxidasas y oxigenasas.

Fosfatos

Finalmente, se deben mencionar los compuestos fosfatados presentes en la cebada, que dan cuenta de un 1 % del peso seco. Entre ellos se hallan los fosfolípidos, los ácidos nucleicos y un curioso compuesto denominado ácido fítico que da cuenta de aproximadamente la mitad del fosfato del grano de cebada y es un hexafosfato

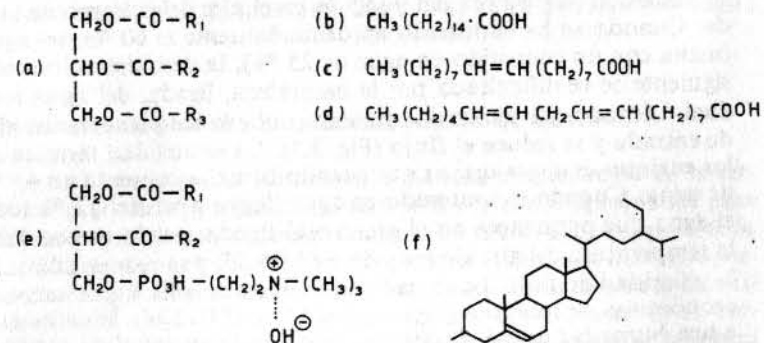


Fig. 3.11 Tipos de lípidos presentes en la cebada y en la malta. (a) Fórmula general de un lípido neutro (triacilglicerol con R_1 , R_2 y R_3 como ácidos grasos según se indica en (b), (c) y (d); (b) ácido palmítico, un ácido graso saturado; (c) ácido oleico, monounsaturado y (d) linoleico, un ácido dienoico; (e) lecitina, un fosfolípido y (f) β -sitosterol, un esteroide.

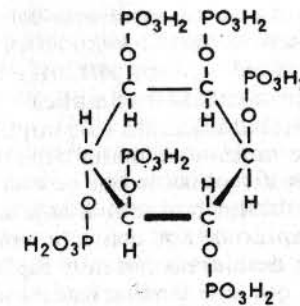


Fig. 3.12 Ácido fítico.

del azúcar-alcohol inositol (Fig. 3.12). El inositol es una vitamina del grupo B, requerida por numerosas cepas de levadura. El ácido fítico es degradado por una fitasa presente en el grano, liberando mioinositol y ácido fosfórico; el ácido fosfórico es utilizado por el embrión del grano pero, naturalmente, el fabricante de cerveza está más interesado en que lo utilice la levadura. El ácido fítico tiene una alta afinidad por los iones calcio. Como se verá en el próximo capítulo, la captura de iones calcio conduce a la liberación de protones y por tanto a la acidificación del medio.

Interacciones

La degradación de las proteínas, la del almidón, la de las paredes celulares y la de la grasa no son independientes. La degradación del almidón se ve facilitada por una solubilización parcial de las proteínas, por la movilización de los lípidos y por la degradación de los β glucanos. A su vez los β glucanos parecen ser atacados por una carboxipeptidasa denominada β glucano-solubilisasa que rompe los enlaces ester entre las proteínas y los β glucanos, al tiempo que transforma las macromoléculas en β glucanos solubles.

Secado y tostado

El proceso de germinación es detenido por el malteador desecando los granos de malta. Al malteador se le ofrecen distintas opciones; puede intentar obtener una malta poco desagregada para malta «lager»; más desagregada para «ale»; o malta muy desagregada para ser usada en las destilerías y en la elaboración de vina-

gre. También puede elegir distintos procesos de secado; la deshidratación prolongada y a bajas temperaturas conduce a una malta clara, con gran parte de su contenido enzimático intacto, en tanto que una deshidratación rápida y a temperaturas altas rinde maltas oscuras, deficitarias en actividad enzimática.

La física de la deshidratación es compleja, pero descansa en el hecho de que una muestra de malta tiene una presión de vapor característica, a una determinada temperatura. La presión de vapor se eleva considerablemente al aumentar la temperatura. Así, combinando un flujo rápido de aire con una temperatura elevada del mismo, se logra una deshidratación muy rápida, hecho bien conocido por cualquiera que esté familiarizado con la operación de secado de la ropa después de lavarla. Es frecuente expresar la presión de vapor de agua del grano en términos de la humedad relativa (HR) del aire del entorno (es decir la humedad relativa del aire en equilibrio con la humedad del grano, a la temperatura considerada). La evaporación del agua de la superficie enfría el grano; el calor latente de evaporación es $2,26 \text{ kJ g}^{-1}$, a 100°C . Como se desea conservar la actividad enzimática del grano, este enfriamiento tiene importancia en el proceso de desecación en aire caliente. De hecho, los granos húmedos nunca deben alcanzar temperaturas superiores a 38°C . Con la temperatura, sube también la velocidad de difusión del agua a la superficie, en la que está siendo constantemente evaporada.

Son numerosos los factores que afectan a la velocidad de deshidratación del grano; cabe citar entre ellos: (i) el volumen de aire que pasa a través del lecho de grano, (ii) la profundidad del lecho, (iii) el peso de agua a ser eliminado del lecho de grano, (iv) la temperatura del aire utilizado para la deshidratación, (v) la humedad relativa del aire y (vi) el carácter higroscópico de la malta. Teniendo en cuenta todo estos, resulta conveniente establecer un flujo de aire rápido, pero es relativamente caro; del mismo modo, también son convenientes lechos poco profundos, pero no resultan prácticos. La cantidad de humedad a eliminar depende de las especificaciones. Así, para secar hasta un contenido en agua del 5 % una tonelada (peso seco) de malta con un 45 % de agua tienen que evaporarse 400 kg de agua. La temperatura y la humedad del aire se encuentran interrelacionadas del modo antes señalado. Finalmente, el carácter higroscópico de la malta hace referencia a la dificultad relativa de eliminar las últimas cantidades de agua asociadas a determinadas sustancias, como las gomas y la cascarrilla.

El malteador debe esforzarse en evitar que el aire que fluye a través del lecho de grano se sature de vapor de agua. Si así sucediera, el agua se condensaría sobre los granos y penetraría en su interior. Debe recordarse que el calor latente de evaporación enfría sig-

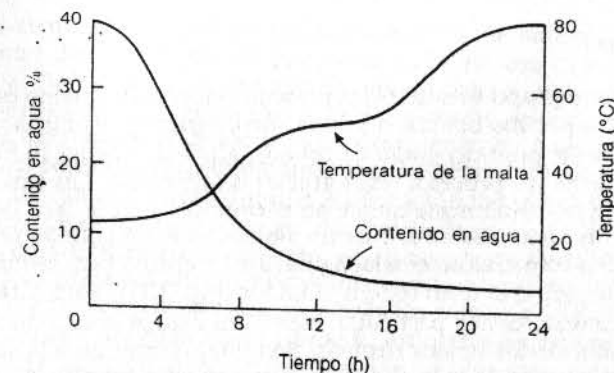


Fig. 3.13 Gráfica que ilustra la pérdida de agua de la malta y su temperatura durante una deshidratación en un tostadero típico de un piso.

nificativamente el aire. Por consiguiente, se dará una acusada diferencia entre las temperaturas del aire a la entrada del secadero o tostadero (aire de entrada) y a la salida del mismo. La deshidratación se comienza con temperaturas de entrada de $50-60^\circ\text{C}$, que inicialmente calientan el secadero y el lecho de grano. Más adelante las capas superiores del lecho comienzan a deshidratarse y el contenido en agua de la cebada empieza a descender progresivamente desde el fondo a la superficie del lecho de grano. En esta etapa de deshidratación libre, se extrae sin restricciones el agua de la cebada y por razones económicas se ajusta el flujo de aire de manera que su humedad relativa sea del 90-95 % en el aire del extremo de salida. Cuando se ha eliminado aproximadamente el 60 % del agua (malta con un contenido en agua de 25 %), la deshidratación subsiguiente se ve dificultada por la naturaleza, ligada, del agua residual. Llegado este punto de ruptura se sube la temperatura del aire de entrada y se reduce el flujo (Fig. 3.3). La estabilidad térmica de los enzimas es ahora mayor que cuando la malta contenía un 45 % de agua. Cuando el contenido en agua llegue a ser del 12 % toda el agua que permanece en el grano está ligada, por lo que se sube la temperatura del aire de entrada a $65-75^\circ\text{C}$ y se reduce aún más la velocidad de flujo. La extracción de agua es lenta y, por razones económicas, se recircula gran parte del aire (Fig. 3.14). Finalmente, a una humedad de 5-8 %, dependiendo de la variedad de cebada, la temperatura del aire de entrada se eleva a $80-100^\circ\text{C}$, hasta que se alcance el color y la humedad requeridos. Las maltas «lager» típicas se secan hasta una humedad del 4,5 %, pero las maltas «ale» se deshidratan hasta un contenido en agua de un 2-3 %.

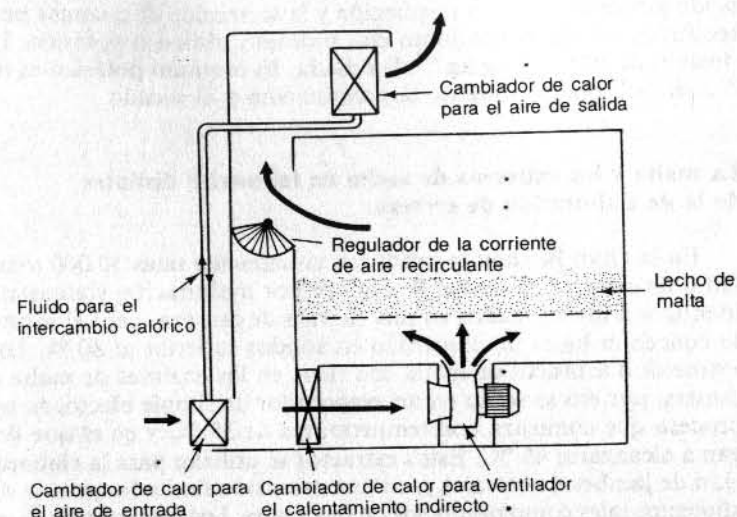


Fig. 3.14 Un deshidratador moderno provisto de intercambiadores de calor y de sistemas de calentamiento indirecto.

Se consiguen maltas con colores especiales, utilizando un régimen de deshidratación completamente distinto, porque lo que se persigue es un determinado color y un cierto aroma; como en estos casos no existe preocupación alguna por la conservación de la actividad enzimática, la malta se tuesta, o se cuece primero y se tuesta después.

Selección de la malta para la elaboración de cerveza

La materia prima fundamental para la fermentación de la cerveza es la malta; proporciona sustratos y enzimas apropiados para obtener un extracto soluble o mosto. La malta debe proporcionar este extracto fácilmente y de forma barata; también debe proporcionar cascarilla, que forma un eficaz lecho filtrante para la clarificación del mosto. La composición del extracto, o mosto, es un factor fundamental para el éxito de la fermentación por la levadura y juega un importante papel en el desarrollo del aroma y el color y en la estabilidad del producto final, la cerveza.

En orden a obtener materias primas tan uniformes como sea posible y a un costo razonable, los cerveceros establecen especificaciones muy ajustadas. Estas especificaciones dependen de los mé-

todos analíticos, por lo que el análisis de la malta cumple dos funciones: (i) estimar el valor que para el cervecero tiene la malta, (ii) constituir la base de las transacciones comerciales. Las especificaciones más importantes son las que aparecen en la tabla 3.4, junto con sus valores típicos. De lo hasta ahora dicho, resulta fácil deducir que el cervecero necesita conocer: (i) contenido en agua, (ii) proteína o nitrógeno totales, (iii) extracto obtenible de la malta fina y groseramente molida, (iv) contenido en nitrógeno soluble del extracto, (v) actividad enzimática, (vi) fermentescibilidad del extracto y (vii) color. Algunos fabricantes de cerveza están interesados también en medidas de la dureza de la malta y de la viscosidad y en el contenido en β glucanos y en aminoácidos del extracto. Algunos autores estiman que los valores del extracto, el cociente de nitrógeno soluble/nitrógeno total y la dureza constituyen los parámetros que más información proporcionan sobre la calidad de la malta.

Acido giberélico

Se recordará que las giberelinas segregadas por el embrión de cebada estimulan a la capa de aleurona a producir enzimas. Una hormona vegetal muy similar, denominada ácido giberélico, fue descubierta hace muchos años en Japón en el curso de investigaciones relacionadas con formas vegetales enanas; más tarde se demostró que esta hormona podía ser sintetizada por un hongo *Gibberella fujikuroi* (sin, *Fusarium moniliforme*).

Tabla 3.4 Algunas especificaciones típicas establecidas por los cerveceros para varias maltas; para la malta destinada a la fabricación de ale se indican las variaciones toleradas

	Malta americana de 6 filas	Malta europea de 2 filas para la elaboración de «lager»	Malta europea de 2 filas para la elaboración de «ale»
Agua (%)	4.0	3.5	2.0 ± 0.2
Extracto tras una molienda fina (% en peso seco)	77.0	79.0	80.0 ± 0.4
Extracto tras una molienda grosera (% en peso seco)	75.3	77.4	78.6 ± 0.4
Nitrógeno total (%)	2.1	1.75	1.70 ± 0.7
Nitrógeno soluble (cociente respecto del nitrógeno total)	40.0	39.0	39.5 ± 1.0
Poder diastásico (grados Lintner)	140.0	75.0	65 ± 5
Actividad α amilasa (Un. dextr.)	40.0	35.0	-
Color (grados EBC)	3.8	2.9	6.0 ± 1.0

Para su obtención se procede del siguiente modo. Se inocula, con una cepa seleccionada del hongo, un medio acuoso con un 2 % de glucosa (p/v), cloruro amónico, sulfato magnésico, fosfato potásico diácido y otras sales. Se trabaja con partidas de 25.000 l, a 28-30 °C, perfundiendo el medio con una mezcla de oxígeno, nitrógeno y dióxido de carbono, habitualmente alrededor de 0,5 % de aire por volumen de cultivo por minuto. El pH inicial, de 3,5 a 4,5, decae a 3,0 durante el crecimiento activo del hongo y se eleva de nuevo a 4,5 o más, a medida que el microorganismo se autoliza. Durante la fermentación, que es lenta y dura de 17 a 20 días, se puede añadir más glucosa. La autólisis libera ácido giberélico al medio, del que se extrae con una cetona inmiscible con el agua. También se puede adsorber el ácido sobre bicarbonato de un metal alcalino, en estado sólido.

Aunque el ácido giberélico ha rendido resultados decepcionantes en la agricultura, se ha utilizado con éxito en el malteado. Era esperable que se sumase a las giberelinas naturales de la cebada, es decir que mejorara el crecimiento y el metabolismo embrionario; pero además estimula la capa de aleurona a producir mayor cantidad de enzimas hidrolíticas. Sus efectos son aún más amplios; el ácido giberélico también puede romper el estado durmiente y acelerar todo el proceso germinativo. Presenta, sin embargo, inconvenientes tales como un mayor crecimiento de las raicillas y el acróspiro, una sobredesagregación general, una respiración más acusada y una mayor producción de calor (Tabla 3.5). Los malteadores han encontrado procedimientos para minimizar los efectos desfavorables e incrementar las ventajas del empleo del ácido giberélico. Para ello, la dosis se restringe al rango 0,025-0,25 mg de ácido giberélico por kg de cebada; se añade al agua de remojo final o se rocía con él la cebada remojada, una vez que se ha colocado en el germinador. Algunos malteadores suprimen los efectos indeseables del

Tabla 3.5 Ventajas y desventajas de la adición de ácido giberélico, antes o durante la germinación (a 0,25 mg kg⁻¹ de cebada)

Puede romper el estado durmiente	
Incrementa el extracto de malta (en alrededor de 1-3 %)	
Reduce el tiempo de germinación (a 2-3 días)	
Posibilita maltear las cebadas peores-especialmente con las técnicas de abrasión	
Puede aumentar las pérdidas durante el malteado (especialmente por incrementar la respiración y provocar un crecimiento mayor de las raicillas)	
Aumenta el volumen de la malta verde	
Aumenta el grado de desagregación (puede producir tasas excesivamente altas de nitrógeno soluble)	
Aumenta el color (perjudicial para las maltas claras).	

ácido giberélico sobre la respiración y la secreción de enzimas proteolíticos, empleándolo junto con bromato sódico o potásico. La dosis es de 100-500 mg kg⁻¹ de cebada. El bromato potásico es reducido a bromuro durante la germinación y el secado

La malta y los extractos de malta en industrias distintas de la de elaboración de cerveza.

En la Gran Bretaña se producen anualmente unas 50.000 toneladas de extracto de malta. Se obtiene por molturación y amasado idénticos a los utilizados en una fábrica de cerveza, pero el mosto se concentra hasta un contenido en sólidos superior al 80 %. Los extractos diastásicos de malta son ricos en los enzimas de malta o diastas; por eso se secan en un evaporador de simple efecto, en un proceso que comienza con temperaturas de 35 °C y en el que llegan a alcanzarse 45 °C. Estos extractos se utilizan para la elaboración de jarabes de cereales y, en una extensión limitada, para la de alimentos tales como productos de repostería. Los extractos no diastásicos son más ampliamente utilizados y son más baratos porque para su concentración se emplea un evaporador de triple efecto con un ahorro considerable de energía; las temperaturas de obtención de estos extractos se elevan a 80-85 °C durante la deshidratación y sus enzimas se encuentran considerablemente inactivados; estos extractos se emplean en ciertas bebidas lacteadas, panadería, elaboración de productos de repostería, fabricación doméstica de cerveza y producción de enzimas industriales. También se emplean como transportadores de aroma en una amplia variedad de alimentos, como los cereales para el desayuno.

El agua — Sus papeles en la elaboración de cerveza

El agua de las industrias cerveceras

El 95 % del peso de la cerveza es agua, por tanto, y dado que el consumo anual de cerveza en el mundo es de 850 Mhl, se beben unos 85 Mm³ de agua el año en forma de cerveza. Este enorme volumen (equivalente al de un lago de una extensión de 9 × 9 km y 1 m de profundidad) no incluye toda el agua consumida por la industria cervecera. Las fábricas suelen almacenar grandes cantidades (Fig. 4.1). Gran parte se emplea en la limpieza; se gastan volúmenes considerables en la generación de vapor, evaporación, y se pierde mucha en los vertidos a los desagües como agua de enfriamiento o calentamiento y acompañando a los materiales extraídos (Fig. 4.2). Las distintas industrias cerveceras difieren mucho en su eficacia en la utilización del agua. Las que menos agua derrochan utilizan volúmenes aproximadamente cuatro veces superiores al de cerveza producida, pero muchas fábricas emplean volúmenes más de diez veces superior al de la cerveza que producen.

El agua se está volviendo cada vez más cara (Tabla 4.1), al igual que el tratamiento de las aguas de desecho. La economía en el uso del agua y en la liberación de efluentes está, desde el punto de vista económico, fuertemente incentivada. Esta economía está justificada también por razones medio-ambientales, como la reducción de la polución, el mantenimiento a niveles altos de las capas freáticas, y la disminución de las emisiones de vapor de agua.

Las factorías de cerveza se construyeron en aquellos lugares en los que disponía de agua adecuada para el tipo de cerveza a producir. Así, el alto contenido en sulfato cálcico de Burton-on-Trent resultaba ideal para la fabricación de las «pale ales», fuertes y muy aromáticas que se producían en la cervecería del monasterio. En contraste con esto, las aguas blandas de Pilsen, en Checoslovaquia, re-



Fig. 4.1 El suministro de agua es esencial para las fábricas de cerveza; algunas almacenan grandes volúmenes como muestra la torre de agua de esta fotografía, tomada en la Swan Brewery de Perth, Australia Occidental. El tratamiento de efluentes es otra de sus preocupaciones importantes y se muestra también en el frente de la fotografía.

sultaban ideales para la elaboración de las «lagers» y, de hecho, a este tipo de cervezas se las conoce habitualmente como Pilsner o Pils, cuando se elaboran en Europa. El agua rica en bicarbonato cálcico (dureza temporal) resultaba excelente para la producción de las cervezas más oscuras, por lo que las de Munich, Londres y Dublín alcanzaron fama y renombre.

Los progresos experimentados por el análisis químico a finales del siglo XIX y principios del siglo XX permitieron un conocimiento detallado de la composición iónica de las aguas naturales (Tabla 4.2).

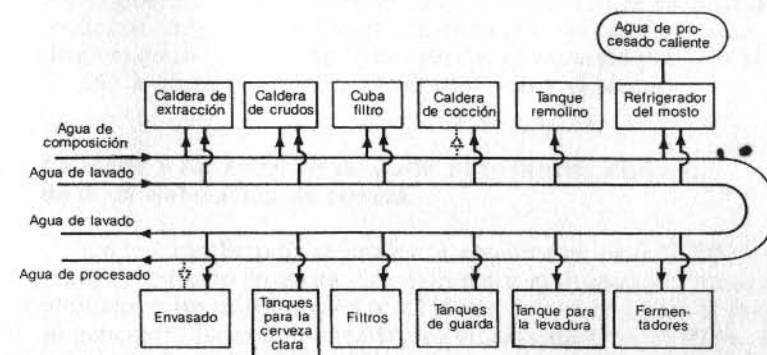


Fig. 4.2 Diagrama de flujo que ilustra el uso del agua en una fábrica de cerveza.

Tabla 4.1 Coste (peniques —equivalente a unas 2 pts— $\times m^{-3}$) del tratamiento del agua y los efluentes por la Severn Trent Water Authority 1978-1983)

	Agua procedente de pozos privados	Agua de abastecimiento público	Tasas ^a para efluentes normales
1978/79	1.04	12.7	9.85
1980/81	1.48	17.6	12.22
1982/83	1.76	22.7	13.97

^a Los valores COD y SS considerados normales en 1978/79 fueron 403 y 342, respectivamente, y se redujeron progresivamente a 345 y 329 respectivamente en 1982/83.

Tabla 4.2 Composición iónica del agua en los centros productores de cerveza ($mg l^{-1}$)

	Na ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	HCO ₃ ⁻
Burton-on-Trent	54	24	352	16	820	320
Pilsen	32	8	7	5	6	37
Munich	10	19	80	1	6	333
London	24	4	90	18	58	123
Dublin	12	4	119	19	54	319
Dortmund	69	23	260	106	283	549

Simultáneamente se desarrollaron procedimientos para ablandar el agua y se idearon mezclas de sales que podían añadirse al agua ablandada para obtener otra con características idénticas a las de Burton-on-Trent o la de cualquier otro lugar del Globo. Los avances en el conocimiento de la bioquímica del malteado y de la producción del

mosto, realizados a lo largo de los 80 últimos años, ha hecho evidente la enorme importancia de dos iones en el control del pH. Se trata del calcio y el carbonato (o bicarbonato). Los iones de calcio juegan muchos otros papeles en la elaboración de cerveza, como se verá más adelante. Los fabricantes de cerveza ajustan, por ello, la composición química del agua utilizada en la elaboración de esta bebida, lo que les ayuda a controlar el pH, a disponer de suficientes iones de calcio y a ajustar la concentración de otros iones importantes para el aroma de la cerveza.

Ya se ha dicho que en la limpieza y en la producción de vapor se gastan grandes volúmenes de agua; la composición óptima de esta agua es muy distinta de la que precisa la que vaya a utilizarse como agua de composición de la cerveza. A primera vista, podría sugerirse que debiera ser agua completamente exenta de sales. En la práctica, el agua desprovista de sales tiende a corroer las tuberías de metal solubilizando cantidades no deseadas de metal. Es, por tanto, preferible usar agua ligeramente dura, que forme una película pasiva en la cara interior de las tuberías. Un agua de este tipo puede desionizarse fácilmente y a bajo costo para la alimentación de las calderas, utilizarse en la limpieza sin modificación alguna y ser tratada con sales apropiadas para su empleo como agua de composición de la cerveza.

Contaminación química y microbiana

Se estima que la mitad de la población del mundo (alrededor de 2 millones de personas) carece de agua de bebida que reúna las debidas condiciones sanitarias y que alrededor del 80 % de los casos de enfermedad guardan alguna relación con el agua. A pesar de la amplia difusión de la malaria, la ceguera del río (onchocercosis) y la bilarciosis, muchas de las enfermedades transmitidas por el agua son resultado directo de la actividad humana. Así, el tifus y el cólera pueden resultar endémicos en varias partes del Globo. Entre 1980-1990, sin embargo, la Organización de Naciones Unidas piensa gastar 300 billones de dólares en proporcionar agua de bebida sana para toda la población del mundo.

La contaminación microbiana del agua no es la única ampliamente difundida; también lo está la química y, por tanto, las industrias cerveceras deben prestar particular atención a la selección y el tratamiento del agua que utilizan. Muchas veces la obtienen de pozos; proviene por tanto de la lluvia o de la fusión de la nieve y no sólo ha atravesado el suelo sino también la roca subyacente. Para ello perforan pozos en las rocas que contienen agua (acuíferos). Suelen ser rocas de textura grosera y porosa y con frecuencia con

fisuras ramificadas. La composición iónica del agua depende considerablemente de la constitución química de las rocas a través de las cuáles ha permeado. Así, las rocas Permo-Trias, como la arenisca Keuper depositada en zonas desérticas o semidesérticas, tienen un alto contenido salino. Las areniscas porosas pueden intercambiar bases y aportar sales de hierro al agua. En contraste con esto, el agua extraída de las calizas y los yesos es rica en carbonato de calcio y magnesio.

Algunas factorías se abastecen de ríos, lagos o canales; es un agua más fácilmente contaminada por productos orgánicos y organismos vivos que la de los pozos, si estos son convenientemente explotados. Ambos tipos de abastecimiento pueden verse afectados en alguna extensión por los fertilizantes artificiales y por los diversos productos químicos utilizados en la agricultura, así como por la contaminación procedente de operaciones industriales efectuadas en el área de captación. Son fuente de preocupación (i) los nitratos y nitritos procedentes de los fertilizantes; (ii) los hidrocarburos clorados, los detergentes, los aceites minerales, el arsénico, el plomo, el mercurio y el cromo (sales de) y otros productos tóxicos procedentes de operaciones industriales y (iii) los efluentes domésticos. Por eso se han establecido estándares de pureza para el agua potable; lo fueron primero con carácter nacional y después con ámbito internacional (Tabla 4.3). La preocupación por los nitritos deriva del hecho de que reaccionan con ciertos compuestos nitrogenados, como las aminas, para dar sustancias carcinogénicas, denominadas nitrosaminas. La preocupación por los nitratos es consecuencia de ser fácilmente convertibles, por numerosas bacterias presentes tanto en las aguas naturales como en los mostos, en nitritos. Sin embargo, los nitratos y otras sustancias que los generan, son utilizados con frecuencia, en exceso, en la agricultura intensiva. La contaminación industrial del agua está mucho más estrictamente controlada, pero, a veces, se producen fallos y no siempre son observados de inmediato.

Los microorganismos de las aguas procedentes de fuentes de aprovisionamiento distintas de los pozos perforados en rocas, se eliminan ordinariamente por filtración y clorado. El agua de los pozos no suele tratarse de este modo, por lo que su contaminación con efluentes (particularmente los de origen doméstico) representa un problema grave. Por todo ello suelen efectuarse rutinariamente análisis bacteriológicos. Con estos análisis se intenta detectar los microorganismos, más o menos inocuos, que habitualmente alberga el intestino de los seres humanos, o de los animales. Se trata de microorganismos que pertenecen a la familia de las enterobacteriaceas y que abundan en las heces (10^8 - 10^9 células g^{-1}), por lo que es fácil detectar por técnicas bacteriológicas huellas de material fe-

Tabla 4.3 Estándares internacionales para el agua de bebida (1971) más límites adicionales aplicados al agua potable europea (1970) en mg l^{-1} ^a

	Permisible	Excesivo
Sólidos totales	500	1500
Dureza total (como CO_3Ca)	100	500
Fe^{3+}	0.1	1.0
Mn^{2+}	0.05	0.5
Cu^{2+}	0.05	1.5
Zn^{2+}	5.0	15.0
Ca^{2+}	75	200
Mg^{2+}	30-150 ^b	150
SO_4^{2-}	200	400
Cl^-	200	600
F^-	0.6-1.7 ^c	-
NO_3^-	-	45
As	-	0.05
Cd^{2+}	-	0.01
CN^-	-	0.05
Pb^{2+}	-	0.1
Hg^{2+} (total)	-	0.001
Se	-	0.01
Detergentes aniónicos	0.2	1.0
Aceite mineral	0.01	0.3
Sustancias fenólicas (como fenol)	0.001	0.002
Hidrocarburos aromáticos policíclicos	-	0.2
Emisión α	-	3 pCi l ⁻¹
Emisión β	-	30 pCi l ⁻¹
pH	7.0-8.5	< 6.5 y > 9.2
Ba^{2+}	1	-
Cr^{6+}	0.05	-
H_2S	0.05	-
NO_2^-	0.05	-
NH_4^+	0.05	-
Oxígeno disuelto	> 5	-
CO_2 libre	0	-

^a Los estándares de los Estados Unidos son casi idénticos, pero tienen límites adicionales, especialmente en relación con los hidrocarburos clorados.

^b Depende de la tasa de SO_4^{2-} ; el valor 30 se aplica para tasas de SO_4^{2-} de 250 mg l^{-1} .

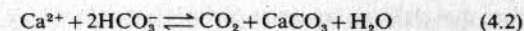
^c Depende de la temperatura diaria máxima; el valor más alto corresponde a temperaturas de 10-12 °C.

cal. Las bacterias patógenas, como las responsables del tifus o el cólera, son mucho menos abundantes y viables. La idea que preside la realización de estas determinaciones y la estrategia adoptada es la de que, si no existen en el agua bacterias fecales inocuas, es razonablemente correcto pensar que tampoco existan bacterias patógenas. Las bacterias coliformes fecales suelen caracterizarse por

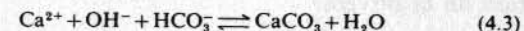
su crecimiento, en medio lactasado, a 44 °C, produciendo gas y generando indol a partir de la proteína. No obstante, algunas no crecen a 44 ° y sí a 37 °C. Es preciso, sin embargo, señalar que la identificación y el recuento de las diversas bacterias coliformes no es una tarea fácil y requiere considerable experiencia.

Ablandamiento y desionización

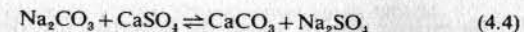
La dureza temporal puede reducirse por ebullición, especialmente si el agua de ebullición se airea (Ecuaciones 4.1 y 4.2).



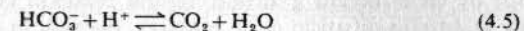
Esto ayuda a eliminar el dióxido de carbono y precipita carbonato cálcico. Es menos eficaz en presencia de iones magnesio, porque el carbonato de magnesio precipita peor y es más soluble. Otro método tradicional consiste en añadir dosis cuidadosamente controladas de lechada de cal al agua, de manera que precipite el carbonato (Ecuación 4.3).



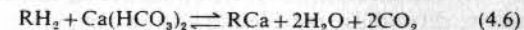
Un tratamiento adecuado para la dureza permanente consiste en tratar el agua con carbonato sódico (Ecuación 4.4).



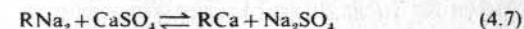
El tratamiento ácido del agua elimina la dureza temporal y se emplea con frecuencia en las fábricas de cerveza (Ecuación 4.5).



La desionización es un proceso en el que se utilizan resinas intercambiadoras de ácidos o bases. Las zeolitas, que son resinas naturales, han sido sustituidas por resinas sintéticas, como los poliestirenos. Para eliminar la dureza temporal se emplea una resina débilmente ácida (catiónica) (Ecuación 4.6).



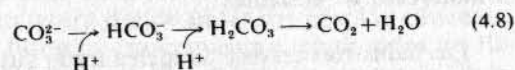
Cuando se ha convertido por completo a la forma cálcica y magnésica, puede regenerarse la resina mediante tratamiento ácido. Para eliminar la dureza permanente del agua, debe utilizarse una resina aniónica (Ecuación 4.7) que se regenera por tratamiento con so-



sa cáustica. Es posible eliminar tanto la dureza permanente como la temporal, utilizando primero la resina catiónica, desgasificando el agua para eliminar el dióxido de carbono y tratándola luego con una resina aniónica. Durante los últimos años, se viene utilizando un método alternativo de desionización, la osmosis inversa, que emplea membranas de acetato de celulosa o nylon que retienen a los iones más grandes, pero permite la salida del agua y los iones de pequeño tamaño. Obviamente, se necesita aplicar una presión considerable (30-60 bares) para impulsar el paso del agua a través de la membrana.

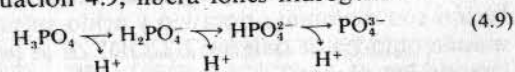
La importancia de los iones calcio y bicarbonato

La dureza temporal del agua utilizada en la elaboración de cerveza se suele reducir a menos de 25 mg l^{-1} , mediante tratamiento ácido o adición de lechada de cal. Se procede así, porque, cuando se cuece el mosto, el bicarbonato libera dióxido de carbono tomando hidrogeniones (Ecuación 4.8)



Este consumo de iones hidrógeno reduce la acidez y, por tanto, eleva el pH.

La malta proporciona una cantidad considerable de ácido fosfórico al degradarse el hexametáfosfato de inositol (fitina) bajo la acción del enzima fitasa. El ácido fosfórico se ioniza rápidamente y, como indica la Ecuación 4.9, libera iones hidrógeno.



En presencia de iones calcio, el fosfato cálcico, muy insoluble, precipita. Esta precipitación induce la disociación de más moléculas de ácido fosfórico y la liberación simultánea de nuevos iones hidrógeno; por tanto, la disolución se va haciendo progresivamente más ácida y el pH del mosto va descendiendo. Los iones de calcio son importantes también por su efecto estabilizador de la α -amilasa que es, junto con la amilasa β , el más importante de los enzimas participantes en la degradación del almidón durante el proceso de extracción. La amilasa α no opera normalmente sin calcio. Como quiera que los iones calcio precipitan los fosfatos y reducen el pH del mosto, en presencia de calcio se activan otros enzimas que operan mejor a valores bajos de pH, como la amilasa β y algunas pep-

tidasas. Por otro lado, los polímeros se extraen peor cuanto más bajo sea el pH, por lo que las cervezas fabricadas con aguas ricas en calcio resultan menos astringentes y menos coloreadas. Tanto las levaduras como los coágulos floculan mejor en presencia de iones calcio; por consiguiente, los iones calcio facilitan la clarificación del mosto y de la cerveza. Finalmente, en presencia de iones calcio, precipitan cristales de oxalato cálcico, lo que evita la liberación incontrolada del dióxido de carbono disuelto. Aunque los iones magnesio suelen tener efectos similares a los iones calcio, su eficacia en la reducción del pH es mucho menor, porque el fosfato magnésico es más soluble que el fosfato cálcico. Los iones magnesio son, sin embargo, esenciales para el funcionamiento de ciertos enzimas de las levaduras. Por ejemplo, el magnesio es un cofactor de la piruvato descarboxilasa, el enzima que cataliza la producción de acetaldehído.

Limpieza e higienización

Durante el proceso de elaboración de cerveza se producen precipitados, tanto de sales inorgánicas como de productos orgánicos, y adherencias de los mismos a las superficies de los depósitos, las tuberías y otras piezas del equipo con las que contactan el mosto y la cerveza. Estos depósitos están constituidos fundamentalmente por sales de calcio y magnesio, proteína desnaturalizada y levadura. Para evitar que crezcan, especialmente en las superficies de transferencia de calor, es necesario proceder a la limpieza del equipo. Aún es más importante eliminar la costra antes de que proporcione nutrientes y protección a los microorganismos contaminantes. Estrictamente hablando, es posible esterilizarla, pero con ello lo único que se logra es dificultar su posterior eliminación y, en cualquier caso, la esterilización es sólo temporal.

La regla principal es limpiar primero e higienizar después. Una secuencia típica de limpieza, supone primero un lavado con agua. El agua utilizada en esta etapa no tiene porque estar absolutamente limpia — puede ser agua utilizada para un aclarado final. Este lavado va seguido por rociado a alta velocidad de un fluido germicida, a temperatura de 80-85 °C. Si se trata de un equipo de acero inoxidable, este líquido contiene un 2 % de sosa cáustica e hipoclorito sódico, que no sólo esteriliza sino que facilita además la limpieza. Para disolver las sales de calcio, se puede añadir gluconato sódico; para mantener las partículas insolubles en suspensión y evitar su depósito, debe añadirse también tripolifosfato sódico. De ordinario, el agente higienizante, o detergente, vuelve al depósito para ser utilizado de nuevo tras reforzar su concentración. El depósito

se somete después a una ducha con agua limpia y fría; este agua, poco sucia, se almacena en un tanque de depósito, para ser utilizada luego como agua de primer lavado. En los programas rigurosos de limpieza, se procede entonces a rociar los depósitos y las tuberías con un agente esterilizante frío, que puede estar constituido por un iodóforo (un producto ácido que libera iodo), y a duchar las superficies, a continuación, con agua fría.

Durante los últimos años, el lavado de tanques se ha automatizado. La mano de obra es cara y la limpieza manual no siempre es fiable. Las fábricas de cerveza han pasado a utilizar recipientes herméticos equipados con cabezas aspersoras (alcachofas) y chorros rotatorios de alta presión. Se selecciona el programa de apertura y cierre de válvulas, los rociados de aclarado e higienización y el retorno de las disoluciones a los depósitos y se pasan a un microprocesador que, en el momento adecuado, envía órdenes activadores de válvulas y bombas del sistema de «limpieza in situ» (CIP). Se logra así una considerable economía de agua. La energía humana se sustituye por energía química, calor y la energía mecánica del rociado a presión.

También se utiliza vapor para la esterilización, pero sólo puede ser plenamente eficaz si se encuentra a saturación y opera sobre un equipo ya caliente. Debe, además, facilitarse la salida de condensados a medida que el utillaje a esterilizar se calienta. Para alcanzar la esterilidad se necesita no menos de 30 minutos de tratamiento al vapor a 1 bar por encima de la presión atmosférica tras haber alcanzado una temperatura de 100 °C el material a esterilizar, que tiene que encontrarse, desde el principio, limpio. El vapor es relativamente caro, especialmente si se utiliza para esterilizar tanques situados en plantas refrigeradas. Debe hallarse exento de contaminación química. Sus efectos se anulan si el equipo es enfriado luego con agua no estéril.

Agua para la refrigeración y el calentamiento

Cuando el fabricante de cerveza desea enfriar el mosto aromatizado con lúpulo y clarificarlo, suele utilizar un cambiador de calor de placas, en el que el agua circula a contra corriente del mosto caliente. Como consecuencia de todo ello, se produce mucha agua caliente (a 70-85 °C) que se utiliza en la extracción de la malta y que también puede emplearse para calentar el agua utilizada a este fin. Se usa igualmente como agua de lavado. Se puede obtener más agua caliente haciendo circular el agua fría por un cambiador de calor situado en la chimenea de la caldera de cocción, donde es calentada por el vapor producido por la ebullición del mosto.

La mayor parte de las fábricas utilizan para el calentamiento vapor seco saturado (a unos 150 °C y 3,5 bares de presión, sobre la atmosférica), pero algunas usan agua caliente a presión (en el intervalo 145-170 °C y unos 17 bares de presión, sobre la atmosférica). Las instalaciones a vapor son más baratas, pero también más complicadas, en cuanto que la velocidad de consumo del vapor viene determinada por la velocidad a que puede condensarse el vapor. Como no es fácil establecer un depósito, la planta generadora de vapor tiene que ser de respuesta flexible a las demandas de energía térmica. En los sistemas de agua caliente a presión elevada, se establece el flujo del calentador al equipo a calentar en circuito cerrado. El volumen de agua en el sistema constituye un gran reservorio de energía, de modo que pueden satisfacerse fácilmente demandas bruscas. Plantean también menos problemas con respecto al control del input energético al equipo, no produce condensados que retirar y no da lugar a tanto requemado sobre las superficies de acero inoxidable como el que produce el calentamiento por vapor.

Tratamiento de efluentes

Las industrias cerveceras suelen tratar sus propios efluentes para que cumplan las especificaciones exigidas para su descarga en ríos y lagos. También pueden elegir verificar esta descarga a los colectores públicos, sin tratamiento alguno. Una tercera alternativa que se les ofrece es un tratamiento parcial.

La contaminación de los efluentes se puede medir determinando (i) la concentración de sólidos en suspensión (SS) y (ii) la concentración de sustancias que pueden oxidarse químicamente por ebullición con dicromato potásico y ácido sulfúrico concentrado (demanda química de oxígeno o COD). Si se mide la COD es porque cuando los efluentes se incorporan a una vía fluvial los microorganismos aeróbicos consumen el oxígeno disuelto, para metabolizar la materia orgánica. Por consiguiente, cuanto más materia orgánica haya (o, en otras palabras, cuanto mayor sea la COD) más oxígeno disuelto se utiliza. Una concentración de materia orgánica alta puede desoxigenar completamente el agua y causar la muerte de los organismos aeróbicos. Por esta razón, resulta necesario restringir los niveles de COD de los efluentes que se vierten en las corrientes de agua naturales a 10-20 mg l⁻¹. También se hace necesaria la limitación de los sólidos en suspensión (SS); no sólo porque habitualmente representan materia orgánica, sino también porque tienden a sedimentar en los cursos fluviales generando lodos anaeróbicos. Los efluentes globales de una industria cervecera suelen tener valores SS del orden de 240 mg l⁻¹ y valores COD de unos 1.800

mg l^{-1} . El pH suele encontrarse dentro del rango 3,5-5,5, excepto las descargas de los procesos de limpieza y desinfección cuando se utilizan preparados basados en sosa caústica, cuyos efluentes tienen valores de pH que pueden llegar a ser de hasta 10.

El costo del vertido a los desagües públicos lo calculan las autoridades locales utilizando una fórmula que tiene en cuenta (i) el volumen de efluentes, (ii) el costo de su transporte a la depuradora, (iii) los sólidos en suspensión y (iv) el costo de reducir sus valores de COD a los que deben alcanzar tras la depuración. Puede haber restricciones respecto del pH y la temperatura y penalizaciones si los SS o el COD sobrepasan ciertos límites. Las factorías están, por tanto, interesadas en mantener volúmenes y valores SS y COD mínimos, lo que pueden lograr limitando las descargas de agotados, como partículas de malta, fragmentos de lúpulo, exceso de levadura, turbios y el sedimento de la base de los fermentadores. También resulta conveniente no efectuar descargas de mostos débiles o cerveza estropeada. En la medida de lo posible, conviene recoger los bagazos para su utilización como pienso. Los mostos débiles y la cerveza alterada pueden incorporarse a los piensos para cerdos o reciclarse adecuadamente en el proceso fermentativo.

Si una industria cervecera decide tratar sus propios efluentes, le resulta conveniente filtrarlos groseramente y reunir todos los filtrados (Fig. 4.3). Se necesita, para ello, utilizar un tanque de almacenamiento en el que debe reducirse el tiempo de residencia a unas pocas horas, para evitar la digestión microbiana, que se verá acompañada de la emisión de olores desagradables y tratar luego los efluentes aeróbicamente, lo que es bastante frecuente, o anaeróbicamente, lo que es menos habitual, pero de interés creciente.

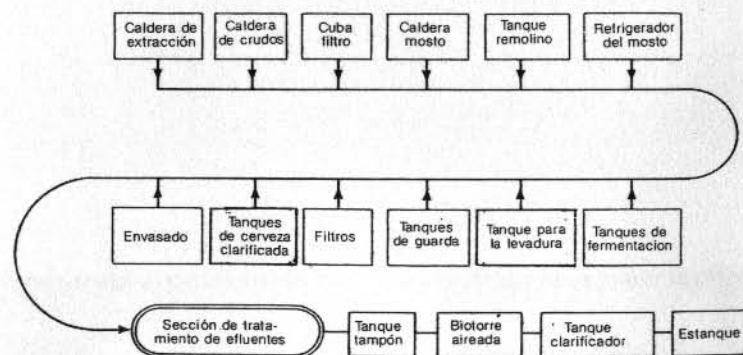


Fig. 4.3 Diagrama de flujo en el que se representa la producción de efluentes en una fábrica de cerveza.

La digestión aeróbica depende de la presencia de grandes poblaciones microbianas capaces de absorber, tanto las sustancias orgánicas verdaderamente disueltas, como aquellas otras que se encuentran en disolución coloidal y metabolizarlas, fundamentalmente a dióxido de carbono y agua. La energía derivada de estos procesos metabólicos es utilizada por los microorganismos para su propio desarrollo y multiplicación. Se dispone de dos tipos básicos de proceso, el más antiguo de los cuales es el sistema de filtro por percolación, que consiste en un lecho de piedras de 2 m de profundidad, situado dentro de una pared circular y ventilado de un modo natural. El efluente es nebulizado por unos brazos distribuidores rotatorios sobre el lecho de piedras y se desliza por entre estas, que se encuentran recubiertas por una película de microorganismos (Fig.

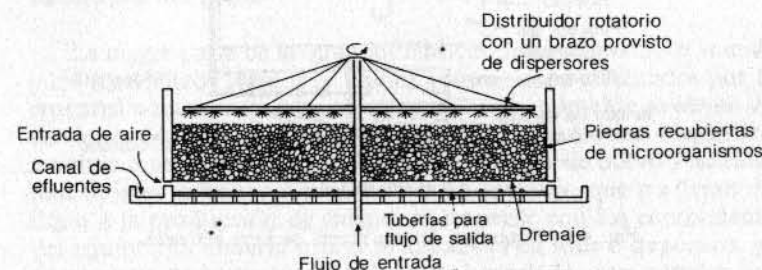


Fig. 4.4 Sección vertical de un filtro de percolación.

4.4). Aunque el tiempo de circulación o residencia sea de sólo unos 30 s, pueden reducirse sustancialmente los valores de SS y COD. Este filtro opera poco satisfactoriamente en condiciones variables de flujo, composición y pH. Un dispositivo en cierto modo similar es el constituido por torres rellenas, no apretadamente, con láminas de material plástico rígido, sobre el que pueden crecer los microorganismos. El efluente se va deslizando torre abajo, contra corriente del aire, que fluye ascendentemente. Más frecuente resulta el sistema de lodos activados, que depende de la presencia de concentraciones altas de microorganismos que flocculan y son mantenidos en suspensión por aire a presión o por agitación mecánica. Para facilitar el metabolismo aeróbico del efluente, se mantienen altas velocidades de transferencia de oxígeno (Fig. 4.5). En el proceso se multiplican abundantemente los microorganismos del lodo y es preciso mantener relativamente constante la población, eliminando parte de ella. El lodo resulta difícil de concentrar y deshidratar y no es muy popular como fertilizante, debido, entre otras cosas,

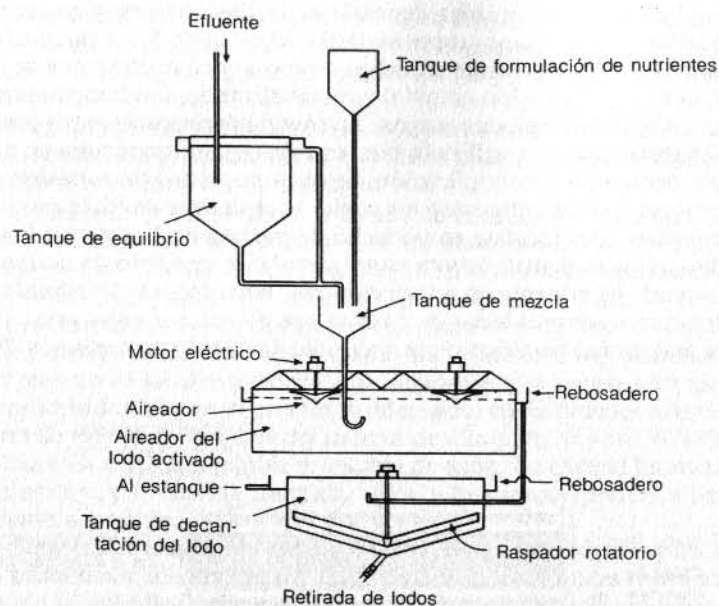


Fig. 4.5 Diagrama de una planta de lodo activado.

a que tiende a ser maloliente y posee un elevado contenido metálico. Este sistema resulta caro, en virtud del consumo de energía preciso para airear el lodo (lo que puede representar más del 50 % de la energía eléctrica consumida por una factoría). Requiere además montar, aguas abajo de la instalación de lodo activado, un dispositivo para la sedimentación de los SS.

Otro método de tratamiento de los efluentes consiste en la digestión anaeróbica en tanques herméticos. Las bacterias utilizadas para la digestión anaeróbica de la materia orgánica son de dos tipos: unas producen acético, propiónico y otros ácidos grasos y las otras metano y dióxido de carbono, productos todos ellos del metabolismo de las materias orgánicas presente en los efluentes. El crecimiento es lento y el rendimiento de alrededor de $0,55 \text{ g l}^{-1}$, pero los valores de COD se reducen en alrededor de un 75 % y los de SS en alrededor de un 50 %. El proceso libera gases que pueden ser aprovechados, vía un motor adecuado una caldera de vapor o un cambiador de calor. Sus inconvenientes son el tiempo que tarda en comenzar a funcionar y su sensibilidad a los cambios en la carga o en la composición de los efluentes.

La inversión que suponen las plantas de tratamiento de efluentes de una industria cervecera es elevada; así, por ejemplo, un equipo de digestión anaeróbica, para una fábrica con una producción de un Mhl por año, es del orden de 0,5 millones de libras esterlinas (unos 100 millones de pesetas). Estos procesos rinden además un agua que requiere posteriores tratamientos para cumplir las especificaciones exigidas para su vertido a los cursos fluviales. Por todo ello, muchas fábricas dependen de la administración local y los servicios públicos, en lo que a tratamiento de efluentes se refiere.

Producción del mosto dulce

Recepción del grano

La mayor parte de las grandes fábricas de cerveza reciben la malta y los sucedáneos sólidos en envíos voluminosos efectuados por ferrocarril o transportados por carretera. Generalmente se elevan antes de ser pesados y cribados, a través los separadores magnéticos y volver a ser pesados (Fig. 5.1). Así se limpia de polvo y se eliminan objetos extraños y cualquier resto metálico que pudieran dar lugar a la producción de chispas al tropezar con los componentes del equipo. La materia prima se almacena en silos o depósitos, generalmente de acero inoxidable, o de hormigón, con paredes lisas y fondo cónico. En los silos se mantiene a temperatura constante, unos 10-15 °C, y a una humedad reducida. Esto dificulta el desarrollo de colonias de insectos. El contenido en agua de la malta se halla en torno al 2-5 %, en tanto que el de la harina de trigo o los copos de maíz se encuentra alrededor del 10-12 %. Aún en estas condiciones, se pueden desarrollar algunos insectos, como ciertos gorgojos y escarabajos del grano cuyo metabolismo genera agua, dióxido de carbono y calor; el agua y el calor producido facilitan su propio desarrollo. Se intenta detectar su presencia colocando termosensores muy sensibles en el interior del silo. El movimiento de la materia prima a través del equipo de cribado tiende a igualar la temperatura, pero no elimina la contaminación. En ocasiones resulta necesaria la desinfestación química tanto de los silos vacíos como del equipo de manipulación del grano.

Otro riesgo en el manejo del grano es el constituido por el polvo formado. Puede aspirarse por medio de ciclones de aire y retenerse en filtros adecuados. El polvo de los cereales puede provocar graves daños a las mucosas de los operarios y ofrece riesgo de explosión. En la zona de manejo del grano, ni los equipos mecánicos, ni los eléctricos pueden producir chispas.

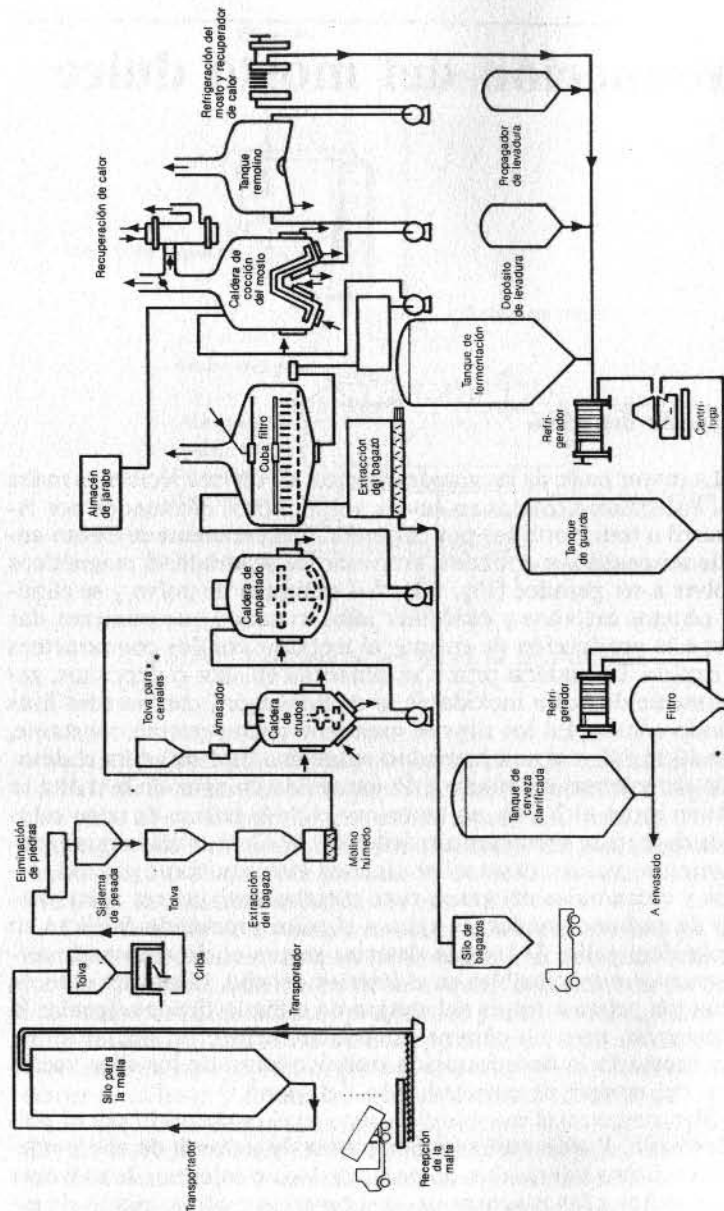


Fig. 5.1 Diagrama de flujo de una fábrica de cerveza mostrando el equipo para la recepción del grano, la producción de mosto, fermentación y la postfermentación.

Molienda

La molienda tiene por objeto triturar la malta. Es necesario que la cascarilla permanezca tan entera como sea posible y que, en cambio, el endospermo se muele hasta un tamaño de partícula que permita la fácil liberación del extracto. Si se desintegra mucho, la cascarilla no puede formar un filtro suficientemente eficaz y permeable durante la recuperación del mosto a partir de la masa. Por otra parte la cascarilla rota libera más sustancias tánicas de las deseables. En cuanto a la trituración del endospermo, es preciso que las partículas del mismo se hidraten bien y liberen fácilmente sus enzimas y otros constituyentes celulares para que puedan degradarse rápidamente. Desde este punto de vista, serían ideales partículas de tamaño muy reducido, pero éstas tienden a empaquetarse demasiado apretadamente y a formar un lecho impermeable, que libera muy lenta e incompletamente el mosto. La finura de la molienda depende, por ello, del tipo del equipo utilizado para la recuperación del mosto; si el lecho es profundo requiere, en general, partículas más groseras que si tiene poca altura.

En las fábricas de cerveza son frecuentes tanto los molinos secos como los húmedos. Los secos son de dos tipos principales, aunque ambos sean de rodillos. Si la malta está bien desagregada puede bastar con molinos de cilindros más simples, constituidos por dos pares de cilindros que giran en sentido contrario (Fig. 5.2). Las maltas menos desagregadas se caracterizan por tener extremos más duros y necesitan molinos de seis rodillos, capaces de separar los extremos duros de la cascarilla (Fig. 5.3). Las fábricas de gran tamaño suelen elegir molinos de 6 rodillos, en virtud de su mayor flexibilidad, aunque nunca utilicen malta con extremos duros.

Los molinos de rodillos producen partículas de endospermo de diferentes tamaños, desde sémolas gruesas de 0,3-0,6 mm de diámetro y finas de 0,15 a 0,3 mm, hasta harinas con partículas de menos de 0,15 mm. Es posible ajustar la distancia entre los cilindros para asegurar una proporción determinada de sémolas, o para obtener más o menos harina. En general, las relaciones sémolas gruesas/sémolas finas/harina oscilan entre 27: 35: 38 y 24: 35: 41.

Algunas factorías rocían la malta con agua, o la someten a la acción del vapor, inmediatamente antes de que entre en el molino. Este tratamiento flexibiliza la cascarilla y la hace más resistente a la trituración. Un tratamiento más severo, de naturaleza similar, consiste en humedecer el molino en el que la malta se remoja, hasta elevar su humedad a un 28-30 %, antes de que los rodillos trituren los granos. El remojado no debe durar más de 30 min y de ordinario tiene lugar en 5-10 min. El producto de la molienda húmeda es una papilla de cascarilla y partículas de endospermo que es bom-

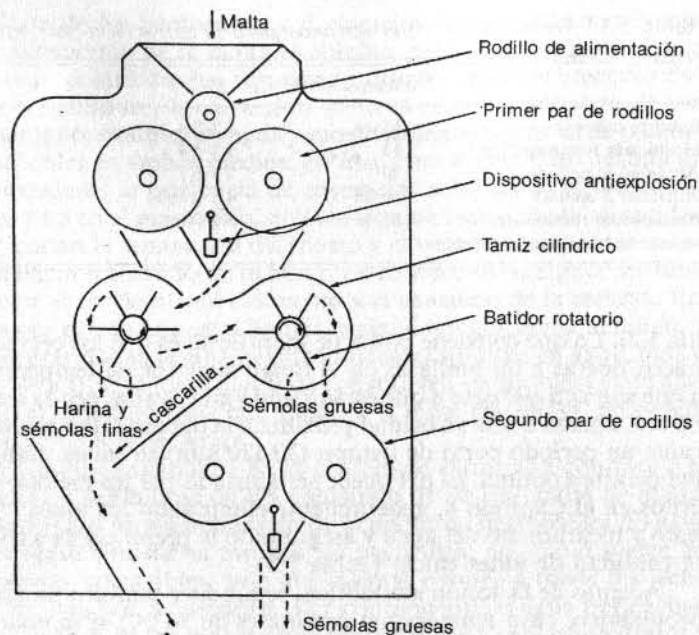


Fig. 5.2 Molino de cuatro rodillos con tamices.

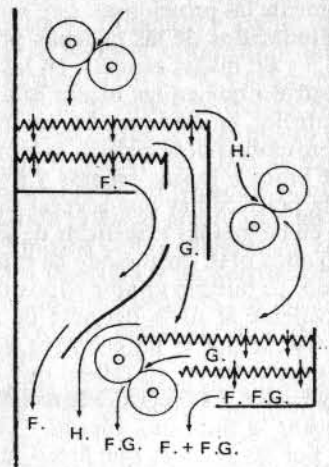


Fig. 5.3 Molino de seis pares de rodillos con cedazos. H cascarilla; G sémolas; CG sémolas gruesas; FG sémolas finas; F harina.

beada o vertida a un amasador. En contraste con esto, el producto de la molienda en seco puede almacenarse durante varias horas antes de su hidratación en el curso del amasado. Junto a la malta, suelen pasar por el molino, si opera en seco, algunos sucedáneos sólidos, como copos de maíz y harina de trigo. Otros, en cambio, se muelen aparte, como sémolas de maíz, de ordinario en rodillos de 2 ó 4 cilindros.

En las fábricas tradicionales, los molinos se montaban en la parte más alta del edificio, para que el producto de la molienda pasara directamente, por gravedad, a los recipientes en que se almacenaban los triturados (molienda en seco), o al equipo de extracción. Hoy pueden montarse a nivel del suelo, en cuyo caso los productos de la molienda se transportan neumática o mecánicamente.

Extracción por infusión

El equipo tradicional de amasado, o braceado, para la producción de «ale» es la cuba de mezcla, también denominada caldera de braceado, o empastado. Las sémolas o harina de malta pasan del depósito en que se almacenan a la llamada caldera de Steel (Fig. 5.4) que es un hidratador con un tubo de gran calibre (unos 46 cm de diámetro) doblado en ángulo recto. La harina se humedece mediante aspersión de agua caliente $[2,7 \text{ hl } (100 \text{ kg})^{-1}]$ en la primera porción vertical del tubo y se mezcla, por medio de un tornillo sin

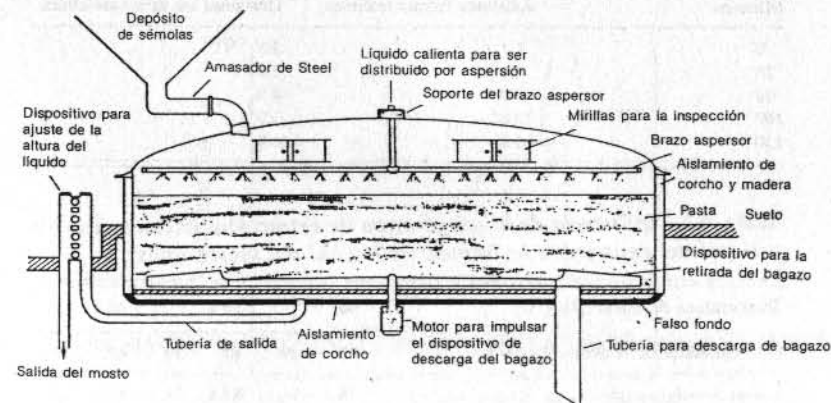


Fig. 5.4 Sección vertical de una caldera de extracción por infusión provista de un amasador de Steel.

fin, en la porción horizontal del mismo, de manera que lo que vierte a la caldera de empastado no es sino una papilla espesa algo aireada. La temperatura de la masa en esta etapa resulta crítica siendo muy difícil modificarla sin diluirla con mucha agua. La temperatura más adecuada para esta etapa es de 62-67 °C y se opera de ordinario a 65 °C; para lograrla se suele utilizar agua 4-5 °C más caliente.

Antes de que la papilla o «maisch» caiga a la caldera, el recipiente se calienta y se rellena parcialmente con agua, hasta una altura ligeramente por encima de las placas filtrantes. Como retiene aire tiende a flotar. A medida que las partículas de endospermo se van hidratando los enzimas renuevan su ataque a las reservas nutritivas de la malta, parcialmente degradada y altamente vulnerable. Las amilasas α y β actúan coordinadamente, degradando la amilosa y la amilopectina para liberar azúcares fermentescibles y dextrinas no fermentescibles (Tabla 5.1). La Tabla 5.3 muestra que la α amilasa es más termotable que la β , de modo que las temperaturas más elevadas, por ejemplo 67 °C, favorecen la acción de la primera; del mismo modo, un pH de 5,7 es más favorable a la amilasa α y uno de 4,7 a la β . En la práctica, se adopta una solución de compromiso para facilitar la acción de ambas enzimas, pero los cerveceros pueden controlar la fermentescibilidad del mosto que producen, facilitando la acción a la amilasa β si quieren que sea alta (Ta-

Tabla 5.1 Producción de carbohidratos solubles [g (100 ml)⁻¹] por las amilasas α y β durante la extracción

Minutos	Azúcares fermentescibles	Dextrinas no fermentescibles
0	1.1	3.5
25	4.0	2.8
50	6.9	4.3
100	10.8	3.7
150	11.2	4.0

Tabla 5.2 Influencia de la temperatura de extracción, la concentración y el pH del agua sobre la fermentescibilidad del mosto dulce

Temperatura de extracción (°C)	60		65.6		68.3	
Concentración de la pasta [g (100 ml) ⁻¹]	67	39	67	39	67	39
Azúcar fermentescible (% de sólidos totales)	73.3	76.1	67.4	71.2	64.4	65.0
Dextrinas no fermentescibles (% de sólidos totales)	17.5	15.5	24.2	21.2	27.6	26.2
pH del agua de extracción	4.0		4.5		5.5	
Azúcar fermentescible [g (100 ml) ⁻¹]	8.9		8.3		8.4	

Tabla 5.3 Temperatura y pH óptimos para la extracción por infusión

	Temperatura (°C)	pH
Extracto máximo	65-68	5.2-5.4
Mosto más fermentescible	65	5.3-5.4
Actividad α amilasa	70	5.3-5.7
Actividad β amilasa	60-65	4.6 (pasta)
Rendimiento máximo en sustancias nitrogenadas solubles	50-55	5.0 (mosto)

bla 5.2). Lo que conviene poner de manifiesto es que los cerveceros hacen operar a las amilasas en el rango superior de temperaturas a que son activas; pese a que están siendo inactivadas por la temperatura, operan a una velocidad próxima a la máxima. Por tanto, durante un período corto de tiempo (30-120 min) se encuentran a su temperatura óptima. El pH puede ser ajustado por los métodos descritos en el Capítulo 4, generalmente eliminando los iones carbonato y bicarbonato del agua y asegurando la presencia de suficiente cantidad de iones calcio (Tabla 5.3).

Además de la acción amilolítica, se produce también un ataque proteolítico, cuya temperatura óptima es de 50 °C; si la malta ha sido bien desagregada, ya ha habido una degradación proteolítica considerable durante el malteado; durante la extracción, se complementa considerablemente esta degradación proteica, incluso a 65 °C. En esta etapa, actúan principalmente las proteinasas, que son exoenzimas y escinden restos de aminoácidos de las cadenas proteicas; operan mejor entre pH 5,3 y 5,7 y en masas espesas, en las que están mejor protegidas por el sustrato que en las masas diluidas. El cervecero puede, por tanto, controlar, en cierto grado, también este proceso. Si quiere acentuar la proteólisis debe reducir la temperatura y utilizar pHs relativamente bajos y masas espesas y prolongar los tiempos de extracción. En la práctica hay que aceptar una solución de compromiso, teniendo en cuenta las exigencias de temperatura altas, masas poco espesas o altos pHs, del método de extracción.

En las calderas de extracción, se pueden añadir copos o harina de cereales en cantidades equivalente al 10 % del peso de los productos de la molienda de la malta; lo que es necesario es que el almidón de estos sucedáneos se encuentre en un estado que permita su ataque por las amilasas de la malta. Es preciso además que haya suficientes amilasas para asegurar la hidrólisis rápida y eficaz de todo el almidón. El cervecero, por las razones que luego se expondrán, no tiene interés alguno en degradar las proteínas de estos coadyuvantes, lo que debe asegurar es el ataque y degradación del almidón.

Parte de los pentosanos y β glucanos de las paredes celulares del endospermo de la malta es soluble, pero la mayoría no. Los β glucanos, a medida que van siendo progresivamente atacados durante el malteado y la extracción, generan primero polímeros de menor tamaño, solubles en agua y mosto caliente, y más tarde polímeros solubles en ambos medios, en frío. Para el cervecero, resulta un inconveniente la existencia de sustancias solubles en el mosto caliente y no en el mosto frío, no sólo porque aumentan la viscosidad y dificultan la separación del mosto y el bagazo sino porque se insolubilizan formando un material gelatinoso, en cualquier momento entre el enfriamiento del mosto y el consumo de la cerveza. Resulta por ello fundamental limitar la actividad glucanasa al mínimo, o asegurar que su acción brinde moléculas solubles en agua, mosto y cerveza fría. Si los β glucanos constituyen un problema considerable, el cervecero tiene que añadir a la masa glucanasa, procedente de hongos o bacterias.

El ataque enzimático en la caldera de extracción conduce a la progresiva solubilización del contenido de las partículas de malta, dejando sólo un pequeño resto de materias no degradables. El agua de la masa situada en torno a las partículas, no sólo disuelve las sustancias extractibles, sino que además permea a través del lecho y es filtrada por la cascarilla. Por consiguiente, el agua por encima y por debajo de las placas se va enriqueciendo en carbohidratos y sustancias nitrogenadas solubles. Se ha convertido así en mosto dulce que puede drenarse de la caldera de extracción, ordinariamente con una densidad de 1.060 y 1.100 (mosto denso). Al objeto de mantener la masa en flotación y lograr una extracción completa y satisfactoria, se necesita suministrar agua por aspersión o aspiración. Se utiliza agua a 68-72 °C y se incorpora a una velocidad que debe compensar la de salida de mosto; por eso, las aguas de lavado que van siendo retiradas son un mosto cada vez mas débil; cuando alcanza una densidad de 1.005 se deja de añadir agua.

Para mantener en flotación la masa, hay que evitar una succión hidrostática intensa, por lo que las tuberías a través de las que se retira el mosto de las calderas de extracción están provistas de un tubo en u invertida y un destructor de acción sifónica. La caldera de extracción está provista también de un dispositivo para la retirada del producto agotado (bagazo); un motor eléctrico de considerable potencia impulsa un émbolo que arrastra el bagazo a través de orificios de descarga practicados en el ensamblaje de las placas filtrantes. Los productos agotados suelen ser desplazados por aire comprimido a través de tuberías de gran tamaño, hasta recipientes que permitan cargar su contenido en los remolques utilizados por los granjeros.

Extracción por decocción

El sistema descrito, es un método simple, en cuanto que utiliza sólo una caldera y mantiene virtualmente constante la temperatura de la masa, pero complejo, en cuanto que hace uso, en un solo recipiente, de numerosas operaciones básicas, químicas y bioquímicas. Hay otros sistemas de obtener el mosto que implican el uso de varias calderas para la extracción y la recuperación del mosto.

Tradicionalmente, la industria cervecera alemana se veía obligada a hacer frente a una malta poco «desagregada»; aunque la malta que hoy se usa está satisfactoriamente «desagregada», el sistema antes empleado ha sufrido sólo cambios de detalle, porque alteraciones sustanciales podrían dar origen a modificaciones inaceptables en los mostos y las cervezas así elaboradas. El principio del sistema ordinariamente empleado en Alemania consiste en extraer la sémola o harina a una temperatura baja, por ejemplo a 40 °C, retirar un cuarto de la papilla o «maisich» y hervirla en una caldera. La parte sometida a ebullición se mezcla luego con el resto, lo que provoca un incremento gradual de la temperatura, posiblemente hasta 54 °C. El proceso se puede repetir elevándose la temperatura a 65 °C. Una cocción final permitirá a la «maisich» alcanzar una temperatura de 75 °C (Fig. 5.5). Esta secuencia de temperaturas permite que, en distintos momentos, reñen condiciones óptimas para la proteólisis (40-54 °C), para la hidrólisis del almidón (54-65 °C) y finalmente (73 °C) para la separación del mosto. El sistema ha evolucionado tendiendo a reducir el número de coccio-

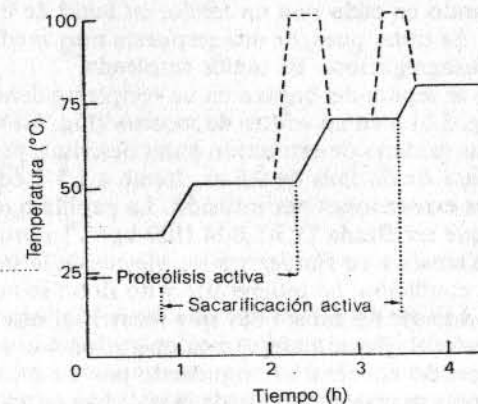


Fig. 5.5 Cambios térmicos durante la extracción por decocción.

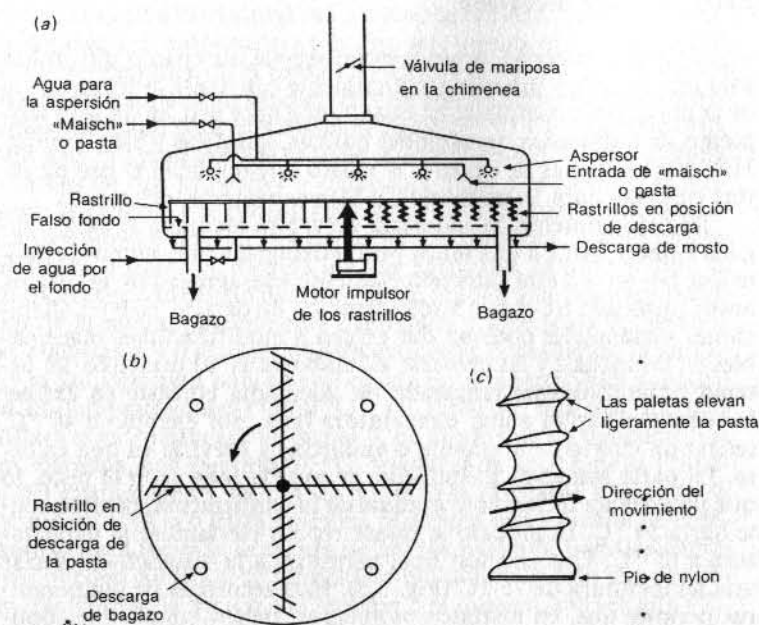


Fig. 5.6 (a) Sección vertical de una cuba filtro, (b) vista desde arriba de la posición de los rastrillos para la retirada del grano, (c) detalle de un rastrillo.

nes a una o dos, utilizando temperaturas iniciales de extracción más altas y retirando en cada una un tercio, en lugar de un cuarto, de la «mais». Se trata, pues, de una respuesta muy medida al mayor grado de «desagregación» de malta empleada.

El mosto se separa del bagazo en un recipiente denominado cuba filtro (Fig. 5.6) o en un «filtro de mosto» (Fig. 5.7). La primera se parece a las calderas de extracción antes descritas, pero opera con lechos de masa de no más de 0,5 m, frente a 1,5-2 con los que se trabaja en las extracciones por infusión. La papilla o «mais» tiene además que ser fluida $[3,3-5,0 \text{ hl } (100 \text{ kg})^{-1}]$ porque ha de ser bombeada. Debido a su fluidez y a los efectos de la impulsión por bombas y la ebullición, no retiene aire y no flota; se hunde. Y para estimular el drenaje del mosto hay que recurrir al rascado. Las paletas encargadas de llevar a efecto esta operación van montadas sobre un eje vertical concéntrico impulsado por un motor eléctrico; pueden cambiar su orientación desde la posición de corte a otra que forma un ángulo de 90° , en orden a su utilización para la retirada de la malta agotada (bagazo), y aunque a veces la aspersión es con-

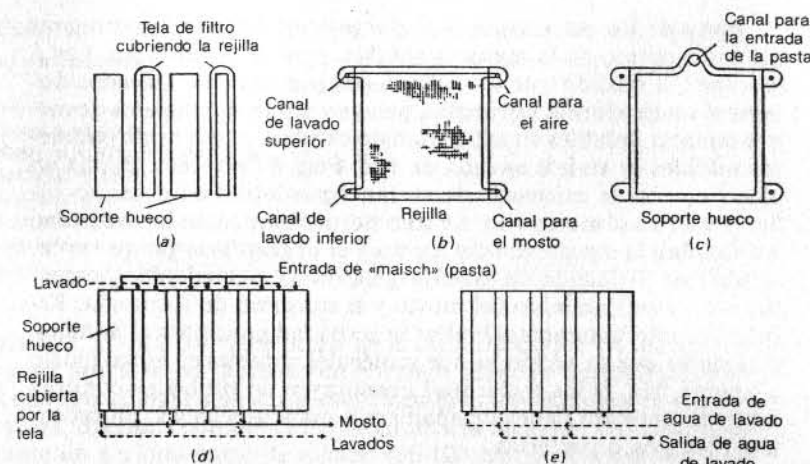


Fig. 5.7 Detalles de un filtro para mosto. (a) Diagrama de una sección vertical, (b) alzado de una placa, (c) alzado de un bastidor, (d) operaciones iniciales en el uso de un filtro, (e) etapas posteriores.

tinua frecuentemente se efectúa sólo en los momentos en que se detienen las paletas de rascado.

Los filtros de mosto ocupan menos espacio que las cubas filtro y pueden trabajar con malta más finamente molida. En los últimos años han recuperado popularidad debido al uso de mecanismos automáticos de apertura y cierre de los pesados bastidores de hierro colado en que se sitúan los filtros y a la existencia de capas filtrantes de polipropileno de fácil limpieza. En la Tabla 5.4 se comparan las calderas de extracción, las cubas filtro y los filtros de mosto.

Tabla 5.4 Comparación de la caldera de empastado, infusión, braseado o extracción, las cubas filtro y los filtros de mosto

	Caldera de infusión	Cuba filtro	Filtro de mosto
Características generales	Extracción y recuperación en un solo depósito	Sólo para la recuperación del mosto	Sólo para la recuperación del mosto
Tiempo (h)	4-6	3	1,5-2,5
Tipo de molienda	Más bien grosera	Media	Fina
Espacio ocupado	Moderado	Moderado	Escaso
Simplicidad mecánica	Muy simple	Moderada	Compleja
Claridad del mosto	Buena	Moderada	Escasa

Doble extracción

Las maltas americanas suelen estar bien «desagregadas» y poseer una elevada dotación enzimática y un alto contenido en otras sustancias nitrogenadas. Por ello, los cerveceros suelen utilizar cantidades considerables de cereales, para aprovechar plenamente su gran actividad enzimática y diluir la elevada concentración de sustancias nitrogenadas, que plantean problemas. Suelen utilizarse, a tal fin, sémolas de maíz o arroz, que requieren ser tratadas térmicamente para que sus granos de almidón puedan ser fácilmente atacados por las amilasas. El sistema americano denominado de doble extracción utiliza «calderas de crudos», para la cocción de los cereales, junto con un poco de malta. La temperatura se eleva primero a 65 °C; los enzimas de la malta reducen la viscosidad de la pasta de almidón antes de que la mezcla se someta a ebullición. Durante este proceso, la porción principal de la malta (la que no se ha añadido a la sémola de cereales) se calienta primero a 45 °C, con lo que se facilita la actividad proteolítica y, en menor cuantía la amilolítica; luego, cuando se mezcla con ella el contenido de la «caldera de crudos», la temperatura asciende a valores en torno a 67 °C (Fig. 5.8), lo que facilita la degradación rápida, tanto del almidón de los cereales, como del de la malta; más tarde, la temperatura se eleva 72 °C, para reducir la viscosidad, y se bombea a una cuba filtro o a un filtro de mosto, donde mosto y bagazo se separan.

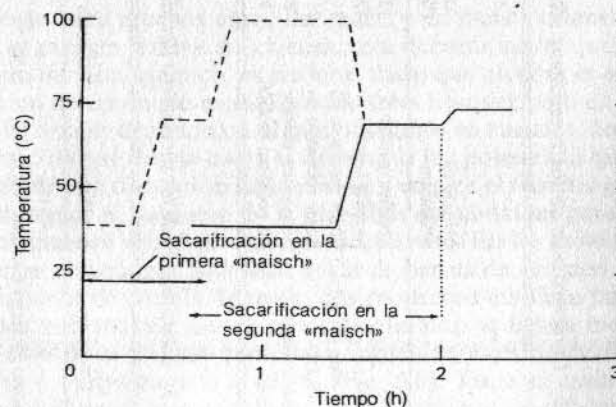


Fig. 5.8 Representación gráfica de los cambios de temperatura durante una operación típica del procedimiento de doble extracción. La línea discontinua hace referencia a la caldera de crudos y la continua a la de extracción de la malta.

Programación de temperatura

La mayor parte de las industrias cerveceras del mundo utilizan el sistema de doble extracción, pero algunas lo terminan elevando la temperatura de 67 a 72 °C en una sola deccoción. Otras usan, sin embargo, lo que se denomina programación de temperatura; entre éstas se cuentan algunas de las más grandes de la Gran Bretaña. Se mezcla en una caldera la malta triturada y agua consiguiendo una temperatura inicial de 45-55 °C y, mediante serpentines colocados en la base o en las paredes de la caldera, se eleva la temperatura de la pasta o «maisch», de acuerdo con un programa predeterminado, linealmente o a saltos. Así se facilita la actividad proteolítica y la degradación del almidón, antes de transferir la pasta a una cuba filtro o a un filtro de mosto, a unos 72 °C. En la Tabla 5.5

Tabla 5.5 Comparación entre las técnicas de infusión, decocción doble extracción y programación de temperatura

	Infusión	Decocción	Doble extracción	Programación de temperatura
Materia prima normalmente extraída	Toda la malta (bien desagregada)	Toda la malta (menos desagregada)	Toda la malta (muy desagregada)	Toda la malta (poco desagregada)
Empleo de sucedáneos	Habitualmente, como máx. 10 %	Generalmente nada, como máximo 10 %	30-50 %	30-50 % si la malta está bien desagregada
Ebullición de la pasta de malta	No	Si	No	No
Proteólisis en el intervalo 40-50 °C	No	Si	No	Si
Número de calderas habit. necesarias	1	3-4	3	2-3
Número máximo de operaciones por día y equipo material	5	8	12-14	12-14

se comparan los cuatro métodos de extracción de mosto descritos; las principales diferencias se refieren a las materias primas utilizadas y al sistema de calentamiento empleado para la obtención del tipo de mosto que el cervecero necesita. Los fundamentos bioquímicos son los mismos en todos ellos.

Sucedáneos sólidos

El empleo de sucedáneos cereales en la industria cervecera responde a varias razones. Suelen constituir una fuente de extracto más barata que la malta, pero es preciso que ésta contenga enzimas suficientes para degradar los cereales añadidos. Si la malta suministra una cantidad excesiva de sustancias nitrogenadas, el uso de estos sucedáneos (que casi siempre poseen muy pocas sustancias nitrogenadas) reduce su concentración final en el mosto. Un exceso de sustancias nitrogenadas de elevado peso molecular conduce a cervezas proclives al desarrollo de turbidez después del envasado. Si el contenido en aminoácidos excede de las necesidades de la levadura durante el proceso de fermentación, se facilita la infección con bacterias ácido-lácticas. Para una correcta elaboración de cerveza, es conveniente, por tanto, conocer las necesidades aminoacídicas de las levaduras durante el proceso fermentativo.

Son numerosos los sucedáneos que, fermentados con la malta, dan cervezas que resultan más refrescantes y sacian menos, lo que reviste particular importancia en el caso de las «lager» más delicadas. Los sucedáneos pueden también mejorar la estabilidad del aroma de la cerveza ya envasada y prolongar, por tanto, su vida útil. Muchos de ellos rebajan el color final de la cerveza, pero algunos lo elevan.

Los sucedáneos más corrientemente usados son las sémolas de maíz y arroz (Tabla 5.6). Los granos de estos cereales se lavan, se ablandan al vapor y se someten a tratamientos abrasivos para descascarillarlos y eliminar el embrión y la aleurona. El resto, el endospermo, se muele luego para obtener partículas del tamaño adecuado, ricas en almidón y con mucha menos grasa y proteína que el grano entero. En menor extensión, también se utiliza como sucedáneo la sémola de sorgo. Como antes se ha dicho, las sémolas de cereales se cuecen en una caldera adecuada, generalmente con un poco de malta, que puede ser sustituida por un enzima industrial (α amilasa bacteriana), para reducir la viscosidad de la papilla de almidón.

Los copos de cereales se producen a partir de las sémolas, calentando con microondas, haciéndolas pasar luego a la sémola calentada por rodillos apropiados y enfriando finalmente el producto. El calentamiento produce la gelatinización del almidón y lo hace vulnerable a las amilasas, sin necesidad de someterlo a cocción. Por ello, pueden emplearse tanto en los métodos de infusión como en los de extracción con programación de temperatura.

También se utilizan como sucedáneos granos de cereales enteros. Para la elaboración de «stout» se utiliza cebada tostada. Genera extractos muy coloreados, a causa de la melanoidina producida

Tabla 5.6 Características de los sucedáneos sólidos utilizados en la extracción o braceado

	Método de utilización	Agua (%)	Extracto (% peso seco)	Proteína (% peso seco)	Lípidos (% peso seco)	Temperatura de gelatinización (°C)
Maíz molido	Necesita cocción	12	90	9.5	0.9	62-74
Arroz molido	Necesita cocción	12	92	7.5	0.6	61-78
Almidón de maíz refinado	Puede cocerse, o no	11	103	0.5	0.05	62-74
Harina de trigo	Puede cocerse, o no	11	86	8.5	0.76	58-64
Cebada torrefactada	No necesita cocción	6	72	14.5	1.6	-
Copos de maíz	No necesitan cocción	9	83	9.5	0.9	-

Tabla 5.7 Composición de los sucedáneos líquidos utilizados en la producción de mosto (en tanto por ciento de materia seca)

	Extracto	Glucosa	Fructosa	Sacarosa	Maltosa + maltotriosa	Azúcares no fermentescibles
Sacarosa	102	0	0	100	0	0
Azúcar invertido (glucosa + fructosa)	84	50	50	0	0	0
Jarabe de maíz rico en glucosa	82	43	0	0	37	20
Jarabe de maíz rico en maltosa	82	3	0	0	72	25

polimixa. Un sustituto adecuado para el enzima desramificador fúngico es, a su vez, la pululanasa de la bacteria *Klebsiella aerógenes*.

La tecnología del almidón ha producido recientemente otro jarabe de notable interés en tecnología de los alimentos, pero no en la industria cervecera, que se obtiene a partir del jarabe rico en glucosa antes mencionado, que, tras su purificación, se pasa a través de un reactor constituido por una columna empaquetada con un enzima inmovilizado, denominado cetolisomerasa, que convierte un poco más del 40 % de la glucosa en fructosa. Este proceso tiene tres aspectos fascinantes; el enzima inmovilizado se prepara destruyendo por calentamiento, una bacteria de la que forma parte (es intracelular). El enzima, permanece activo y unido a las células; de manera que la columna con lo que se rellena es con células muertas que contienen un enzima activo. La función que el enzima desarrolla en el microorganismo vivo es la de convertir una pentosa en otra, por isomerización. La especificidad del enzima es amplia y actúa también sobre la glucosa a la que transforma en fructosa. Si cataliza, o no, esta isomerización, en la célula viva, es algo aún desconocido. Finalmente, en los Estados Unidos, este producto de la industria del almidón compite como edulcorante con el azúcar de remolacha y el de caña, pero, en la Comunidad Económica Europea, su uso está muy restringido por la legislación.

En la industria cervecera, los jarabes de almidón también compiten con el azúcar de remolacha y el de caña. Estos azúcares son virtualmente sacarosa pura, o sacarosa hidrolizada por ácidos, es decir, una mezcla de glucosa y fructosa. La sacarosa invertida tiende a cristalizar en jarabes de una concentración del 83 % v/v y debe, por tanto, mantenerse a una temperatura de 40-50 °C. Incidentalmente, el término inversión hace referencia al cambio, en el signo de la desviación de la rotación de la luz polarizada, que se produce cuando la sacarosa, que es dextrógira, se hidroliza. Aunque la glucosa producto (sinónimo dextrosa) es también dextrógira, el otro producto de la reacción, la fructosa, es fuertemente levógira. Por eso, en el curso de la reacción de hidrólisis, la rotación de la luz polarizada va desplazándose progresivamente hacia la izquierda.

Los jarabes se suelen almacenar a 50 °C, al objeto de disminuir su viscosidad y de que sean más fácilmente desplazables por las bombas impulsoras. Se añaden en la caldera de cocción del mosto, o en los procesos postfermentativos. Como la extracción ya ha sido efectuada por los fabricantes del jarabe, el cervecero no tiene más que mezclar estos materiales con el mosto. En este sentido, pueden usarse también para incrementar la concentración del mosto en la caldera de cocción, permitiendo así lo que se denominan elaboraciones de alta densidad, descritas más adelante.

La fermentescibilidad de los jarabes es variable; la de los basados en el almidón es habitualmente inferior al 100 %, en tanto que la de los basados en la sacarosa suele ser total. Algunas cepas de levadura presentan, sin embargo, dificultades para fermentar mostos con una elevada proporción de glucosa. La glucosa es completamente fermentada por la levadura, pero la fermentación de la maltosa y la maltotriosa resulta luego insatisfactoria. Por esta razón, algunos fabricantes prefieren utilizar jarabes ricos en maltosa, en lugar de jarabes ricos en glucosa.

Calentado en un digestor cerrado sacarosa, azúcar invertido o glucosa, con un catalizador (generalmente una sal de amonio) se obtiene caramelo. Se trata de una mezcla de azúcar quemado y melanoidinas. Algunos cerveceros recurren al caramelo para dar más color a sus mostos, en la caldera de cocción o en una etapa posterior del proceso de elaboración de cerveza, en lugar de extraer cebada o malta tostadas. En la industria cervecera no se utilizan colorantes, aunque en la Gran Bretaña está autorizado su uso para oscurecer la sidra y otras bebidas.

Elaboraciones de alta densidad

Al fabricante le resulta muy rentable obtener mosto de densidad superior a la que necesita, fermentarlo y diluir, al final del proceso, la cerveza con agua. Aumentar 5 °C la temperatura de una tonelada de mosto requiere prácticamente el mismo consumo energético si su densidad es 1.030, que si es 1.050 ó 1.070. Del mismo modo, enfriarla 85 °C supone retirar prácticamente la misma cantidad de calor sea cual sea su densidad. Es más, para obtener un Mhl de cerveza de densidad 1.040, el fabricante puede elaborar 0,5 Mhl de densidad 1.080 y añadir agua, lo que le permite utilizar cubas o calderas de extracción del mosto y tanques de fermentación de menor tamaño.

En la práctica, se utilizan dos métodos de elaboración de alta densidad. El primero consiste en añadir jarabe para aumentar el extracto, y por tanto la densidad, en la caldera de cocción, lo que exige tanques de almacenamiento de jarabes calientes, bombas y tuberías adicionales. El segundo supone reunir todos los mostos de densidad inferior a 1.010 que se obtengan en las calderas de extracción, cubas filtro y filtros de mosto, en un tanque especial y utilizar este mosto diluido para sustituir al agua en la extracción. Al no mezclar con el mosto denso los mostos diluidos y sustituir con estos el agua de extracción, se consigue aumentar considerablemente la concentración.



Estos métodos presentan, desde luego, algunos inconvenientes. Cualquier pérdida de mosto o cerveza, debida a un mal drenaje o al arrastre de mosto por el bagazo, resulta notablemente más seria que en las fabricaciones normales. Por otra parte, las sustancias amargas del lúpulo se utilizan peor en los mostos de alta densidad. Al fermentar estos mostos de alta densidad, las levaduras pueden dar origen a un aroma distinto. Finalmente, no es fácil mezclar agua y cerveza de un modo continuo para obtener la mezcla adecuada.

Bagazo

En la mayor parte de los países, es preciso secar el bagazo antes de utilizarlo como pienso; de lo contrario se enmohece. La desecación exige un gran consumo de energía y resulta muy cara. Aunque en las destilerías se deseca, ninguna fábrica de cerveza del Reino Unido lo hace. Aunque algunos especialistas en alimentación animal compran el bagazo de las fábricas de cerveza y la secan antes de mezclarlo con otros componentes de los piensos, la mayor parte de las fábricas británicas venden sus bagazos directamente a los granjeros. También son utilizados por las propias fábricas como filtro de las papillas efluentes, con lo que aumentan el contenido en nitrógeno del grano agotado y reducen los costos de tratamiento de efluentes.

Por cada 100 unidades de peso de malta, se vienen a obtener unas 60 unidades de bagazo húmedo, que si se seca se transforman en 15 unidades; 5 unidades en peso de bagazo húmedo equivalen a 1 de cebada. La proteína, la grasa y la hemicelulosa son rápidamente degradadas por los microorganismos presentes en el tubo digestivo de los rumiantes. La Tabla 5.8 muestra la composición y valor nutritivo del bagazo fresco.

Tabla 5.8 Composición de los granos de malta extraídos (bagazo) y digestibilidad de los mismos por las ovejas

	Media	Intervalo
Materia seca (%)	26.3	24.4-30.0
Proteína bruta (% de peso seco)	23.4	18.4-26.2
Proteína digestible (% de peso seco)	18.5	13.9-21.3
Fibra bruta (% de peso seco)	17.6	15.5-20.4
Fibra digestible (% de peso seco)	7.9	6.6-10.2
Cenizas totales (% de peso seco)	4.1	3.6-4.5
Lípidos (% de peso seco)	7.7	6.1-9.9
Almidón (% de peso seco)	11.6	-

También se ha intentado utilizarlo en alimentación humana, pero con escaso éxito. Se ha sugerido comprimirlo para formar láminas que podrían utilizarse en la construcción de gallineros comestibles. Una posibilidad más es la de proceder a la degradación de los carbohidratos no extraídos, mediante enzimas industriales, para obtener hexosas y pentosas que permitirían el desarrollo y la producción de biomasa por levaduras como *Candida utilis*.

El lúpulo y la ebullición del mosto

Cultivo del lúpulo

El lúpulo pertenece a la familia de las cannabináceas, pero, a pesar de su parentesco con el *Cannabis*, el lúpulo comercial, *Humulus lupulus*, no contiene sustancias halucinógenas. Las flores femeninas se desarrollan en plantas distintas de las que producen las flores masculinas y, en la mayor parte de las plantaciones comerciales, se eliminan las plantas que producen flores masculinas; con esto, se consigue que la mayoría de los conos carezcan de semillas. Sin embargo, en la Gran Bretaña, la mayor parte de los cultivos de lúpulo tienen una planta masculina por cada 200 femeninas y casi todos los conos poseen semillas (en términos comerciales, por lúpulo sin semillas se entiende aquél en que éstas no lleguen a representar el 2 % en peso).

El lúpulo se cultiva sólo en climas templados y resiste el invierno como un rizoma (cepa); está provisto de raíces largas, que penetran profundamente en un suelo que, para explotaciones industriales, tiene que ser profundo y rico. En la primavera, comienza a echar brotes a partir de la corona de la raíz; los tallos son trepadores y se adhieren a cualquier tipo de guía; tienen pelos en forma de ganchos dirigidos hacia atrás a partir de los pedúnculos y peciolo y se enrollan en el sentido de las agujas del reloj. Los criadores de lúpulo les proporcionan soportes constituidos por postes de madera (algunos hasta de 5-7 m de altura), a los que atan alambres horizontales, generalmente en el tramo superior, hacia la mitad de los postes y en la base de los mismos. El entramado de postes y alambres se coloca paralelamente a las filas de plantas. Al lado de cada cepa se fija firmemente al suelo un gancho, del que parte una serie de hilos tutores que se renuevan cada primavera, y que se unen al alambrado de tal modo que los brotes de lúpulo puedan trepar has-

ta lo más alto del mismo, dejando, sin embargo, amplios espacios para que circulen los tractores por entre las filas de plantas. Generalmente se colocan tres cuerdas en cada gancho y el plantador dirige los brotes para facilitar que trepen por cada una de ellas. Crecen con gran rapidez en el período abril-julio (en el hemisferio Norte), hasta alcanzar la parte más alta del entramado de postes y alambres.

El crecimiento rápido y vigoroso impone grandes demandas al suelo, que exigen fertilizantes equivalentes a 90-100 kg de nitrógeno, 10-16 kg de fósforo, 60-80 kg de potasio y 80-90 kg de calcio por hectárea. El plantador necesita además esponjar la tierra, fumigar las plantas y drenar el suelo para controlar el desarrollo de diversos hongos, virus, insectos y ácaros. Para asegurar que, en el momento de proceder a su recolección, los conos florales femeninos se hallen exentos de restos de plaguicidas, es necesario limitar el uso de fungicidas e insecticidas. En la Tabla 6.1 se recoge la producción de lúpulo de los principales países productores.

Enfermedades del lúpulo

Las enfermedades más importantes del lúpulo son consecuencia de infecciones fúngicas, la verticilosis, la peronospora y el oidium. La infección de una plantación con *Verticillium albo-atrum* es tan grave que, por disposiciones emanadas del Parlamento, basta, en la Gran Bretaña, para decretar su aislamiento y es obligatorio quemar las plantas infectadas.

Algunas áreas sufren una infección endémica y en ellas sólo se pueden plantar variedades resistentes a la verticilosis. En esta enfermedad, los esporos, o el micelio, del hongo se desarrollan en el

Tabla 6.1 Países principales productores de lúpulo y producción (toneladas métricas) en 1982

República Federal Alemana	42 500
USA	35 600
Checoslovaquia	12 800
Reino Unido de la Gran Bretaña	10 300
URSS	10 000
Yugoslavia	5 900
China	4 500
Total mundial	145 000

De la información proporcionada por Lupofresh Ltd, Wimbledon, Reino Unido de la Gran Bretaña.

suelo, penetran en las raíces del lúpulo y se ramifican en el sistema vascular de toda la planta; las hojas adquieren primero aspecto atigrado y luego se caen; la base de los brotes engrosa y se marchita.

La peronospora es causada por un hongo emparentado con el causante del tizón de la patata, denominado *Pseudoperonospora humuli*. Las devastaciones que causó en las áreas originalmente productoras de lúpulo en los Estados Unidos de América, obligaron a trasladar su cultivo a cientos de kilómetros de distancia, desde el extremo oriental al occidental del continente. En los casos más severos, mata a la planta; las infecciones tardías y moderadas producen manchas oscuras en los conos de lúpulo, perjudicando notablemente su valor de mercado. El oidium (u hongo del lúpulo) es, por el contrario, una enfermedad que se da en tiempo seco y caluroso. El microorganismo responsable *Sphaerotheca humuli*, produce esporas que germinan sobre las hojas y los conos, generando un micelio gris, superficial, característico; más adelante aparecen manchas rojas, a partir de las cuales se desarrollan esporas que resisten el período invernal.

Selección del lúpulo

Los conos femeninos se desarrollan a partir de julio y están maduros y listos para su cosecha en septiembre (en el hemisferio Norte). En la Figura 6.1 se representa la estructura de un cono. Consta de un pedúnculo o tallo central, cada uno de cuyos nudos porta cuatro flores femeninas simples (bracteolas) y una bracteola estéril. Cada bracteola puede desarrollar una sola semilla, de color oscuro, si es polinizada y fertilizada. El valor comercial de los conos reside en las pequeñas glándulas doradas, casi microscópicas, dispersas por la base de las bracteolas. Estas glándulas de lupulina son ricas en resinas amargas y aceites esenciales. Las principales resinas amargas son humulonas o α ácidos.

El lúpulo comercial pertenece a cuatro grupos principales: centroeuropeo, europeo occidental, norteamericano e híbrido. Ejemplos de estos grupos son los Hallertau, Fuggles, Yakima Cluster y Northern Brewer, respectivamente. Las distintas variedades difieren en la forma, en el vigor de su desarrollo, en la producción de conos, en la riqueza en α ácidos, en la abundancia y composición de sus aceites esenciales y en la resistencia a las distintas enfermedades. En la Tabla 6.2 se detallan las características propias de algunas variedades modernas, desarrolladas en Wye College, Kent, que son híbridas de matas europeas y norteamericanas. En general, el que compra el lúpulo está interesado en aquellas variedades que (i) son particularmente ricas en α ácidos, (ii) ofrecen un aroma atractivos,

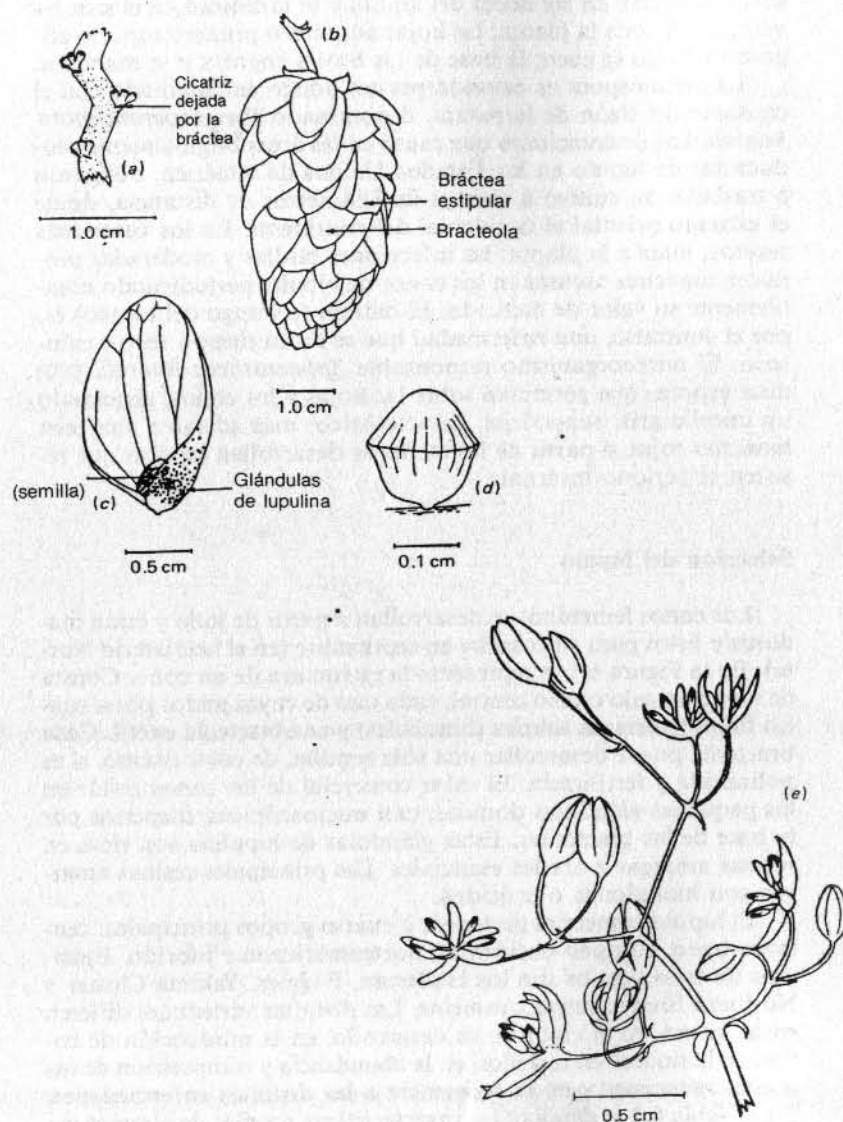


Fig. 6.1 Detalles de la inflorescencia del lúpulo. (a) Parte del axis del cono femenino, (b) cono maduro, (c) bracteola con semilla y glándula de lupulina, (d) glándula de lupulina y (e) flores masculinas del lúpulo.

Tabla 6.2 Características de algunos híbridos modernos Wye College de lúpulo desarrollados en la Gran Bretaña (referidos a 1982)

		Resistencia a las enfermedades			Rendimientos kg de α ácidos ha ⁻¹
		Oidium	Verticilosis	Peronóspora α ácidos ("")	
Target	Resistente	Susceptible	Resistente	11.5	200
Northdown	Susceptible	Algo resistente	Susceptible	8.3, 11.2 ^a	151, 182 ^a
Challenger	Susceptible	Muy resistente	Susceptible	7.7, 9.8 ^a	150, 152 ^a
Yeoman	Resistente	Algo resistente	Susceptible	11.0	190 ^b
Zenith	Susceptible	Algo resistente	Susceptible	9.0	190 ^b

^a Sin semilla.

^b Aproximación grosera.

o (iii) son adecuadas desde ambos puntos de vistas. Se les conoce como lúpulos aromáticos y de doble función. Es evidente que resulta mucho más fácil determinar el contenido en α ácidos (de determinación sencilla) que cuantificar un aroma agradable, cuya apreciación es fundamentalmente subjetiva.

La tarea de producir y seleccionar variedades de lúpulo es muy distinta de la cría y selección de cebada, y ello por muchas razones. Como quiera que hay plantas masculinas y femeninas, deben conocerse las características de las formas femeninas de las plantas y de las masculinas, productoras del polen. Por otro lado, las cepas de lúpulo rara vez producen rendimientos típicos en su primero o segundo año; resulta además muy difícil, si no imposible, trasladar las matas del hemisferio Norte al hemisferio Sur para obtener dos cosechas al año. Finalmente, conviene señalar que una cepa viene a tener una vida útil de entre 5 y 15 años.

Recolección y secado del lúpulo

El lúpulo se recolectaba a mano. La producción de lúpulo en el Reino Unido de la Gran Bretaña se concentra en el Sureste de Inglaterra, en zonas adecuadamente próximas a las conurbaciones de Londres y Birmingham y, hasta 1950, la mayor parte del lúpulo se recogía a mano, por familias urbanas que disfrutaban (o sufrían) unas vacaciones pagadas en el campo. Desde entonces, se ha sustituido este sistema, casi por completo, por la recolección mecánica

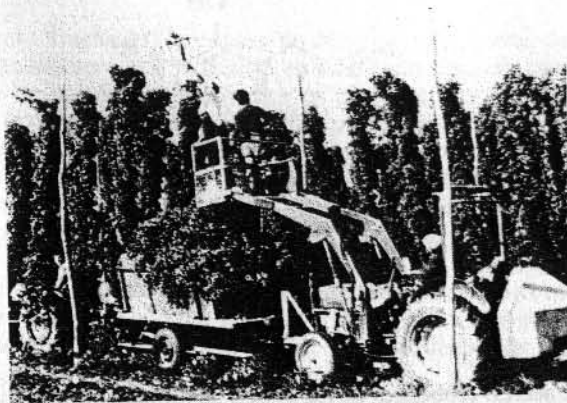


Fig. 6.2 Recogida del lúpulo en el condado de Hereford (Reino Unido de la Gran Bretaña). Los tallos se cortan en su base y en la unión a los alambres de la parte superior y se colocan en el remolque en que son transportados hasta la máquina que separa los conos.

(Fig. 6.2). Se cortan las cuerdas y tallos por la base y en los lugares donde se une al alambrado, se depositan en un remolque, arrastrado por un tractor, y se trasladan a un cobertizo, donde cada tallo se coloca en un monorraíl que lo eleva, de manera que cuelgue verticalmente, y lo traslada luego en dirección horizontal hasta un dispositivo que arranca los conos junto con las hojas. Otros componentes del equipo (cribas y chorros de aire comprimido) separan los conos de las hojas, que son más ligeras.

Los conos pasan luego al secadero, donde se secan (Fig. 6.3). El secado suele efectuarse a 60-65 °C, durante 10 horas. A lo largo de este periodo, el flujo de aire se mantiene rápido, gracias a las corrientes naturales de convección del secadero tradicional, o bajo la acción de un ventilador. No es fácil desecar uniformemente el lúpulo, porque el eje retiene tenazmente la humedad, en tanto que las brácteas y bractéolas tienden a secarse en exceso. En la práctica se deseca hasta un contenido en humedad promedio de un 7 % y se le deja luego que tome del aire un 1 %, para que las brácteas y bractéolas se tornen menos quebradizas y proclives a desprenderse. El eje, cubierto por brácteas y bractéolas, absorbe poca humedad. Luego se empa o se introduce en sacos de lúpulo tradicionales, con un peso preestablecido, generalmente 79-87 kg. Se mantienen en almacenes adecuados y se categorizan basándose en su aspecto, su aroma y su contenido en α ácidos. La determinación de α ácidos

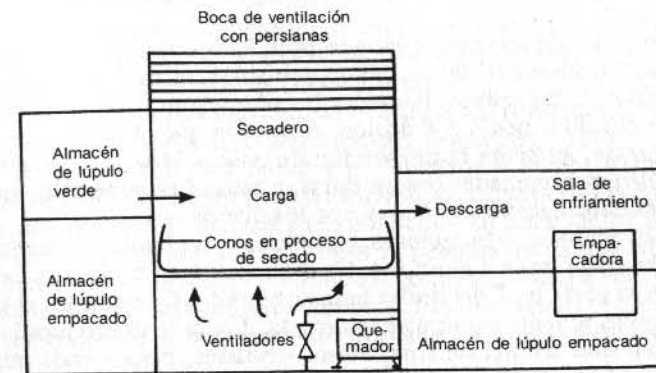


Fig. 6.3 Sección vertical de un secador de lúpulo o tostadero.

debe realizarse tan precozmente como se pueda, dado que su tasa tiende a disminuir por autooxidación. El amargor tiende a decrecer mucho más lentamente.

Química del lúpulo

En la Tabla 6.3 se recoge la composición de los lúpulos comerciales; de los datos que en ella figuran, los realmente importantes para el fabricante de cerveza son los relativos a resinas y aceites esenciales. Sin embargo, y aunque en pequeñas cantidades, durante la

Tabla 6.3 Composición de los lúpulos comerciales

Agua	10.0
Resinas totales	15.0
Aceites esenciales	0.5
Taninos	4.0
Monosacáridos	2.0
Pectina	2.0
Aminoácidos	0.1
Proteína (N $\times$ 6,25)	15.0
Lípidos y ceras	3.0
Cenizas	8.0
Celulosa, lignina, etc.	40.4
Total	100.0

elaboración de cerveza se extraen proteínas, aminoácidos y azúcares. Las resinas del lúpulo fresco son solubles en éter de petróleo (hexano). Estas resinas, llamadas blandas, están fundamentalmente constituidas por α y β ácidos. A medida que el lúpulo envejece y se oxida, aumenta la proporción de resinas insolubles en éter de petróleo, denominadas resinas duras, a causa fundamentalmente de las transformaciones sufridas por los ácidos α y β .

Los ácidos α , o humulonas, representan una familia de compuestos ilustrada en la Figura 6.4. Se diferencian en la cadena lateral unida al carbono 2 del anillo hexacarbonado. Constituyen el principal componente amargo de la cerveza. Los β ácidos, o lupulonas, forman una familia de compuestos similares, pero menos importantes. Durante la cocción del lúpulo, o sus productos, en el mosto, los α ácidos se reorganizan o se isomerizan del modo que se indica en la Figura 6.4. Los compuestos generados, iso α ácidos o isohumulonas, son mucho más amargos y mucho más solubles que los α ácidos. Los β ácidos tienden, por el contrario, a oxidarse durante la ebullición, para dar una serie de derivados amargos y no amargos (Fig. 6.5). Durante el envejecimiento, a lo largo de su almacenaje, sus α y β ácidos generan productos de oxidación, algunos de los cuales son amargos y otros no. Los cambios que tienden a producirse son (i) oxidación de las cadenas laterales, (ii) pérdida de las mismas y (iii) transformación de los anillos hexagonales en pentagonales.

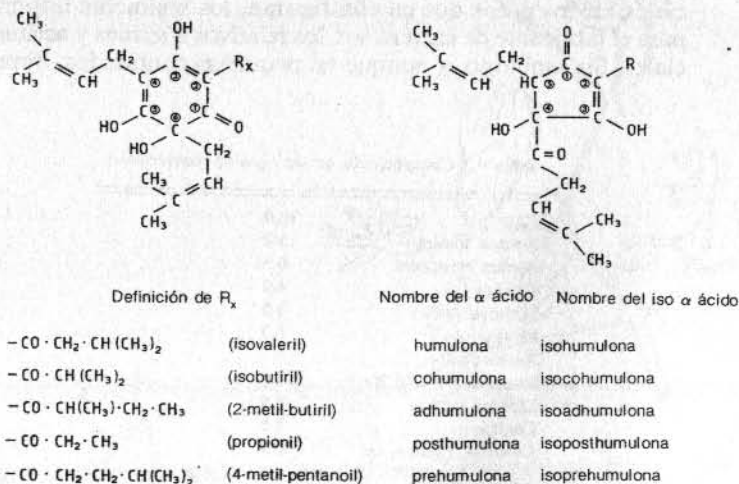


Fig. 6.4 Estructura de los ácidos α e iso α .

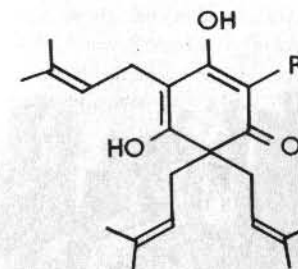


Fig. 6.5 Estructura de los β ácidos.

Los aceites esenciales de los conos de lúpulo son una mezcla compleja de varios cientos de componentes. Los solubles en hexano son hidrocarburos terpenoides (Fig. 6.6). El resto, soluble en éter etílico, son compuestos que contienen oxígeno, como ésteres, aldehídos, cetonas, ácidos y alcoholes. Algunos son extremadamente potentes, como el tiohexanoato de metilo, que tiene un umbral de percepción de 0,3 ppb. Los aceites esenciales influyen tanto en el sabor como en el aroma de la cerveza, aunque la mayor parte del aceite añadido a la cerveza durante la cocción se pierde por destilación, lo que es una suerte, porque una tasa elevada de aceites esenciales haría imbebestible la cerveza. Si el aceite mejora o empeora la calidad global de la cerveza, depende de la proporción entre sus numerosos componentes. Los aceites esenciales se oxidan y se hacen menos atractivos durante su almacenamiento; además aceleran la oxidación de las resinas.

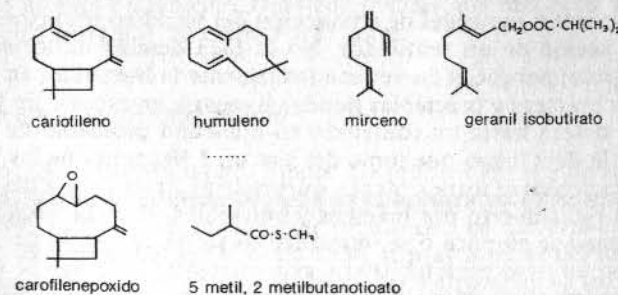


Fig. 6.6 Estructura de los aceites esenciales típicos del lúpulo.

Derivados del lúpulo

Aunque muchos fabricantes de cerveza usan conos de lúpulo, deshidratados pero por lo demás en su estado natural, una elevada cantidad de lúpulo se transforma en pastillas y extractos. La formación de pastillas es, en principio, un proceso muy simple. Supone romper los fardos o balas, mezclar diversas variedades para satisfacer las preferencias del fabricante, moler el lúpulo con martillos y moldearlo en pastillas (Fig. 6.7). Las pastillas salen en forma de cilindros de 10 mm de diámetro y 20 de longitud, de color verde oscuro y son envasadas al vacío o en atmósfera inerte; unas en tubos y otras en envases grandes de plástico o de láminas metálicas. Entre las ventajas de estos preparados se cuentan la de su buena conservación frente a la del lúpulo que se deteriora por oxida-

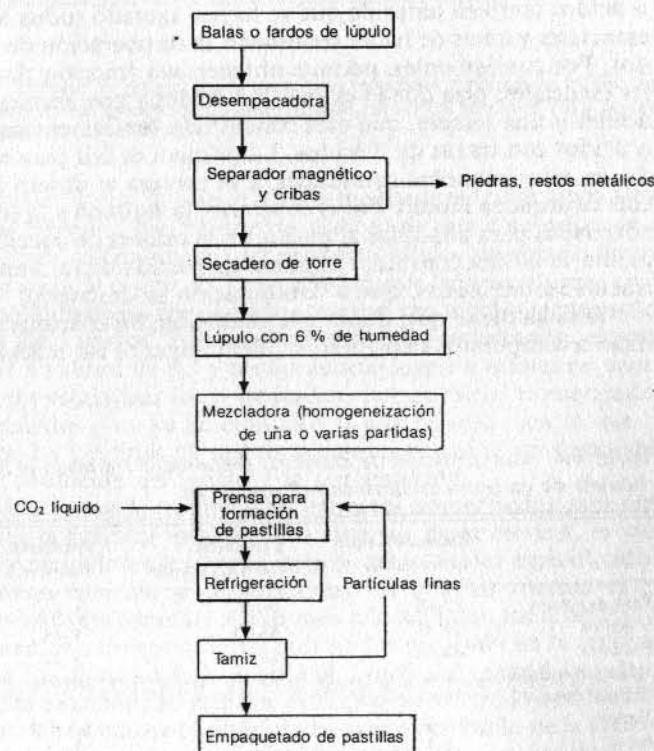


Fig. 6.7 Diagrama de flujo del proceso de producción de pastillas de lúpulo.

ción, incluso a la temperatura ambiente; el hecho de que suponen ya una mezcla equilibrada de acuerdo con los deseos del fabricante de cerveza y la de que se pesan y dispensan con gran facilidad.

Durante muchos años ha sido fácil comprar extractos de lúpulo. Se habían obtenido con disolventes orgánicos, como el cloruro de metileno o el etanol. Aunque el disolvente se recupera (Fig. 6.8), una pequeña cantidad, posiblemente unas pocas partes por millón, permanecen en el extracto y (en particular en los Estados Unidos) existe una cierta preocupación por la posibilidad de que cualquier materia que se añada a los alimentos contenga, aunque sólo en cantidades traza, hidrocarburos clorados. Los disolventes orgánicos extraen tanto las resinas como los aceites esenciales. Algunos proce-

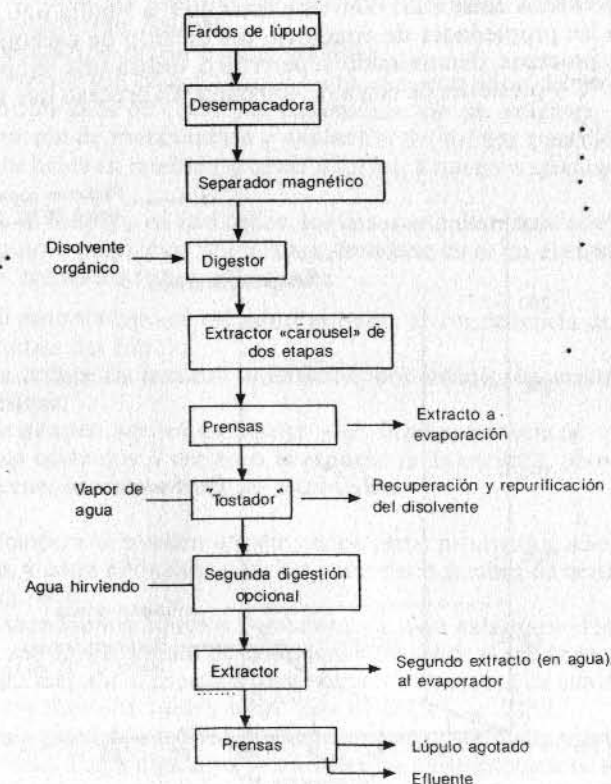


Fig. 6.8 Diagrama de flujo de la producción de extractos de lúpulo empleando disolventes orgánicos.

Los implican una segunda extracción con agua, para solubilizar tanto los taninos como las pectinas. En cualquier caso, estos extractos tienden a ser de color verde oscuro y viscosos y necesitan ser calentados para que fluyan y se disuelvan. Existen, sin embargo, preparados en los que los extractos se han transformado en polvo, por mezcla con un adsorbente adecuado, como gel de sílice o bentonita.

Durante los últimos años, se ha utilizado el dióxido de carbono para extraer alimentos tales como el café, el té, diversas hierbas y especias y zumos de frutas. Se ha usado también para eliminar del pescado y de la carne deshidratados diversas impurezas causantes de olores extraños desagradables, generados durante el almacenamiento. En los últimos ocho años se han descrito dos procesos para la extracción del lúpulo con dióxido de carbono. Para ilustrar las diferencias entre ellos conviene consultar la Figura 6.9, que muestra las propiedades de equilibrio del dióxido de carbono. Uno de los procesos, denominado supercrítico, utiliza una temperatura de 50 °C y presiones de cerca de 400 bares. El proceso que utiliza dió-

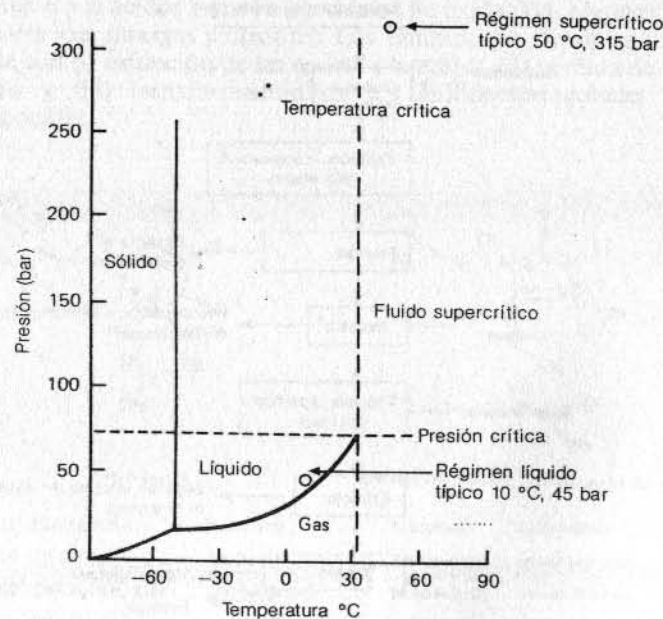


Fig. 6.9 Diagrama de fase del dióxido de carbono mostrando las características de presión y temperatura de la extracción con dióxido de carbono líquido y supercrítico.

xido de carbono líquido, o subcrítico, emplea temperaturas de 7 °C y presiones de unos 40 bares. Por encima de 31 °C y 74 bares, el dióxido de carbono deja de ser un simple líquido. Aplicado al lúpulo, el proceso que utiliza dióxido de carbono líquido tiende a resultar selectivo y no extrae resinas duras ni taninos. Extrae también menos agua, grasa y ceras que el supercrítico (Tabla 6.4). Los α ácidos del lúpulo tienen su máxima solubilidad a + 7 °C, pero su extracción de los conos de lúpulo es mala. Los que se extraen son las pastillas tras haber sido molidas de nuevo. En Australia y Gran Bretaña hay factorías que operan extrayendo el lúpulo con dióxido de carbono líquido, y existe al menos una, en la República Federal de Alemania, que efectúa la extracción en condiciones supercríticas.

Lo primero que emerge de la columna de polvo de lúpulo son los aceites esenciales (Fig. 6.10). Los β ácidos comienzan a eluirse antes de que se hayan recuperado todos los aceites esenciales y los α ácidos también antes de que se hayan agotado todos los aceites esenciales y antes de haber terminado la recuperación de los β ácidos. Por consiguientes, permite obtener una fracción rica en aceites esenciales, otra que lo es en α y β ácidos y que apenas contiene aceites y una tercera, que está constituida fundamentalmente por α ácidos con trazas de β ácidos. La primera es útil para ser añadida, en muy pequeñas cantidades, a la cerveza al objeto de potenciar su aroma a lúpulo. Por el contrario, la segunda y la tercera son adecuadas para añadirlas al mosto, en la caldera de cocción. Finalmente, la última constituye el punto de partida de los llamados extractos isomerizados, que a continuación se describen.

Ya se ha dicho que, durante la ebullición, los α ácidos se isomerizan a compuestos más amargos, denominados iso α ácidos. Tam-

Tabla 6.4 Composición de extractos preparados tratando el lúpulo con dióxido de carbono o disolventes^a orgánicos

	Extracción supercrítica (CO ₂)	Extracción con CO ₂ líquido	Extracción con disolventes orgánicos
Resinas totales	77-98	80-98	15-60
α ácidos	27-41	35-55	8-45
β ácidos	43-53	25-35	8-20
Aceites esenciales	1-5	3-10	0-5
Resinas duras	5-11	0	2-10
Taninos	0.1-5	0-2	0.5-5.0
Agua	1-7	0-2	1-15
Grasas y ceras	4-13	0-8	1-20

^a Componentes expresados en % (p/p).

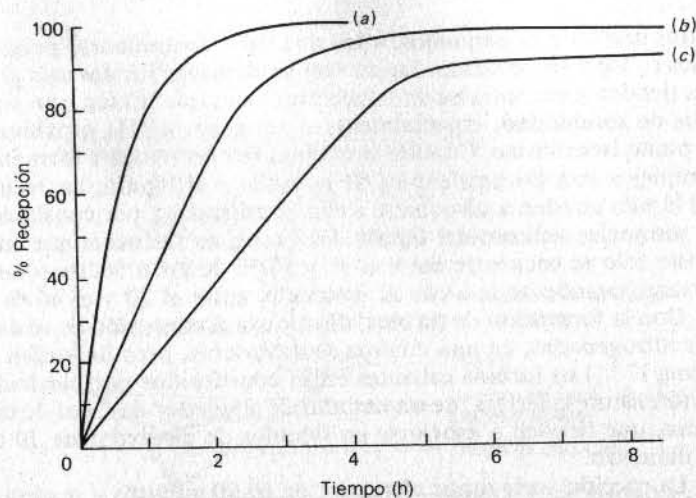


Fig. 6.10 Extracción progresiva de los aceites esenciales y resinas del lúpulo durante el proceso con dióxido de carbono líquido. (a) aceites esenciales, (b) β ácidos, (c) α ácidos.

bién se puede lograr la isomerización mediante el tratamiento alcalino (por ejemplo, con carbonato sódico) de una disolución de α ácidos, o por calentamiento del producto sólido con catalizadores, como las sales de magnesio. Desgraciadamente debe rectificarse cualquier contaminación con β ácidos, porque son mucho menos solubles que los α ácidos. Pueden eliminarse por precipitación, elevando el pH a valores de 8,5 y restaurándolo luego a valores en torno a 5,0, para estabilizar los α isoácidos. Los extractos isomerizados son adecuados para su adición directa a la cerveza, con lo que se suprimen las pérdidas de sustancias amargas que se producen durante la ebullición del mosto y la fermentación.

Aunque se puede recurrir a los extractos isomerizados para proporcionar la práctica totalidad del amargor de la cerveza, es más frecuente recurrir a ellos para ajustarlo a los niveles especificados.

Algunas cervezas se acondicionan en botellas transparentes. Cuando inadvertidamente se exponen a la luz solar, los α isoácidos reaccionan con los compuestos sulfurados presentes en la cerveza, para dar un «gusto a luz» debido al 3 metil-2-buten-1-ol. Para evitar esta reacción, se utilizan extractos isomerizados, reducidos por métodos químicos (reducción del grupo carbonilo de la cadena lateral de isohexanoilo con borohidruro). En general, los extractos ofrecen ventajas frente a los conos de lúpulo, en cuanto que ocupan mucho menos espacio, son relativamente estables durante el al-

macenamiento a temperatura ambiente, y permiten la mezcla de variedades para alcanzar las características deseadas, así como beneficiarse de los excedentes temporales de lúpulo que pueden comprarse a precios más bajos.

Cocción del mosto

Los efectos principales de la cocción del mosto son:

- (a) Detención de la actividad enzimática.
- (b) Esterilización del mosto.
- (c) Coagulación de proteínas y taninos.
- (d) Precipitación más intensa del fosfato cálcico y caída, por consiguiente, del pH.
- (e) Destilación de productos volátiles.
- (f) Evaporación de agua y, por tanto, concentración del mosto.
- (g) Producción de color por caramelización de azúcares, formación de melanioidina y oxidación de taninos (reacciones que generan también aromas a toffee, a nuez y a quemado).

Como en todos, o en casi todos, los casos se hallan también presentes lúpulo o productos del mismo, conviene tener en cuenta las siguientes consideraciones adicionales:

- (h) El mosto adquiere un sabor amargo, a consecuencia de las resinas del lúpulo.
- (i) Se reduce la tensión superficial, por influjo de aceites y resinas.
- (j) Se añaden aceites esenciales y en ocasiones taninos.
- (k) Los isoácidos α mejoran la espuma de la cerveza, pero los aceites suelen reducir su estabilidad.

En la caldera se pueden añadir varios otros productos, además del lúpulo, y entre ellos cabe citar los azúcares o jarabes de cereales (véase pág. 80).

Estos sucedáneos líquidos pueden servir para «alargar» el mosto, como una fuente barata de extractos, para diluir el nitrógeno del mismo para mejorar el aroma o para obtener elaborados de alta densidad. Estos líquidos suelen tener una densidad de 1.150.

También pueden añadirse al mosto extractos de algas marinas rojas o pardas. Estos alginatos son moléculas de poligalactosa altamente sulfatadas y, por tanto, muy negativamente cargadas (Fig. 6.11). Tienden, por consiguiente, a coagular las proteínas positivamente cargadas y a aumentar así el peso de turbios calientes producidos durante la cocción. Otra consecuencia lógica de su empleo es

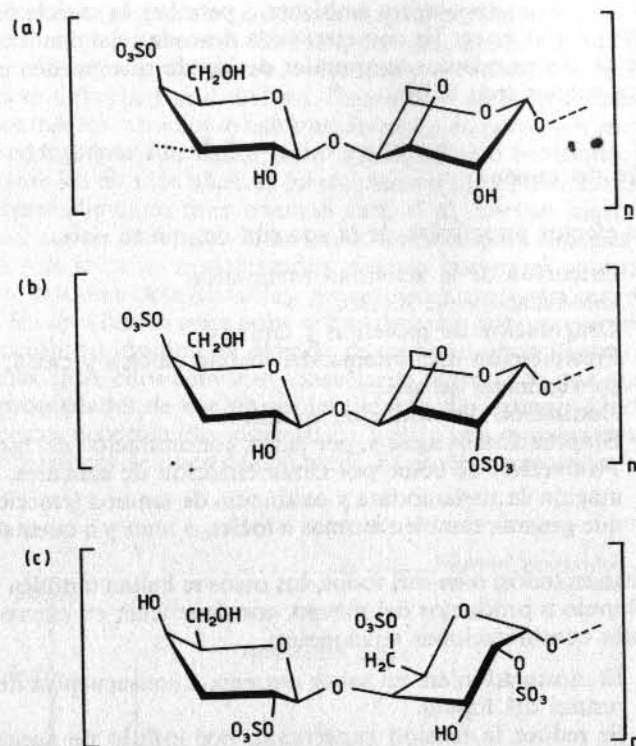


Fig. 6.11 Estructura de los carragenanos κ (a), ι (b), y λ (c).

la aparición de menor cantidad de turbios fríos que, en virtud de su menor tamaño de partícula, resultan más difíciles de eliminar que los turbios calientes. También es probable que sea menor la tendencia a la producción de turbidez tras el envasado. En algunas factorías, en lugar de usar como clarificantes extractos purificados, se emplea el polvo de algas enteras, especialmente de las rojas más comunes en el litoral del Reino Unido, *Chondrus crispus* y *Gigartina stellata*.

La coagulación de las proteínas durante la ebullición se ve fuertemente influida por la presencia de taninos (y su composición) y por el efecto combinado de la temperatura, el pH y los iones multivalentes, como el calcio y los metales pesados. El calentamiento conduce a la pérdida de la compleja estructura de las proteínas; se desenrollan y sufren ruptura de puentes moleculares, para dar deri-

vados mucho más pequeños, a los que debe denominarse polipéptidos en lugar de proteínas. Las moléculas desnaturalizadas más grandes tienden a encontrarse en concentraciones que sobrepasan su límite de solubilidad, especialmente si se hallan a pHs próximos a su punto isoelectrico. Cuando coagulan, frecuentemente formando complejos con los polifenoles de la malta y el lúpulo, las resinas del lúpulo tienden a adsorberse a ellas perdiéndose, por consiguiente, sustancias valiosas del lúpulo. De hecho, es frecuente que en el mosto sólo se encuentre entre el 30 y 50 % de los α ácidos y en la cerveza, cuando se procede al envasado, entre el 20 y el 40 %.

Con la formación de turbios, disminuye el contenido en sustancias nitrogenadas, en una cuantía muy variable, pero del orden de 50 mg l^{-1} . Los turbios calientes están constituidos por partículas groseramente esféricas, de un tamaño de alrededor de $1 \mu\text{m}$ de diámetro, que tienden a asociarse en flóculos de alrededor de 10 cm de diámetro.

La cocción suele durar alrededor de 60-90 minutos y se efectúa generalmente a la presión atmosférica (Fig. 6.12), pero algunos fabricantes la llevan a cabo a presión positiva y permiten que al final del proceso escapen volátiles. Muchos añaden una pequeña proporción del lúpulo utilizado —el lúpulo aromático, con un aroma delicado— unos 20 minutos antes de que la ebullición termine. Durante los últimos años, se ha desarrollado la cocción a presión y a 140°C , durante 4 minutos, que no sólo ahorra tiempo sino que, mediante el uso de los modernos cambiadores de calor, resulta enormemente económica, en términos energéticos (Fig. 6.13). En la Figura 6.14 se ilustra el empleo del vapor en una factoría norteamericana tradicional.

Tras la ebullición se procede a la clarificación del mosto. Si se utilizaron conos enteros de lúpulo, resultará necesario proceder a la filtración. Los conos de lúpulo extraídos tienden a formar un lecho filtrante sobre el que se acumulan los turbios; este material de desecho tiene algún valor como fertilizante del suelo. Los restos de lúpulo ejercen una acción esponjante sólo, pero los precipitados por ellos retenidos proporcionan nitrógeno, calcio, fósforo y otros minerales. Muchos fabricantes modernos utilizan lúpulo molido inmediatamente antes de su empleo, o pastillas. En lugar de filtrar, clarifican utilizando un dispositivo denominado «tanque remolino» (Whirlpool tank) originalmente desarrollado en Canadá, por la empresa Molson, en que, básicamente, se bombea el mosto a alta velocidad (por ejemplo a 10 m s^{-1}), a través de una tubería tangencial al tanque, situada a un tercio de su altura (Fig. 6.15). El momento circular del mosto en el tanque es sustituido pronto por otro, que hace que el mosto circule verticalmente hacia abajo a lo largo de las paredes y horizontalmente hacia el centro, en la base, per-

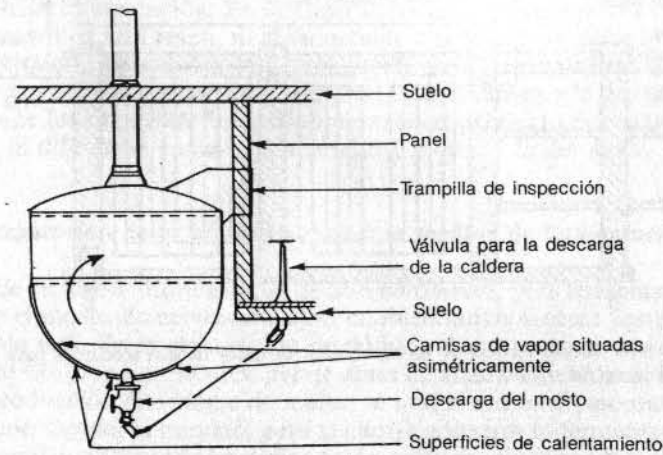


Fig. 6.12 Sección de una caldera típica para la ebullición del mosto.

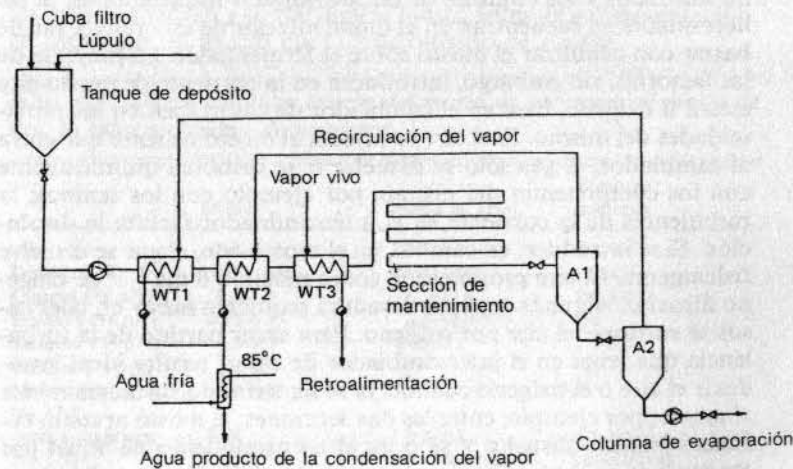


Fig. 6.13 Diagrama de flujo de una caldera de cocción de mosto a presión. (Cortesía de Anton Steinecker GmbH, Freising Alemania Occidental). WT1, 2 y 3, son cambiadores de calor sucesivos que elevan la temperatura a 140 °C. En A1 y A2 se producen descensos de la temperatura y pérdidas de volátiles.

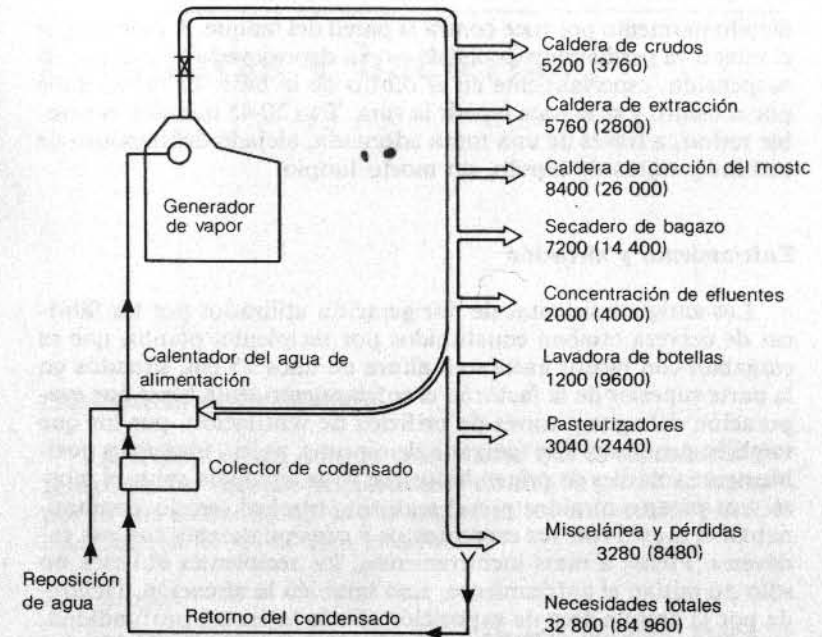
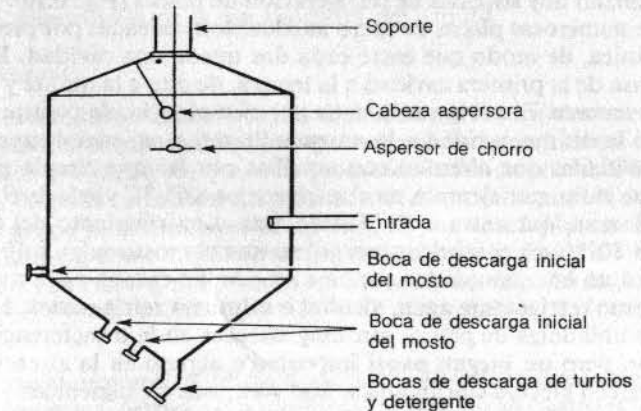
Fig. 6.14 Empleo del vapor en una fábrica de cerveza norteamericana que deseca los bagazos y concentra los efluentes. Cada partida está constituida por 1.000 hl de 14,5 °P; opera en ciclos de 4 h. Las cifras representan la carga máxima en kg h^{-1} ; las incluidas en los paréntesis representan carga total por partida, en kg de vapor. De la Figura 18.5 de *The Practical Brewer* publicada por la Master Brewers Association of the Americas.

Fig. 6.15 Corte vertical de un tanque remolino de base cónica.

diendo momento por roce contra la pared del tanque. A medida que el mosto va perdiendo velocidad, se van depositando los sólidos en suspensión, especialmente en el centro de la base. El mosto sube por el centro y se le hace repetir la ruta. Tras 20-45 minutos es posible retirar, a través de una toma adecuada, alejada del depósito de turbios y restos de lúpulo, un mosto limpio.

Enfriamiento y aireación

Los antiguos sistemas de refrigeración utilizados por las fábricas de cerveza estaban constituidos por recipientes planos, que se cargaban con mosto hasta una altura de unos 25 cm, situados en la parte superior de la factoría; el enfriamiento tenía lugar por evaporación del agua a través de orificios de ventilación, por los que también penetraba aire (cargado de esporos, polen, insectos y posiblemente volátiles de origen industrial) que circulaba sobre el mosto. Los pájaros atraídos por el ambiente tropical creado, contaminaban el mosto con sus excrementos y ocasionalmente con sus cadáveres. Frente a estos inconvenientes, los recipientes abiertos no sólo permitían el enfriamiento, sino también la aireación, facilitada por la amplia área de exposición. Dada la escasa profundidad, facilitaba también el depósito de las partículas de turbios fríos y calientes.

En los refrigeradores desarrollados después para las industrias láctea y cervecera, el mosto circulaba en lámina fina por una serie de tubos refrigerados, con lo que el mosto se enfriaba y aireaba pero no se clarificaba. Prácticamente, todas las fábricas de cerveza utilizan hoy sistemas de refrigeración de placas (Fig. 6.16). Constan de numerosas placas de acero inoxidable moldeadas por presión mecánica, de modo que entre cada dos quede una cavidad. El mosto pasa de la primera cavidad a la tercera; de ésta a la quinta y así sucesivamente. El refrigerante, agua por ejemplo, circula contracorriente, de la última cavidad a la antepenúltima, y así sucesivamente, por cavidades que alternan con aquéllas por las que circula el mosto, que entra, por ejemplo, en el refrigerador a 65 °C y sale de él a 15 °C. El agua, que entra a 10 °C sale, tras el enfriamiento del mosto, a 75-80 °C. Si el fabricante requiere que el mosto salga a 10 °C, utiliza un intercambiador con una sección adicional, en la que utiliza como refrigerante agua, alcohol o salmuera refrigerados. Los intercambiadores de placas son muy eficaces en la transferencia de calor, pero no juegan papel importante alguno en la aireación y no ejercen efectos clarificantes. Son compactos e higiénicos y proporcionan a las factorías grandes cantidades de agua a 75-80 °C, que puedan utilizar para la limpieza y, a veces, para la extracción. Tam-

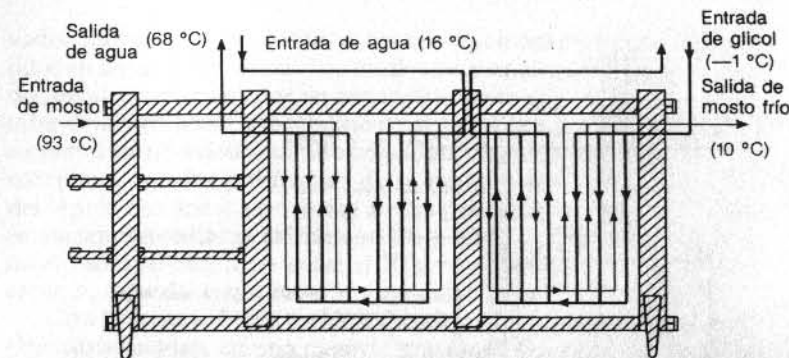


Fig. 6.16 Corte vertical de un cambiador de calor de dos secciones para el enfriamiento del mosto.

bién se puede calentar agua en los cambiadores de calor situados en la chimenea de la caldera de cocción, pero esta posibilidad está mucho menos explotada.

Se necesita airear el mosto para facilitar el crecimiento de la levadura. El aire es requerido específicamente, en pequeñas cantidades, ($5-15 \text{ mg l}^{-1}$) por las células para sintetizar los ácidos grasos no saturados y los esteroides de las membranas intracelulares. Si las necesidades se encuentran en el límite inferior de este rango, puede bastar con nebulizar el mosto sobre el fermentador. La mayoría de las factorías, sin embargo, introducen en la corriente de mosto aire estéril u oxígeno, bien en el cambiador de calor, bien en las proximidades del mismo. Si el aire se inyecta al mosto caliente que entra al cambiador, el gas sólo se disuelve si se combina químicamente con los componentes del mismo, por ejemplo con los taninos; la turbulencia de la corriente en el intercambiador facilita la disolución. Si se introduce, en cambio, en el mosto frío, el gas se disuelve físicamente. El aire proporciona como máximo 8 mg l^{-1} de oxígeno disuelto. Algunas cepas de levadura requieren más y en tales casos se sustituye el aire por oxígeno. Para sacar partido de la turbulencia que reina en el intercambiador de calor, resulta ideal introducir el aire o el oxígeno cuando ya se ha enfriado sustancialmente el mosto; por ejemplo, entre las dos secciones; el mosto arrastra entonces oxígeno disuelto y se evita el oscurecimiento de aquel por los taninos oxidados, como ocurre en la aireación en caliente.

La eliminación de turbios fríos suele efectuarse por sedimentación, pero algunas factorías lo llevan a cabo por filtración o centrifugación del mosto. Uno de los procedimientos empleados consiste en bombear aire al mosto frío y eliminar los turbios como nata,

asociada a las burbujas de espuma. El mosto está ahora listo para sufrir la fermentación. En la Gran Bretaña, y en muy pocos otros países, es en esta etapa, muy vulnerable a la infección microbiana, en la que la administración responsable de la recaudación de impuestos efectúa sus medidas. Determina el volumen y la densidad, porque los impuestos son proporcionales al producto del volumen por la diferencia entre la densidad del mosto y la del agua.

Comparación entre los sustratos como medios de fermentación

Se recurre a distintas cepas de *Saccharomyces*, para fermentar no sólo el mosto de cerveceros, sino también muchos otros sustratos (Tabla 6.5). En la elaboración de whisky, el mosto no se suele separar del grano, ni se suele hervir antes de añadir la levadura. Para la producción de vinagre de malta, se utiliza mosto no aromatizado con lúpulo, ni hervido, pero sí clarificado; tras la fermentación se acetifica utilizando bacterias ácido-acéticas seleccionadas. En la elaboración de sidra y perada (perry), se machacan las manzanas o las peras y se extrae el zumo, que puede estabilizarse microbiológicamente mediante la adición de dióxido de azufre. Para la producción de vino tinto, se fermentan las uvas estrujadas, en presencia de dióxido de azufre. Durante la fermentación, se retiran los viles, las semillas y los escobajos. En la elaboración de vino blanco, las uvas se prensan y se clarifica el mosto antes de su fermentación, en presencia de 10-200 mg l⁻¹ de dióxido de azufre.

Tabla 6.5 Datos analíticos típicos del mosto de cervecero, el mosto de uva, la sidra y el zumo de manzana

	Mosto	Mosto de vino	Zumo de manzana
pH	5.0-5.6	2.7-3.3	3.3-4.0
Densidad	1.032-1.048	1.048-1.096	1.056
Glucosa (% p/v)	0.8-1.0	6.5-12.0	1.5-2.0
Fructosa (% p/v)	0.10-0.15	6.5-12.0	6.0
Sacarosa (% p/v)	0.3-0.5	0.02-0.2	2.5-3.5
Maltosa (% p/v)	3.3-5.4	-	-
Maltotriosa (% p/v)	1.0-1.3	-	-
Ácidos orgánicos (% p/v)	0.02	0.8-1.7 (especialmente málico y tartárico)	0.3-1.8 (málico más abundante)
Nitrógeno total (mg l ⁻¹)	250-1100	300-1200	50-300
Nitrógeno aminoácido (mg l ⁻¹)	160-300	250-1100	9-230
Taninos totales (% p/v)	0.01-0.04	0.15-0.50	0.1-0.3

Levaduras y bacterias

Clasificación de las levaduras

Las levaduras son hongos unicelulares que se reproducen por gemación. No encajan perfectamente en ningún grupo de hongos, por lo que parece apropiado revisar, siquiera sea someramente, la clasificación de los hongos en general.

Ficomicetos

Los ficomicetos desarrollan normalmente micelios, tubos ramificados, protegidos por una pared, de diámetro bastante uniforme, que contienen citoplasma y numerosos núcleos. Los micelios de los ficomicetos no tienen septos transversos. Algunos (como los mohos del pan, *Mucor* y *Rhizopus*) tienen células sexuales masculinas y femeninas de igual tamaño y forma. Otros tienen células sexuales femeninas de mayor tamaño, por ejemplo *Pseudoperonospora*, el responsable de la peronospora del lúpulo.

Ascomicetos

Los ascomicetos tienen micelios divididos por septos trasversos, poseen esporas características (ascosporas), producidas en sacos, denominados ascas, una vez que se ha producido la fusión sexual. Otras esporas, llamadas conidios, no proceden de la unión sexual. Constituye el grupo más numeroso de los hongos y en él se incluyen muchas levaduras, como los *Saccharomyces*, y hongos, como los *Aspergillus* y *Penicillium*, muy usados en las industrias microbiológicas.

Basidiomicetos

Los basidiomicetos también poseen micelios divididos por paredes trasversas, pero sus basidiosporas se forman en cuatro ecres-

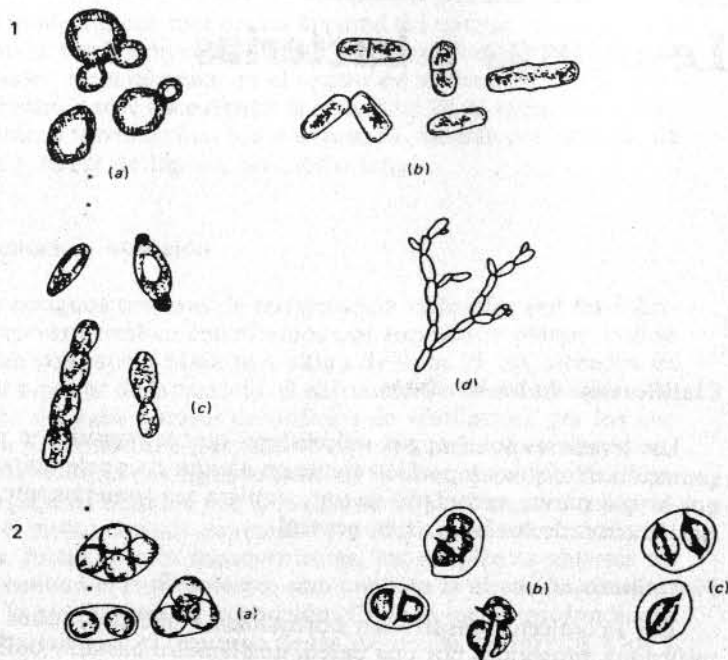


Fig. 7.1 1. Esquemas de (a) *Saccharomyces cerevisiae* (gemación multilateral), (b) *Schizosaccharomyces pombe* (fusión binaria), (c) *Nadsonia* sp (gemación bipolar), (d) pseudomicelio de *Pichia membranaefaciens*. 2. Ascas y ascosporos de (a) *Saccharomyces* sp, (b) *Pichia* sp y (c) *Hansenula saturnus*. Ampliaciones: las células maduras de (a) tienen 8-10 μm de diámetro; las de 1(b) y (c) son de tamaño similar; y (a), (b) y (c) están representadas con ampliaciones 2 veces superiores a los de 1(a), (b) y (c); 1(d) lo está a 1/2 de las de 1(a), (b) y (c).

cencias de una célula característica, denominada basidio. La roya y el carbón de la cebada constituyen ejemplos de basidiomicetos, pero más familiares resultan los champiñones o los niscalos o rovellones. A este grupo pertenecen las levaduras del género *Sporobolomyces* que posee esporas externas, poco corrientes denominadas balistosporas.

Hongos imperfectos

Este grupo representa un cajón de sastre, al que pertenecen especies cuyos procesos reproductivos se desconocen y en los que se encuentran, por tanto, esporas características. Ocasionalmente se descubre, en algunas de ellas, la presencia, por ejemplo, de ascos-

poras y automáticamente se retira la especie en cuestión de este grupo y se la clasifica como Ascomiceto. Ejemplos de estos hongos son el *Verticillium* del lúpulo y el *Fusarium*, que infecta la cebada. Muchas levaduras se encuentran también incluidas en este grupo (por ejemplo especies de *Candida*).

Las levaduras comprenden 39 géneros y 350 especies. Se identifican y clasifican, basándose en características morfológicas y fisiológicas. Entre los aspectos morfológicos considerados, se encuentran el tamaño y la forma de las células, en medio sólidos y líquidos especificados, el modo de reproducción y si forma velo en la superficie o sedimenta en un medio líquido. Entre las características fisiológicas consideradas, se encuentra si puede crecer (y fermentar) en un determinado carbohidrato y si puede o no utilizar determinadas fuentes de nitrógeno, como los nitratos.

Las células de las levaduras pueden ser ovales, esféricas, tener forma de limón o de cigarro puro. Pueden dividirse mediante gemación, acaecida en cualquier lugar de la superficie, o sólo en los extremos, o polos. Algunas no forman gemas, pero exhiben todas las demás características del grupo; forman simplemente un tabique en el interior de la célula, tras elongarse. Hay levaduras que forman, especialmente en medio sólido, filamentos, ramificados o no, denominados pseudomicelio; otras ofrecen micelos muy similares a los de los mohos (Fig. 7.1).

Una de las características fisiológicas de los *Saccharomyces* que ayuda a su identificación es la de que no utilizan el nitrato como fuente de nitrógeno, frente a lo que hacen algunos otros géneros, como *Hansenula*. *Saccharomyces cerevisiae*, se distingue de *Saccharomyces carlsbergensis*, la otra levadura de la cerveza, en que la primera no fermenta el azúcar melibiosa y la segunda sí. Ambas utilizan la galactosa, en tanto que las levaduras que participan en el envejecimiento del jerez, *S. bayanus*, no la fermenta. Todas las especies de *Saccharomyces* mencionadas fermentan la maltosa, que no es en cambio utilizada por *S. capensis*.

Diferenciación serológica

Las técnicas serológicas constituyen un método rápido para la identificación de cepas.

En unos casos son extremadamente valiosas, aunque en otros resultan de difícil aplicación. Las pruebas serológicas dependen de una reacción muy específica entre anticuerpos obtenidos de sangre de mamíferos y antígenos (o sustancias orgánicas extrañas introducidas en su sangre). Constituye uno de los mecanismos clave de la defensa de nuestro propio organismo; le permite luchar con éxito

contra las infecciones bacterianas y contra las células extrañas, al igual que contra macromoléculas orgánicas.

Se inyectan a un conejo, por ejemplo, células enteras, desvitalizadas, de una cepa (A). El animal inyectado produce anticuerpos, con grupos químicos específicos que complementan los de la superficie de la célula, que actúan como antígenos. Al cabo de una serie de inyecciones, se retira un cierto volumen de sangre, que se libera de glóbulos rojos para obtener el suero, que se puede conservar durante largos períodos de tiempo, si se almacena a refrigeración en presencia de algún conservador. Cuando se mezcla con una suspensión de la levadura de la cepa A, el suero aglutina las células; de hecho, aglutina a todas las cepas que exhiban, en su superficie, alguno o algunos de los grupos que actúan como antígenos.

Supongamos que el suero (al que se denomina antisuero de la cepa A) se mezcla con células de una cepa emparentada, B. La cepa B será aglutinada y gastará los anticuerpos que reaccionan con ambas.

El antisuero absorbido no tendrá ya anticuerpos capaces de reaccionar con células de la cepa B, pero es posible que pueda aglutinar a las células de la cepa A, porque ésta probablemente tenga grupos, o antígenos, no compartidos con la cepa B. Se puede hacer uso de este principio del modo que se indica en la Tabla 7.1, para establecer las relaciones existentes entre cepas, especies o géneros; pero también se puede usar para identificar cepas desconocidas.

Resulta útil la posibilidad de acoplar los anticuerpos a colorantes fluorescentes, dado que así los anticuerpos que reaccionan con una determinada cepa de levadura fluorescen en su superficie, con lo que basta con cantidades de anticuerpos mucho más reducidas que las que se necesitan para las pruebas de aglutinación. Con un microscopio adecuado e iluminación de cuarzo-iodo, es posible iden-

Tabla 7.1 Aglutinación de varios *Saccharomyces* utilizando el antisuero de la cepa A₁ antes y después de la absorción

Cepa de levadura	Aglutinación utilizando el suero no absorbido	Aglutinación tras la absorción con			
		A ₁ o	B ₁ o	C ₁ o	D ₁ o
		A ₂ o	B ₂ o	C ₂	D ₂ o
A ₁ , A ₂ , A ₃ (<i>S. carlsbergensis</i>)	+	—	+	+	+
B ₁ , B ₂ , B ₃ (<i>S. carlsbergensis</i>)	+	—	—	—	—
C ₂ , C ₃ (<i>S. rouxii</i>)	+	—	+	—	+
D ₁ , D ₂ , D ₃ (<i>S. cerevisiae</i>)	+	—	+	—	—

tificar células fluorescentes individualizadas entre miles de no fluorescentes, lo que hace posible detectar la presencia de levaduras no deseadas (las llamadas levaduras salvajes), a bajas concentraciones, en medio de un cultivo de levadura, siempre que sea posible preparar un antisuero que reaccione con las levaduras salvajes y no con las del cultivo. Se puede potenciar el grado de fluorescencia de una célula mediante una modificación de la técnica. En lugar de acoplarlo a un colorante, se inyecta a una cabra el antisuero absorbido, a partir de la sangre de ésta se obtiene antisuero contra el antisuero del conejo, que es el que se acopla al colorante. Para detectar las células salvajes, se añade primero a la suspensión de levaduras el antisuero absorbido y luego el antisuero de cabra fluorescente. Las levaduras salvajes se recubren de una primera capa de antisuero de conejo y una segunda de antisuero de cabra (anticonejo). De este modo la levadura se puede recubrir con más moléculas de colorante que si se usara la técnica de una sola capa.

Estructura de la célula de levadura

Una célula de una levadura de cerveza típica tiene, cuando se halla plenamente desarrollada, entre 8 y 14 μm de diámetro y una masa de materia seca de 40 pg. Por tanto 10^{12} células desecadas pesan unos 40 g. En vivo, prensadas, ese mismo número de células pesan unos 200 g. El examen al microscopio ordinario revela que cada célula está rodeada por una pared y que en el interior de la misma se pueden distinguir pocas estructuras, salvo una o más vacuolas. Para observar el núcleo y varios otros orgánulos se necesita recurrir a preparaciones teñidas, o a la microscopía de contraste de fases. La superficie de las levaduras se puede estudiar mediante microscopía electrónica de barrido y las estructuras internas mediante microscopía electrónica de transmisión, sobre preparaciones fracturadas por congelación, frescas, no fijadas. En la Figura 7-2, se muestra un diagrama de la sección de una levadura de cerveza típica. Una información más detallada de las partes de la célula exige la identificación bioquímica de sus componentes.

La pared celular representa el 30 % del peso seco total y tiene un grosor de 100-200 nm. Está constituida por aproximadamente un 40 % de β glucanos, otro 40 % de α mananos, 8 % de proteína, 7 % de lípidos, 3 % de sustancias inorgánicas y 2 % de hexosamina y quitina. El glucano está unido a la proteína y representa el componente estructural más abundante; se halla fundamentalmente en la cara interna de la pared. El manano se encuentra también ligado a la proteína, a veces a través de hexosamina, y tiende a localizarse en la cara externa de la pared. La superficie de la célula se encuen-

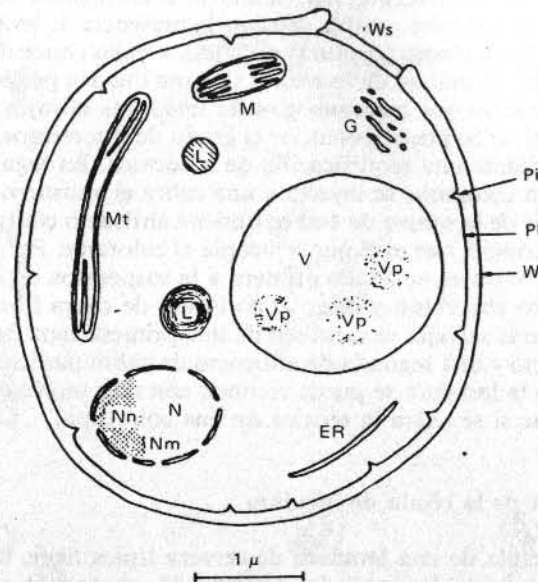


Fig. 7.2 Diagrama de una electronografía de la sección transversal de una célula en reposo de levadura de panadero (*Saccharomyces cerevisiae*). ER, retículo endoplásmico; M, mitocondrias; N, núcleo; Nm, membrana nuclear; Nn, nucleólo; Pi, invaginación; Pl, plasmalema; V, vacuola; Vp, gránulo de polimetáfosfato; W, pared celular; Ws, cicatriz de gemación; L gránulo lipídico.

tra cargada, debido a la presencia de grupos carboxilo y fosfato que, al pH de la cerveza, la confieren una fuerte carga neta negativa. También se encuentran grupos amino, pero sólo le confieren regiones locales de carga positiva. Las paredes celulares se pueden disolver mediante el uso de una preparación enzimática mixta, procedente de un actinomiceto denominado *Arthrobacter luteus*, o de la glándula digestiva de un caracol comestible, *Helix pomatia*. Generalmente, se requiere un agente reductor, como el mercaptoetanol. Si se mantienen en un estabilizador osmótico, como una disolución acuosa de manitol al 20 %, las células de levadura permanecen intactas, pero esféricas, al haber perdido su pared; se les denomina esferoblastos y, si las condiciones culturales son las adecuadas, resintetizan sus paredes. Algunas técnicas de manipulación genética explotan estos hechos.

Las levaduras se multiplican por gemación. Una zona debilitada de la pared permite que se forme una protusión del citoplasma, a la que, de inmediato, se provee de pared. A medida que crece, van

emigrando a la gema los orgánulos de la célula madre, incluido un núcleo (tras su división). Finalmente, la gema alcanza su tamaño definitivo, lo que no implica necesariamente su separación de la célula madre. Es bastante frecuente encontrar largas cadenas de levaduras, debido a la no disyunción de las distintas células formadas. Si las células madre e hija se separan, en la primera queda un anillo denominado cicatriz de gemación, fácilmente distinguible; el de la célula hija es más difícil de distinguir. Una sola célula puede dar lugar a más de 30 gemas a lo largo de su vida, pero es raro que en ningún momento se encuentren juntas más de dos o tres.

La pared celular es permeada por algunos de los enzimas segregados por la levadura; el más importante es la invertasa, que hidroliza la sacarosa antes de que penetre en la célula; entre ellos se encuentra también la fosfatasa. *Saccharomyces carlsbergensis* segrega melibiosa, pero *Saccharomyces cerevisiae* no. Algunas levaduras segregan cantidades apreciables de proteasas, pero las del género *Saccharomyces* sólo tienen una actividad de este tipo limitada.

El citoplasma se halla envuelto por una membrana viva, el plasmalema, que no sólo recubre al citoplasma, sino que se ramifica, uniéndose con la red membranosa interna. Estas estructuras están constituidas por lípidos, entre ellos fosfolípidos y esteroides, y proteínas. El plasmalema juega un papel importante en la regulación del flujo de todos los materiales tanto hacia el interior como hacia el exterior de la célula. Las demás membranas probablemente compartimentalizan la célula y le proporcionan una superficie en la que operan determinados enzimas.

El núcleo de las levaduras ofrece un diámetro de 1,5 μm y está rodeado por una doble membrana. En su interior se alberga un área densa, en forma de media luna, a la que se denomina nucleólo. Los cromosomas no son distinguibles, pero hay pruebas genéticas que indican la existencia de al menos 17 pares y varios fragmentos en las células diploides (véase pág. 117).

Las células de levaduras en crecimiento rápido ofrecen varias vacuolas, pero las maduras, normalmente, sólo muestran una. Dentro de su membrana única, se encuentran partículas densas, de polifosfato, a las que tradicionalmente se denomina gránulos de volutina. Cuando crecen en condiciones aeróbicas, y en especial si la concentración de glucosa es escasa se observan varias mitocondrias en el interior de cada célula. Cada mitocondria está rodeada por una doble membrana. Las mitocondrias albergan a los citocromos a los enzimas respiratorios y al sistema responsable de la biosíntesis de adenosin trifosfato (ATP). Son, por tanto, las responsables del metabolismo oxidativo de los azúcares, que se degradan a dióxido de carbono y agua; el ATP que sintetizan almacena la energía química derivada de estas reacciones. En condiciones anaeróbicas,

o cuando las concentraciones de glucosa son altas, las mitocondrias parecen atrofiarse y perder, al menos temporalmente, su actividad bioquímica. Estos cambios pueden apreciarse fácilmente, observando el espectro de los citocromos de la levadura. En una levadura en aerobiosis, el espectro tiene cuatro bandas, en tanto que en anaerobiosis sólo muestra dos.

La pared celular y la elaboración de cerveza

Las diferencias existentes entre la estructura química de las capas exteriores de las células de levadura son las responsables de que algunas cepas suban a la superficie hacia el final del proceso fermentativo. Estas levaduras «altas» contrastan con las «bajas», que se hunden y tienden a depositarse en la base del fermentador. La distinción puede simularse en agua; las levaduras «altas» tienden a ser algo hidrófobas y a reunirse en el menisco, lo que no hacen las «bajas». En las fermentaciones tradicionales, cada uno de estos tipos de levadura exige procesos algo distintos.

Las gemas de algunas cepas de levadura se separan con dificultad de la célula madre, por lo que forman cadenas constituidas por numerosas células y sedimentan más rápidamente, a menos que se las haga flotar por el burbujeo de dióxido de carbono.

Otras son floculantes; cada una de las células es atraída por las demás para formar flóculos, probablemente compuestos por miles, o aún millones, de células. Se cree que la atracción se debe, al menos en parte, a la formación de puentes de calcio entre grupos carboxílicos de células adyacentes, que han sido aproximadas por las corrientes de mezcla, y en parte al establecimiento de puentes de hidrógeno. Las cepas o razas floculantes sedimentan más rápidamente que las no floculantes o pulverulentas; cada uno de estos tipos se adapta mejor a un determinado modelo de fermentador (véase Capítulo 8).

Ciclo vital de las levaduras

La mayor parte de las cepas o razas de levaduras se encuentran en «diplofase», es decir contienen dos dotaciones cromosómicas. Esta condición se mantiene cuando se multiplican por gemación. En circunstancias adversas, ciertas células se tornan ascas y forman ascosporas.

Una ascospora sólo tiene una dotación cromosómica. Durante la división meiótica, que tiene lugar en el interior del núcleo, para dar lugar a la «haplofase», se produce una distribución del mate-

rial genético (Fig. 7.3). Así, por ejemplo, si un par de cromosomas de la célula madre diploide tiene un gen dominante para la fermentación de la galactosa, y el otro (en el locus correspondiente) tiene un alelo recesivo, que no codifica el enzima relacionado con la fermentación de la galactosa, una de las células hijas recibirá el gen dominante y la otra el recesivo. Generalmente, esta división reductiva (o meiosis) va seguida de una o más divisiones que no reducen más el número de cromosomas, por lo que, al final del proceso, el asca contiene cuatro u ocho ascosporas haploides. Si sobrevivieran y se propagaran todas las ascosporas (esta eventualidad es rara) la mitad de las ascosporas sería capaz de fermentar la galactosa y la otra mitad no.

Demos un paso más, considerando un par de cromosomas en el que esté localizado el gen para la síntesis de leucina, y supongamos que uno de los cromosomas arrastra un gen recesivo (que no codifica la síntesis de leucina). Durante la reducción meiótica, no sólo se separan los genes que codifican la fermentación de la galactosa, sino que también lo hacen los responsables de la síntesis de la leucina. Entre las ascosporas producidas, un 2 % tendrá el gen dominante para la fermentación de galactosa y el recesivo para la síntesis de leucina y el 25 % restante arrastrará el dominante para

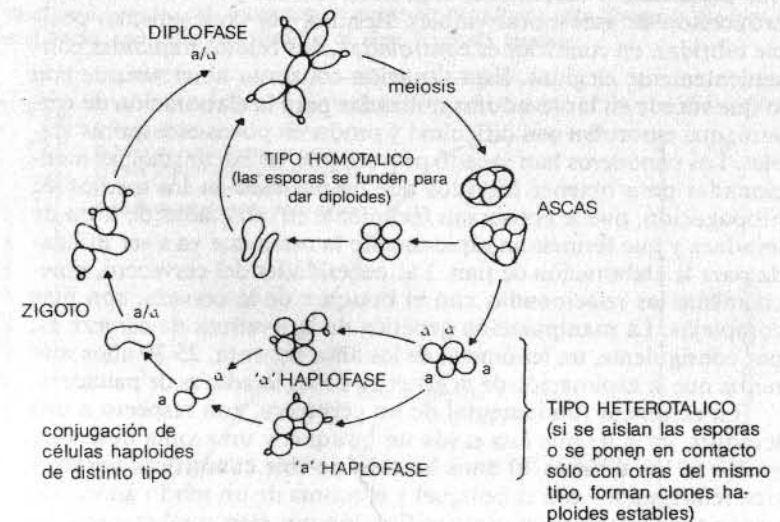


Fig. 7.3 Ciclo vital de *Saccharomyces cerevisiae*: a y α hacen referencia a los genes que gobiernan las respuesta a la conjugación.

la síntesis de la leucina y el recesivo para la fermentación de la galactosa.

En la levadura de cerveza, las ascosporas no salen de las ascas; se funden para producir de nuevo la condición diplofase, antes de que el asca se abra. Para investigar la estructura genética de cada ascospora, se necesita separar físicamente las ascosporas. En relación con el desarrollo de las ascosporas aisladas, se distinguen dos tipos de levadura. Unas se denominan homotáticas, y tienen ascosporas que germinan y se dividen para formar células haploides, que se funden pronto para restablecer la diplofase. Otras, denominadas heterotáticas, tienen ascosporas que sólo se funden con el tipo adecuado. Por tanto, una célula diplofásica heterotática contiene genes para los dos tipos de comportamiento sexual, la mitad tiene un gen diferenciador y la otra mitad otro. A uno de los tipos de ascosporas heterotáticas se le denomina α y al otro α .

Selección de cepas (razas) de levadura

Desarrollar nuevas razas de levadura para utilizarlas en la fabricación de pan ha resultado una tarea relativamente fácil. Se descubrió que, al menos algunas de las cepas o razas propagadas a este fin, esporulaban fácilmente, eran heterotáticas y rendían una alta proporción de ascosporas viables. Resultó, por consiguiente, posible hibridar, en condiciones controladas, dos células haploides convenientemente elegidas. Esta situación contrasta abiertamente con lo que sucede en las levaduras utilizadas para la elaboración de cerveza, que esporulan con dificultad y producen pocas ascosporas viables. Los panaderos han sacado provecho de las circunstancias mencionadas para obtener híbridos que crecen bien en los medios de propagación, que se conservan fácilmente en rebanadas de torta de levadura y que fermentan rápidamente la masa que va a ser utilizada para la elaboración de pan. Las necesidades del cervecero, especialmente las relacionadas con el bouquet de la cerveza, son más complejas. La manipulación genética de la levadura de cerveza es, por consiguiente, un fenómeno de los años ochenta, 25-30 años más tarde que la explotación de la genética de las levaduras de panadero.

La exigencia fundamental de un cervecero, con respecto a una levadura, es la de que ésta rinda un bouquet y un aroma deseables y sólo en los últimos 10 años ha sido posible cuantificar parámetros relacionados con el bouquet y el aroma de un modo adecuado para poder establecer una especificación por elemental que sea. Es difícil porque, tanto el bouquet como el aroma, se ven influidos, de un lado, por las materias primas y las técnicas de elaboración y, de otro, por el metabolismo de las levaduras. Así, por ejemplo,

las tasas de diacetilo que imparten a la cerveza un bouquet y un aroma a mantequilla se ven influidas por las materias primas, los métodos de producción de mosto, las levaduras, las condiciones de fermentación y postfermentativas y la infección de la cerveza por diversas bacterias y levaduras salvajes.

Otra de las exigencias del cervecero es la de que la levadura crezca adecuadamente. Es obvio que el cervecero necesita un inóculo suficiente para una propagación eficaz —ordinariamente una multiplicación por un factor de 3 a 5— durante una fermentación; un factor de multiplicación más bajo crea dificultades técnicas y una propagación excesiva acarrea la incorporación, a la biomasa de la levadura, de cantidades de hidrato de carbono que debían transformarse en etanol. Por otra parte, un fabricante de cerveza no obtiene de la venta de levadura que le sobra unos ingresos que puedan hacerle rentable la superproducción de esta.

Que las levaduras formen flóculos o se desarrollen en la superficie del fermentador han sido características importantes en el pasado. Las modernas tendencias en la elaboración de cerveza les han restado importancia y se la han hecho cobrar, en cambio, a otras propiedades. Las grandes fábricas están interesadas en que la levadura se separe bien de la cerveza en la base del fermentador, lo que no es de cuantificación fácil al igual que tampoco resulta fácil cuantificar las otras propiedades antes mencionadas. La selección de razas por la industria cervecera tiene que efectuarse sobre la base de fermentaciones a pequeña escala, y aún esto resulta complicado, dado que los resultados obtenidos son cuantitativamente (y a veces incluso cualitativamente) diferentes en tanques de 20 l, 20 hl y 2.000 hl.

Mantenimiento de los cultivos de levadura

Cada célula individual puede separarse del resto mediante procesos de microencapsulación, es decir, utilizando varillas de vidrio microscópicas para empujar y arrastrar células y separar gotas de agua de manera que pueden ser recogidas, por medio de pequeñas piezas estériles de papel de filtro, y sembradas por separado en un frasco de caldo de cultivo estéril. Esta técnica se puede aplicar tanto a una mezcla de levaduras como a un cultivo contaminado. Luego, será necesario seleccionar, de la colección obtenida, la levadura que interese. Un método menos riguroso, pero más sencillo, consiste en sembrar, con un asa, el cultivo de levaduras mezcladas, o contaminado, en un medio sólido y estéril, sobre una placa de petri. Una vez desarrolladas, se seleccionan las colonias, se recogen algunas y se siembran de nuevo en medio sólido; las ahora desarrolladas constituyen la colección utilizada para seleccionar luego la que convenga utilizar.

Los cultivos de levaduras pueden conservarse a la temperatura ambiente, en medio sólido, en tubos inclinados, o en medio líquido a unos 4 °C. Para mantener condiciones más anaeróbicas, se puede colocar sobre el cultivo una capa de aceite mineral estéril. Debe evitarse la formación de ascosporas.

La liofilización no ha dado, en general, buenos resultados para la conservación de la levadura de cerveza; la viabilidad tiende a ser escasa y las células que sobreviven pueden ser mutantes. En cambio, se ha registrado un éxito considerable con el almacenamiento en un medio de glicerol — suero, en vial cerrado y sumergido en nitrógeno líquido (−196 °C).

Para la utilización, en la elaboración de cerveza, de los cultivos de levadura conservados, se propagan en 10 ml de mosto de cervecía estéril, que se utilizan luego como inóculo, para sembrar 21 del mismo medio. Con esto es suficiente para sembrar un moderno propagador de, por ejemplo, 50 hl de capacidad. En la Figura 7.4, se ilustra uno de estos propagadores, que debe mantenerse rigurosamente libre de infecciones; el cultivo debe ser intermitentemente aireado, de tal modo que no se forme excesiva espuma. Con el cultivo del propagador, se inoculara luego un tanque de fermentación de 500 hl, generalmente cuando las levaduras se hallan en crecimiento logarítmico (Fig. 7.5) y la fermentación aún no se ha completado.

La propagación de la levadura de cerveza contrasta abiertamente con el método utilizado para la levadura de panadero. Con esta última, es necesario evitar la fermentación y utilizar los carbohidratos, tan eficazmente como sea posible, para la producción de biomasa de levadura. Se ha descubierto que se alcanza este objetivo suministrando aire estéril en exceso y manteniendo bajo el nivel de nutrientes. Si el medio contiene una concentración de carbohidratos superior al 0,1 %, puede haber fermentación. Por eso, los carbohidratos (en forma de molasas) se le suministran a un ritmo logarítmicamente creciente, de forma perfectamente acompasada al desarrollo de la levadura. Este procedimiento consigue rendimientos de 100 g de materia seca de levadura por cada 200 g de sacarosa utilizada. El mismo peso de carbohidratos rendiría, en cambio, en un fermentador de cervecía, 10 gramos de peso seco de levadura y 100 de etanol.

Levaduras salvajes

A las levaduras causantes de problemas en las fábricas de cerveza se les denomina salvajes. Algunas son razas de *Saccharomyces cerevisiae* o de otras especies del mismo género; otras pertenecen a los géneros *Candida*, *Pichia*, *Hansenula* o *Torulopsis*, por ejemplo.

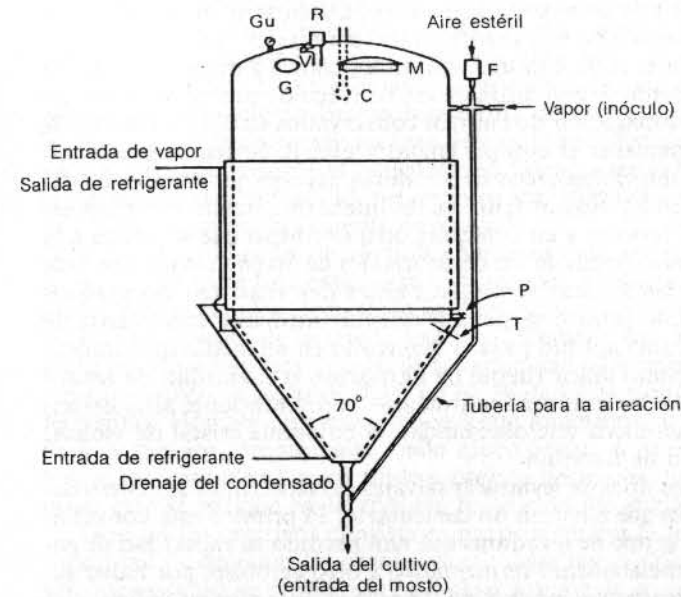


Fig. 7.4 Propagador de levadura moderno de 50 hl de capacidad. C, cabeza aspersora, para la limpieza; F filtro de aire secundario; G, mirilla de vidrio; Gu, indicador de presión; M, trampa; P, muestreo; R, válvula para liberar la presión o el vacío, con filtro esterilizador de aire; T, sonda térmica.

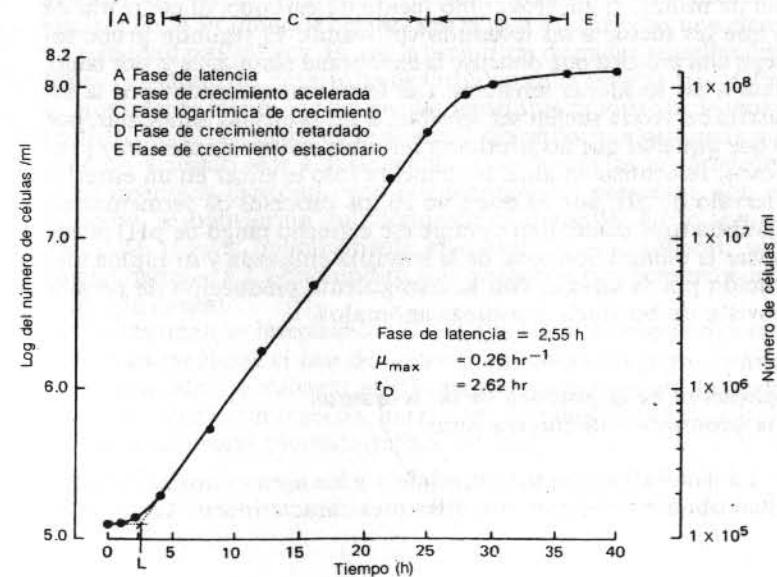


Fig. 7.5 Fases del desarrollo de la levadura en un cultivo discontinuo $\mu_{\max}$ es la velocidad máxima de crecimiento específico y t_D el tiempo de duplicación.

Muchas imparten a la cerveza bouquets y aromas anómalos, o turbidez difícil de eliminar y algunas producen velo en la superficie.

La eliminación, o el mantenimiento a niveles bajos, de las levaduras salvajes suele lograrse utilizando, cada 1-2 meses, un inóculo limpio, (exento de contaminación), conseguido probablemente mediante repropagación de cultivos conservados en el laboratorio. Se necesita mantener el equipo limpio y estéril. Se requiere efectuar controles microbiológicos de levaduras salvajes y bacterias contaminantes en los mostos fríos, en las líneas de suministro de aire estéril, en el inóculo y en cualquier otro producto que se añada a la cerveza. Para identificar las cepas salvajes de *Saccharomyces*, se suele recurrir a las técnicas serológicas antes descritas. Las no pertenecientes a este género, se pueden detectar mediante una batería de pruebas, como aptitud para el desarrollo en un medio que contenga lisina como única fuente de nitrógeno, o capacidad de resistir —mejor que las levaduras cultivadas— concentraciones altas del antibiótico actidiona (cicloheximida), el colorante cristal de violeta, o el sulfito de fuchsina.

Hay dos tipos de levaduras salvajes pertenecientes al género *Saccharomyces* que merecen un comentario. El primero está constituido por un grupo de levaduras que han perdido su capacidad de pasar de un metabolismo fermentativo a otro aeróbico, por haber sufrido diversas mutaciones. Estas levaduras, que ofrecen deficiencias respiratorias, sobreviven junto a las cultivadas y producen sustancias responsables de bouquets y aromas anómalos, entre ellas el precursor del diacetilo. Pueden reconocerse también por su incapacidad de utilizar el glicerol como fuente de carbono, al contrario de lo que les sucede a las levaduras cultivadas. El segundo grupo segrega una proteína que destruye la membrana plasmática y, por tanto, mata a las levaduras sensibles. Las levaduras utilizadas por la industria cervecera suelen ser sensibles a las proteínas zimocidas, por lo que aquellas que las producen resultan contaminantes muy peligrosos. Afortunadamente, la zimocida sólo es eficaz en un estrecho intervalo de pH, por lo que sólo en los procesos de fermentación continua (que mantienen siempre ese estrecho rango de pH) puede causar la eliminación total de la levadura cultivada y su rápida sustitución por la salvaje, con la consiguiente producción de cerveza provista de bouquets y aromas anómalos.

Aplicación de la genética de las levaduras a la producción de nuevas razas

La irradiación con luz ultravioleta y los agentes mutágenos permiten obtener levaduras con diferentes características. Las modifi-

caciones tienen lugar en virtud de lesiones al azar de los cromosomas, por lo que es raro que aparezca una característica nueva deseable, sin pérdida de otras preexistentes. La genética clásica es difícil de explotar en la levadura de cerveza, por la escasa tendencia de esta a producir ascosporas viables y la renuencia de los haploides a la fusión. Puede, sin embargo, lograrse, a veces, mediante la técnica de «rare mating». Así, por ejemplo, uno de los padres puede ser deficiente respiratorio, pero capaz de crecer en un medio que contenga, como única fuente nitrogenada, sales de amonio y el otro respiratorio suficiente, pero necesitado de la presencia de leucina en el medio. Ninguno de ellos podrá crecer en un medio carente de leucina y con glicerol como única fuente de carbono. En cambio, cualquier híbrido de ambos podrá hacerlo y será fácilmente reconocido, aunque haya sólo uno entre un millón, en una placa de petri.

La Figura 7.6 ilustra un ejemplo de «rare mating» y de un proceso denominado citoducción. Antes, se ha hecho mención a levaduras que segregan zimocidas. Una cepa útil para la elaboración de cerveza que la segregara tendría la ventaja de destruir cualquier levadura contaminante presente a lo largo de la fermentación. Una de las cepas parentales es una levadura de cerveza capaz de utilizar sales de amonio como única fuente de nitrógeno y con una deficiencia respiratoria asociada al citoplasma; de hecho, al DNA mitocondrial. La otra cepa parental es un haploide, con capacidad de producir zimocida, determinada por el RNA citoplasmático. Tiene también un gen que impide al núcleo de una célula híbrida fusionarse. Requiere además histidina para su desarrollo. El medio utilizado para la selección de la progenie está exento de histidina y sólo permite el desarrollo de células respiratorio-suficientes. Por cada 108 células utilizadas, se producen entre 5 y 180 cigotes y, en virtud de las dificultades genéticas a la fusión nuclear, algunos de los cigotes tienen núcleos idénticos a los de la levadura de cerveza, pero acumulan los genes citoplásmicos para la producción de zimocidas y la suficiencia respiratoria.

Otro método de manipular genéticamente las levaduras consiste en disolver las paredes celulares de las dos cepas parentales de que se parte, lo que se logra suspendiendo las levaduras en un estabilizador osmótico (una disolución de manitol, o más frecuentemente sorbitol) y digiriendo las paredes con una preparación enzimática de β glucoronidasa, procedente de la glándula digestiva del caracol Romano o con una preparación de β glucanasa, procedente del microorganismo *Arthrobacter luteus*. En un experimento, una de las cepas parentales era *Saccharomyces cerevisiae* incapaz de esporular, que fermentaba la maltosa (pero no la lactosa). El producto de la fusión de los esferoblastos (en presencia de polietilenglicol e iones calcio) fue un híbrido capaz de esporular y fermentar, tanto

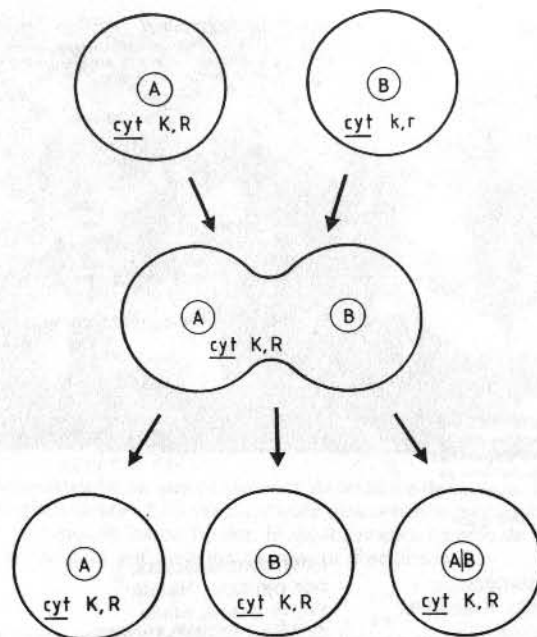


Fig. 7.6 Fusión de una cepa haploide de levadura obtenida en el laboratorio y una célula poliploide de cervecera para obtener una levadura de características especiales. El núcleo haploide (A) tiene un gen dominante que confiere la incapacidad del núcleo de fusionarse con otro de levadura y un gen recesivo que conlleva la exigencia de adenina e histidina en el medio. Entre los genes citoplasmáticos se encuentra uno que codifica la proteína zymocida y otro la normalidad respiratoria. La levadura de cervecera tiene genes nucleares dominantes que confieren capacidad de síntesis de adenina e histidina y genes citoplasmáticos recesivos para la deficiencia respiratoria (incapacidad de desarrollo en glicerol) y el carácter zimocídico. En un medio de glicerol exento de adenina e histidina crecerá una de cada millón de células en virtud de la fusión de los dos tipos. Los núcleos rara vez se conjugan. El resultado de la fusión celular incluye el tipo que figura en el centro de la línea inferior que tiene el núcleo de la levadura de cerveza y los genes citoplasmáticos de la normalidad respiratoria y el carácter zimocida.

la lactosa, como la maltosa. Las paredes del híbrido se restauraron por inmersión de los esferoplastos en un medio nutritivo solidificado, con un 3 % de agar.

Un tercer método utiliza una cepa en forma de esferoblasto para recibir el material acidonucleico de la cepa donadora, cuyas células se rompen y cuyos cromosomas se separan; mediante enzimas, se dividen los cromosomas en trozos cortos, que se incorporan lue-

go en lo que se denominan vectores de plásmidos. Los vectores suelen ser cromosomas circulares, presentes en bacterias como *Escherichia coli* o en el citoplasma de las levaduras. Los vectores penetran fácilmente en los esferoplastos y operan independientemente del complemento cromosómico de la célula receptora. Por ejemplo, la cepa receptora puede ser incapaz de crecer en ausencia de leucina y recibir del donador el material que lleva consigo el gen para la síntesis de este aminoácido; el receptor transformado será capaz de crecer en un medio carente de leucina.

Estas técnicas están siendo utilizadas para obtener levaduras de cerveza capaces de fermentar dextrinas, es decir productos de la degradación del almidón demasiado grandes para ser fermentados por las razas normales de la citada levadura. Conferir esta propiedad a una levadura significa dotarla de la capacidad de fermentar totalmente el mosto, en lugar de dejar un 20 % de los carbohidratos sin fermentar. Hoy por hoy, esto sólo se logra añadiendo al mosto un enzima fúngico, denominado amilo glucosidasa. A estos productos; se les denomina ligeros (*light o lite*); la normativa legal puede exigir que se indique en la etiqueta la adición del enzima.

Otro de los objetivos consiste en proporcionar a la levadura la capacidad de degradar las gomas constituidas por β glucanos, que son responsables de problemas en la clarificación de la cerveza. Estos enzimas se encuentran en algunos hongos y bacterias. Puede que los intentos de injertar el gen responsable de su síntesis en la levadura hayan tenido éxito, pero desgraciadamente no se ha logrado aún su expresión en un grado apreciable. También se han intentado insertar en la levadura de cerveza genes que le confieran una elevada actividad proteolítica, lo que le permitiría degradar aquellas proteínas causantes del desarrollo de turbidez en la cerveza fría. Ofrece igualmente interés lograr que las levaduras produzcan menores cantidades del precursor de la dicetona diacetilo, una sustancia que tiene un acusado olor a mantequilla. (Las levaduras no producen directamente la dicetona, sino que segregan un precursor que, en el medio, se transforma químicamente en diacetilo; luego son capaces de reducir químicamente el diacetilo —en general, sólo parcialmente— a 2,3-butanodiol, una sustancia prácticamente inodora e insípida).

En resumen, es interesante señalar que las levaduras se han modificando mediante el uso de vectores de plásmidos para dotarlas de la capacidad de elaborar productos típicos de los mamíferos, tales como agentes antivíricos, interferón, insulina y hormona bovina del crecimiento (Somatotrofina bovina).

Bacterias que contaminan el mosto y la cerveza

El mosto es un medio de cultivo, relativamente rico, pero se somete a ebullición y muy poco después se inocula con levadura. Durante la fermentación, el pH desciende de 5,3 a 4,1, se produce etanol hasta una concentración de 3-4 % p/v y descienden sustancialmente las concentraciones de azúcares, aminoácidos y vitaminas. La cerveza constituye, por tanto, un medio poco adecuado para el desarrollo de las bacterias; el número de géneros y especies que la contaminan ordinariamente es limitado. Al igual que las levaduras salvajes, las bacterias contaminantes provocan turbidez y generan olores y bouquets anómalos.

Las únicas bacterias Gram positivas que causan problemas graves en el ambiente de las factorías elaboradoras de cerveza son las bacterias ácido lácticas. Las ordinariamente encontradas sólo pertenecen a dos géneros: *Lactobacillus* y *Pediococcus*; las especies del género *Lactobacillus* tienen células en forma de bastoncillo; las del género *Pediococcus* son esféricas (Fig. 7.7). Desde un punto de vista fisiológico, las bacterias acidolácticas pertenecen a dos grupos: termófilas y mesófilas. Desde el punto de vista bioquímico, pueden dividirse también en las que producen ácido láctico como metabolito fundamental y las que rinden además diversos otros productos (entre ellos el ácido acético). En la Figura 7.8, aparecen unos cuantos microorganismos dotados de forma bacilar que pueden contaminar las preparaciones de levadura de cerveza.

Algunas factorías alemanas que se ajustan al espíritu de las Leyes de Pureza de la Cerveza se ven obligadas a descomponer el bicarbonato, no mediante la adición de ácidos minerales, sino estimulando el crecimiento de bacterias acidolácticas termófilas en la pasta y la producción de ácido láctico. De hecho, son numerosos los alimentos y las bebidas en las que se procura su acidificación por las bacterias; entre los ejemplos que cabe citar, se encuentran los quesos y el yoghurt, el whisky ácido americano, la col ácida, los encurtidos vegetales y el pan de masa acidificada. En la industria enológica, especialmente en Portugal, la condición semiespuma se logra merced al ataque por las bacterias acidolácticas del ácido málico del mosto de uvas, para producir ácido láctico y dióxido de carbono.

Las bacterias ácido lácticas representan una contaminación grave de la cerveza y producen cantidades importantes de metabolitos indeseables, entre los que se halla el precursor del diacetilo, responsable del aroma y bouquet a mantequilla. Son difíciles de erradicar, aunque a veces sorprende también lo difícil que resulta aislarlas y cultivarlas en el laboratorio. Para desarrollarse, una vez aisladas, precisan un medio neutro, rico en aminoácidos y vitaminas y, a ve-

Pediococcus
Cocos que suelen encontrarse en pares y en tetradas, inmóviles; de 0,8 a 1,0 μm de diámetro



Lactobacillus
Bastoncillos cortos o largos y delgados; células aisladas o en pares, inmóviles 1,0 x 5-120 μm



Acetobacter
Similar a las acetomonas, pero generalmente inmóviles



Acetomonas
Bastoncillos aislados, en pares o formando cadenas; algunas cepas son móviles 0,4-0,8 x 1,0-2,0 μm



0,4-0,8 x 1,0-2,0 μm

Zymomonas

Formas bacilares de mediana longitud y considerable diámetro, ocasionalmente dispuestas en rosetas; en los cultivos jóvenes, móviles



1,0-1,5 x 2,0-3,0 μm

Pectinatus

Bastoncillos con flagelos laterales, 0,7-0,8 x 2-32 μm



Enterobacteriáceas; por ejemplo, Klebsiella
Formas bacilares cortas, inmóviles 0,5-0,8 x 1-2 μm



Enterobacteriáceas; por ejemplo, Hafnia
Bacilos gruesos, células aisladas o formando cadenas; de formas muy variables (pleomórficas); inmóviles; 0,8-1,2 x 1,5-4 μm



Fig. 7.7 Tipos de bacterias encontradas en el mosto o la cerveza.

ces, una atmósfera abundante en dióxido de carbono. Una vez que han crecido resulta difícil, cuando no imposible, volver a adaptarlas a la cerveza.

Es probable que las bacterias Gram negativas de más interés en la industria cervecera sean las llamadas bacterias del mosto. Pertenecen a la familia de las Enterobacteriaceas, entre las que se encuentran muchas asociadas con la materia vegetal, o con el contenido del intestino, cuyo ejemplo más conocido es *Escherichia coli*. Existen dos grandes tipos entre las que se desarrollan en el mosto. El primero crece bien hasta que (debido a la actividad fermentativa de la levadura) el pH del medio desciende a valores de aproximadamente 4,4 y el alcohol alcanza tasas del orden del 2 %. En estas circunstancias, mueren géneros como *Enterobacter* y *Citrobacter*, aunque los productos de su metabolismo permanezcan en la cerveza, dando, a veces, origen a bouquets y aromas anómalos. El segundo tipo está constituido por bacterias que sobreviven a la fermentación

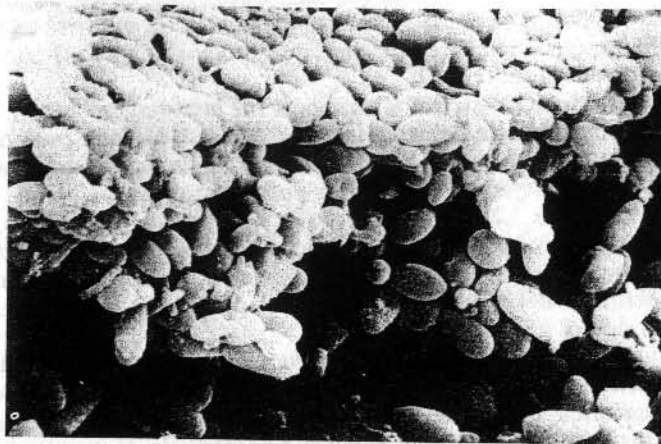


Fig. 7.8 Electronografía de una preparación de levadura de cerveza. Las células tienen una longitud de unas 8-10 micras. Puede observarse la contaminación con unas cuantas bacterias de forma bacilar. El recubrimiento amorfo de algunas levaduras está constituido por proteína de cerveza precipitada.

y que se recogen junto a la levadura, por lo que son luego transferidas a las siguientes fermentaciones. Estas bacterias (*Hafnia*, *Obsumbacterium*) tienen propiedades metabólicas similares a las de la levadura, pero producen sustancias responsables de bouquets anómalos, como cantidades excesivas de volátiles sulfurados. Pueden dar origen a pHs más elevados que los normales en la cerveza, limitar el crecimiento de las levaduras y, en general, modificar el ambiente, de modo que resulte favorable a su supervivencia.

Las bacterias ácido-acéticas son microorganismos acetificantes bien conocidos, comercialmente utilizados para la producción de vinagre a partir del vino, la cerveza no aromatizada con lúpulo y la sidra. En la cerveza expuesta al aire, oxidan el alcohol a ácido acético, lo que era frecuente en las cervezas de barril tradicionales; los progresos higiénicos han reducido la incidencia de este avinagramiento. Sin embargo, estas bacterias son contaminantes frecuentes de las tuberías que conectan los barriles al grifo de expedición, aunque a través de las tuberías circule cerveza de barril pasteurizada.

Entre otras bacterias Gram negativas que es frecuente encontrar en las fábricas de cerveza, se hallan las pertenecientes al género *Zymomonas*, común en la cerveza dulce de la Gran Bretaña. Produce cantidades excesivas de acetaldehído y sulfuro de hidrógeno, una mezcla desagradable, a la que originalmente se denominó «Burton stench» (olor nauseabundo de Burton). Durante los últimos años

se ha descubierto la presencia de *Pectinatus*, otro género en botellas de cerveza esterilizada por filtración, en las que crece en condiciones anaeróbicas y en las que produce numerosos metabolitos, entre los que se encuentra el ácido butírico. En algunas cervezas se hallan también pequeños números de microorganismo pertenecientes a otros géneros y, entre ellos, esporulados Gram positivos *Bacillus* y *Clostridium*. Puede tratarse de microorganismos casuales, que sobreviven pero no se desarrollan. En todo caso, los microbiólogos de las fábricas de cervezas deben estar preparados para encontrarse con contaminantes, por poco habituales, no esperados.

A veces es necesario realizar recuentos de bacterias en presencia de poblaciones muy numerosas de levaduras, lo que se logra haciendo uso de la incorporación al medio de crecimiento de actidiona (o cicloheximida) a 10 ppm que es un eficaz inhibidor del crecimiento de las levaduras. Para el recuento de grupos concretos de bacterias, se precisa desarrollar medios selectivos, es decir, medios que permiten el crecimiento de un grupo y no el de otros. Así, por ejemplo, las bacterias ácidoacéticas se desarrollan en un medio con etanol como única fuente de carbono, en el que no pueden crecer la mayor parte de las demás bacterias que se encuentran en las fábricas de cerveza. Estos medios selectivos se utilizan en forma sólida, en placas de petri, sobre cuya superficie se siembra la muestra, constituida por una suspensión bacteriana, procediéndose luego a contar las colonias desarrolladas, que constituyen un índice del número de células viables presentes en la muestra.

Control de la infección

La levadura utilizada para inocular el mosto de cervecería es un reservorio de infecciones importante. Algunos fabricantes limitan la infección bacteriana, lavando periódicamente la levadura con ácido mineral, generalmente a pH 2,5. En esta operación, resulta de importancia crítica el tiempo y la temperatura, pues de otro modo puede que no se destruyan las bacterias o que, por el contrario, muera también la levadura. Otros prefieren descartar la levadura cuando ya ha sido utilizada (por ejemplo) en unas 10-12 fermentaciones seguidas y sustituirla por un cultivo nuevo, propagado en el laboratorio.

El equipo de las fábricas de cerveza suele ser de acero inoxidable austenítico, que es de muy fácil limpieza. Se tiende a ir utilizando recipientes totalmente herméticos, por lo que se van eliminando las infecciones a partir del aire. La limpieza e higienización de depósitos y equipos de acero inoxidable está hoy razonablemente estandarizada. La secuencia utilizada consiste en comenzar lavando con agua, empleando cabezales giratorios que lanzan chorros de agua

Tabla 7.2 Propiedades de los componentes de las mezclas comerciales para la limpieza^a

	Poder disolvente de materia orgánica	Poder humectante (penetración de los detergentes)	Poder dispersante (mantenimiento en suspensión de material insoluble)	Poder de aclorado	Actividad germicida	Poder secuestrador de calcio (mantenimiento del carbonato en disolución)	Poder disolvente de calcio (disolución de sales de calcio en una disolu- ción alcalina)
Sosa cáustica	5	1	1	1	3		
Carbonato sódico	2	1	1	1	1		
Metasilicato sódico	3	3	4	3	2		
Ortosilicato sódico	3	2	4	3	3		
Fosfato trisódico	2	2	4	3	2		
Agentes humectantes		5	4	5			
Tripolifosfato sódico	2	1	3	2		3	
Hexametáfosfato sódico			4	2		4	1
EDTA						5	5
Gluconato sódico						5	3

^a Intensidad de las distintas propiedades expresadas en una escala en la que el máximo es 5. Las mezclas de sosa cáustica, metasilicato sódico, agentes humectantes y tripolifosfato sódico cubren la mayor parte de las exigencias. El EDTA y los gluconatos se incluyen en las mezclas necesarias para la eliminación de piedra de cerveza e incrustaciones en las superficies de calentamiento, el primero en disolución ácida y el segundo en disolución débilmente alcalina.

a presión elevada, o aspersores («alcachofas») fijos en los depósitos. Una vez que se ha dejado drenar el agua, se rocía con sosa cáustica caliente (generalmente con algo de hipoclorito sódico) como detergente esterilizante.

La sosa cáustica destruye eficazmente los microorganismos y es un excelente disolvente de proteínas, pero no es adecuada para disolver y mantener en suspensión las sales de calcio, por lo que puede ser necesaria la adición de varios polifosfatos, metasilicatos o gluconatos (Tabla 7.2). El hipoclorito es una fuente de cloro libre y, por tanto, un buen bactericida; mejora además el poder limpiador del detergente; sin embargo, el cloro libre es un peligroso agente de corrosión del acero inoxidable, si el pH de la disolución es neutro o ácido.

Algunas factorías utilizan sólo una vez el detergente bactericida y lo desechan luego; otras lo reutilizan y ajustan la concentración de sosa cáustica, que decae, especialmente si existe dióxido de carbono. Tras el tratamiento con detergente bactericida, se precisa lavar de nuevo con agua estéril y asegurar que se ha retirado toda la mencionada disolución de las paredes de las tuberías, los depósitos y los aparatos. Este agua de aclarado puede reutilizarse, empleándola para el primer lavado.

El costo en mano de obra es muy alto, por lo que muchas factorías, especialmente las de mayor tamaño, controlan automáticamente las secuencias de lavado y reciclaje. En estas operaciones, conocidas como limpieza *in situ* (Cleaning in Place, CIP), se utilizan microprocesadores.

Algunos de los recipientes lavados contienen dióxido de carbono y se hallan situados en cámaras frías, por lo que resultaría conveniente utilizar en ellos disoluciones de detergente bactericida frías, no basadas en la sosa cáustica. Alternativamente, en los recipientes que necesitan estar exentos de oxígeno libre, se puede utilizar nitrógeno en lugar de dióxido de carbono.

El control microbiológico exige una toma de muestras frecuente en numerosos puntos de la factoría. Para ello, se puede proceder a frotar las superficies a examinar con una torunda estéril. El crecimiento microbiano en el medio indica una superficie contaminada. Las muestras del mosto o la cerveza se pueden tomar abriendo grifos de muestreo, o pinchando con agujas hipodérmicas a través de septos de goma colocados en la superficie de las tuberías o depósitos.

Las fábricas de cerveza deben ser, y son con frecuencia, instalaciones con un elevado nivel de higiene y han de equiparse en este sentido a las mejores industrias lácteas.

Fermentación — fundamentos del proceso

El mosto - un medio de cultivo rico

El mosto aromatizado con lúpulo, en el que se inocula la levadura, es un medio rico (Tabla 8.1). Contiene carbohidratos asimilables, una amplia gama de aminoácidos y otras sustancias nitrogenadas simples, sales minerales, de las que forman parte calcio, magnesio, sodio, potasio, hierro, zinc, cobre, manganeso, cloruros, sulfatos, carbonatos y fosfatos. También contiene vitaminas, como la biotina, el ácido pantoténico, el inositol, la tiamina, la piridoxina y el ácido nicotínico.

La levadura necesita azúcares simples, aminoácidos, sales y vitaminas para crecer; también precisa esteroides, ácidos grasos no saturados, y oxígeno disuelto. Con excepción del oxígeno y algunas de las sales, la malta y los sucedáneos (si se utilizan) satisfacen todas esas necesidades. Los azúcares proporcionan energía y son utilizados en rutas biosintéticas; los aminoácidos se precisan para procesos de biosíntesis (especialmente de proteínas) y las sales y vitaminas desempeñan importantes papeles metabólicos. La síntesis de la membrana exige ácidos grasos no saturados, esteroides y oxígeno.

Consumo de sustancias por la levadura

La mayor parte de las sustancias presentes en el mosto difunden libremente a través de la pared de la levadura al plasmalema, aunque algunas (como las resinas, las proteínas y los polifenoles del lúpulo) tienden a adsorberse sobre la superficie externa de la pared celular. Las que llegan a la membrana plasmática la atraviesan fácilmente si son liposolubles y más lentamente si son hidrosolubles y no liposolubles. Existen tres métodos de acceso: difusión simple

Tabla 8.1 Composición típica del mosto

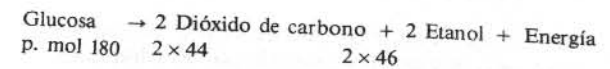
Sustancia	Cantidad (g l ⁻¹)
Fructosa	2.1
Glucosa	9.1
Sacarosa	2.3
Maltosa	52.4
Maltotriosa	12.8
Carbohidratos no fermentescibles	23.9
Nitrógeno total	0.8
Aminoácidos totales (nitrógeno)	0.30
Aminoácidos totales	1.65
Componentes fenólicos totales	0.25
Isoácidos α	0.035
Iones calcio	0.065

(la de los ácidos orgánicos no disociados, por ejemplo); difusión catalizada (como la de algunos azúcares) y transporte activo (como sucede con los aminoácidos, por ejemplo). Las dos primeras dependen de la existencia de un gradiente de concentración, pero la segunda supone una velocidad de penetración superior a la que el simple gradiente impone, posiblemente debido a su catalización enzimática. El transporte activo exige el consumo de energía, probablemente en forma de ATP, y existen pruebas de que en este mecanismo participan enzimas específicos, permeasas.

Una vez en el interior de las células, no todas las sustancias son utilizadas de inmediato; algunas permanecen durante pequeños períodos de tiempo en «pools» de almacenamiento. Los azúcares se metabolizan secuencialmente; la glucosa y la fructosa se consumen con gran rapidez; la maltosa más lentamente y finalmente la maltotriosa (la sacarosa es hidrolizada en la pared celular por la invertasa). Los aminoácidos se absorben secuencialmente; primero un grupo, del que forman parte el glutamato, la asparagina y la serina, luego otro (en el que se encuentran la histidina y la leucina) y finalmente, tras un apreciable retraso, los pertenecientes a un tercer grupo en el que se hallan la glicocola y el triptófano.

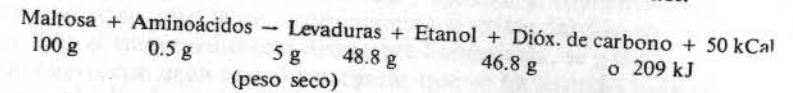
Metabolismo de la levadura

En el interior de la célula, la maltosa y la maltotriosa son hidrolizadas enzimáticamente a glucosa. La expresión más simple de la fermentación es la siguiente:

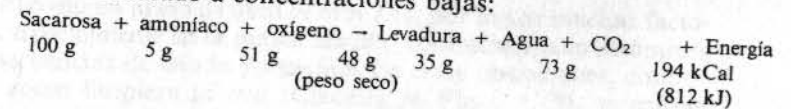


Esta ecuación, denominada de Gay-Lussac en honor del científico francés del mismo nombre, muestra que la glucosa rinde pesos casi iguales de dióxido de carbono y etanol, además de energía para su utilización en las actividades celulares. Desgraciadamente, no toda la energía liberada puede ser utilizada de un modo coordinado y parte se disipa en forma de calor, consideración que ofrece notable importancia al llevar a cabo fermentaciones a gran escala.

Lo que esta ecuación no tiene en cuenta es que la levadura puede estar multiplicándose y produciendo otros metabolitos, como ácido láctico, glicerol y ácido succínico, si bien en cantidades relativamente pequeñas. Teniendo en cuenta el crecimiento, la fermentación del mosto podría expresarse más realísticamente así:



Estos datos contrastan notablemente con los de la levadura de panadero operando en condiciones aeróbicas y manteniendo el substrato azucarado a concentraciones bajas:



Desde el punto de vista bioquímico, ambas situaciones implican inicialmente la misma ruta enzimática de degradación de la glucosa, la llamada ruta glicolítica o de Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) (Fig. 8.1). En términos simplificados, la glucosa se fosforila dos veces, utilizando el compuesto rico en energía ATP, para dar origen a una molécula altamente inestable, que se escinde dando dos moléculas de fosfato de triosa. Los fosfatos de triosa producidos aceptan fosfato inorgánico y almacenan energía suficiente no sólo para liberar ATP, sino también para producir fosfoenolpiruvato, que a su vez libera ATP, con lo que al rendimiento neto por molécula de glucosa usada es de 2 moléculas de ATP. El fosfoenolpiruvato constituye una encrucijada metabólica. En condiciones anaeróbicas, rinde fundamentalmente etanol y dióxido de carbono, como hemos visto, aunque una pequeña parte se transforma en acetilcoenzima A, una sustancia de notable importancia para el metabolismo celular, que participa en la síntesis de lípidos y ésteres y en la de aminoácidos.

La Figura 8.2 ilustra el ciclo de los ácidos tricarboxílicos (TCA), o ciclo de Krebs. El acetil CoA se combina con el ácido oxalacéti-

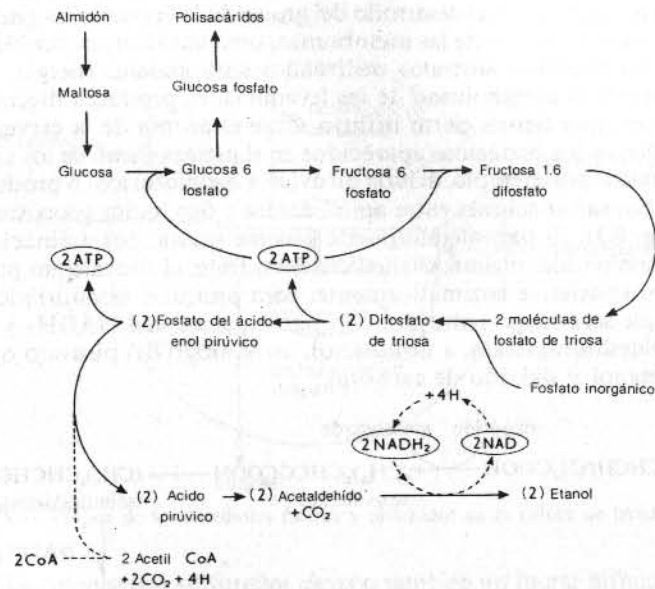


Fig. 8.1 Ruta glicolítica de (Embden-Meyerhof-Parnas) para el metabolismo de la glucosa.

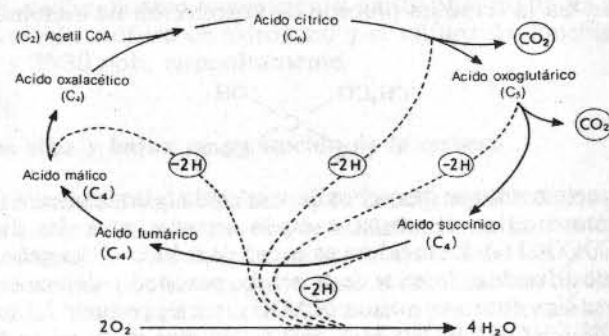


Fig. 8.2 Ciclo de los ácidos tricarboxílicos, o ciclo de Krebs, utilizado para el metabolismo aeróbico de los productos de la ruta glicolítica.

co, para dar ácido cítrico (lo que supone la unión a una sustancia tetracarboxada de otra de dos átomos de carbono para dar un producto hexacarboxado); por descarboxilación (pérdida de dióxido de carbono), se produce ácido oxaglutarico, que puede combinarse con un ión amonio para dar un aminoácido, el glutamato. Alternativamente, como otros oxoácidos puede reaccionar con un aminoácido, intercambiando con él el grupo carbonilo por el grupo amino. Los aminoácidos se sintetizan a través de estas reacciones de aminación y transaminación.

En un metabolismo plenamente aeróbico, ninguna de las dos moléculas de ácido fosfoenolpirúvico se transforma en etanol; su producto fundamental es Acetil CoA, para alimentar el ciclo TCA.

Aunque la complección del ciclo (como ocurre en el metabolismo anaeróbico) se vea dificultada por la síntesis de aminoácidos, la mayor parte del ácido oxoglutarico participa en una secuencia de ácidos orgánicos tetracarboxados, hasta que el ciclo se reinicie. Lo importante no es el desprendimiento de dos moléculas de dióxido de carbono, sino la liberación de energía. Estas reacciones tienen lugar en las mitocondrias y liberan hidrogeniones que, con la participación de coenzimas como el nicotinadeninucleótido (NAD) y los componentes de la cadena respiratoria, terminan siendo oxidados por el oxígeno molecular. La ruta oxidativa es compleja y en ella participan, entre otras sustancias, los citocromos, en cuya composición interviene el hierro. En la oxidación, se libera energía, que es eficazmente captada para la síntesis de ATP. La oxidación (respiración) de una molécula de glucosa por la levadura genera 28 moléculas de ATP (2 en la ruta de EMP, otras 2 directamente en el ciclo TCA y 24 en la oxidación terminal del NADH y compuestos similares) que pueden ser utilizadas para los procesos biosintéticos y el mantenimiento de la célula. Una molécula de glucosa, al ser químicamente oxidada, proporciona 2,9 MJ. Las 28 moléculas de ATP tienen una equivalencia energética de sólo 0,854 MJ. Por tanto, sólo se aprovecha un 29 % de la energía total; el resto se disipa en forma de calor. (Las células animales producen 38 moléculas de ATP por molécula de glucosa y son por tanto más eficaces, con un rendimiento energético útil del 40 %).

Si las levaduras (de cerveza o de panadero) disponen de exceso de oxígeno y glucosa, producen etanol, porque las mitocondrias no alcanzan pleno desarrollo en presencia de glucosa. Sin embargo, las mitocondrias comienzan a desarrollarse cuando la concentración de glucosa se reduce a un nivel bajo. Esta inhibición por el sustrato, especialmente por la glucosa, es frecuente tanto en las reacciones enzimáticas simples, como en las rutas metabólicas completas.

El metabolismo aeróbico es mucho más eficaz en términos energéticos que el anaeróbico. Requiere, por tanto, menos glucosa para

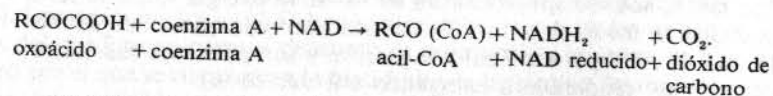
satisfacer las necesidades del desarrollo y el mantenimiento. No obstante, si la levadura encuentra condiciones adecuadas para metabolizar aeróbicamente el etanol, libera una cantidad de energía groseramente equivalente (por cada dos moléculas de etanol) a la diferencia entre la que rinde el metabolismo aeróbico y el anaeróbico de la glucosa.

No toda la glucosa se metaboliza por la ruta EMP; parte lo hace por una vía enteramente diferente, la ruta del monofosfato de hexosa, que no sólo libera energía, sino que produce también pentosas, importantes para la síntesis de nucleóticos y ácidos nucleicos. Algunas levaduras, como *Candida utilis* (la especie utilizada para la producción de biomasa para uso alimenticio), usan más eficazmente esta ruta que la levadura de cerveza y pueden desarrollarse sobre pentosas, tan eficazmente como sobre hexosas.

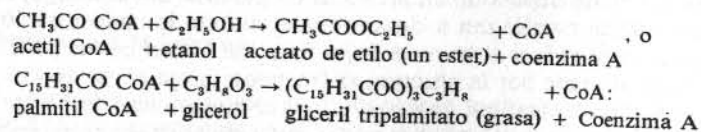
Tornando a otros metabolitos de la levadura, conviene señalar que si la glucosa fermenta en condiciones anaeróbicas (o si se bloquea la degradación de acetaldehído mediante la adición de iones bisulfito) el fosfato de triosa reacciona con NADH_2 , para rendir glicerol. Este hecho fue explotado por los alemanes, durante la guerra de 1914 a 1918, para la obtención de nitroglicerina, un poderoso explosivo. Es posible una reacción similar, con participación del NADH_2 , en la que se produce ácido láctico a partir de ácido pirúvico; su importancia relativa en el metabolismo de la levadura es escasa; asume mucho más interés en las células musculares y en las bacterias acidolácticas. El ácido succínico constituye también un metabolito de la levadura y es el producto de un TCA incompleto.

Producción de compuestos aromáticos

Ya hemos hecho referencia a los oxoácidos, el coenzima A y el NAD, que se sabe reaccionan enzimáticamente entre sí del siguiente modo:

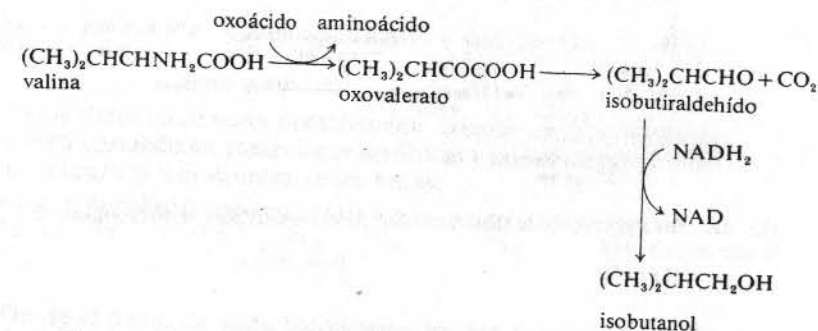


El acilCoA reacciona, luego, enzimáticamente con diversos alcoholes, por ejemplo:



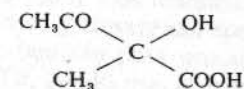
Se producen, por tanto, ésteres y grasas. Los ésteres son sustancias importantes para el desarrollo del aroma de la cerveza y las grasas lo son para la síntesis de las membranas, pero constituyen también, como los azúcares, sustratos utilizados para generar energía.

Durante el metabolismo de las levaduras, se producen diversos alcoholes, que tienen cierto influjo sobre el aroma de la cerveza. Proceden de los oxoácidos aparecidos en el metabolismo de los carbohidratos (por ejemplo, ácidos pirúvico y oxoglutarico) o productos de transaminaciones entre aminoácidos y oxoácidos preexistentes (Fig. 8.3). El oxovalerato puede generar valina, por aminación o transaminación enzimáticas. Alternativamente, el oxovalerato puede descarboxilarse enzimáticamente, para producir isobutirilaldehído, que será luego reducido, con participación del NADH_2 y la alcoholdehidrogenasa, a isobutanol, un análogo del piruvato que rinde etanol y dióxido de carbono.



Por esta vía, aparece una amplia gama de alcoholes, no sólo alifáticos sino también aromáticos.

Las dicetonas, como el diacetilo, son sustancias fuertemente aromáticas. En la levadura procede de la secreción de acetolactato al medio.



El acetolactato se descarboxila y se oxida químicamente (no enzimáticamente) en el mosto, o en la cerveza, para dar diacetilo ($\text{CH}_3\text{COCOCH}_3$). La levadura es capaz de reducir el diacetilo, a medida que difunde al interior de la célula, por medio de una reductasa que utiliza como coenzima NADH_2 , para producir 2,3 butanodiol ($\text{CH}_3\text{CHOHCHOHCH}_3$), casi totalmente desprovisto de aroma. El diacetilo, sin embargo, imparte a la cerveza un fuerte bouquet y aroma a mantequilla, a concentraciones de 1 ppm.

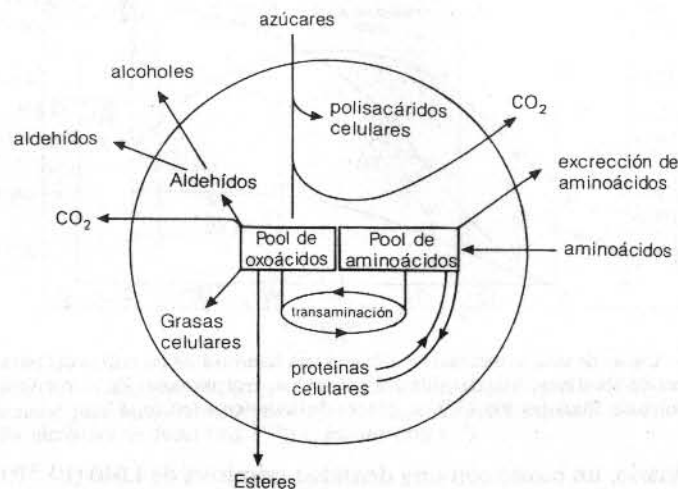


Fig. 8.3 Origen de los alcoholes ésteres y aldehídos en la célula de levadura.

Los compuestos sulfurados ejercen también un fuerte influjo sobre el sabor y el olor. Proceden fundamentalmente de compuestos sulfurados orgánicos del mosto, como el aminoácido metionina, o las proteínas que contienen restos sulfurados. En ausencia de fuentes orgánicas de productos sulfurados, estos compuestos aromáticos se forman a partir de los iones sulfato. El más simple de los volátiles azufrados es el sulfuro de hidrógeno, producido durante el crecimiento activo de la levadura.

Otro compuesto simple es el dimetilsulfuro ($\text{CH}_3)_2\text{S}$ que procede de la S-metilmetionina presente en el mosto de la malta. El umbral olfativo del sulfuro de hidrógeno y el sulfuro de dimetilo es de 10-30 y 20-30 ppb, respectivamente.

Levaduras altas y bajas; su separación de la cerveza

A comienzos del siglo diecinueve, en la mayor parte de los países en los que se fabricaba cerveza, se utilizaban levaduras «altas», que ascendían a la superficie del mosto hacia el final del proceso fermentativo y que podían recogerse, para su reutilización, mediante «espumado». Muchas de estas levaduras eran poco eficaces como agentes fermentativos, por lo que los cerveceros más avanzados se interesaron, cuando menos, en experimentar, con las levaduras empleadas en Munich, que tenían mayor capacidad fermentativa. Se trataba de cepas o razas que se hundían hasta el fondo del fermentador

al final del proceso fermentativo. De 1824 en adelante, se adoptaron las cepas de Munich, con un éxito espectacular, en Checoslovaquia, Dinamarca y los Estados Unidos de América. Al término del siglo, la fábrica de Carlsberg, en Copenhagen, había desarrollado métodos que le permitían aislar células individualizadas de levadura y crecer un clon de cultivo puro, suficiente para la inoculación de fermentadores de tamaño comercial. Esto ayudó a extender las levaduras «bajas» a todos los países que deseaban compartir la nueva tecnología.

La Gran Bretaña, al igual que Bélgica, Canadá y el área de Colonia, en Alemania, poseían excelentes cepas de levadura alta y continuaban usándolas. Sin embargo, hoy dominan las levaduras altas, tanto en Bélgica, como en Canadá, al igual que en Escocia. Aparte de la mayor hidrofobia superficial de las levaduras altas, las diferencias fundamentales entre ambos tipos se refieren a la temperatura de fermentación y al aroma de la cerveza producida. Las levaduras altas operan generalmente en el intervalo de temperaturas 15-22 °C y las bajas en el de 8-15 °C. La fermentación en el tope del intervalo de temperaturas es más rápida cuando se emplean levaduras altas. Las diferencias en el sabor y el olor se deben, en parte, a la levadura y, en parte, a la temperatura de fermentación. Algunos cerveceros del Reino Unido producen sus «lager» con levaduras altas, pero generalmente a temperaturas más bajas.

Con el desarrollo de los fermentadores de gran tamaño, especialmente los de tipo cilindrocónico, ha tendido a desaparecer la distinción entre levaduras altas y bajas. Aunque las levaduras altas pueden ser estimuladas a acumularse, al final de la fermentación, en el fondo cónico, (lo que facilita su separación de la cerveza, situada por encima) las «ales» suelen producirse, en estos tanques de fermentación cilindrocónicos, con levaduras altas y las lager, a temperaturas más bajas, con levaduras bajas.

Curso de las fermentaciones discontinuas

La fermentación produce etanol, dióxido de carbono y energía (calor incluido). Si se produce en cantidades muy sustanciales, el dióxido de carbono resulta extremadamente peligroso; alrededor de un 4 % (en volumen) de este gas en el aire puede causar asfixia en breve tiempo y sus tasas en las factorías de cerveza deberían reducirse al 0,5 %. Los tanques de fermentación herméticos son, por tanto, más seguros (excepto para aquellos que penetran en su interior) que las tinas abiertas; puede extraerse el dióxido de carbono de su interior y utilizarlo luego en etapas postfermentativas, aunque su purificación y compresión exige el empleo de un equipo ca-

ro. Si se utilizan recipientes abiertos, se necesita una ventilación eficaz de las cámaras de fermentación, para dispersar el gas. El dióxido de carbono es extremadamente denso, por lo que tiende a acumularse a la altura del suelo, o por debajo de él. El desprendimiento de dióxido de carbono suele además provocar pequeñas pérdidas de etanol.

El calor desprendido durante la fermentación supone a unos $0,6 \text{ MJ kg}^{-1}$ de (equivalente de) glucosa o $3,5 \text{ kJ l}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Para mantener una temperatura de fermentación seleccionada, resulta necesario que los tanques estén provistos de equipos de refrigeración adecuados. Pueden adoptar la forma de serpentines tubulares, situados en el interior de los fermentadores, o la de camisas huecas, en torno a sus paredes. El agente refrigerante puede ser agua, salmuera o alcohol. Los tanques suelen ser de acero inoxidable, pero todavía subsisten algunos de cobre o chapados en este metal.

El mosto aireado, procedente de los refrigeradores, no es completamente estéril y el pequeño número de bacterias que pudiera contener es capaz de multiplicarse rápidamente, si no se estimula el inicio de la fermentación, para que descienda el pH y se produzca etanol. La propia pasta de levadura constituye un reservorio potencial de bacterias supervivientes al proceso fermentativo; esta contaminación debe evitarse, en la medida de lo posible.

Es necesario que la levadura sea activa; que más del 85 % de sus células sean viables, a juzgar por su resistencia a la tinción con azul de metileno en una disolución tampón de pH 5. Lo que se precisa es que la levadura crezca y que fermente, tras el periodo de latencia más corto posible. En la práctica industrial las tasas de inoculación son altas ($1,5$ a $2,5 \text{ g}$ de producto prensado por litro), lo que representa de un 20 a un 25 % de la levadura recolectada de una partida de mosto fermentado de volumen igual al inoculado. Este inóculo sólo se multiplica por un factor de 4-5, que equivale a que cada una de las células se divida 2-3 veces, por gemación.

La fermentación de las «ale» utilizando levadura altas se lleva a efecto con el mosto a una temperatura inicial de $15-16^\circ\text{C}$, que va subiendo lentamente, a un ritmo controlado por medio de los serpentines o camisas de refrigeración, hasta que, a las 36 horas, ha alcanzado un valor de $20-25^\circ\text{C}$. La actividad de la levadura se evidencia por el acúmulo de espuma en la superficie y por el desprendimiento de dióxido de carbono. Luego se incrementa progresivamente la intensidad de la refrigeración para rebajar la temperatura a unos 17°C , a las 72 horas (Fig 8.4). Durante las últimas 10 horas, apenas si se produce fermentación y la levadura asciende a la superficie, en las tinas de fermentación tradicionales, de la que retira mecánicamente o se aspira y se almacena a bajas temperaturas tras su filtración para recuperar la llamada «cerveza de restos».

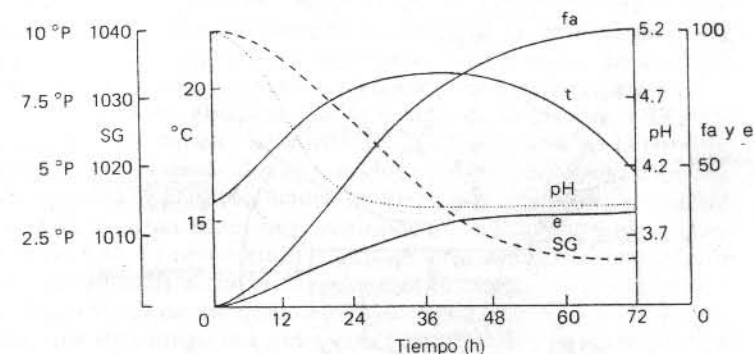


Fig. 8.4 Curso de una fermentación alta con una levadura de las utilizadas para la fabricación de «ale»; SG, densidad del mosto; t, temperatura; Fa, contenido en alcoholes de fúsel (en mg l^{-1}); e, contenido en ésteres (en mg l^{-1}).

De ordinario, un mosto con una densidad primitiva de 1.040 (10°P) se fermenta hasta una densidad de 1.008-1.010 ($2-2,5^\circ\text{P}$).

El equipo tradicionalmente utilizado para una fermentación destinada a la obtención de ale estaba constituido por una tina, de base circular o cuadrada, de madera, de una capacidad de 50 a 200 hl y una profundidad de 2-4 m. Los tanques de fermentación más modernos son de acero inoxidable y para facilitar la limpieza *in situ* suelen ser cerrados, herméticos. Su capacidad suele oscilar entre los 150 y los 500 hl; su sección es rectangular y la profundidad alcanzada en ellos por el mosto es de 3 a 5 m.

En la Gran Bretaña se suele utilizar el propio tanque de fermentación como instrumento de medida para establecer los impuestos a pagar, por lo que en la pared del mismo se sitúa una regleta que indica la distancia del fondo a la superficie del mosto y se computa su volumen basándose en el calibrado previo del tanque de fermentación. El impuesto que se paga es proporcional al producto del volumen, o densidad, por el extracto del mosto —por ejemplo 10°P — y no por el contenido alcohólico de la cerveza finalmente elaborada.

Las fermentaciones «lager» se llevaban tradicionalmente a cabo en recipientes abiertos, pero hoy casi todo el «lager» se elabora en tanques de fermentación cerrados y herméticos, bien de iguales características a las descritas para la fermentación de las «ale» o bien en tanques cilíndricos de gran tamaño. El mosto aireado llega al fermentador a $7-11^\circ\text{C}$ y, al igual que en la elaboración de ale, se inocula con levadura, bien en las tuberías que conducen el tanque de fermentación, bien en este mismo. Como la temperatura utilizada es más baja, la fermentación es más lenta. Una fermentación con levadura baja suele durar de 8 a 10 días. Comienza con

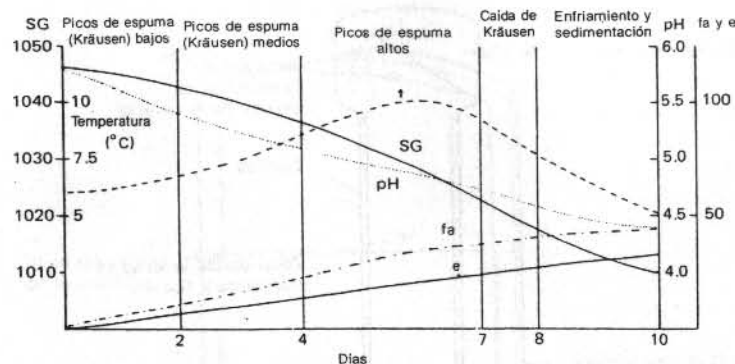


Fig. 8.5 Curso de una fermentación baja tradicional con una levadura de las utilizadas para la elaboración de «lager», SG, densidad del mosto; t, temperatura; Fa alcoholes de fúsel (mg l^{-1}); e, ésteres (mg l^{-1}).

una ligera elevación de la temperatura del mosto, cuidadosamente controlada mediante el uso de los serpentines o la camisa de refrigeración, hasta un máximo de 10-15 °C. Este proceso tarda en completarse de 3 a 5 días. La actividad fermentativa se evidencia por el acúmulo de espuma sobre la superficie del mosto y el desprendimiento de dióxido de carbono. La espuma puede adquirir un aspecto similar al de la coliflor y suele denominarse «kräusen». Durante el resto de la fermentación, se reduce la temperatura mediante el empleo de los elementos refrigerantes del tanque de fermentación. El kräusen se hunde y la levadura comienza a acumularse en la base del fermentador (Fig. 8.5). En la elaboración tradicional de lager, el cervecero retiene en la cerveza parte del azúcar fermentescible. Así, en un mosto lager de densidad 1.044 (11 °P) la fermentación primaria suele rebajar ese valor a 1.011. En el proceso denominado de guarda, el mosto fermenta por completo.

Fermentación continua

Existen métodos de fermentación continua del mosto patentados desde hace unos 80 años. Si se hubiera dispuesto de los materiales y los métodos de construcción y de esterilización modernos, varios hubieran resultado útiles. Entre 1959 y 1962, se introdujeron dos métodos de fermentación continua. Uno de ellos emplea una serie de tanques provistos de agitadores (Fig. 8.6); en el primero de ellos, se deposita la levadura y se le alimenta con un flujo continuo

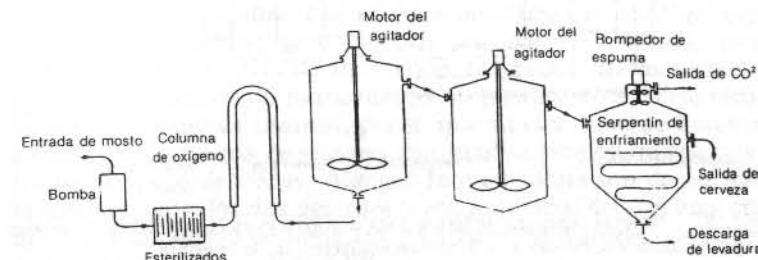


Fig. 8.6 Sistema continuo de fermentación empleando dos tanques con agitadores, en cascada.

de mosto; la levadura fermenta el mosto, que pasa al segundo depósito. El grado en que el mosto es fermentado depende, (i) de la temperatura, (ii) del tiempo de residencia del mosto en el tanque, y (iii) del extracto del mosto. En cada tanque de la cadena, se establece un equilibrio si los contenidos han sido bien mezclados y la levadura se ha inoculado sólo una vez. Si el mosto tenía una densidad de 1.040, al salir del primer tanque su densidad debe ser de 1.020 y la población de levaduras del orden de 30×10^6 células ml^{-1} y a la salida del segundo de 1.010 y 40×10^6 , respectivamente. La densidad y los recuentos dependen de la velocidad de flujo y del extracto primitivo del mosto. El establecimiento de un reciclaje continuo de la levadura en el primer tanque influye acusadamente sobre la fermentación, de modo que, para alcanzar los mismos valores de equilibrio, se necesitará establecer un flujo de mosto más alto. En la práctica, el tiempo total de permanencia en el sistema multitank es de unas 24-30 horas. Fermentadores en cascada, de esta naturaleza, se utilizaban, hasta hace poco, para la producción de casi toda la cerveza elaborada en Nueva Zelanda. En la Gran Bretaña, se establecieron en 4 ó 5 factorías, pero han sido abandonados. Resultaban más caros que los modernos tanques para la fermentación discontinua. Uno de estos sistemas sufrió una infección por una levadura salvaje, secretora de zimocida que, operando en condiciones de pH óptimo y constante, destruyó toda la levadura inoculada y dominó el sistema. En algunos casos, se presentaron también problemas relacionados con un excesivo crecimiento de la levadura.

Otro tipo de fermentador continuo incluye un tanque vertical cilíndrico, o torre, por cuyo fondo penetra el mosto estéril impulsado por una bomba (Fig. 8.8). El tanque se inocula con una levadura de gran proclividad a la sedimentación, pero cuyos agregados son defloculados en la base del fermentador, por la elevada concentra-

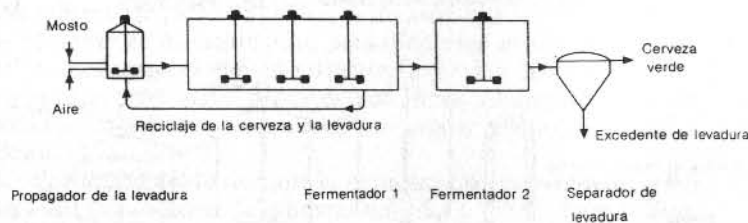


Fig. 8.7 Sistema continuo de fermentación utilizado en Nueva Zelanda con tres tanques agitados, en cascada y con recirculación de la levadura.

ción de azúcares del mosto en ese punto. Aunque en el recipiente se da un cierto grado de mezcla del contenido, el flujo ascendente es sustancialmente laminar. Y así, el contenido, a una altura de 3 m puede ser, por ejemplo, equivalente al de un tanque de fermentación discontinua a las 24 horas, en tanto que a 6 m de altura resulta similar al de un tanque de fermentación discontinua al cabo de 2 días, etc. El flujo se ajusta de manera que, cuando el mosto alcanza el extremo superior de la torre, haya fermentado hasta el grado requerido. A medida que la fermentación progresa, la levadura recupera sus propiedades floculentas y tiende, en consecuencia, a sedimentar contra el flujo ascendente del mosto. En el extremo superior del cilindro, se sitúa un dispositivo de decantación, provisto de una superficie inclinada, al objeto de facilitar la separación de la levadura y la obtención de una corriente de cerveza sustancialmente exenta de levadura, para ser sometida a los tratamientos postfermentativos.

Una torre típica de esta naturaleza tenía unos 9 m de altura total, alrededor de 8 al dispositivo de decantación; su diámetro era de unos 2 m; su capacidad total operativa era de unos 65 hl y su producción podía alcanzar unos 65 hl hora, lo que equivale a un tiempo de residencia de 4 horas, aunque para conseguir una cerveza que pudiera compararse razonablemente con la obtenida en procesos de fermentación discontinua, resultaba necesario duplicar el tiempo de residencia. El promedio de levadura prensada producido era de $1,1 \text{ kg hl}^{-1}$, un valor muy similar al obtenido en una fermentación discontinua. En algún momento, se llegó a elaborar por estos sistemas continuos de torre algo así como el 4% de toda la producción de cerveza de la Gran Bretaña. Sin embargo, resultaba difícil obtener un aroma que reprodujera el de las cervezas fabricadas por sistemas discontinuos, especialmente las de tipo lager. Se presentaron problemas de infección, especialmente con bacterias acidolácticas y existía un período particularmente peligroso, que se extendía a lo largo de las 2-3 primeras semanas hasta alcanzar algo

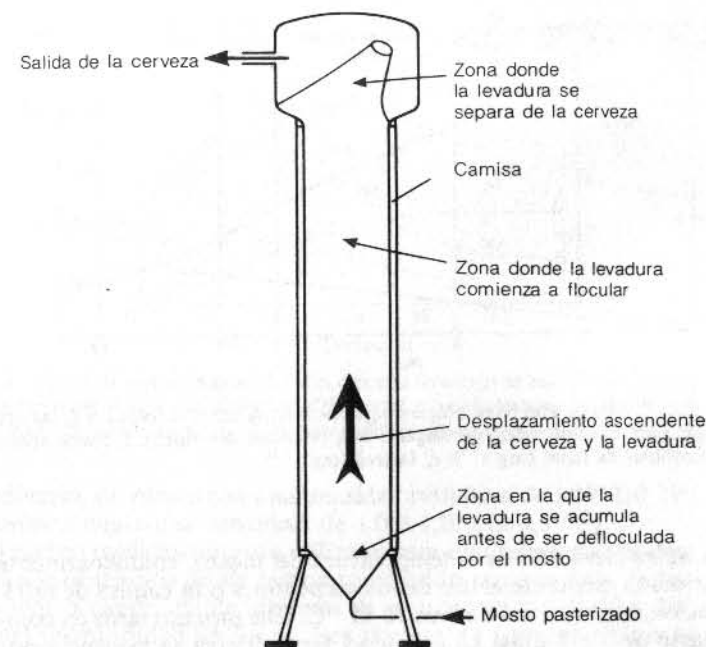


Fig. 8.8 Sistema continuo de fermentación utilizando un reactor de torre y una levadura muy tendente a la sedimentación.

similar a un equilibrio. Resultaba posible operar un fermentador durante 6-9 meses sin necesidad de proceder a su limpieza, pero no resultaban rentable en comparación con los métodos discontinuos. Estos sistemas han sido, hoy abonados excepto para la producción de vinagre, en virtud de su escasa rentabilidad, los problemas relacionados con el aroma, el funcionamiento durante las dos o tres primeras semanas y las infecciones.

Progresos recientes en el diseño de fermentadores

El uso de fermentadores herméticos de gran tamaño tampoco es nuevo. Ya existían tanques de fermentación de acero inoxidable de 11.500 hl antes de 1960, pero no estaban diseñados para la limpieza *in situ* (CIP). A partir del mencionado año, se han diseñado y construido fermentadores de acero inoxidable con las siguientes características: (i) sistemas automáticos de limpieza *in situ* (ii) co-

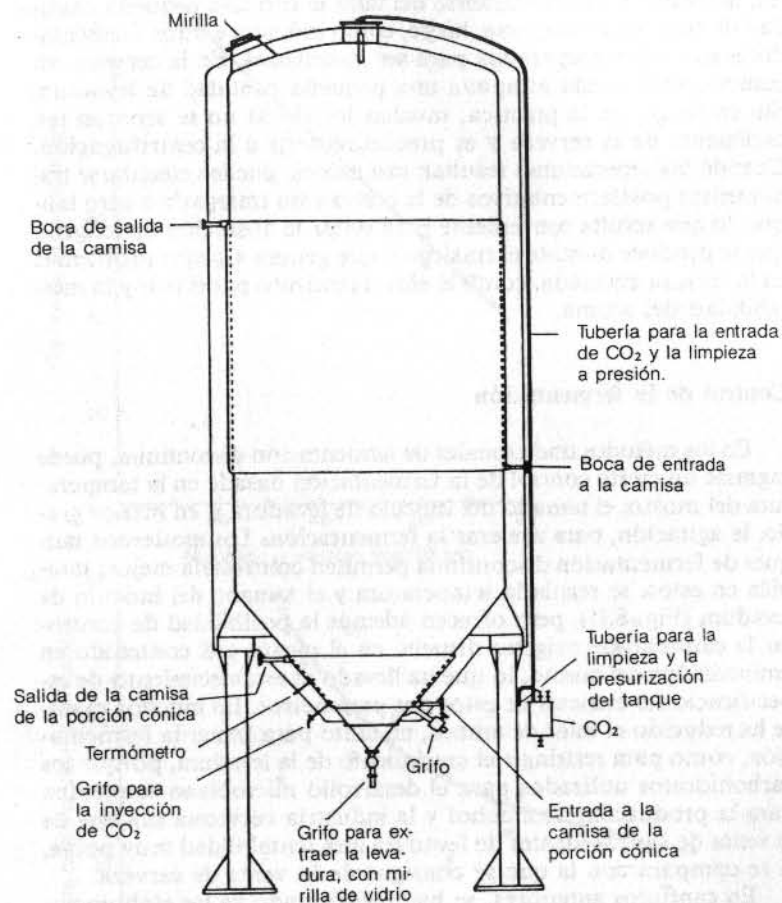


Fig. 8.9 Tanque de fermentación y maduración cilíndrico-cónico.

rrientes de mezcla autogeneradas, (iii) control de temperatura mediante camisas de refrigeración, (iv) bases que estimulan la sedimentación de la levadura y (v) recogida de dióxido de carbono. Es probable que los que hayan alcanzado mayor éxito sean los fermentadores cilíndrico-cónicos de 100 a 4.800 hl de capacidad. Tienen una base cónica aguda, con un ángulo de 60 a 75 ° (Fig. 8.9), una altura de hasta 20 m y un diámetro de hasta 10,5 m. Suelen ser de acero inoxidable laminado en frío, cuya superficie resulta de limpieza particularmente fácil.

No todos los grandes tanques de fermentación son de forma cilíndrico-cónica; algunos son cilindros, anchos y de poca altura (7,5 m de diámetro y 12 de altura) con una base ligeramente inclinada. Estos tanques de fermentación no pueden refrigerarse fácilmente por medio de camisas, por lo que su contenido se bombea a través de una tubería de refrigeración auxiliar, provista de un cambiador de calor de placas. Algunos fermentadores son de un tipo intermedio entre los dos descritos y están dotados de una base cónica, con un ángulo de unos 155 ° y tienen un diámetro de 8,5 m y una altura de 9 m (Fig. 8.10).

La idea fundamental que ha llevado a la introducción de estos fermentadores es la de que su costo es sólo un 30-37 % superior al de otro de la mitad de volumen. El cociente entre el costo de dos fermentadores, de distinto tamaño, se aproxima al de su volumen elevado a la potencia 0,65. Presentan, sin embargo, algunos inconvenientes. Sus superficies son pequeñas, si se comparan con las de recipientes de menor volumen. Por consiguiente, la velocidad de enfriamiento es lenta -por ejemplo de $0,5\text{ }^{\circ}\text{C h}^{-1}$, o aún más baja. El recurso a la circulación a través de las camisas de refrigeración de líquidos a muy baja temperatura puede provocar la formación de hielo en el interior del tanque, en las proximidades de la camisa, aún cuando la temperatura del contenido del mismo sea de 10 °C. Otro de los inconvenientes que presentan es el de que su capacidad le permite acomodar varias partidas de mosto, sólo algunas de las cuales han sido inoculadas con levadura. Su relleno y su vaciado resultan lentos y mantienen almacenados grandes volúmenes, lo que sólo resulta práctico cuando se trata de una factoría que elabora una o más marcas de gran venta; sin embargo, como contienen grandes volúmenes de líquido, su temperatura se ve poco afectada por la del ambiente; estos tanques de fermentación se pueden situar en el exterior de la factoría, estén expuestos a temperaturas tropicales o a ambientes árticos.

En los tanques muy altos, se producen, durante la fermentación, corrientes fuertes; una burbuja de dióxido de carbono desprendida en la base de los mismos, donde la presión hidrostática es elevada, inicia un rápido ascenso a la superficie, que puede representar un recorrido de 20 m. Esto propicia el desplazamiento, hacia arriba, del mosto, excepto en las zonas periféricas, en las que el desplazamiento del mosto se produce en sentido descendente, por el efecto de las camisas refrigerantes. Las intensas corrientes del mosto aceleran la fermentación, que en el caso de las «ale» suele haberse completado en no más de tres días y en el de las «lager» en 3-6 días, según sea la temperatura a que el proceso transcurre.

Al final de la fermentación, es conveniente arrastrar la levadura, trátase de una cepa alta o baja, al cono, que se mantiene frío

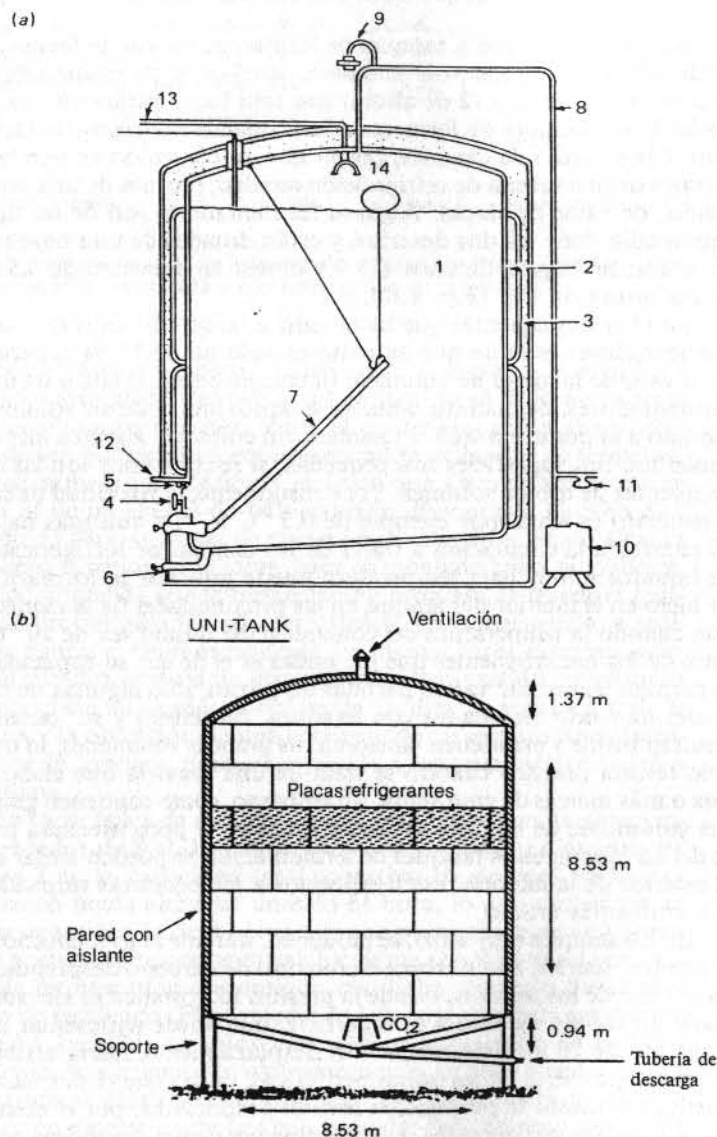


Fig. 8.10 a. Tanque de fermentación de gran tamaño, para ser colocado a la intemperie (USP 3, 374 y 726). 1. Tanque; 2. Camisa de enfriamiento; 3. Espuma de resina sintética; 4. Trampilla para penetrar en su interior; 5. Grifo para drenaje de cerveza; 6. Tubería para llenado con cerveza; 7. Tubería para vaciado de cerveza; 8. Tubería para la eliminación de gases; 9. Dispositivo para impedir el efecto sifón; 10. Válvula reguladora de presión; 11. Dispositivo para impedir el vacío; 12. Termómetro y medidor de la altura alcanzada por el líquido; 13. Tubería para el suministro de agua y detergente; 14. Aspersor de agua y detergente. b. El unitank, un fermentador discontinuo o tanque de guarda.

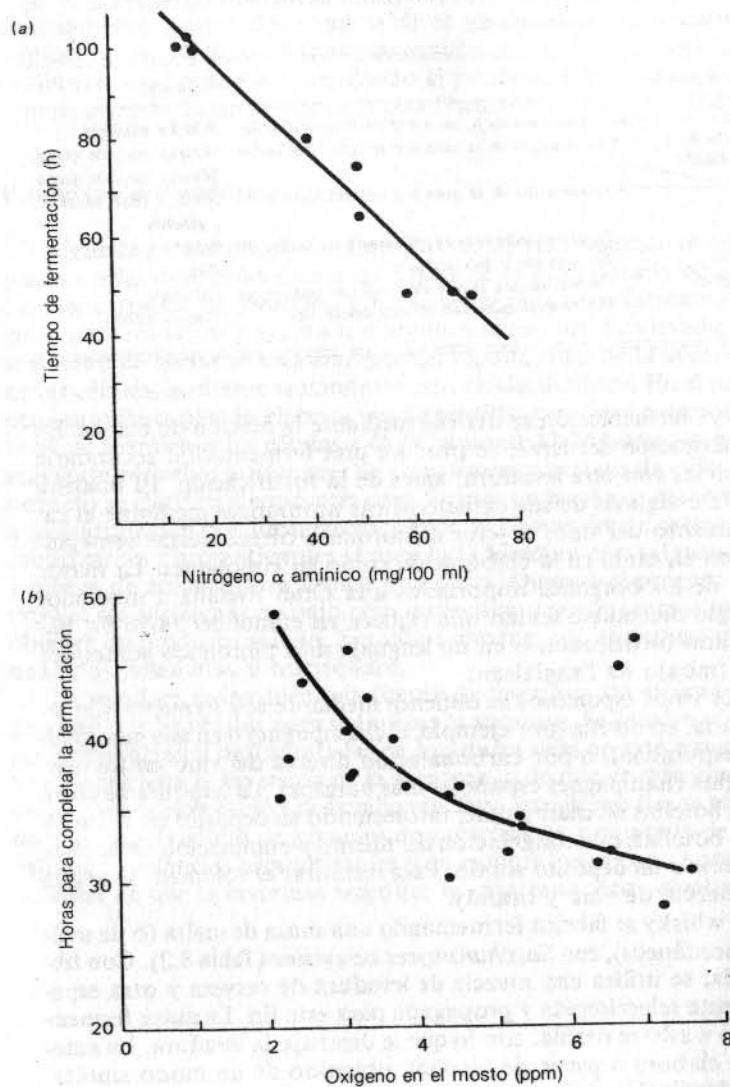
gracias a una camisa de refrigeración propia. En condiciones ideales, la levadura puede extraerse del tanque con una pequeña cantidad de cerveza y trasarse, luego, como inóculo, a otros fermentadores que estén preparados para ser inoculados. En la cerveza, en cambio, sólo queda atrapada una pequeña cantidad de levadura. Sin embargo, en la práctica, muchas levaduras no se separan tan fácilmente de la cerveza y es preciso recurrir a la centrifugación. Cuando las separaciones resultan razonables, pueden efectuarse tratamientos postfermentativos de la cerveza sin trasarla a otro tanque, lo que resulta conveniente para evitar la absorción de oxígeno que se produce durante el trasiego y que genera algunos problemas en la cerveza envasada, como el enturbiamiento por el frío y la inestabilidad del aroma.

Control de la fermentación

En los métodos tradicionales de fermentación discontinua, puede lograrse un cierto control de la fermentación basado en la temperatura del mosto, el tamaño del inóculo de levadura y, en menor grado, la agitación, para acelerar la fermentación. Los modernos tanques de fermentación discontinua permiten controlarla mejor; también en estos, se regula la temperatura y el tamaño del inóculo de levadura (Fig. 8.11), pero ofrecen además la posibilidad de controlar la cantidad de oxígeno disuelto en el mosto y el contenido en aminoácidos del mismo, lo que ha llevado al establecimiento de especificaciones estrictas de estos dos parámetros. En muchos casos, se ha reducido el valor de ambos, no tanto para frenar la fermentación, como para restringir el crecimiento de la levadura, porque los carbohidratos utilizados para el desarrollo microbiano se pierden para la producción de alcohol y la industria cervecera obtiene de la venta de sus excedentes de levadura una rentabilidad muy pobre, si se compara con la que se consigue de la venta de cerveza.

En capítulos anteriores, se han mencionado ya las elaboraciones de alta densidad. En los fermentadores cilíndricos, el tiempo de fermentación aumenta un 20-25 % al incrementar en un 50 % la concentración del mosto. Por tanto, desde el punto de vista del tiempo de utilización de los fermentadores, resulta muy conveniente fermentar mostos de alta densidad. Este procedimiento ofrece ventajas adicionales relacionadas con la cocción y el enfriamiento del mosto.

En la elaboración de algunas cervezas, denominadas ligeras o «lite», se fermentan virtualmente todos los carbohidratos del mosto, en lugar de sólo el 70-80 %, lo que suele conseguirse mediante la adición de amiloglucosidasa fúngica al mosto en fermentación.



Durante el curso de ésta, las dextrinas se degradan, bajo la acción del enzima, a azúcares fermentescibles. Se alcanzan así densidades finales 1.000, o aún más bajas. En la práctica, este sistema alarga un día más el período de fermentación.

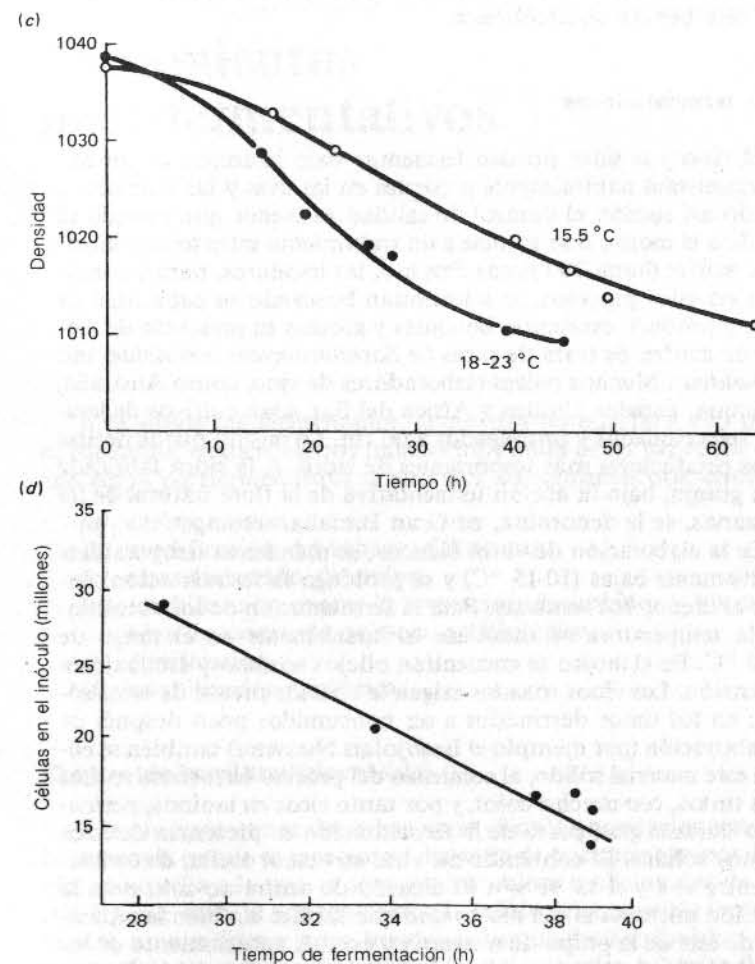


Fig. 8.11 Relación entre los parámetros de fermentación en un tanque para la fermentación discontinua; variación con el tiempo, (a) del nitrógeno α amínico; (b) del oxígeno disuelto en el mosto; (c) de la densidad y (d) del número de células inoculadas (10^6 ml^{-1}).

Esta cerveza resulta ideal para su utilización en mezclas con bebidas refrescantes (shandies) envasadas, con un contenido en alcohol de alrededor de un 4,5 %; la cerveza se mezcla con hasta 9 volúmenes de limonada, o ginger ale, dando un porcentaje final de eta-

nol del 0,45 v/v por lo que, a efectos legales y comerciales, se considera una bebida no alcohólica.

Otras fermentaciones

El vino y la sidra pueden fermentar bajo la acción de los microorganismos naturalmente presentes en las uvas y las manzanas; cuando así sucede, el control de calidad es menor que cuando se esteriliza el mosto, o se somete a un tratamiento intenso con dióxido de azufre (hasta 200 ppm). Por eso, las levaduras, para ser utilizadas en estos procesos, se seleccionan buscando su capacidad de crecer y producir excelentes bouquets y aromas en presencia de dióxido de azufre. Se trata de razas de *Saccharomyces cerevisiae*, var. *ellipsoideus*. Muchos países elaboradores de vino, como Australia, Alemania, Estados Unidos y Africa del Sur, usan cultivos de levadura seleccionados y propagados a tal fin. Lo mismo puede decirse de los productores más importantes de sidra. A la sidra fabricada en la granja, bajo la acción fermentativa de la flora natural de las manzanas, se le denomina, en Gran Bretaña, scrumpy.

En la elaboración de vinos blancos, se mantienen temperaturas relativamente bajas (10-15 °C) y se prolonga la fermentación, durante al menos dos semanas. Para la fermentación de los vinos tintos, la temperatura se mantiene ordinariamente en el rango de 20-30 °C. En el mosto se encuentran ollejos semillas y escobajo en suspensión. Los vinos rosados exigen la retirada precoz de estos sólidos; en los tintos destinados a ser consumidos poco después de su elaboración (por ejemplo el Beaujolais Nouveau) también se elimina este material sólido, al comienzo del proceso fermentativo. Los vinos tintos, con mucho color, y por tanto ricos en taninos, permanecen durante gran parte de la fermentación en presencia de estos residuos sólidos. El contenido del vino en etanol oscila, de ordinario, entre el 8 y el 13 % v/v. El dióxido de azufre no sólo evita la infección microbiana del mosto sino que facilita también la separación de éste de la pulpa de manzana y evita el pardeamiento de los vinos blancos. Los mejores mostos son los que se separan fácilmente de la pulpa, los llamados mostos de flujo libre. Los que requieren utilizar la prensa se emplean para elaboraciones de calidad inferior, con frecuencia destinadas a ser destiladas. El brandy (Tabla 8.2) se obtiene por destilación de los mejores vinos; por destilaciones más burdas, de vinos de calidad inferior, se obtienen aguardientes u orujos, más ricos en productos distintos del etanol (los llamados aceites de fusel).

Se denominan vinos fortificados aquellos a los que se ha añadido etanol puro, o brandy. Es un ejemplo bien conocido el del opor-

Tabla 8.2 Base de bebidas con contenidos alcohólicos superiores al 20 %, en términos de volumen

Materia prima	Tratamiento	Producto
Cebada	Fermentación de la pasta o el extracto, destilación	Whisky irlandés
Cebada malteada	Fermentación de la pasta o el extracto, destilación	Whisky esc., de malta
Maíz	Fermentación de la pasta o el extracto, destilación	Whisky esc., de grano
		Alcohol para wodka y ginebra
Arroz	Fermentación de la pasta o el extracto, sin destilación	Sake
Moladas	Fermentación y destilación	Ron
Manzanas	Fermentación para obtener sidra, destilación para obtener	Calvados
Uvas	Fermentación para obtener vino, destilación	Brandy, orujo

to, cuya fermentación se detiene mediante la adición de etanol. En la elaboración del jerez, se produce una fermentación secundaria compleja, con otra levadura, antes de la fortificación. El madeira adquiere algunas de sus características aromáticas mediante el calentamiento del vino; el jerez californiano ofrece ciertas semejanzas con él, tanto en la elaboración como en el bouquet. La mayor parte de los borgoñas importados a la Gran Bretaña a mediados del siglo diecinueve tenían una riqueza en etanol del 14-16 %; habían sido fortificados, o en un lenguaje más pintoresco sometidos a un trabajo «a l'anglaise».

Los vinos espumosos se obtienen mediante una fermentación secundaria, en botella (por ejemplo, el champagne) o en tanques (Saurmur espumoso), o por carbonatación directa del vino en los tanques (los champagnes españoles más baratos). La levadura se retira de las botellas de champagne, favoreciendo su depósito en el cuello de las botellas, por congelación del mismo y eliminación de la levadura como un depósito sólido. Para restaurar el volumen, se añade una mezcla de vino y brandy.

El whisky se fabrica fermentando una masa de malta (o de malta y sucedáneos), con *Saccharomyces cerevisiae* (Tabla 8.2). Con frecuencia, se utiliza una mezcla de levadura de cerveza y otra especialmente seleccionada y propagada para este fin. La masa fermentada (o wash) se destila, con lo que se destruye la levadura. La ginebra se elabora a partir de alcohol, obtenido de un modo similar. En la destilación de la ginebra, no se permite la presencia de aceites de fusel en el producto final. El alcohol de beber se redestila de forma que los vapores atraviesen un lecho botánico, constituido por bayas de enebro, angélica, peladuras del limón, conriandrio, rizomas aromáticos, cinamomo y regaliz. La materia prima para la elaboración de wodka es sometida, no sólo a una destilación estricta y cui-

dadosamente controlada, como la de la ginebra y el whisky, sino también a una filtración a través de carbón activo. El ron se elabora fermentando molasas y destilando el producto; el ron blanco se somete además, como el wodka, a una filtración a través de carbón.

Productos de levadura

Algunos excedentes de las factorías de cerveza inglesas se despachan a las destilerías escocesas. Otros se utilizan para la obtención de extractos de levadura, generalmente para usos farmacéuticos o para saborizar y aromatizar algunos alimentos. Las levaduras se liberan de las sustancias amargas del lúpulo, antes de la autólisis de las células, mediante tratamiento con álcalis diluidos. En el proceso autolítico, para la elaboración de pastillas con fines farmacéuticos, se mantienen las células a 45 °C durante 12-24 horas, en presencia de pequeños volúmenes de cloroformo o acetato de etilo. El extracto se clarifica y concentra para formar un jarabe, o se somete a deshidratación por atomización. Para la obtención de extractos saborizantes y aromatizantes se mezcla la levadura con sal, azúcar y ésteres de acetato, para formar una pasta. Durante el proceso, se extraen las sustancias de bajo peso molecular y se concentran para obtener un producto salado, con sabor a carne, que es rico en aminoácidos, vitaminas y nucleótidos.

La levadura es también una fuente de invertasa, un enzima segregado por las células para hidrolizar la sacarosa. Se pueden obtener preparaciones deshidratadas de levaduras ricas en este enzima. Se utilizan para la inversión de la sacarosa, o, lo que es más interesante, para la elaboración de bombones. Para este último fin, se parte de una mezcla sólida de granulos de sacarosa, un preparado de levadura y sustancias aromatizantes y se recubre luego con chocolate, antes de que la invertasa hidrolice la sacarosa y licue el relleno.

Tratamientos post-fermentativos

A la salida del fermentador, la cerveza no está lista aún para su consumo; requiere ciertos tratamientos antes de ser expedida. En esta etapa postfermentativa se efectúan las siguientes operaciones:

- (a) carbonatación,
- (b) modificación del sabor y del aroma,
- (c) estandarización del color,
- (d) estabilización contra la formación de turbidez y los cambios de aroma de orígenes no biológicos,
- (e) clarificación y
- (f) estabilización biológica.

Cerveza de barril tradicional (ale)

Los procesos que se describen no se efectúan necesariamente en la secuencia en que se mencionan. La serie de tratamientos más simples es aquella a la que se someten las «ales» tradicionales de barril. En este caso, la cerveza pasa, a la salida del tanque de fermentación, a un recipiente poco hondo, denominado distribuidor, que habitualmente es hermético (Fig. 9.1), del que salen tuberías flexibles, para el relleno de los barriles. Los distribuidores herméticos permiten acelerar el flujo, mediante presurización y contrapresurizar cada barril, mediante un dispositivo de cierre situado donde la pipa de relleno penetra en el barril y una tubería de retorno al distribuidor, o a otro recipiente. De este modo con la espuma y el exceso de cerveza, se arrastra el aire desplazado del barril. La contrapresurización facilita además la retención del dióxido de carbono disuelto en la cerveza.

La cerveza debe llevar en suspensión células de levadura a una concentración de unos $0,25 - 2,00 \times 10^6$ células ml^{-1} . También

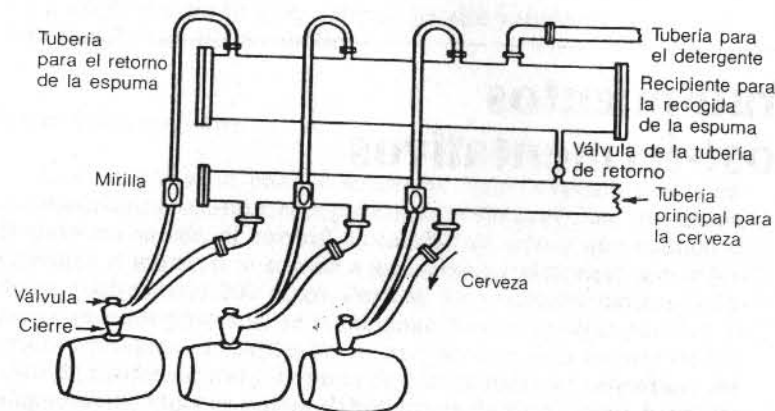


Fig. 9.1 Llenadora de barriles tradicional.

tiene que tener azúcar fermentescible, presente originalmente en la cerveza o, más frecuentemente añadido en forma de jarabe. Por cada hl de cerveza, se vienen a añadir de 0,35 a 2 l, bien en el distribuidor, bien directamente a los barriles. El jarabe tiene una densidad de 1.150 y contiene azúcar de caña o de remolacha, hidrolizados de almidón ricos en maltosa y caramelo. Proporciona (i) un sustrato fermentescible para la fermentación secundaria en el barril (ii) edulcoración y (iii) color.

La fermentación secundaria tiene lugar en el propio barril y proporcionaba, cuando los barriles se sellaban con estacas de madera, la carbonatación adicional que era necesaria si la fermentación primaria había tenido lugar en un recipiente poco profundo y abierto. Antes de sellar el casco, se efectúan otras incorporaciones. Para conseguir retirar las levaduras en suspensión, se añade ictiocola, a la que haremos mención en el siguiente apartado. También suelen añadirse conos, tabletas o aceites esenciales de lúpulo, lo que no aumenta el amargor de la cerveza, pero sí le proporciona un aroma característico, debido a los aceites esenciales. También puede añadirse metabisulfito sódico, para proporcionarle el efecto bacteriostático del dióxido de azufre, hasta una tasa máxima de 70 ppm, pero más frecuentemente de 20-25 ppm.

Tras una etapa de fermentación secundaria, puede reemplazarse el tapón impermeable de madera por otro más permeable, es decir con los vasos de xilema de la madera no colocados transversal sino paralelamente al eje del tapón, lo que permite escapar al exceso de dióxido de carbono. Cuando se despacha el barril y se le co-

loca descansando horizontalmente sobre su parte más abultada, puede procederse a su espitado, atravesando con un grifo o una espita un tapón de madera colocado en una de las tapas del barril. La cerveza de barril es de obtención relativamente barata, porque requiere el consumo de una escasa cantidad de energía; sin embargo su elaboración exige mucha mano de obra y los barriles, incluso los modernos de aluminio, son de difícil limpieza. Requiere además mucho espacio (superficie) para el almacenamiento y la limpieza de los barriles.

Ictiocola

La ictiocola, utilizada para la clarificación de la cerveza, es un producto extremadamente curioso. Procede de la vegiga natatoria de peces tropicales, un órgano que les permite mantenerse en aguas profundas. En los peces tropicales, ofrece considerable tamaño y puede pesar, después de desecado, varios cientos de gramos. Está constituida casi de colágeno puro y tiene, por tanto, largas cadenas polipeptídicas, tres de las cuales se enrollan, formando una superhélice, para constituir la molécula proteica. Las cadenas polipeptídicas ofrecen frecuentes y acusados cambios de dirección, debido a la presencia de iminoácidos, prolina e hidroxiprolina, adyacentes; se unen, para formar la superhélice, principalmente por puentes de hidrógeno. Tienen una carga neta global positiva, pero ofrecen regiones en las que la carga puede ser negativa.

Los finos de ictiocola utilizados en la industria cervecera se fabrican cortando la vegiga natatoria en tiras, que se sumergen durante varias semanas en una disolución ácida diluida; se obtiene así una disolución viscosa, turbia e incolora, que sólo permanece estable mientras se mantenga a bajas temperaturas; a la temperatura ambiente, se desnaturaliza rápidamente para dar gelatina, de escaso valor. Numerosas industrias cerveceras norteamericanas utilizan gelatina, que se fabrica por degradación alcalina del colágeno de mamíferos y cuyas propiedades clarificantes son muy inferiores a las de los finos de ictiocola.

La eficacia de la ictiocola se debe a que sus macromoléculas van cayendo a través de la cerveza, formando una red, en un proceso en el que participan interacciones electrostáticas. Se asocian fuertemente con las células de levadura, negativamente cargadas. Son capaces además de asociarse con otras sustancias cargadas, presentes en la cerveza, especialmente con lípidos y proteínas. El coágulo formado sedimenta en 1-4 horas. Una agitación vigorosa, como la que tiene lugar cuando se hace rodar el barril en posición horizon-

tal, dispersa parcialmente el coágulo, pero una buena ictiocola es capaz de clarificar varias veces la cerveza.

Algunas cervezas no se clarifican adecuadamente bajo la acción de la ictiocola, porque contienen una cantidad excesiva de sustancias positivamente cargadas, en suspensión. Estas cervezas pueden tratarse previamente con agentes clarificantes auxiliares, negativamente cargados, que suelen tener como base alginatos.

Un tratamiento con cantidades en exceso de estos agentes clarificadores auxiliares puede gastar parte de la ictiocola, que es un producto caro, en neutralizar el exceso de los mismos, antes de que la ictiocola ejerza sus funciones clarificantes. Si el contenido en células de levadura se encuentra entre $0,25$ y $2,5 \times 10^6$ células ml^{-1} , la ictiocola suele añadirse en tasas de 1% , en volumen, con respecto a la cerveza.

Fermentación secundaria en el barril

Hay una cierta confusión creada por falta de un acuerdo con respecto a la definición de los distintos términos, pero en la mayor parte de los casos significan lo mismo maduración, acondicionamiento y guarda. En los sistemas tradicionales, la cerveza procedente de los fermentadores primarios abiertos pasaba a grandes tanques herméticos. Debía llegar con un contenido de células activas de $2,5 \times 10^6$ células ml^{-1} y una proporción adecuada de azúcares fermentescibles ($1-1,5\%$).

Estas especificaciones eran cumplidas por algunas de las levaduras de capacidad de sedimentación moderada, pero las cepas muy floculantes conducen a la presencia en la cerveza de muy pocas células en suspensión y una gran cantidad de azúcar fermentescible. Si las levaduras no son prácticamente floculantes, permanece en suspensión una cantidad excesiva de células y se fermenta la casi totalidad de los azúcares del mosto.

Cabían tres soluciones para el problema. Una cervecera podía operar con una cepa floculante en la mitad de los tanques de fermentación y otra no floculante en la otra mitad. Los tanques de guarda se llenaban con una mezcla de los dos tipos de cerveza, una de las cuales proporcionaba el azúcar fermentescible y la otra las levaduras activas. También podía introducirse en el tanque de guarda mosto en fermentación, al estado krausen, hasta cubrir un $5-10\%$ de su capacidad y mezclarla con cerveza fermentada procedente de los fermentadores primarios, a la que proporcionaba tanto levaduras en activo como azúcares fermentescibles. Finalmente, era posible retirar gran parte de, pero no toda, la levadura de la cerveza pro-

cedente del fermentador primario, utilizando una centrífuga, en una etapa en la que aún contuviera azúcares.

Una vez iniciada la fermentación secundaria, en el tanque de guarda, se deja inicialmente escapar el dióxido de carbono, que arrastra con él varias sustancias volátiles no deseables, como oxígeno y sulfuro de hidrógeno. Tras esta purga, se cierra herméticamente el tanque, para que la cerveza se carbonate. Se enfría luego a 0°C mediante el uso de camisas de refrigeración, con lo que la levadura tiende a sedimentar junto con otras sustancias en suspensión. Hay quien piensa que al mantener la cerveza durante 2-4 semanas a baja temperatura se producen complejos cambios químicos. Pero otros afirman que los únicos aspectos importantes de estos cambios son los relativos a las tasas de diacetilo y oxígeno disueltos. Lo que es cierto es que resulta obligado rebajar el oxígeno disuelto a no más de $0,2$ ppm.

Desde el punto de vista económico, es extremadamente conveniente disminuir el tiempo de guarda, que puede representar costos de 12 ptas día^{-1} hl^{-1} , lo que ha conducido al desarrollo de nuevas técnicas. En los Estados Unidos, son muchas las factorías que siguen practicando la guarda. Excepto en una de las factorías más importantes, esto supone fermentar la cerveza por completo durante la fermentación primaria, asegurar que no queda oxígeno disuelto, que es escaso el diacetilo y guardar la cerveza durante 2-4 días a $2-4^\circ\text{C}$. Otro procedimiento consiste en un «descanso», para reducir el diacetilo, inmediatamente después de la fermentación primaria, a una temperatura de $12-18^\circ\text{C}$, durante aproximadamente una semana, seguido de otra semana de almacenamiento en frío. El «descanso» para reducir la concentración de diacetilo proporciona las condiciones óptimas para que la levadura libere todo el acetatolactato que le sea posible y efectúe luego la reducción enzimática del diacetilo (véase Capítulo 7). Se trata de un procedimiento similar al viejo sistema británico de guarda en caliente. El menos costoso de todos los tratamientos (aunque quizás no el mejor) consiste en enfriar la cerveza que sale del tanque de la fermentación primaria y carbonatarla artificialmente.

Aditivos empleados en el tanque de maduración

Los tanques de guarda o acondicionamiento de la cerveza son el lugar adecuado para añadir diversos aditivos, destinados a (i) normalizar el bouquet, el color y el aroma (ii) lograr la bacteriostasis, (iii) mejorar la capacidad espumante y (iv) estabilizar la cerveza, evitando el deterioro del bouquet y la formación de turbidez una vez envasada.

El sabor amargo se puede acentuar mediante la adición de extracto de lúpulo isomerizado, es decir de iso α ácido. Es necesario que se disuelva y se mezcle bien. Para acentuar el aroma a lúpulo, se pueden añadir preparaciones de aceite de lúpulo, bien en forma de destilados de lúpulo o bien como extractos ricos en aceites esenciales, obtenidos mediante extracción con dióxido de carbono. Algunas «ales» se edulcoran añadiéndoles sustancias azucaradas en el tanque de guarda, lo que también puede contribuir a normalizar el color de la cerveza, que puede alternativamente ajustarse con caramelo.

En algunos países, como el Reino Unido de la Gran Bretaña, la bacteriostasis sólo se puede conseguir mediante la adición de dióxido de azufre, o la producción del mismo. En otros países, es posible añadir algunas sustancias, como galato de octilo. Entre la sustancias que se pueden añadir al objeto de incrementar eficazmente la capacidad espumante de la cerveza, se encuentran esteres de alginato, derivados celulósicos, diversas gomas y saponinas. Sus efectos serán tratados en la próxima sección, al igual que la estabilización del aroma y el control de la turbidez.

Capacidad espumante de la cerveza

Se cree que, cuando las burbujas de dióxido de carbono se forman, la espuma se estabiliza por migración de sustancias hidrófobas a la superficie de la burbuja o interfase gas / líquido. Entre estas sustancias, se encuentran las glicoproteínas, moléculas que contienen una proteína hidrófoba (cabeza) y una larga cadena hidrófila constituida por hidratos de carbono (cola). Las cabezas estabilizan la superficie de la burbuja y las colas proporcionan a la cerveza una elevada viscosidad local, en los espacios interburbujas, lo que dificulta el drenaje de la cerveza de la espuma (Fig 9.2).

Existen otras sustancias que compiten con las proteínas por ocupar la superficie de las burbujas, lo que puede perjudicar a la formación de espuma. Por unión de lípidos a los carbohidratos, se pueden formar compuestos con efectos positivos sobre la espuma y que mejoran la capacidad espumante de la cerveza. Entre las sustancias que producen efectos de esta naturaleza, cabe citar las resinas del lúpulo, las dextrinas, los β glucanos y las melamoidinas, probablemente porque dan lugar a viscosidades locales altas, o porque pueden asociarse químicamente con otras sustancias situadas en la superficie de las burbujas. Los mejoradores de la espuma más eficaces no sólo deben poseer las propiedades ya mencionadas, sino que además deben formar enlaces cruzados con las glicoproteínas, para proporcionar rigidez a la película que rodea la burbuja (así actúan por ejemplo los ésteres de los alginatos). Por otra parte, las

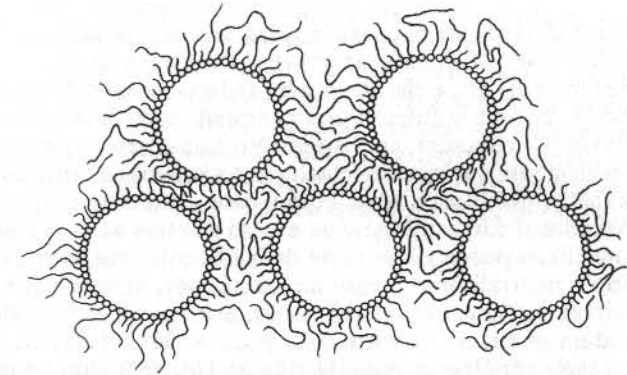


Fig. 9.2 Estructura de la espuma de cerveza. Las burbujas atraen a la superficie a las moléculas dotadas de porciones hidrófobas. Algunas unen a su «cabeza» hidrófoba largas «colas» hidrófilas, que aumentan la viscosidad local e impiden el drenaje de la cerveza que forma parte de la espuma.

sustancias hidrófobas se encuentran al límite virtual de su solubilidad, lo que hace que la formación de espuma se produzca en el vaso del consumidor y no durante el procesamiento de la cerveza.

Es preciso que las burbujas sean pequeñas y de tamaño homogéneo, ya que las burbujas grandes capturan a las más pequeñas, lo que terminaría rompiendo la espuma. El dióxido de carbono se disuelve fácilmente en el líquido y su espuma es relativamente inestable, si se compara con la que se forma con aire o nitrógeno. En algunas cervezas se introduce, por eso, aire o nitrógeno cuando se «tiran» al vaso del consumidor.

Turbidez

La turbidez se debe a la presencia de microorganismos en la cerveza, por lo que ordinariamente se eliminan mediante filtración. Las turbideces no biológicas pueden responder a problemas relacionados con la suspensión de oxalato cálcico o en los β glucanos, pero la mayoría de las veces la turbidez generada tras el envasado se debe a complejos proteína-taninos insolubilizados.

Durante la cocción del mosto, su enfriamiento y la subsiguiente refrigeración de la cerveza, se insolubiliza, en forma de «turbios», la proteína asociada a los polifenoles. Al comienzo de la guarda, si se enfría a 0 °C, la cerveza sufre la turbidez por el frío, que normalmente desaparece al templarla; pero, si permanece mucho tiempo

envasada, «cría» una turbidez estable a la temperatura ambiente, la llamada turbidez permanente, que sólo desaparece cuando se calienta a unos 70 °C para reaparecer al descender la temperatura.

La proteína precursora de la turbidez del frío o de la turbidez permanente resulta ser una mezcla de pequeñas moléculas proteicas, o polipeptidos, con pesos moleculares en el rango 10.000-60.000 y puntos isoeléctricos entre pH 3 y 5,5. Estos valores contrastan con los de las proteínas asociadas con la formación de espuma, que tienen pesos moleculares (calculados por filtración a través de geles) de 10.000 a 15.000 y puntos isoeléctricos situados entre pH 5,5 y 8 y que están unidas a cantidades muy grandes de hidratos de carbono. Estos turbios pueden contener hasta un 25 % de carbohidratos, asociados a las proteínas. Esta es una cifra reducida, si se compara con la del 75-85 % que suelen alcanzar en las asociaciones constituidas por los carbohidratos con las proteínas que estabilizan la espuma. Ambos tipos de proteína proceden de la de reserva de la cebada, la hordeína.

Se cree que los polifenoles que reaccionan de un modo particularmente activo con las proteínas son dímeros y trímeros de ciertas proantocianinas o antocianógenos (Fig. 9.3). Se han formulado varias hipótesis sobre como tienen lugar estas reacciones; una de ellas sugiere que los polifenoles se activan en presencia de oxígeno disuelto y un catalizador ion metálico, como hierro o cobre. La molécula activada se combina luego con una o más moléculas proteicas, lo que atrae nuevas moléculas de proteínas y polifenoles. En un determinado momento, el edificio construido con estos bloques proteicos y fenólicos sobrepasa su límite de solubilidad y deja de formar parte de la disolución.

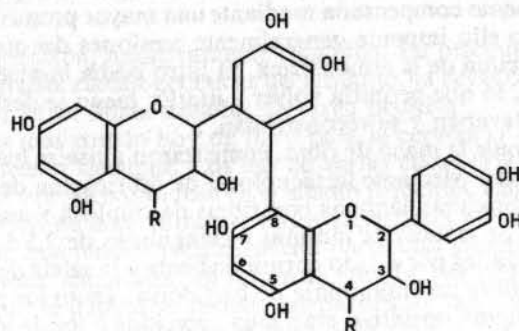


Fig. 9.3 Estructura de una proantocianina o antocionógeno con probables consecuencias en la producción de turbidez en la cerveza. Se trata de un dímero de un polifenol.

Para evitar la formación de turbidez en una cerveza envasada, debe impedirse la presencia de iones metálicos y de oxígeno disueltos. Los metales particularmente peligrosos a estos efectos son el estaño, el titanio y el plomo. Aunque las buenas prácticas industriales consiguen mantener la concentración de oxígeno disuelto por debajo de 0,2 ppm, a veces se añaden agentes reductores, como el metabisulfito sódico y el ácido ascórbico.

Uno de los mejores procedimientos de combatir la turbidez consiste en enfriar la cerveza, a una temperatura tan baja como sea posible, antes de proceder a su filtración. Otro consiste en equilibrar la proteína y los polifenoles tan precisamente como se pueda. A una cerveza con exceso de proteína y defecto de polifenoles, se le añade ácido tánico, con lo que la proteína precipita. También se puede recurrir al tratamiento con un enzima proteolítico; el más frecuentemente empleado es la papaína; este tratamiento fue patentado en los Estados Unidos de América hace ya más de 70 años.

Si los que se hallan en exceso son los polifenoles, lo más barato resulta añadir formaldehído al mosto dulce o lupulado, pero este procedimiento está prohibido en numerosos países, porque el formaldehído reacciona con numerosas sustancias y puede dar origen a productos nocivos.

Se ha propuesto el uso de polifenolasas, enzimas aislados de numerosos microorganismos, que han dado buenos resultados experimentales en plantas piloto.

Otro sistema de abordar el problema consiste en el empleo de adsorbentes insolubles, añadidos al tanque de guarda, a los que se deja sedimentar después de una buena agitación. También pueden incorporarse a un filtro, a través del cual se hace pasar la cerveza. Su grado de eficacia depende, entre otros factores, del flujo de cerveza a través del filtro o reactor. Cualesquiera que sea el método usado, estos adsorbentes no pasan a la cerveza y no pueden considerarse por tanto como ingredientes de la misma, por lo que son permitidos por la ley alemana (RFA) de pureza de la cerveza.

Entre los adsorbentes para los polifenoles, cabe citar el Nylon 66 y la más reciente polivinilpirrolidina polimerizada, (PVPP); ambos son poliamidas que, por tanto, forman fácilmente enlaces covalentes con los polifenoles (Fig. 9.4). La PVPP puede recuperarse por tratamiento con un álcali fuerte, lo que influye notablemente en la economía del proceso. Los polifenoles importantes en la formación de turbidez son los dímeros (y posiblemente los trímeros) de los flavonadioles, sustancias que cuando se acidifican dan antocianinas coloreadas (pigmentos de las flores); por eso se denominan antocianógenos o proantocianinas.

Volvamos a las proteínas; era frecuente tratar la cerveza con bentonita, una tierra de color ladrillo que adsorbía las proteínas, pero

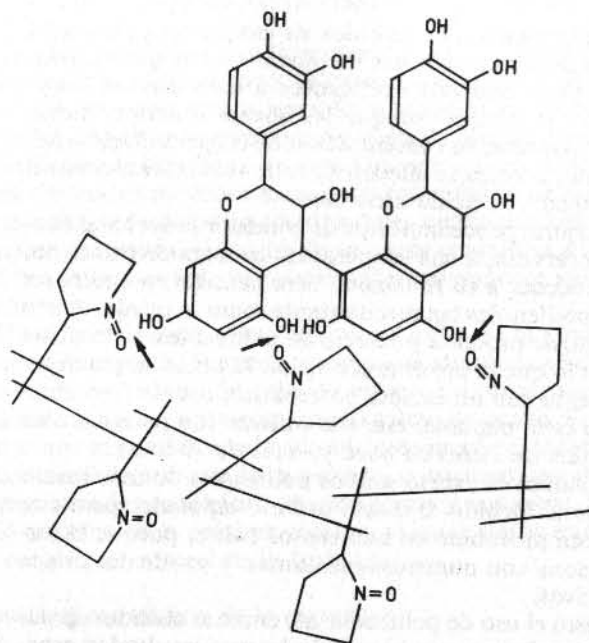


Fig. 9.4 Modo de adsorción de polifenoles por la polivinilpirrolidona.

este tratamiento ofrece numerosos inconvenientes; decanta lentamente y tiene efectos adversos sobre la estabilidad de la espuma. Es más frecuente el empleo de gel de sílice, que sedimenta más rápidamente y ejerce escaso efecto sobre la espuma. Se fabrica acidificando, en condiciones cuidadosamente controladas, silicato sódico para dar partículas de naturaleza esponjosa, con una enorme área superficial ($250-100 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$). Pueden controlarse la relación, área superficial / volumen y el tamaño medio del poro. Algunas preparaciones de gel de sílice se desecan hasta un contenido en agua del 30 %, obteniéndose xerogeles, que contrastan con los hidrogeles, en los que la deshidratación efectuada, es tal que el contenido en agua es de hasta un 70 %, pero que resulta suficiente para estabilizar el producto. La velocidad de sedimentación en el tanque viene controlada por el tamaño de partícula (generalmente entre 15 y $40 \mu\text{m}$), al igual que su eficacia y la velocidad de flujo en los reactores cargados con el gel. Se cree que las partículas de gel de sílice permiten a las proteínas precursoras de la turbidez (peso molecular entre 10.000 y 60.000) penetrar en su interior, donde son adsorbidas. Desde luego, el tamaño de poro preferido es consistente con el peso molecu-

lar de los precursores; es probable que las glicoproteínas asociadas con la formación y estabilidad de la espuma tengan un peso molecular y una forma que no les permita penetrar en los poros.

Muchos cerveceros inyectan una papilla de gel de sílice en la línea de fabricación, antes de que la cerveza llegue al filtro de tierra de diatomeas. El gel de sílice se mezcla rápidamente con la tierra de diatomeas sin apenas alterar las características de la filtración y continúa adsorbiendo proteínas mientras permanece en el filtro. Este hecho ha sido explotado en experiencias en las que se ha sustituido toda la tierra de diatomeas por gel de sílice de diversos grados. Se logra así, filtrar y estabilizar, pudiendo utilizarse el producto de desecho para tratar las disoluciones usadas de detergentes basados en la sosa cáustica. La tendencia a sustituir la tierra de diatomeas se debe a que se la considera peligrosa para las membranas del aparato respiratorio de los operarios que manejan el polvo.

Filtración

El medio de filtración original estaba constituido por fibras de celulosa. Se formaba con ellas una pasta acuosa, con la que se moldeaban unas láminas que se acoplaban a un bastidor. La cerveza, para atravesar el filtro, tenía que recorrer un camino tortuoso, por entre los intersticios que dejaban las fibras de celulosa. Las partículas en suspensión quedaban atrapadas en las zonas en que se imponían bruscos cambios direccionales y en los «cul de sac». A medida que el filtro se iba cargando con partículas, iba siendo necesario aplicar presiones crecientes, para conseguir que la cerveza continuara fluyendo a igual velocidad. Por otra parte, para retener el dióxido de carbono, se necesitaba aplicar contrapresión, que tenía que ser igualmente compensada mediante una mayor presurización del flujo. Todo ello imponía generalmente presiones del orden de 3 bares por encima de la atmosférica. El filtro podía lavarse invirtiendo el flujo, lo que permitía volver a usarlo; luego se deshacían los discos, se lavaban y se reconstituían.

Para disminuir la mano de obra, comenzaron a usarse luego las láminas filtrantes. Mediante la tecnología de fabricación de papel y cartón, se fabricaban láminas con fibras de celulosa y amianto, más kieselgur. Se trataba de láminas rectangulares de 2,5-5,0 mm de grosor, reforzadas por el lado correspondiente a la salida del flujo y se situaban sobre un ensamblaje de bastidores. Tanto los principios como el sistema operativo eran muy parecidos a los de los discos de celulosa (Fig. 9.5), pero a la acción filtrante de estos se añadía el efecto de las fibras de amianto, dotadas de una fuerte carga positiva y capaces de atraer, por tanto, microorganismos y partícu-

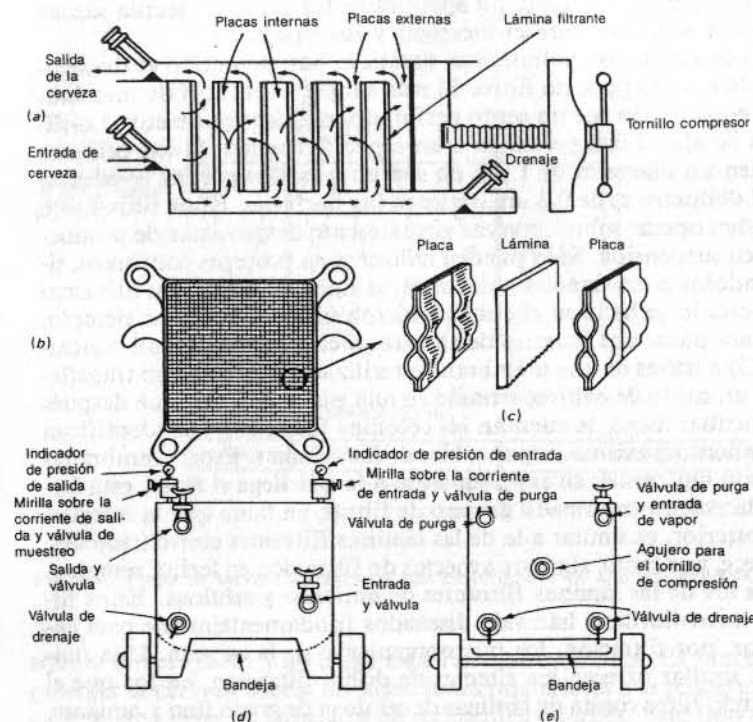


Fig. 9.5 Detalles de un filtro de láminas para la cerveza. (a) Corte vertical; (b) vista frontal de una placa aislada; (c) relación entre placas y láminas; (d) controles; (e) extremo de compresión.

las en suspensión, negativamente cargados. La preocupación por las propiedades carcinogénicas del amianto ha llevado a su sustitución por otras fibras dotadas de carga positiva.

El tipo más común hoy de filtro para la cerveza es el de tierra de diatomeas o kieselgur. Los hay de varias clases (Fig. 9.6), pero todos ellos operan basándose en el mismo principio. Consideremos el dispositivo de hoja filtrante. Posee superficies perforadas o de malla fina, que pueden recubrirse con partículas groseras de tierra de diatomeas, impulsada, en forma de papilla, por una bomba. A medida que la papilla se recicla, las partículas van construyendo puentes sobre las perforaciones de la hoja (Fig. 9.7) y edificando el recubrimiento del filtro. Este primer recubrimiento se refuerza con otro de un kieselgur de grano más fino. Cuando ya no se escapa kieselgur, se bombea cerveza a través del filtro. Los recubrimientos

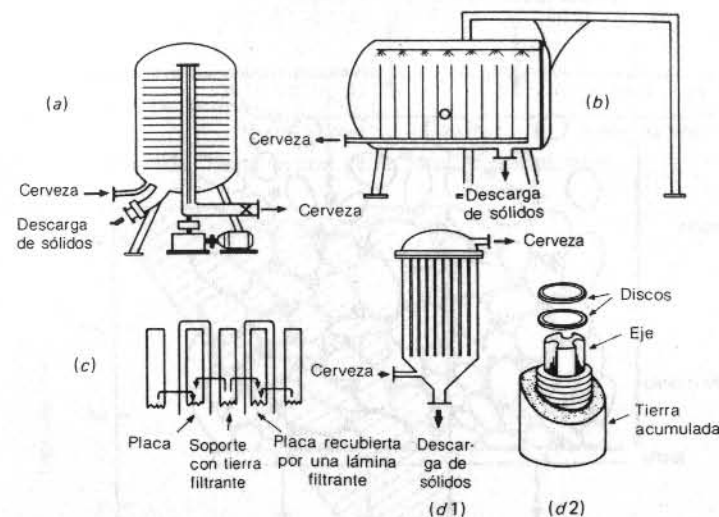


Fig. 9.6 Tipo de filtros de tierra adsorbente. (a) Corte vertical de un filtro de hojas horizontales. El motor hace girar el eje y las hojas para facilitar la descarga del agente filtrante agotado. (b) Sección vertical de un filtro de hojas verticales. La cerveza entra por la parte central. La tierra filtrante agotada es arrastrada mediante duchas y las hojas pueden liberarse del cuerpo filtrante. (c) Filtro de placa y soporte. La cerveza pasa del soporte a través de la tierra y la lámina filtrante para descargar luego sobre la placa. (d1) corte vertical de una filtro de bujía mostrando numerosos elementos (d2) detalle de parte de una bujía.

se tapan pronto con las partículas en suspensión arrastradas por la cerveza, lo que se evita inyectando kieselgur fresco, de un modo regular, en la cerveza (al penetrar esta en el filtro), a la concentración adecuada para evitar que el filtro se obstruya. Es necesario, sin embargo utilizarlo con criterios económicos, porque finalmente el filtro se llena por completo de kieselgur y se hace necesario suspender la filtración. La marcha del proceso se vigila, en parte mediante lecturas de la presión, que no debe sobrepasar 3 bares por encima de la atmosférica; la contrapresión, necesaria para retener el dióxido de carbono y evitar la desgasificación, debe ser de un bar. Otras medidas continuas de control se refieren a la determinación de turbidez y concentración de microorganismo viables.

El filtro de bujía se diferencia del filtro de hoja en cuanto que los huecos sobre los que el kieselgur debe tender puentes se sitúan entre los bordes de discos (coladores) circulares montados sobre un eje central hueco. Un filtro bujía tiene un cuerpo cilíndrico vertical, en el que se incluyen muchos dispositivos de este tipo. En los

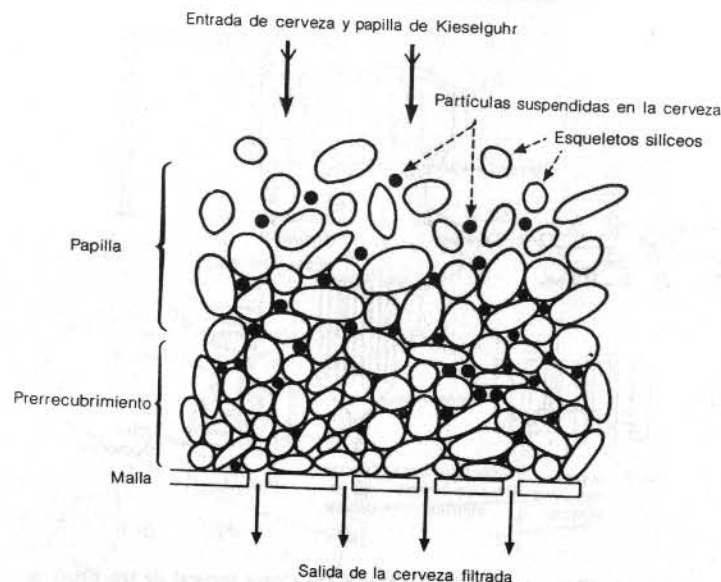


Fig. 9.7 Principio en que se basa la filtración a través de polvo (tierra). Se fabrica primero una papilla que forme puentes sobre los agujeros de la hoja filtrante y luego se hace pasar cerveza con inyecciones frecuentes y regulares de más papilla. Las partículas suspendidas en la cerveza son atrapadas en los intersticios que quedan entre las partículas de tierra.

discos de placa y bastidor, el recubrimiento se edifica sobre laminas filtrantes que cubren placas huecas.

El kieselgur es una tierra que se extrae de minas y abunda en Colorado; está compuesta de esqueletos silíceos de diatomeas, que vivieron en los mares del Mioceno. Al morir, las diatomeas, pertenecientes a numerosas especies y provistas de diversas formas, sedimentaron en el fondo del mar y sus esqueletos han resistido la desecación de los mares y el depósito sobre ellos de capas de roca más recientes. El producto excavado de las minas tiene que ser purificado; el tratamiento térmico funde parcialmente las paredes de sílice, expande el gas contenido en su interior y da origen a partículas casi esféricas (un proceso que en algunos aspectos semeja la elaboración de palomitas de maíz). Una alternativa al kieselgur es la perlita, un material volcánico que se obtiene en algunas minas de determinadas islas griegas. Tanto el kieselgur como la perlita son materiales que generan mucho polvo y hoy se lleva especial cuidado en evitar que el polvo entre en contacto con los operarios, y especial-

mente que sea inhalado. La apertura de los sacos se efectúa situando una pantalla entre el kieselgur y los operarios.

Las sustancias poliméricas sintéticas han permitido el desarrollo de nuevos tipos de filtro. El más simple es el filtro de membrana, constituido por un septo perforado, el diámetro de cuyos orificios se ajusta con precisión a las especificaciones. Si los orificios tienen un diámetro de $1\ \mu\text{m}$ no son atravesados por las levaduras; si el diámetro es de $0,2\ \mu\text{m}$, retienen las bacterias. Estos filtros sólo pueden operar sobre cervezas virtualmente desprovistas de productos en suspensión. Sólo pueden utilizarse en procesos continuos, situándolos a continuación de los otros tipos de filtros. Su principal aplicación se halla en el control microbiológico. Así, por ejemplo, se hace pasar una muestra de cerveza ya clarificada (100 ml o incluso 1 l) a través de una membrana esterilizada, que luego se transfiere a un caldo de cultivo, situado en una placa de petri, que después se incuba; luego, se cuentan las colonias formadas y se identifican los microorganismo responsables de las mismas. Estas membranas no son uniformes; su capa superior, a la que llega el flujo, está formada por un entramado grosero de fibras, en tanto que la inferior, o posterior, es similar a la de las láminas filtrantes convencionales. Ofrece, por tanto, algunos aspectos de filtración en lecho, semejantes a los de las láminas filtrantes de amianto y celulosa. Estos filtros microfibrilares han sido diseñados fundamentalmente para eliminar, por filtración, los microorganismo de la cerveza. Una función similar ofrecen los sistemas de doble filtración, en los que el segundo filtro consta de láminas de celulosa de grado fino y amianto, que también retienen los microorganismos.

Pasterización

La pasterización de la leche es conocida por todos, pero no lo es tanto su aplicación al vino y a la cerveza. Ofrece dos posibilidades ampliamente usadas. Tanto la cerveza como el vino pueden pasterizarse en flujo continuo, utilizando un intercambiador de calor modificado (Fig. 9.8). Eleva la temperatura de la cerveza y la mantiene durante unos segundos a $75\ ^\circ\text{C}$; es difícil asegurar que toda la cerveza alcanza realmente esa temperatura, entre otras cosas por el obstáculo que representa la tendencia del dióxido de carbono a insolubilizarse. Para evitar la desgasificación, se necesita operar a una presión, en el sentido de la corriente, de 7,5 a 10 bares y una contrapresión de 1 a 5 bares. Muchas instalaciones de pasterización en flujo continuo tienen dispositivos para recircular la cerveza, cuando se ha producido un estancamiento que resulta de un tratamiento término excesivo y, por consiguiente, se ha alterado el aroma. El

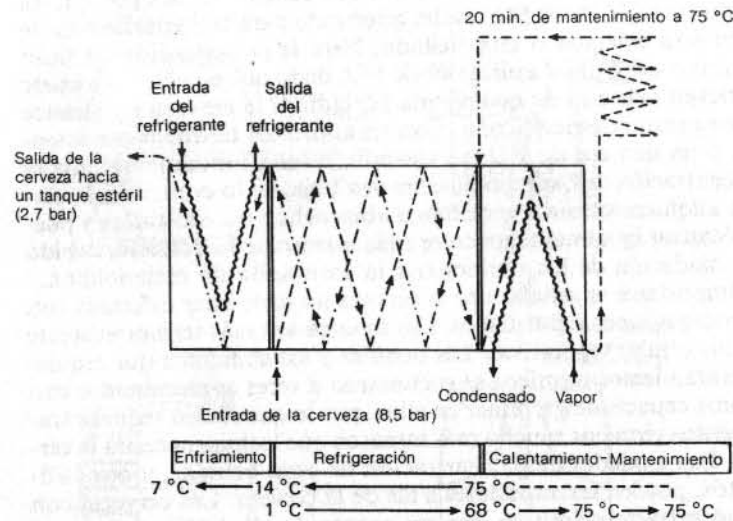


Fig. 9.8 Flujo de cerveza a través de una pasterizador de alta temperatura.

equipo es compacto y no exige excesiva mano de obra. Es preciso proteger la cerveza contra las infecciones posteriores a la pasterización, lo que exige su envasado en recipientes estériles. Este tipo de instalaciones sirve también para pasterizar la cerveza que ha sido devuelta a la factoría por insatisfactoria, la recuperación de los filtros o en el prensado de la levadura y las mermas generales. Una vez pasterizada esta cerveza se incorpora al flujo general de elaboración.

El otro método de pasterización consiste en el tratamiento térmico de la cerveza una vez envasada, lo que resulta de fácil aplicación a la envasada en botes o latas y, en cierta extensión, a la cerveza embotellada. Los tratamientos continuos son de aplicación preferente a la cerveza para embotellar, a la de barril y a la que se va a vender en grandes depósitos. En este método, las botellas o las latas van progresando por el interior del pasterizador en el que reciben duchas de agua a temperaturas progresivamente crecientes, hasta que el contenido de los recipientes alcanza temperaturas de 60-85 °C; luego reciben duchas de enfriamiento, que reducen la temperatura de los envases, antes de su salida del pasterizador (Fig. 9.9).

En una cerveza que contenga una población microbiana mixta, constituida por las bacterias que ordinariamente contaminan las industrias cerveceras, un aumento de la temperatura de 7 °, a partir

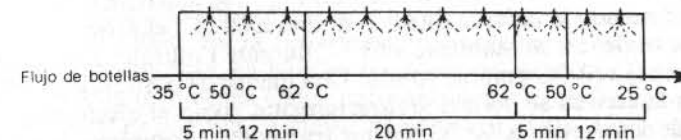


Fig. 9.9 Corte vertical de un túnel de pasterización.

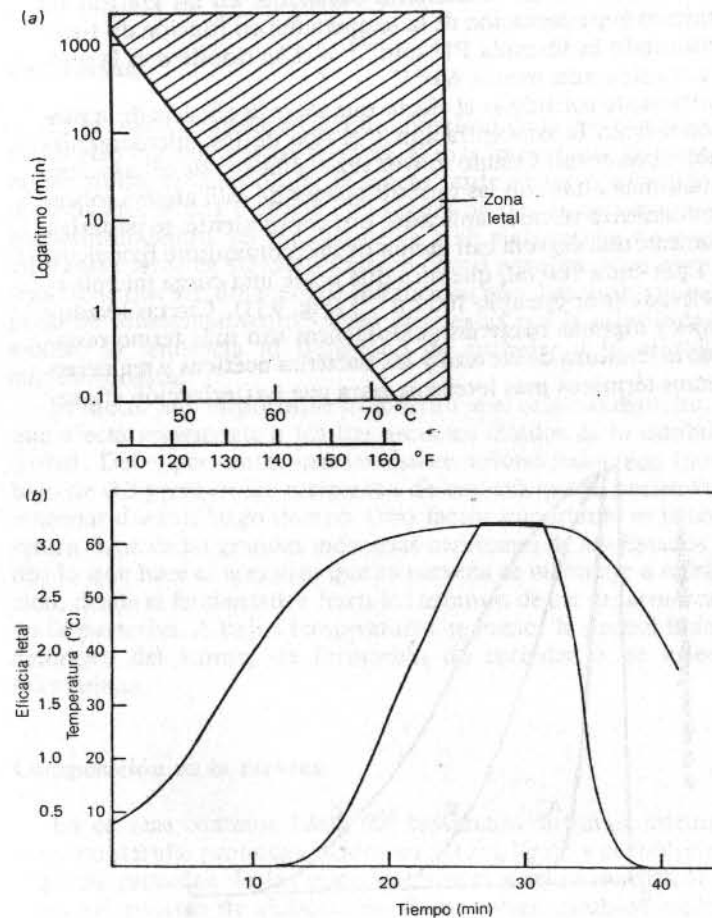


Fig. 9.10 Efecto del tiempo y la temperatura sobre la viabilidad de una población mixta de levaduras y bacterias contaminantes de la cerveza. El área barrada representa las condiciones en que mueren todas las células. (b) Gráfica típica (línea superior) de temperatura en un tanque de pasterización. La gráfica inferior representa el número de unidades de pasterización recibidas (ordenada 0-3,2). El número total de unidades de pasterización es 40.

de 50 °C, multiplica por 10 la velocidad de termodestrucción. Si su población viable es de 100 células ml^{-1} , se destruye la totalidad manteniendo la cerveza durante 10 min a 60 °C; el mismo resultado se obtiene si se mantiene a 65 °C durante 1 minuto, a 74 °C durante 6 s, a 53 °C durante 10 min. Una unidad de pasterización (PU) para la cerveza se define, arbitrariamente, como el efecto destructor de un minuto a 60 °C. En un tratamiento complejo, el efecto aditivo y las PU se suman (Fig. 9.10). Se puede, por tanto, calcular las PU totales de un tratamiento basándose en las gráficas de calentamiento (representación de la temperatura en función del tiempo) o utilizando la fórmula $\text{PU min}^{-1} = 1,3a$ donde a es la temperatura considerada menos 60 °C.

Es interesante considerar el efecto que sobre la eficacia de la pasterización ejercen la concentración y el tipo de los microorganismos viables presentes. Cuanto mayor sea el número de células contaminantes, más altas son las probabilidades de que alguna sobreviva al tratamiento térmico aplicado; por consiguiente, se pasteriza más fácilmente una cerveza casi exenta de microorganismo (por ejemplo con 1 por cada 100 ml) que otra que posee una carga microbiana más elevada (por ejemplo 100 ml^{-1}) (Fig. 9.11). Ciertas levaduras salvajes y algunas bacterias acidolácticas son más termorresistentes que la levadura de cerveza y las bacterias acéticas y requieren tratamientos térmicos más intensos, para una pasterización eficaz.

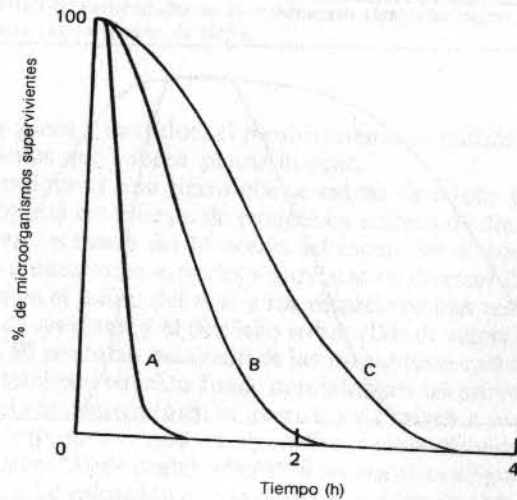


Fig. 9.11 Efecto de un agente bactericida sobre la población bacteriana de cerveza. A con 100, B 1.000 y C 1.000.000 de células ml^{-1} .

En general, si la carga es inferior a 100 células viables por ml, un tratamiento de 15-20 PU resulta adecuado para la pasterización de la cerveza enlatada o embotellada. Para la pasterización en flujo continuo es habitual aplicar 40-60 PU, dado que en este caso existe un riesgo más alto de que alguna porción de la cerveza no alcance la temperatura especificada. Con tratamientos térmicos tan intensos, o un número de PU tan elevado, resulta fundamental que la concentración de oxígeno disuelta sea baja; de lo contrario, la cerveza adquiere aroma a «cocida» a «bizcocho» o a «tostada» y puede alcanzar igualmente un color más intenso de lo deseado, debido a la oxidación de los taninos o a la formación de melanoidina.

Importante es señalar que la cerveza no suele estar infectada con microorganismos esporulados. Los esporos son más termorresistente que las células vegetativas. Las bebidas y los alimentos que requieren tratamientos térmicos se encuentran a veces contaminados con esporos capaces de germinar en ellos, por lo que suelen requerir tratamientos térmicos mucho más intensos que los que necesita la cerveza. Las unidades de pasteurización de otras bebidas, u otros alimentos, pueden ser superiores a las de la cerveza. Las cervezas con escaso extracto primitivo, con un contenido alcohólico bajo y un pH superior a 4,4, necesitan tratamientos pasterizantes más altos que las normales, porque permiten el crecimiento de hongos.

Envasado

La cerveza enfriada, filtrada y pasterizada en flujo continuo, puede transferirse a grandes tanques estériles de, por ejemplo, 8 hl o a barriles (generalmente de 25 a 50 l). Los barriles suelen ser de acero inoxidable o, aún más frecuentemente, de aluminio y difieren de las cubas tradicionales, entre otras cosas, por contener una sola boca, en lugar de dos. En el orificio que poseen, llevan roscado un dispositivo de extracción que permite la introducción de gas (dióxido de carbono, o una mezcla de 60 % de dióxido de carbono y 40 % de nitrógeno) desde una bala a la superficie de la cerveza. La presión fuerza a la cerveza a ascender a través del espadín de extracción y a lo largo de la tubería a él conectada, hasta el grifo de expedición (Fig. 9.12).

Las botellas son de dos tipos; retornables y de un sólo uso. Las retornables exigen, para posteriores usos, el lavado, el aclarado y el escurrido antes de su relleno, cierre, pasterización y etiquetado. Las desechables, como las latas, solo requieren ser sometidas a un chorro, primero de aire estéril a presión y luego de agua esterilizada. Algunas botellas se rellenan asépticamente con cerveza, previamente pasterizada en flujo continuo o esterilizada por filtración.

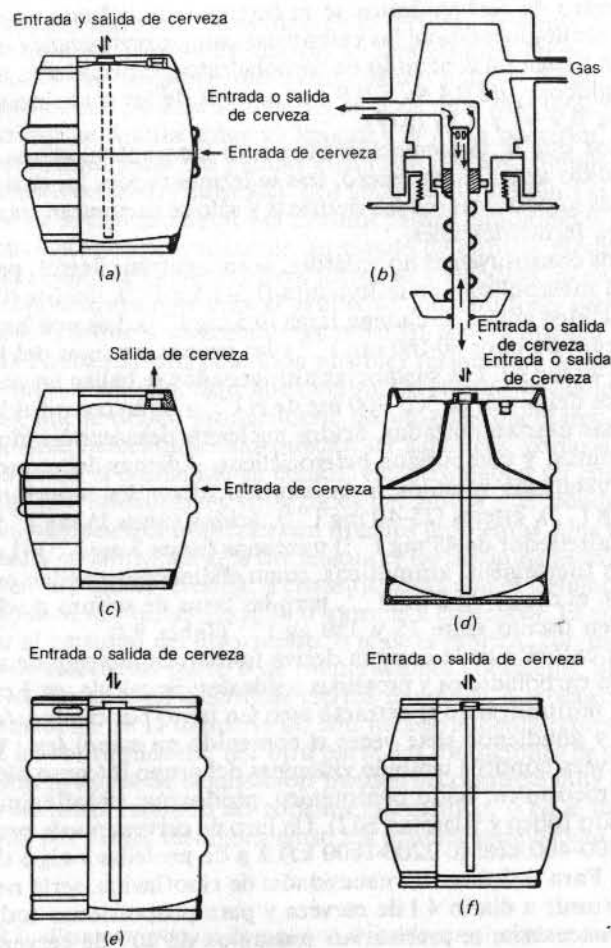


Fig. 9.12 Diferentes tipos de recipientes para la cerveza. (a) De doble uso (para la cerveza tradicional de barril y para la cerveza de barril enfriada y filtrada). Generalmente de 0,5 a 1 hl. (b) Sección vertical de los dispositivos de que consta el sable o espadín para permitir la presurización con gas y que la cerveza suba. (c) Un barril tradicional, de 0,5 o 1 hl. (d) Barriles con cámara de gas. (e) Barril cilíndrico, 0,5 hl. (f) Barril de forma tradicional - tamaños, los indicados en (c).

Cuánta cerveza se expende de uno u otro modo, varía ampliamente con los países. En la Gran Bretaña, alrededor de un 80 % se vende sin embotellar, en barriles o en grandes tanques. En los Estados Unidos, la inmensa mayor parte sale de las factorías en botella o en bote; en Nigeria, la mayor parte se embotella. Las botellas multiuso representan más peso por hl de cerveza que las desechables o las latas.

Estabilidad

El período de almacenamiento máximo de la cerveza esta condicionado por numerosos factores, el más importante de los cuales es, sin duda, el tiempo que se espera tarde en ser consumida tras el envasado. Si una factoría está segura de que su cerveza va a ser consumida dentro del mes siguiente a su elaboración no necesita esforzarse tanto en su estabilización como aquellas otras cuya cerveza tiene que ser almacenada durante un año. Las limitaciones del período de almacenamiento vienen impuestas por la estabilidad del aroma, la tendencia al desarrollo de turbidez y la estabilidad microbiológica.

El factor más importante lo constituye el oxígeno disuelto, porque afecta gravemente a los tres aspectos citados de la estabilidad global. Debe, por tanto, mantenerse en valores reducidos (por debajo de 0,3 ppm) en los recipientes de cerveza que se pretendan almacenar durante largo tiempo. Otro factor importante es la temperatura. Una de las grandes industrias cerveceras de los Estados Unidos lo que hace es asegurar que su cerveza se mantiene a refrigeración, desde el fermentador hasta los estantes de los supermercados; no la pasteuriza. A bajas temperaturas es menor la probabilidad de deterioro del aroma, de formación de turbidez o de infección microbiana.

Composición de la cerveza

La cerveza contiene hasta 400 sustancias distintas, además de macromoléculas proteicas, ácidos nucleicos, lípido y carbohidratos. Algunas proceden de las materias primas y no se modifican a lo largo del proceso de elaboración; otras sufren cambios radicales. El componente más abundante es el agua. También abundan diversos iones y el dióxido de carbono (3,5-6,5 g/l). El contenido en etanol es muy variable, pero en la mayoría de la cerveza producida en todo el mundo, de densidad primitiva 1.042-1.044, se encuentra entre 3,6 y 4,2 (v/v).

Tabla 9.1 Algunos componentes aromáticos asociados al metabolismo de las levaduras

Clase del producto	Nombre	Umbral de percepción en la cerveza desgasificada (ppm)	Contenido en la cerveza «ale» (ppm)	Contenido en la «lager» (ppm)	Contenido en la «stout» (ppm)
Alcoholes	Etolol	-	$27-32 \times 10^3$	24×10^3	$16-72 \times 10^3$
	Isopentanol	50	47-61	32-57	33-169
	B feniletanol	50	36-53	25-32	20-55
	n-propanol	50	31-48	5-10	13-60
	Isobutanol	100	18-33	6-11	11-98
Esteres	2-metil butanol	50	14-19	8-16	9-41
	Acetato de etilo	5	14-23	8-14	11-69
Dicetonas	Acetato de isopentilo	1	1.4-3.3	1.5-2.0	1.0-4.9
	Diacetilo ^a	0.005	0.06-0.30	0.02-0.08	0.02-0.07
Compuestos sulfurados	Pentano 2,3 diona	-	0.01-0.20	0.01-0.05	0.01-0.08
	Sulf. de hidrógeno ^a	0.005-0.010	0.0015-0.008	0.0015-0.008	0.0015-0.008
	Dimetilsulfuro ^a	33 (ppb)	15+ (ppb)	15+ (ppb)	15+ (ppb)

^a En algunas cervezas puede derivar de las bacterias presentes durante la fermentación.

El espectro de carbohidratos se ve fuertemente influido por el empleo de amiloglucosidasa; las elaboradas con mostos tratados con este enzima tienen un contenido en carbohidratos, expresado en términos de glucosa, de 0,4 % a 0,9 % (p/v); el de las tradicionales oscila entre 0,9 % y 3 % (p/v).

A menos que la fermentación haya sido incompleta, o que se hayan añadido azúcares en exceso, tras la fermentación, los carbohidratos más importantes son las dextrinas y sólo se encuentran trazas de azúcares fermentescibles.

Entre los constituyentes no volátiles, se encuentran glicerol, procedente del metabolismo de la levadura ($1,5-3,5 \text{ g l}^{-1}$), lípidos ($0,5 \text{ mg l}^{-1}$) y ácidos grasos de cadena larga ($0,5 \text{ mg l}^{-1}$). Los polifenoles dan cuenta de unos $80-160 \text{ mg l}^{-1}$ y las resinas amargas del lupulo de $30-40 \text{ mg l}^{-1}$. Las sustancias nitrogenadas se hallan en concentraciones del orden de $300-900 \text{ mg de N l}^{-1}$ y están constituidas por proteínas desnaturalizadas, ácidos nucleicos desnaturalizados, amidas, aminas, y compuestos heterocíclicos. Además del etanol, entre las sustancias volátiles se encuentran alcoholes superiores ($100-200 \text{ mg l}^{-1}$), ésteres ($25-40 \text{ mg l}^{-1}$), ácidos (unos 15 mg l^{-1}), aldehídos (alrededor de 48 mg l^{-1}) y cetonas (unos 3 mg l^{-1}). Los compuestos fuertemente aromáticos, como el diacetilo, pueden encontrarse en el rango $0,1-2 \text{ mg l}^{-1}$, pero las tasas de sulfuro de dimetilo suelen oscilar entre 15 y $150 \mu\text{g l}^{-1}$ (Tabla 9.1).

El valor calórico de la cerveza deriva fundamentalmente de su contenido en carbohidratos y proteínas residuales. Se calcula, en Kcal por 100 ml , multiplicando el extracto seco (en tanto por ciento p/v) por cuatro y añadiendo siete veces el contenido en etanol (en % p/v). La cerveza contiene también vitaminas del grupo B (como biotina, ácido nicotínico, ácido pentoténico, piridoxina, riboflavina, tiamina, ácido fólico y vitamina B12). Un litro de cerveza puede proporcionar $300-400 \text{ kcal}$ (o $1200-1600 \text{ kJ}$) 3 g de proteína y algo de vitamina B. Para satisfacer las necesidades de riboflavina, sería necesario consumir a diario 4 l de cerveza y para proporcionar toda la proteína necesaria, se precisarían consumos de 20 l de cerveza al día. Se trata pues de una bebida de elevado contenido energético, pero que en modo alguno se puede considerar un alimento equilibrado.

La calidad de la cerveza

Hubo un tiempo en el que una empresa cervecera podía anunciar con éxito su cerveza bajo el slogan «G. es buena para Vd.». Aunque ese aserto es tan cierto ahora como entonces, el consumidor se preocupa también por el bouquet, el aroma, el color y la es-

puma, que son atributos de calidad de la cerveza. Se siente atraído al observar en su vaso la formación de una espuma cremosa y al ser excitados sus receptores olfativos, cuando se lleva el vaso a los labios, por los compuestos aromáticos de la cerveza. Más tarde, cuando la cerveza se desliza sobre su lengua y la parte posterior de su boca, verá estimuladas sus papilas gustativas por los componentes con efecto saborizante (Tabla 9.2). Los volátiles difundirán a la parte posterior de la cavidad nasal y el alcohol pasará rápidamente al torrente circulatorio, provocándole un estado de euforia moderada.

El fabricante de cerveza deberá formular y elaborar un producto que resulte apetecible para el grupo de consumidores más amplio que sea posible y, alcanzado este objetivo, deberá intentar mantener sus características, pese a las posibles variaciones de sus materias primas. Para ello, tiene que determinar el valor de ciertos parámetros, que le deben proporcionar las «huellas dactilares» más simples. Estas determinaciones pueden ser analíticas, como la densidad, el color, el contenido en etanol, etc, pero deben ser complementadas por valoraciones sensoriales del aroma y el bouquet.

Estas valoraciones tropiezan con muchos problemas. Una de las dificultades encontradas es la del lenguaje; los distintos individuos se refieren, o pueden referirse, a cosas distintas con el término «sabor a lúpulo», «bouquet vegetal» o «aroma a especias». Es posible entrenar al personal del laboratorio, o al de la fábrica, con una colección de sustancias puras o de preparaciones complejas, de modo que les resulte fácil identificar ciertos bouquets, o aromas; pero los trabajadores de la industria no son necesariamente representativos de los consumidores; por otra parte, las condiciones de trabajo en estas pruebas de degustación pueden encontrarse muy alejadas del ambiente relajado del consumo doméstico, o en el bar. Es necesario, por tanto, distinguir entre los paneles establecidos en la

Tabla 9.2 Resumen parcial de algunas sensaciones gustativas humanas

Sensación	Localización	Estímulos	Receptor	Ganglio
Salado	Parte ant. de lengua, paladar	ClNa, ClK	Papila gustativa	Geniculado
Acido	Parte ant. de lengua, paladar	Acido málico	Papila gustativa	Geniculado
Dulce	Parte ant. de lengua, paladar	L-alanina, fructosa	Papila gustativa	Geniculado
Amargo	Parte ant. de lengua, paladar	L-triptófano	Papila gustativa	Geniculado
Placentero	Parte ant. de lengua, paladar	Lactonas	Papila gustativa	Geniculado
Dulce	Zona posterior de la lengua	Dihidrocalcona	Papila gustativa	Pétreo
Amargo	Zona posterior de la lengua	MgSO ₄ fenoles	Papila gustativa	Pétreo
Astringente	Cavidad oral	Teaflavina	Nervio libre	Trigémino
Pungente	Cavidad oral	Capsaicina	Nervio libre	Trigémino
Metálico	Lengua	Nitrato de plata	Papilas (?)	Pétreo

factoría, que cumplen un papel analítico, y las reuniones informales de consumidores, reales o potenciales, cuya función es la de manifestar su conformidad o disconformidad, en una forma tan cuantitativa como, desde un punto de vista realista, sea posible.

Los paneles de catadores de laboratorio se establecen para seleccionar catadores de cerveza, para correlacionar las pruebas de degustación con determinaciones físicas o químicas, para comparar la cerveza obtenida en dos procesos fermentativos diferentes, y para valorar los efectos producidos por un cambio de materias primas o de sistemas de trabajo. Pueden utilizarse numerosos tipos de ensayo; aquí sólo describiremos unos cuantos seleccionados, entre los que se encuentran pruebas o ensayos diferenciales, jerárquicos, de puntuación, descriptivos y de aceptación o preferencia.

Los ensayos diferenciales suelen llevarse a cabo más eficazmente con jóvenes de menos de 20 años que no fuman y no beben mucho; en ellos suelen resultar más eficaces las muchachas que los chicos. En unos casos, lo que deben responder es si dos cervezas son o no distintas; en otros, se les presentan tres muestras y lo que el panel debe decidir es cuál de ellas no es la misma que las otras dos. En el primer caso hay un 50 % de probabilidades de acierto por azar y en el segundo un 33,3 %. Las tablas estadísticas indican que, si el jurado está constituido por 20 catadores y 15 aciertan en la discriminación entre dos cervezas u once en la distinción de cuál es la no igual a las otras dos, sólo hay un 5 % de probabilidades de que se haya llegado a este resultado por azar. Para reducir esta posibilidad a un 0,1 %, se precisa que el número de respuestas correctas sea, en el primer caso, de 18 y en el segundo de 14. El jurado debe estar cómodamente situado, al abrigo de ruidos y olores y las cervezas les deben ser servidas en vasos idénticos, opacos (o en una habitación oscura). La respuesta no puede, en cualquier caso, emitirse hasta que todos los componentes del jurado no hayan realizado la degustación.

Si el panel está entrenado, a cada componente del mismo se le puede entregar un listado de atributos del bouquet y el aroma y debe indicar su intensidad con una cifra (por ejemplo, con un 1 una intensidad mínima y con 5 la máxima). A partir de estos datos, se le asigna a la muestra una puntuación total. Para ello, pueden ahora utilizarse métodos matemáticos muy complicados, con ayuda de un ordenador para el manejo de los datos. Una de las técnicas empleadas es el análisis discriminante, en el que cada parámetro medido representa una dimensión, de modo que, si se han introducido 20 parámetros, el resultado final contiene 20 dimensiones; una cerveza determinada estará representada por un punto en un espacio multidimensional. Dos cervezas similares ocuparán puntos próximos, pero dos muy desiguales se situarán, en ese espacio multidimensional,

mensional, en puntos muy alejados. Hoy se pueden utilizar programas de ordenador que transforman ese espacio multidimensional en una representación bidimensional (Fig. 9.13). Los ejes son abstracciones matemáticas, pero resultan muy convenientes para una visualización fácil.

La degustación preferencial es una consideración más que puede incorporarse a las de diferenciación entre dos o más muestras o a los ensayos más complejos ya descritos. Las distintas industrias cerveceras llevan a cabo las pruebas de degustación de forma muy distinta; uno de los esquemas más comprensivos es el diseñado por una industria cervecera norteamericana. Mantiene un equipo permanente de catadores entrenados y crea jurado *ad hoc*, con visitantes de la factoría y con grupos de personas que se reúnen casualmente en actos sociales o en ferias o convenciones comerciales. El jurado entrenado emplea un análisis discriminante, basado en 10 atributos de la cerveza que se consideran de importancia fundamental (como aroma sulfurado, regusto, o sabor residual, amargor, bouquet metálico, sabor dulce, sabor a caramelo, aroma afrutado, cuerpo y carbonatación). Se establecen comparaciones entre las cervezas

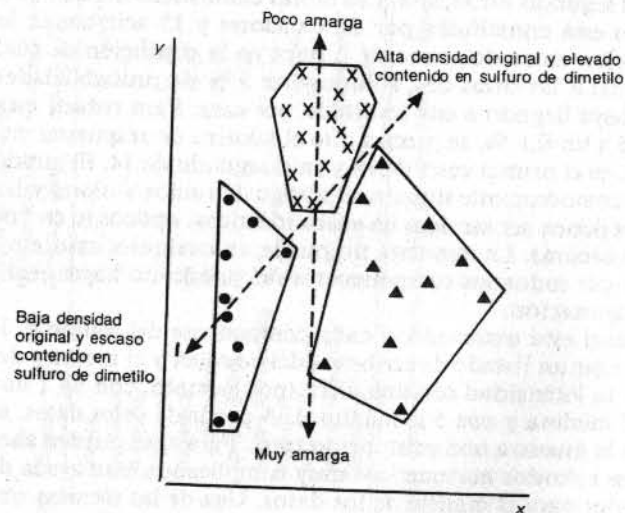


Fig. 9.13 Análisis discriminatorio de datos sensoriales relativos a 33 «lager». Cruces: norteamericanas; círculos: británicas; triángulos: de la Europa continental. Las flechas indican las tendencias generales en relación con el amargor, el contenido en sulfuro de dimetilo y la densidad original. Las coordenadas son abstracciones matemáticas para representar espacios de 27 dimensiones en términos bidimensionales.

producidas por la compañía y las que ocupan posiciones destacadas en el mercado y se modifican las características de la cerveza examinada, cambiando las materias primas o el procedimiento de elaboración, al objeto de aproximarla a las características de la que más éxito tiene en el mercado, o a satisfacer las preferencias expresadas por los catadores no entrenados. El mismo método se usa para aproximar las características de los elaborados de una determinada marca de la compañía fabricados en distintas factorías. Aunque, a veces, resulta económicamente caro, puede permitir una valoración de las materias primas y de los efectos de las distintas etapas del proceso de fabricación e indicar el margen de tolerancia aceptable en ambas áreas.

Presenta, por supuesto, problemas importantes. Las preferencias del público cambian con el tiempo y son fácilmente manipuladas por la publicidad. En la Gran Bretaña, entre 1960 y 1980, numerosas industrias cerveceras experimentaron un cambio sustancial de orientación; disminuyeron la cantidad de cerveza oscura, dulce, poco aromatizada con lúpulo, suave, para ser tirada en los bares, que fabricaban y aumentaron la elaboración de cerveza, para el mismo tipo de consumo, clara y amarga. La proporción, suave/amarga pasó, en algunos casos, de 5:1 a 1:5. Durante los últimos años, en el Reino Unido de la Gran Bretaña, ha aumentado el consumo de lager, que ahora representa alrededor del 30 % del total. Otro cambio importante producido en el mencionado país es la creciente preferencia por bebidas cuya materia prima está constituida por frutas, como la sidra o el vino, frente a la cerveza. En otros países, como Nigeria o España, el mercado va en sentido opuesto.

Otra tendencia observada, tanto en los Estados Unidos de América como en la Gran Bretaña, es el florecimiento, durante los últimos 10 años, de industrias muy pequeñas, en las que sólo trabaja un puñado de operarios, que elaboran productos muy diferenciados. También se ha hecho frecuente la elaboración casera de cerveza, no sólo porque resulta más barata, sino porque constituye un pasatiempo y se ha desarrollado una pequeña industria dedicada al suministro de extractos especiales, aromatizados con lúpulo, y otros productos para la elaboración doméstica. Así pues la fabricación de cerveza alcanza grados de complejidad muy distintos, desde la alta tecnología, con utilización de microprocesadores, a la elaboración casera como entretenimiento; lo que resulta fascinante es que, cualquiera que sea la escala de producción, sus fundamentos químicos, físicos, biológicos y bioquímicos son los mismos.

Lecturas recomendadas

1. J. S. Hough, D. E. Briggs, R. Stevens & T. W. Young (1982). *Malting and Brewing Science* (2 volumes), London: Chapman & Hall.
2. D. E. Briggs (1978). *Barley*, London: Chapman & Hall.
3. H. M. Broderick (ed.) (1977). *The Practical Brewer*. Madison, Wisconsin: Master Brewers Association of the Americas.
4. J. R. A. Pollock (ed.) (1979 and subsequently). *Brewing Science* (3 volumes). London & New York: Academic Press.