



BIOTECNOLOGÍA ALIMENTARIA.

PRACTICA DE ELABORACIÓN DE CERVEZA

OBJETIVOS.

1. Producción de cerveza: elaboración de un mosto con harina de malta e inoculación con levaduras de la spp *Saccharomyces cerevisiae*.
2. Determinación de color en cerveza comercial.
3. Determinación de la estabilidad de la espuma en cerveza comercial.

1. PRODUCCIÓN DE CERVEZA

MATERIAS PRIMAS

- Malta
- Levadura fresca de *Saccharomyces cerevisiae*

REACTIVO

- Solución de Yodo 0,02 N

EQUIPOS y MATERIAL:

- Molino
- Baño termostático
- Estufa de incubación
- Balanza Analítica
- Matraz erlenmeyer
- Vasos de precipitado

PROCEDIMIENTO:

Preparación de la solución de malta:

Pesamos 40 gramos de malta y los introducimos en un molino y procedemos a su molturación durante 30 segundos para obtener la harina de malta.

En matraces erlenmeyer de 100 mL pesar 5 g de harina de malta + 50 g. de agua destilada. Rotulamos 1 matraz como control y el resto como ensayo. El control se mantiene a temperatura ambiente y en los de ensayo proceder a la degradación enzimática.

Degradación enzimática: La harina de malta contiene almidón y enzimas amilolíticas, formadas durante el proceso de malteado. Como el almidón no es fermentescible por la levadura, se procederá a degradar el mismo con las enzimas de la malta. Para ello los matraces se introducen en un baño termostático a 65°C durante 45 minutos y posteriormente 70°C 15 minutos. En la primera temperatura actuará la β - amilasa produciendo una gran cantidad de maltosa y en la segunda temperatura se terminará de degradar el almidón por la acción enzimática de la α -amilasa. En la Figura 1 se muestra la grafica Temperatura/tiempo patrón para determinar el extracto de malta y que en la práctica adaptamos para la determinación de la fermentabilidad.

En una placa calefactora se coloca un vaso de precipitado con agua y se lleva a ebullición. A continuación se introducen tanto los matraces de ensayo como el de control durante 5 minutos, para destruir todas las enzimas de la malta.

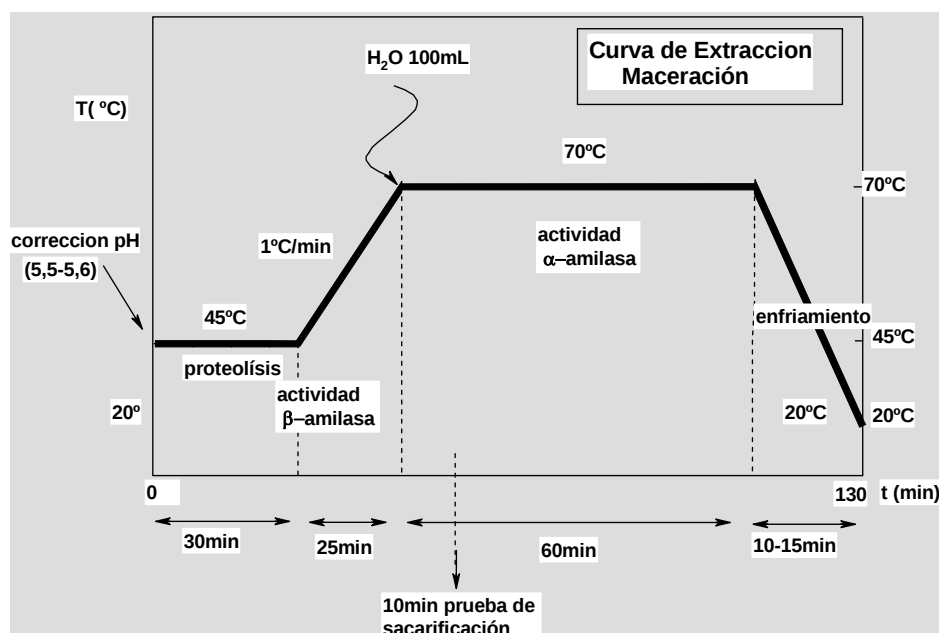


Figura 1. Grafica patrón para la determinación del extracto en la malta.

Enfriar a 20 °C y realizar la prueba de la sacarificación. Para ello se toma de cada matraz (ensayo y control) con ayuda de una varilla de vidrio o similar una gota del extracto y añadir sobre la misma 2-3 gotas de solución de Yodo 0,02 N. En el matraz denominado de control como no ha habido actividad enzimática hay presencia de almidón y por tanto en contacto con el yodo nos da una coloración azul, mientras que en



el matraz de ensayo el almidón ha sido degradado y transformado en azúcares fermentescibles y por tanto la coloración que aparece es amarilla (yodo).

Fermentación alcohólica: se procede a sembrar tanto en el matraz control como en el ensayo la levadura (aproximadamente 1-1,5 gramos por matraz). A continuación, tapar con algodón e introducir en la estufa incubadora a 20°C durante 48-72 horas.

RESULTADOS

En el matraz de ensayo aparecen signos de la fermentación alcohólica, como son el desprendimiento de gas carbónico (CO₂) y la aparición de una espuma densa. Al abrirlo, desprende olor característico a cerveza por el etanol y otros productos volátiles (ésteres, alcoholes superiores,...)

Por el contrario en el matraz de control no aparecen los signos antes citados.

2. DETERMINACION DEL COLOR EN CERVEZAS COMERCIALES

El color en la cerveza tiene una gran importancia desde el punto de vista del futuro consumidor.

Algunos factores que pueden influir sobre el producto terminado:

- Tipo y cantidad de malta en la composición de la cerveza.
- Corrección del agua en la cocción, pH mosto, cocimientos prolongados y /o lavados en exceso del bagazo.
- Utilización de aguas alcalinas para el lavado del bagazo.
- Problemas de caramelización en la caldera de ebullición.
- Catalizadores metálicos, ej. presencia de iones de hierro y cobre producen auto oxidación y oscurecimiento del mosto.
- Procesos de oxidación en la Fermentación 2ª, provocan oscurecimientos.
- Contacto prolongado con agentes altamente absorbentes, pueden reducir el color
- La temperatura de pasteurización, se oscurece la cerveza porque se produce caramelización de algunos azúcares, se intensifican también los efectos de oxidación.
- Restos de sosa de los ciclos de lavado oscurecen la cerveza.

MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO

Este método se aplica a todas las cervezas de fabricación. Su rango de aplicación es entre 3.6 a



25.3 unidades EBC (European Brewery Correction). Es condición para esta determinación proceder a un abrillantado de la muestra.

EQUIPOS:

- Equipo de filtración a vacío con 0.45 micras
- Espectrofotómetro UV-Vis, con una precisión de ± 0.5 nm.

PROCEDIMIENTO:

Se procede a determinar el color en cervezas comerciales.

Descarbonatar la cerveza mediante filtración.

Seleccionar la longitud de onda a 430 nm, se ajusta a 0.0 la absorbancia con agua destilada. Se procede a llenar la cubeta con la muestra y se realiza la lectura de absorbancia. El valor máximo de lectura debe ser de 1.000 de absorbancia, en caso de superarlo, se procede a la dilución de la muestra.

CÁLCULOS:

$$\text{Color (unidades EBC)} = 25 \times \text{Abs}_{430} \times F$$

C = Color en unidades EBC

25 = factor de multiplicación

F = Factor de dilución

3. DETERMINACION DE LA ESTABILIDAD DE LA ESPUMA EN CERVEZAS COMERCIALES

En la formación de espuma en la cerveza intervienen básicamente las proteínas de peso molecular medio y las isohumulonas del lúpulo. Otras sustancias que se encuentran en la cerveza pueden contribuir para aumentar la capacidad espumante entre otras las dextrinas, las beta-glucanas y las melanoidinas, debido a que dan lugar a una viscosidad local alta o bien, porque pueden asociarse químicamente a otras sustancias situadas en la superficie de las burbujas de carbónico.

En la espuma, cada burbuja de carbónico está rodeada por una película de líquido-gas, a medida que las burbujas de carbónico ascienden a la superficie, se encuentran rodeadas por una película firme y viscosa en la superficie, la formación de esta envoltura alrededor de las burbujas impide que se pongan en contacto entre ellas dando lugar a burbujas mayores y por tanto destrucción de la capa.

En la formación y estabilidad de la espuma intervienen:

- El estado de la malta, malta mal modificada produce espumas pobres.
- la proporción de malta/lúpulo en el producto final.
- Se debe evitar la formación de espumas en las operaciones de trasiego, ya que ello contribuye a la pérdida de sustancias estabilizadoras.
- Se debe evitar el contacto de la cerveza con productos de limpieza o agentes lubricantes.
- Excesivo tratamiento con enzimas proteolíticas o filtración con materiales muy absorbentes, favorecen la pérdida de la capacidad de formar espuma.
- Carbonatación incorrecta: un defecto en la carbonatación dará lugar a una cabeza de espuma pequeña y una sobrecarbonatación, provoca un aumento en la presión que lleva consigo un rápido ascenso de las burbujas hacia la superficie, donde se fusionan en otras mayores y menos estables que se abren paso a través de la malla formada en la superficie. Esto ocurre tan rápido que se impide la formación de estructuras lo suficientemente firmes para mantener la espuma. La sobrecarbonatación tiende a producir gran cantidad de espuma, pero de poca estabilidad.

MÉTODO SIGMA

Con este método se mide la estabilidad de la espuma y la unidad de medida es el segundo. Tiene la limitación de que no informa si las burbujas son grandes y dispersas (aspecto jabonoso) o pequeñas y compactas (aspecto cremoso).

REACTIVOS

- Alcohol octílico P.A.

EQUIPOS

- Baño termostático 25°C.
- Embudo espuma.
- Cronómetro.
- Probetas de 50 y 100mL
- Vasos de precipitado de 100mL

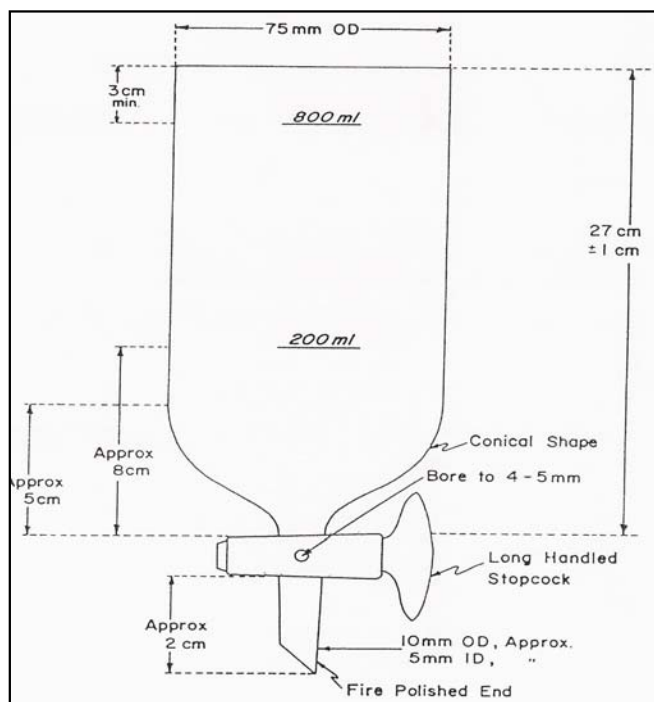


Figura 2. Embudo para medir la estabilidad de la espuma

PROCEDIMIENTO

- Atemperar la cerveza en baño a 25°C durante 30min.
- Colocar bajo el embudo un vaso de precipitado.
- Se abre la botella y se vierte siempre de la misma altura apoyando por el borde del embudo. Se debe verter siempre con un mismo caudal y en el centro.
- Adicionar hasta que la espuma llegue a la marca.
- Se deja de verter y contamos el tiempo. Los primeros 30 seg. en reposo y los otros 30 seg. para eliminar la cerveza formada durante el llenado del embudo...
- Una vez que tenemos el embudo lleno de espuma, comienza la medición de la estabilidad para ello se espera 200 seg.
- Recoger la cerveza formada en una probeta de 100ml. Para vaciar esta cerveza debemos tardar un tiempo determinado, ya que la espuma continúa colapsando, este tiempo debe estar entre 30 - 40seg.
- El volumen recogido en la probeta de 100 ml se corresponde a **(b)**.
- El tiempo total **(t)** de la ecuación será la suma de los 200 segundos + el tiempo de recogida (30 – 40seg).
- Se recoge el resto de espuma del embudo, para ello nos ayudamos de unas gotas de alcohol octílico.
- Recogemos en una probeta de 50mL. Tenemos el volumen **(c)**, en este segundo volumen no se mide el tiempo.

CÁLCULOS Y RESULTADOS

$$\sum_{SEGUNDOS} = \frac{t}{2,303 \cdot \log \frac{b+c}{c}}$$

t = representa el tiempo, menor de 240 segundos

b = volumen (mL) de la cerveza asentada en el tiempo t

c = volumen (mL) de cerveza restante después del tiempo t.

Se consideran valores normales de espuma entre 140 – 150seg.

Imágenes de levaduras *Saccharomyces spp*

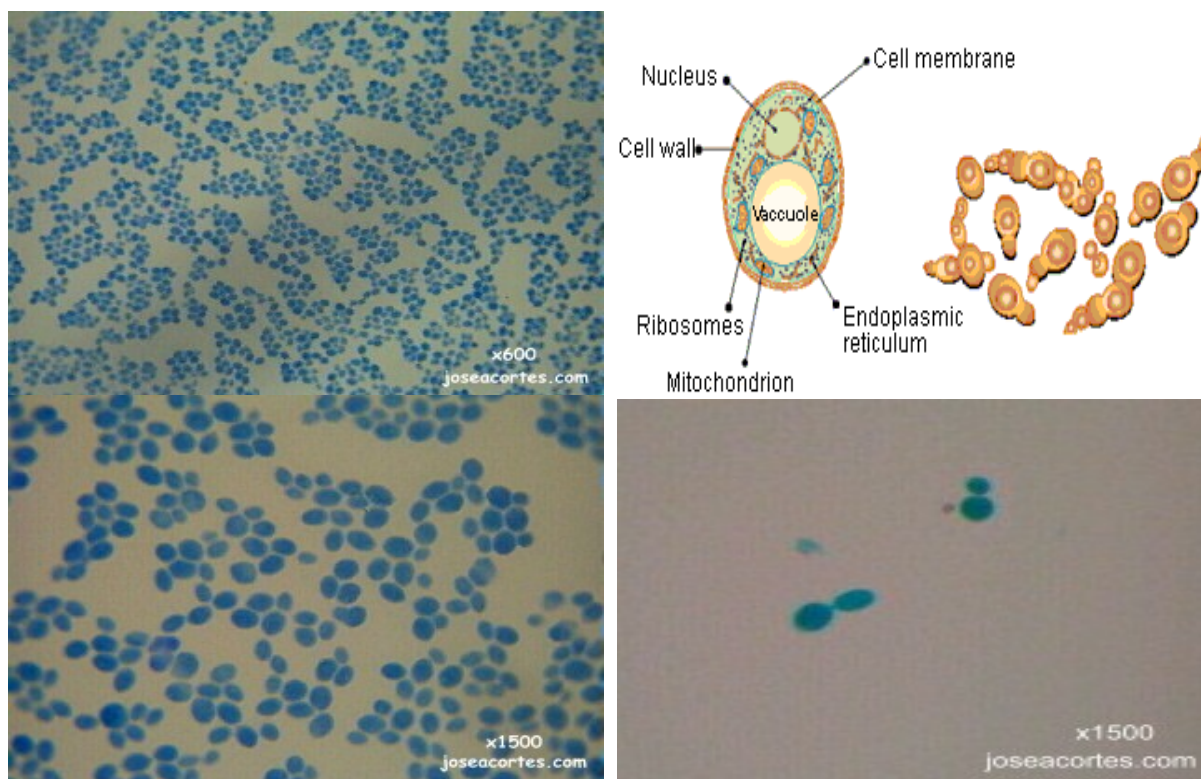


Figura 3 Micrografías de levaduras *Saccharomyces spp.* al Microscopio óptico y tinción de azul de metileno. Esquema de su estructura celular. División por gemación.