

Callejo MJ, González C. y Morata A.  
Dpto. Química y Tecnología de Alimentos  
Escuela Técnica Superior Ingeniería Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas  
Universidad Politécnica de Madrid

## APLICACIONES BIOTECNOLÓGICAS RECIENTES en la ELABORACIÓN DE CERVEZA

*El sector cervecero está viviendo una gran expansión, especialmente en el segmento de las cervezas artesanales, propiciado por la mayor diversificación en la gama de cervezas presentes en el mercado y el creciente número de consumidores especializados.*

*En este artículo se revisan las tendencias actuales con base biotecnológica que se plantean como alternativas emergentes para la elaboración de cervezas diferenciadas.*

**L**as primeras referencias a la elaboración y consumo de cerveza por el hombre, las encontramos 5.500 años antes de Jesucristo (1). Una parte de la dieta de las poblaciones agrarias de Mesopotamia y el Antiguo Egipto estaba basada en la elaboración doméstica de cerveza. Posteriormente, su desarrollo histórico y el afianzamiento de su progreso a escala industrial, está estrechamente ligado con los países del norte de Europa, cuyas condiciones climatológicas eran poco favorables para la implantación de la viticultura.

Durante la Edad Media y comienzo de la Edad Moderna, la escala de producción podía variar entre unos pocos Hl al año (a nivel doméstico) hasta el orden de cientos a miles de Hl, en los monasterios más grandes (2). A finales del siglo XVII, en Europa, la mitad de la producción de cerveza era doméstica, y durante los siglos XVIII y XIX, como consecuencia del incremento de población de las ciudades europeas, su

consumo aumentó considerablemente. Reino Unido, Alemania y Bélgica se convirtieron en los países que lideraban el consumo de cerveza en Europa.

Durante el siglo XIX, las innovaciones en tecnología y los avances en investigación microbiológica propiciados por Louis Pasteur permitieron un impulso en la elaboración industrial a gran escala.

La expansión de la elaboración industrial de la cerveza se ha consolidado durante el siglo XX, con la introducción en el mercado de las cervezas tipo lager gracias al empleo del frío industrial. Ya en nuestros días, y según los últimos datos publicados por Cerveceros de España (3), las compañías cerveceras en 2016 en España elaboraron 36,5 millones de hectolitros de cerveza, un 4,3% más que el año anterior, lo que supuso un crecimiento del volumen de ventas de un 3,4% para ese mismo año.

Mientras con los datos globales el sector, comprobamos que la elabo-



ración industrial se mantiene en alza, también se detecta en los últimos años un crecimiento imparable del segmento de las microcervecerías. En España se pasó de 46 microcervecerías en 2010 a 409 en 2015 (4). En Estados Unidos las microcervecerías elaboraron un 12% de la cuota de mercado en 2016, con el objetivo de lograr el 20% de la cerveza producida en 2020 (5).

## EL PAPEL DE LA FERMENTACIÓN EN EL PROCESO CERVECERO

La fermentación del mosto de malta para la elaboración de la cerveza es un proceso en dos fases: una fermentación principal y una fermentación secundaria. La fermentación principal es una etapa corta y vigorosa, duran-

te la cual las levaduras fermentan la mayor parte de los azúcares del mosto y producen algunos metabolitos secundarios con implicación directa en el flavor de la cerveza. Al finalizar esta fase, la biomasa (levadura en exceso) producida se recoge y se separa de la cerveza "verde", que se somete a una segunda fermentación (acondicionamiento o guarda). Durante esta segunda fase, la levadura completa la fermentación de los azúcares residuales en el mosto y elimina algunos compuestos indeseables para el flavor de la cerveza; de esta forma, se afina el sabor final ("cerveza madura"). Esta segunda fermentación o refermentación se puede llevar a cabo en la botella (véase figura 1), añadiendo a menudo una cepa de levadura diferente (6).

En sus orígenes, la elaboración de cerveza se llevaba a cabo a partir de fermentaciones espontáneas, por "contaminación" ambiental de un mosto azucarado de malta. Hoy en día, a excepción de las cervezas belgas Lambic, se utilizan determinados cultivos (starters) comerciales; el 99% de cervezas a escala mundial (8) se elaboran a partir cepas adaptadas de *Saccharomyces cerevisiae* utilizando un cultivo puro como inóculo microbiano.

De acuerdo con (9), el empleo de cepas de *Saccharomyces* en las fermentaciones controladas del mosto de malta durante décadas responde a diferentes causas: (a) eficiencia en la producción de etanol; (b) el uso de la fermentación como ruta metabólica preferente, en combinación con el positivo efecto Crabtree; (c) elevada tolerancia al etanol y otras causas de stress ambiental (10).

La selección de la cepa y el tipo de fermentación principal se convierten en el primer criterio para la clasificación de los muchos estilos de cerveza en el mercado. Las cepas de *Saccharomyces* en cervecería se clasifican en dos categorías: levaduras ale y lager.

Las levaduras ale o de fermentación alta, que son cepas de *Saccharomyces cerevisiae*, fermentan el mosto a temperaturas de entre 15 a 20°C; ascienden a la superficie del depósito arrastradas por las burbujas de CO<sub>2</sub> y son retiradas al finalizar la fermentación principal. Las levaduras lager o de fermentación baja fermentan a temperatura más baja (8-14°C)

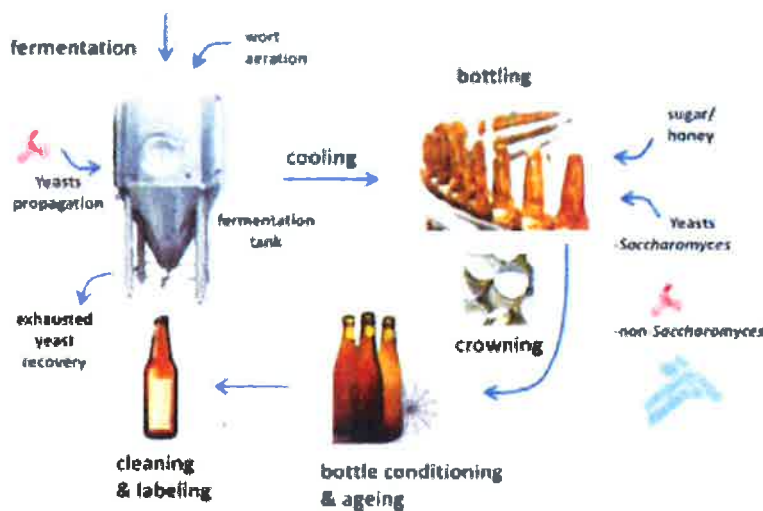


Figura 1.- Papel de la fermentación en el proceso cervecero: fermentación principal y acondicionamiento en botella (7).

y más espacio que las ale y se depositan en el fondo del depósito al finalizar la fermentación principal. La nomenclatura de estas últimas ha ido variando, recibiendo sucesivamente el nombre de *Saccharomyces carlsbergensis*, *Saccharomyces uvarum*, y *S. cerevisiae* tipo lager, aunque también se acepta la denominación *S. pastorianus* (11).

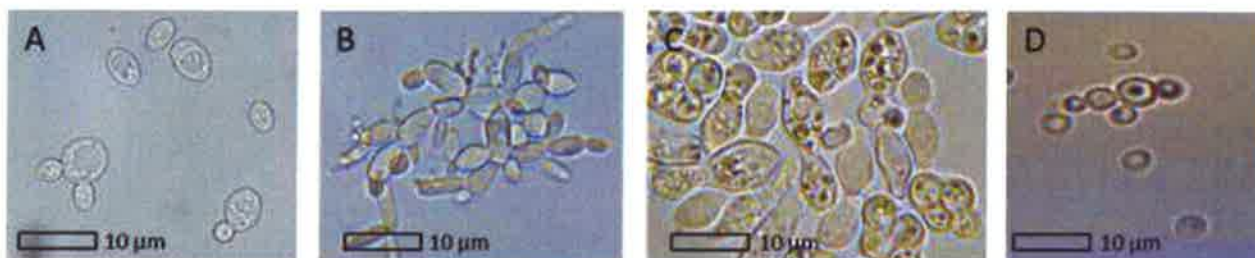
### INNOVACIONES EN EL PROCESO CERVECERO

La gran expansión vivida en el sector cervecero y el creciente número de consumidores especializados, ha impulsado una gran innovación en los estilos de cerveza elaborados. Una primera vía para ampliar la gama de cervezas, es la incorporación de nuevas variedades de lúpulos y de maltas especiales, de cara a modificar el balance de composición del mosto.

Recientemente, y al igual que en otros alimentos como el vino o el pan, se están implementando otras alternativas para obtener estas cervezas especiales; en este contexto, la biotecnología está asumiendo el reto de producir cambios específicos de forma controlada en el producto final. El dominio del proceso fermentativo y la inoculación de cepas de levaduras no-*Saccharomyces*, tanto en la fermentación principal como en la fermentación en botella en cervezas artesanales (7, 9, 12-16), abre un nuevo campo de posibilidades para la innovación. Esto es debido a que la mayoría de los compuestos aromáticos producidos por las levaduras son estrictamente dependientes de la cepa elegida para la fermentación (17, 18). Esta posibilidad resulta especialmente interesante en los procesos de elaboración artesanal, en los que *la intervención personal constituye el factor predominante, obteniéndose*

*un resultado final individualizado, que no se produzca en grandes series, .....(19)*, lo que permite una mayor diversificación del producto final.

Se describen a continuación algunos ejemplos que ilustran esta alternativa (Véase Figura 1). Las levaduras del género *Brettanomyces*, especialmente *B. bruxellensis* (Figura 1.B), que aparecen en procesos no controlados típicos de las cervezas belgas lambic y gueuze, se están empezando a usar en cultivos puros y se ha comprobado su potencial para ser inoculados a gran escala por la industria cervecera. Fuera de Bélgica, se están empezando a utilizar, especialmente en USA, para elaborar las ale American coolships (20). Además de ser responsables de las típicas notas fenólicas, contribuyen de forma decisiva al aroma frutado o floral de la cerveza debido a la producción de ésteres de etilo (13).



**Figura 1.** A. Células de *Saccharomyces cerevisiae* en gemación durante fermentación. B. Cultivo adulto de *Brettanomyces bruxellensis*. C. Cultivo esporulado de *Saccharomyces ludwigii*. D. Células de *Torulaspora delbrueckii* en gemación.

*Torulaspora delbrueckii* (Figura 1D) se está utilizando para mejorar la fermentación o las propiedades tecnológicas tanto en cerveza (9), como en vino (21) y en pan (22). *T. delbrueckii* puede crecer en presencia de concentraciones superiores a 90 ppm de iso $\alpha$ -ácidos en el medio (9), que podemos encontrar en algunas cervezas fuertemente lupuladas. Algunas cepas de *T. delbrueckii* han sido descritas como productoras de 2-feniletil acetato en cerveza (14),

molécula con impacto en el aroma a pétalos de rosa. En estudios llevados a cabo por Loira y colaboradores en vino (23), *T. delbrueckii* se asocia con la producción de 3-etoxi, que tiene repercusiones sobre el aroma a grosella negra. No degrada maltosa, maltotriosa, ni otros carbohidratos complejos, por lo que también resulta de especial interés para la elaboración de cervezas de bajo contenido en alcohol, con la ventaja añadida de que algunas cepas

imparten una aroma afrutado a la cerveza (14).

*Lachancea thermotolerans* está adquiriendo un gran interés en algunas bebidas fermentadas, debido a su repercusión en el perfil sensorial y a su capacidad de producir ácidos orgánicos. Produce un incremento en la acidez durante la fermentación, por lo que se convierte una buena opción para producir cervezas ácidas sin necesidad de emplear bacterias ácido lácticas (15).



## APLICACIONES BIOTECNOLÓGICAS RECIENTES EN LA ELABORACIÓN DE CERVEZA

*Saccharomyces ludwigii* (Figura 1C) al igual que *Torulaspora delbrueckii* y *Zygosaccharomyces rouxii* han sido utilizadas para la elaboración de bebidas alcohólicas de bajo contenido en alcohol (16) por su incapacidad total o parcial de fermentar maltosa, aunque las cepas de *Z. rouxii* ensayadas por De Francesco y colaboradores (16) fueron descartadas debido a la elevada concentración de etanol (más de 1,2% v/v). La influencia de *Saccharomyces ludwigii* en el perfil aromático final de la cerveza se debe a la producción de ésteres con sabor afrutado. Sin embargo, conviene seleccionar la cepa más adecuada, ya que algunas producen niveles elevados de acetoina y diacetilo, que pueden ser indeseables en el flavor de la cerveza.

Se puede concluir, por tanto, que la biotecnología está empezando a jugar un importante papel en los procesos de elaboración de cerveza: el empleo de levaduras no-*Saccharomyces* inoculadas de forma secuencial o en procesos de co-inoculación permite dar respuesta a una gama amplia de nuevos productos demandados por el consumidor, como la obtención de cervezas con características sensoriales diferenciadas o la producción de cervezas de bajo contenido en alcohol. Por ello estas estrategias presentan la posibilidad de conjugar los métodos tradicionales con las alternativas emergentes para producir cervezas originales.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) Hornsey I. The Chemistry and Biology of Winemaking. Cambridge: The Royal Society of Chemistry; 2007. ISBN 9780854042661
- (2) Anderson RG. History of Industrial Brewing. Food Science and Technology. Vol. 1. New York: Marcel Dekker; 2006. p. 157
- (3) Informe socioeconómico del sector de la cerveza en España 2016 <http://www.cerveceros.org/pdf/CE-informe-economico-2017-FINAL.pdf>
- (4) Brewers-Association. National Beer Sales and Production Data. The New Brewer [Internet]. 2016. Available from: <https://www.brewersassociation.org/statistics/national-beer-sales-production-data> [Accessed: 21 March, 2016]
- (5) Kell, J. (2016). What you didn't know about the boom in craft beer. Retrieved 24/05/ 2016, 2016, from <http://fortune.com/2016/03/22/craft-beer-sales-rise-2015/>
- (6) Vanderhaegen B., Neven H., Coghe S., Verstrepen K.J., Derdelinckx G. Verachtert H Bioflavoring and beer refermentation Appl Microbiol Biotechnol (2003) 62: 140. <https://doi.org/10.1007/s00253-003-1340-5>
- (7) Callejo, M. J., González, C., & Morata, A. (2017). Use of Non-*Saccharomyces* Yeasts in Bottle Fermentation of Aged Beers. In Brewing Technology. InTech.
- (8) Bokulich NA, Bamforth CW. The microbiology of malting and brewing. Microbiology and Molecular Biology Reviews. 2013;77 :157-172. <http://dx.doi.org/10.1128/MMBR.00060-12>
- (9) Basso RF, Alcarde AR, Portugal CB. Could non-*Saccharomyces* yeasts contribute on innovative brewing fermentations? Food Research International. 2016; 86:112-120. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2016.06.002>
- (10) Steensels J, Verstrepen KJ. Taming wild yeast: Potential of conventional and nonconventional yeasts in industrial fermentations. Annual Review of Microbiology. 2014;68:61-80. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-micro-091213-113025>
- (11) Bokulich NA, Bamforth CW. The microbiology of malting and brewing. Microbiology and Molecular Biology Reviews. 2013;77:157-172. <http://dx.doi.org/10.1128/MMBR.00060-12>
- (12) Budroni, M., Zara, G., Ciani, M., & Comitini, F. (2017). *Saccharomyces* and Non-*Saccharomyces* Starter Yeasts. In Brewing Technology. InTech.
- (13) Crauwels, S., Steensels, J., Aerts, G., Willems, K., Verstrepen, K., & Lievens, B. (2015). *Brettanomyces bruxellensis*, essential contributor in spontaneous beer fermentations providing novel opportunities for the brewing industry. BrewingScience, 68(9/10), 110-121.
- (14) Michel, M., Kopecká, J., Meier-Dörnberg, T., Zarnkow, M., Jacob, F., & Hutzler, M. (2016). Screening for new brewing yeasts in the non-*Saccharomyces* sector with *Torulaspora delbrueckii* as model. Yeast, 33(4), 129–144. <http://dx.doi.org/10.1002/yea.3146>.
- (15) Domizio P, House JF, Joseph CML, Bisson LF, Bamforth CW. *Lachancea thermotolerans* as an alternative yeast for the production of beer. Journal of Institute of Brewing. 2016;122:599-604



- (16) De Francesco G, Turchetti B, Sileoni V, Marconi O, Perretti G. Screening of new strains of *Saccharomyces ludwigii* and *Zygosaccharomyces rouxii* to produce low alcohol beer. *Journal of the Institute of Brewing*. 2015;121:113-121. <http://dx.doi.org/10.1002/jib.185>
- (17) Verstrepen KJ, Derdelinckx G, Dufour JP, Winderickx J, Thevelein JM, Pretorius IS, Delvaux FR. Flavor-active esters: Adding fruitiness to beer. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2003;96:110-118. [http://dx.doi.org/10.1016/S1389-1723\(03\)90112-5](http://dx.doi.org/10.1016/S1389-1723(03)90112-5)
- (18) Pires EJ, Teixeira JA, Brányik T, Vicente AA. Yeast: The soul of beer's aroma—A review of flavour-active esters and higher alcohols produced by the brewing yeast. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2014; 98:1937-1949. <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-013-5470-0>
- (19) Real Decreto 678/2016, de 16 de diciembre, por el que se aprueba la norma de calidad de la cerveza y de las bebidas de malta.
- (20) Bokulich, N.; Bamforth, C. and Bamforth, W.: Brewhouse-resident microbiota are responsible for multi-stage fermentation of American coolship ale, *PLoS ONE*, 7 (2012), no.4, e35507
- (21) Loira I, Morata A, Comuzzo P, González MC, Calderón F, Suárez-Lepe JA. Use of *Schizosaccharomyces pombe* and *Torulaspota delbrueckii* strains in mixed and sequential fermentations for improving red wine sensory quality. *Food Research International*. 2015;76:325-333. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2015.06.030>
- (22) Hernandez-Lopez M, Prieto J, Randez-Gil F. Osmotolerance and leavening ability in sweet and frozen sweet dough. Comparative analysis between *Torulaspota delbrueckii* and *Saccharomyces cerevisiae* baker's yeast strains. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2003;84:125-134. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1025413520192>
- (23) Loira I, Vejarano R, Bañuelos MA, Morata A, Tesfaye W, Uthurry C, Villa A, Cíntora I, Suárez-Lepe JA. Influence of sequential fermentations with *Torulaspota delbrueckii* and *Saccharomyces cerevisiae* on wine quality. *LWT—Food Science and Technology*. 2014;59:915-922. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2014.06.019>

